

Títol del treball: Estudis d'adsorció de nanopartícules metàl·liques en sòls.

Estudiant: Andreu Llord i Curós

Grau en Química

Correu electrònic: andreullc@gmail.com

Tutora: Mònica Iglesias Juncà

Cotutora*:

Empresa / institució: Universitat de Girona, Departament de Química

Vistiplau tutor (i cotutor*):

Nom de la tutora: Mònica Iglesias Juncà

Nom de la cotutora*:

Empresa / institució: Universitat de Girona

Correu(s) electrònic(s): monica.iglesias@udg.edu

*si hi ha un cotutor assignat

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació: 29 de Maig del 2015.

Resum

En els últims anys ha augmentat considerablement l'ús de nanopartícules metàl·liques en productes per al consum humà, i aquest fet ha portat a una incertesa respecte l'impacte d'aquestes nanopartícules sobre la salut i el medi ambient. Degut a la utilització d'aigües residuals i de fangs procedents de depuradores en l'agricultura, les nanopartícules acaben arribant al medi ambient en general i als sòls en particular. Existeixen estudis a la literatura sobre la interacció de les nanopartícules metàl·liques en els sòls, però els mateixos estudis indiquen que encara se'n desconeixen molts aspectes. La interacció entre nanopartícules i el sòl depèn de factors com; les característiques dels sòls (capacitat de bescanvi iònic, de la distribució de mida de partícula que forma el sòl, etc.) i les característiques de les nanopartícules (mida, superfície, etc.). Paral·lelament, ha sorgit la necessitat de desenvolupar noves tècniques d'anàlisi fàcils i ràpides que permetin dur a terme mesures quantitatives de nanopartícules metàl·liques en mostres ambientals.

L'objectiu principal d'aquest treball és dur a terme un estudi sobre la interacció del sòl amb les nanopartícules de plata. Per assolir aquest objectiu s'han dut a terme varis estudis, que inclouen la possibilitat de realitzar determinacions quantitatives de nanopartícules de plata mitjançant ICP-OES, estudis d'estabilitat i manipulació de les nanopartícules i estudis cinètics i d'equilibri amb sòls, entre d'altres. A més a més, s'han realitzat estudis complementaris sobre comparació de tècniques analítiques (ICP-OES i TXRF) i anàlisi qualitatiu de nanopartícules de plata i plata en solució mitjançant un mètode recentment desenvolupat per ICP-MS anomenat de partícula lliure o partícula aïllada (SP-ICP-MS).

Així doncs, en aquest treball s'ha aconseguit dur a terme la determinació de nanopartícules de plata mitjançant ICP-OES sense digestió prèvia i s'ha comprovat que algunes manipulacions (pipeteig i filtració) no afecten en la seva anàlisi, mentre que les condicions d'emmagatzematge de les nanopartícules sí que tenen una important afectació. Per altre banda, s'ha pogut estudiar la cinètica d'adsorció de diferents nanopartícules de plata per a sòls amb diferents característiques. Finalment s'ha aconseguit dur a terme mesures amb èxit mitjançant el mètode de la partícula lliure (SP-ICP-MS) que han permès distingir solucions de nanopartícules de plata i de plata iònica. Les mesures, mitjançant aquesta metodologia, de solucions que han estat en contacte amb el sòl i de mostres reals han permès verificar la presència de plata en forma de nanopartícules en aquestes solucions.

Resumen

En los últimos años ha aumentado considerablemente el uso de nanopartículas metálicas en productos para el consumo humano, y este hecho ha dado lugar a una incerteza respecto al impacto de estas nanopartículas sobre la salud y el medio ambiente. Dada la utilización de aguas residuales y lodos que provienen de depuradoras en la agricultura, las nanopartículas terminan llegando al medioambiente en general y al suelo en particular. Existen estudios en la literatura sobre la interacción de las nanopartículas metálicas con el suelo, pero esos mismos estudios indican que aún se desconocen muchos aspectos de estas interacciones. La interacción entre nanopartículas y el suelo depende de factores como; las características del suelo (capacidad de intercambio iónico, de la distribución de tamaño de partícula que compone el suelo, etc.) y las características de las nanopartículas (tamaño, superficie, etc.). Paralelamente, ha surgido la necesidad de desarrollar nuevas técnicas de análisis fáciles y rápidas que permitan determinar hacer medidas cuantitativas de nanopartículas metálicas en muestras ambientales.

El objetivo principal de este trabajo es realizar un estudio sobre la interacción del suelo con las nanopartículas de plata. Para cumplir este objetivo se han realizado varios estudios, que incluyen la posibilidad de realizar determinaciones cuantitativas de nanopartículas de plata mediante ICP-OES, estudios de estabilidad y manipulación de las nanopartículas y estudios cinéticos y de equilibrio con suelos, entre otros. Además, se han realizado estudios complementarios sobre comparación de técnicas analíticas (ICP-OES y TXRF) y análisis cualitativo de nanopartículas de plata y plata en solución mediante un método recientemente desarrollado por ICP-MS nombrado partícula libre (SP-ICP-MS).

Así pues, en este trabajo se ha conseguido realizar la determinación de nanopartículas de plata mediante ICP-OES sin digestión previa y se han comprobado que algunas manipulaciones (pipeteo y filtración) no tienen efecto en su análisis, mientras que las condiciones de almacenamiento de las nanopartículas sí que tienen un importante efecto. Por otra parte, se ha podido estudiar la cinética de adsorción de diferentes nanopartículas de plata en los suelos con diferentes características. Por último, se ha conseguido llevar a cabo medidas con éxito mediante el método de la partícula libre (SP-ICP-MS) que han permitido distinguir soluciones de nanopartículas de plata y de plata iónica. Las medidas, mediante esta metodología, de soluciones que han estado en contacto con el suelo y de muestras reales, han permitido verificar la presencia de plata en forma de nanopartículas en estas soluciones.

Summary

In the last years the uses of metallic nanoparticles have considerably increased in products for a human use, and this fact has arisen an uncertainty respect to the impact of these nanoparticles in the human health and in the environment. Given the use on the wastewaters and the sewage sludge for sewage in agriculture, the nanoparticles finally arrive to the environment in general and in the soils particularly. Exist some studies in the literature about the interaction of the metallic nanoparticles in soils, but these studies indicate that still many aspects are unknown. The interaction between nanoparticles and soil depend of some factors like; the characteristics of the soil (ionic exchange capacity, particle size distribution ...) and the characteristics of the nanoparticles (size, surface ...). Simultaneously, the need to develop new quick and easy technical analysis has been arise to carry out quantitative measurements of metallic nanoparticles in environment samples.

The aim of this final degree project is carry out a study about the interaction of silver nanoparticles and soil. To achieve this goal, have been carried out different studies, including the possibility of realize quantitative determinations of silver nanoparticles using ICP-OES, stability and manipulation studies of nanoparticles and kinetic and equilibrium in soils studies, among others. In addition, have been carried out complementary studies about comparison of analytical techniques (ICP-OES and TXRF) and qualitative analysis of silver nanoparticles and ionic silver through a recent developed method called single-particle (SP-ICP-MS).

So in this final degree project has been carried out the determination of silver nanoparticles using ICP-OES without previous digestion and have been proved that some manipulations (to take an aliquot or filtration) don't affect to their analysis, but the storage conditions of the nanoparticles have and important affect. However, has been studied the adsorption kinetic of silver nanoparticles in soils with different characteristics. Finally, has been carried out qualitative measurements using single-particle method (SP-ICP-MS) to have allowed distinguishing between silver nanoparticles solutions and ionic silver solutions. The measurements, through this methodology, of solutions who have been in contact with the soil and the real samples have allowed verify the presence of silver nanoparticles form in these solutions.

Índex

1. Introducció	I
1.1 Nanomaterials i nanopartícules.	1
1.2 Problemàtica i toxicitat de les nanopartícules.	1
1.3 Tècniques analítiques per a la determinació de nanopartícules.	3
2. Objectives	6
3. Procediments experimentals	6
3.1 Reactius i materials.	6
3.2 Aparells i instruments.	7
3.3 Sòls estudiats.....	7
3.4 Nanopartícules de plata.	8
3.5 Procediments experimentals.	9
3.5.1 Preparació de solucions de nanopartícules i dissolucions patró.	9
3.5.2 Estudis d'estabilitat i tractament de les solucions de nanopartícules.	9
3.5.3 Estudis d'interacció de nanopartícules amb el sòl.	10
3.5.4 Determinació de AgNP en mostres reals.	11
3.5.5 Determinació del contingut de nanopartícules.....	12
4. Resultats i discussió.....	15
4.1 Determinació del contingut de plata de nanopartícules mitjançant ICP-OES.	15
4.2 Estudis d'estabilitat de les nanopartícules.....	16
4.3 Estudis interacció amb el sòl.	19
4.3.1 Estudis cinètics.	19
4.3.2 Digestió dels sòls.	20
4.3.3 Estudis equilibri.	21
4.3.4 Comparació de l'adsorció de les diferents nanopartícules en sòls.	22
4.4 Comparació de diferents tècniques instrumentals (ICP-OES i TXRF).	24
4.5 Anàlisi de nanopartícules mitjançant ICP-MC pel mètode de la partícula aïllada (SP-ICP-MS).	24
5. Conclusions.....	29
6 Bibliografia	30

1. Introducció

1.1 Nanomaterials i nanopartícules

Els nanomaterials es poden definir com aquells materials amb, com a mínim, una de les seves dimensions per sota dels 100nm. Dins aquest tipus de materials podem trobar-hi nanotubs de carboni, nanocristalls semiconductors (també coneguts com a Quantum Dots) i nanopartícules, entre d'altres. Les nanopartícules (NP) en particular, es defineixen com a nanomaterials amb com a mínim dues dimensions de un interval de mida d'entre 1 i 100 nm ^[1].

Pel que fa als nanotubs de carboni, aquest grup està format per nanotubs de carboni, fullerenes i grafit. Aquests es caracteritzen per tenir una excel·lent conductivitat elèctrica i tèrmica. Aquests nanomaterials s'utilitzen en plàstics, catalitzadors, bateries, sistemes de purificació d'aigües, ... Hi ha una gran quantitat d'indústries amb capacitat de fabricar fins a 1.500 tones/any de fullerenes i nanotubs de carboni ^[1].

Per altre banda, els nanocristalls semiconductors estan formats per metalls semiconductors com seleniur de cadmi (CdSe), tel·lurid de cadmi (CdTe) o seleniur de zinc (ZnSe), entre d'altres. Aquests nanomaterials tenen com a característica principal el control de les propietats òptiques i això els permet jugar un paper clau en àmbits com la medicina o en usos en plaques fotovoltaïques i plaques solars o en les telecomunicacions ^[1].

Les nanopartícules formades per metalls i òxids de metalls són els nanomaterials que més ens interessin en aquest treball. Per exemple, aquelles nanopartícules d'òxid de metall, habitualment òxids de Zn i de Ti, es poden trobar en productes com cremes solars, productes cosmètics, pintures o en recobriments d'ampolles. La utilització d'aquestes NP recau en la capacitat d'absorció de la llum ultravioleta ^[1]. Els nanomaterials, i sobretot les nanopartícules metàl·liques com les de plata (AgNP), són molt utilitzats en aplicacions per a productes pel consum humà. El rang de productes en els quals es poden trobar és molt ampli, des d'apòsits per les ferides passant per productes tèxtils com mitjons (entre d'altres), pastes de dents o filtres d'aire, fins a productes per a nadons ^[2]. Una de les principals raons per la utilització de les AgNP en productes pel consum humà recau en les aplicacions antibacterianes de la plata.

Els nanomaterials sempre han existit en el medi ambient de forma natural, però en els últims temps hi ha hagut un augment de la demanda d'aquests per part de les empreses, degut a l'augment de l'ús de nanomaterials per a productes pel consum humà. Aquest fet ha facilitat la possibilitat de contaminació de medi ambient per part d'aquests materials. Pel que fa a les AgNP, degut a la seva gran utilització en productes pel consum humà, són les que possiblement més contribueixin a aquest fet, així que el debat sobre si aquestes AgNP poden comportar, o no, riscos pel medi ambient s'està investigant.

1.2 Problemàtica i toxicitat de les nanopartícules

Les NP poden arribar amb certa facilitat al medi ambient a través de diferents emissions: per exemple amb emissions a l'atmosfera (incineració de residus), però sobretot emissions a l'aigua o al sòl (abocaments incontrolats de les empreses) i a través de l'ús de productes en la vida quotidiana que contenen NP ^[2]. No es tenen dades sobre la producció de NP anuals, però tan sols per la producció de nanopartícules d'òxids de metall per a productes cosmètics entre els anys 2005 i 2010 s'estima una producció de 1.000 tones/any ^[1].

Un exemple de via d'arribada de les NP al medi ambient a través de l'ús de productes pel consum humà podria ser a través de la utilització de cremes solars o altres productes

cosmètics, de neteja o pintures. Quan s'utilitzen alguns d'aquests productes, el residu de NP molt habitualment es dissol en l'aigua, i aquesta, com a aigua residual, passa per les vies habituals fins a arribar a la depuradora. També una via habitual és a través de l'ús de la rentadora, ja que quan es neteja la roba les NP, si aquesta en conté, es transfereixen a l'aigua de rentat que va directament al sistema d'aigua residual.

Una vegada aquestes passen pels filtres de la depuradora hi ha dues possibilitats: les NP queden atrapades als fangs de la depuradora o les NP romanen a l'aigua i aquesta s'aboca al medi ambient. En el primer cas, els fangs que contenen aquestes NP habitualment s'utilitzen per a l'agricultura, de manera que aquestes fangs provinents de la depuradora poden aportar de manera estimada fins a $120 \mu\text{g}/\text{Kg}^3$ per any de AgNP i TiO_2NP al sòls agrícoles originals. També l'ús de NP en productes per a l'agricultura, com ara fertilitzants o insecticides, és una font destacable de contaminació de NP en els sòls agrícoles [2].

Les NP poden tenir diferents efectes sobre el medi ambient. Es coneixen efectes associats a canvis en la biodisponibilitat de les toxines o nutrients, efectes indirectes de la interacció de la NP amb compostos orgànics naturals i sobretot en efectes directes en la biota (organismes que viuen en el medi ambient) [3].

En aquest últim aspecte hi ha estudis realitzats en peixos i animals terrestres que estableixen relacions entre la presència de nanopartícules en l'organisme d'aquests animals i alteracions a nivell cel·lular. A més a més han pogut demostrar que aquestes alteracions són degudes a la presència de AgNP i no a la presència de AgNO_3 [1]. Aquesta toxicitat però varia segons el tipus de nanopartícula, la mida d'aquesta o si la nanopartícula es troba recoberta o no. Si aquestes estan recobertes, la toxicitat a més depèn de quin tipus de recobriment tingui. Aquest és un dels motius pel qual recentment hi ha hagut un augment en la investigació d'aquests materials i de la interacció d'aquests amb el medi ambient.

Encara que els mecanismes de difusió de les NP a l'interior de la cèl·lula no estan descrits amb certesa, es creu que podrien penetrar a l'interior d'aquesta mitjançant processos de difusió a través de la membrana cel·lular o amb processos d'adhesió i endocitosis. Aquestes NP adherides a la superfície de la cèl·lula poden alterar les propietats de la membrana afectant a la permeabilitat d'aquesta, els processos de respiració cel·lular i fins i tot la integritat de la membrana [1].

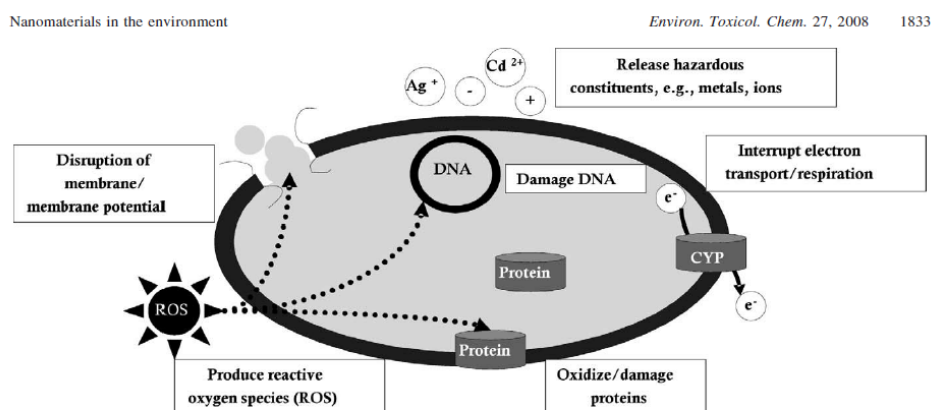


Fig. 5. Possible mechanisms of nanomaterial toxicity to bacteria. Different nanomaterials may cause toxicity via one or more of these mechanisms. CYP = cytochrome P.

Figura 1: Representació dels possibles mecanismes de difusió de les NP a l'interior de les cèl·lules [1].

Si aquestes NP aconseguirien accedir a l'interior de la cèl·lula, l'alliberament de ions d'aquestes nanopartícules (per exemple Ag, Si, Ti o altres metalls) tindria conseqüències sobre les proteïnes (interacció ió metàl·lic amb grups tiol) causant inhabilitació d'enzims, sobre el DNA causant inhabilitació als processos de reproducció d'aquest, entre altres efectes. Fins i tot alguns estudis demostren que s'ha trobat relació entre les NP d'alumini i la inhibició del creixement de les plantes ^[1].

Alguns estudis fan referència al comportament de les nanopartícules en sòls, en aquests s'estudia sobre tot les interaccions que es produeixen. Com ja s'ha comentat anteriorment aquesta interacció pot variar segons el recobriment de la NP i també segons el tipus de sòl amb el que es treballa. El primer aspecte a tenir en compte és que la matriu amb la que es treballa és complexa, ja que entren en joc una gran quantitat d'elements amb els quals la NP pot interactuar en comparació amb altres matrius, per exemple en matrius líquides, on el comportament de la NP es pot explicar a través de comportaments fisicoquímics com la estabilitat de la partícula o les agregacions ^[3].

Per tal d'explicar el comportament de les NP en els sòls cal tenir presents diferents aspectes sobre les NP: característiques físiques com la mida i la forma o característiques químiques com el caràcter àcid-base de la superfície i la solubilitat aquosa del metall. Aquestes característiques juntament amb la dissolució dels metalls, els processos de agregació o aglomeració i la sorció de la superfície del sòl, determinaran les transformacions que patirà la NP en estar en contacte amb aquest sòl ^[2]. Les característiques dels sòls també són claus per l'explicació del comportament, per exemple la distribució de mida de partícula o el pH i la força iònica (en fase aquosa) ^[2].

1.3 Tècniques analítiques per a la determinació de nanopartícules

Un dels principals problemes per a la determinació de les NP amb els que es troben els investigadors a l'hora d'analitzar mostres mediambientals, és trobar un mètode capaç de dur a terme anàlisis a concentracions baixes, de l'ordre dels ng/L o pg/L i a més a més que aquest no es vegi molt afectat per a possibles interferències de la matriu ^[3].

Prèviament a l'anàlisi, també hi ha les etapes de mostreig i tractament de la mostra, que són etapes clau per dur a terme una correcta determinació de les NP. Aquestes etapes en l'anàlisi de NP en sòls són complicades, ja que la matriu és complexa. Habitualment s'utilitzen mètodes dispersius com la sonicació, la centrifugació o la microfiltració ^[3] en el tractament de mostra.

Les tècniques més habituals per a la caracterització de les nanopartícules són: microscòpia electrònica de transmissió (TEM), microscòpia de forces atòmiques (AFM) i la microscòpia electrònica de rastreig (SEM), aquesta darrera juntament amb la microscòpia de raig X per dispersió d'energies (EDS). Aquestes tècniques d'alta resolució ens permeten obtenir informació sobre la mida i imatges de com són aquestes NP. Per altra banda, les dades obtingudes amb EDS permeten obtenir informació sobre la composició química d'aquestes partícules ^[4].

Les tècniques analítiques més habituals per a la determinació de la composició elemental i la quantificació de nanopartícules metàl·liques, com és el cas d'aquest treball on es treballarà amb nanopartícules de plata, són les tècniques d'espectroscòpia atòmica, tant ICP-OES (espectroscòpia d'emissió atòmica amb plasma induït per alta freqüència) com ICP-MS (espectroscòpia de masses font de plasma induït per alta freqüència). Aquestes tècniques tenen com a principal característica uns bons límits de detecció, sobretot en cas de l'ICP-MS, fet important perquè les quantitats de AgNP en mostres reals acostumen a ser baixes (µg/mL

majoritàriament). Cal tenir en compte però que són unes tècniques destructives, que determinen el contingut total del l'element, independentment de la seva forma, i que la composició de la matriu pot donar greus problemes d'interferències, tan espectrals com no espectrals ^[3].

Aquestes tècniques es poden combinar amb tècniques de separació per tal de poder determinar el contingut elemental per a cada mida de partícula, discriminant també el metall que hi pugui haver en forma soluble. Les més utilitzades per a la separació de nanopartícules són l'anomenat Field-Flow Fractionation (FFF), la cromatografia per exclusió de mida (SEC) o l'electroforesi capil·lar ^[3].

En aquest treball la tècnica principal utilitzada per a la quantificació de les AgNP és l'ICP-OES, però també es va utilitzar ICP-MS per dur a terme proves qualitatives per verificar la presència de AgNP i/o plata en solució en algunes mostres reals. Cal tenir en compte però que per a dur a terme aquestes proves s'ha utilitzat un mètode molt particular anomenat Single-particle (que podríem traduir com a partícula aïllada).

Els primers estudis amb aquesta metodologia SP-ICP-MS (Single-particle ICP-MS) van ser publicats al 1986 ^[5], però aleshores s'utilitzaven per anàlisis d'aerosols i per partícules transmeses per l'aire. No ha sigut però fins recentment quant s'ha mostrat de nou interès en aquesta tècnica, aquesta vegada però en col·loides, degut a la creixent utilització de nanopartícules en la indústria. A més a més aquesta metodologia proporciona una alternativa a les tècniques de detecció, determinació i caracterització de nanomaterials proporcionant a la vegada informació sobre la mida de partícula ^[5].

Per entendre bé el mètode cal tenir present les etapes que recorre la mostra per l'instrument. En primer lloc, la mostra que ha d'estar en forma líquida, s'introdueix a l'instrument mitjançant un sistema de nebulització (format per nebulitzador i una cambra de nebulització), de manera que forma un aerosol (gotes dispersades en un flux de gas, de mida diminuta).

Seguidament la mostra en forma d'aerosol arriba al plasma on s'evapora el solvent, es vaporitza, s'atomitza i ionitza la mostra. Els ions formats al plasma passen a través d'una interfase, on baixa la pressió i la temperatura, i arriben espectròmetre de masses on són separats segons la seva relació massa/càrrega i finalment impacten al detector ^[6].

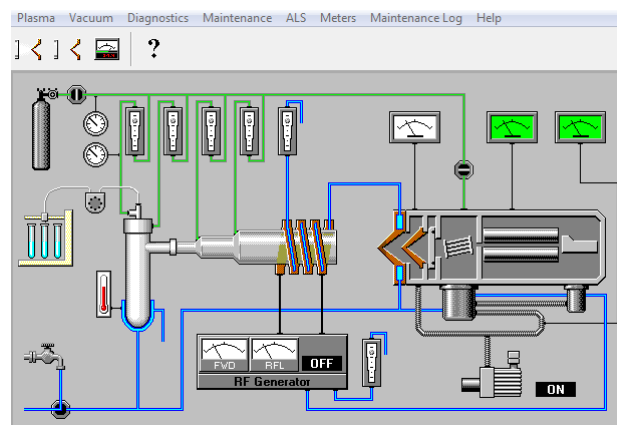


Figura 2: Esquema de l'aparell ICP-MS.

Si la mostra introduïda conté una solució amb una distribució homogènia, inclús a baixes concentracions, la quantitat d'elements que entren al plasma per unitat de temps i que viatgen fins al detector es pot considerar constant, produint una senyal estable i constant durant el període de mesura (amb un soroll associat, inevitablement). Però si la mostra conté NP, els elements que componen aquestes nanopartícules no estan distribuïts de manera homogènia, ja que estan en agregacions, sinó que es poden considerar grups d'elements discrets. Així que si la solució que arriba al plasma es suficientment diluïda, té lloc la ionització d'aquests grups o paquets d'elements en forma discreta i no de manera contínua ^[5].

Si el temps d'integració és suficientment petit (al voltant de 10ms) i es du a terme un temps de mesura suficientment llarg (el més habitual és menys d'un minut), el que es pretén aconseguir és que en cada temps d'integració arribi al detector com a màxim una nanopartícula i gràcies a aquest fet es possible apreciar diferències en els espectres d'aquella mostra homogènia a aquella conté NP. En el cas de un element en solució, el senyal enregistrat en funció del temps de detecció serà constant (Figura 3 gràfic A), mentre que en el segon cas no s'apreciarà un senyal constant (Figura 3 gràfic C), sinó que s'aprecien pics o feixos de senyal ^[5]. Aquests pics són deguts, idealment, a l'arribada al plasma d'una NP, que contenen una quantitat apreciable de l'element que la formen, i per tant la intensitat del senyal serà més gran, com més gran sigui la partícula.

Una manera habitual d'expressar els resultats de SP-ICP-MS [6] és en forma de histograma, on es representa la intensitat dels pics (contes) vs la freqüència de la intensitat del senyal (o el número de pics amb la corresponent intensitat). En aquests casos també es poden apreciar diferències entre una solució de Ag^+ (Figura 2 histograma B) i les solucions de AgNP (Figura 2 histograma D). En el primer cas tan sols es pot apreciar un pic (degut al senyal constant), mentre que en el segon s'observa un pic a valors pròxims a zero, degut als registres en que no arriba nanopartícula, i posteriorment un altre pic més ample seguit a les nanopartícules que poden tenir una mida més o menys homogènia.

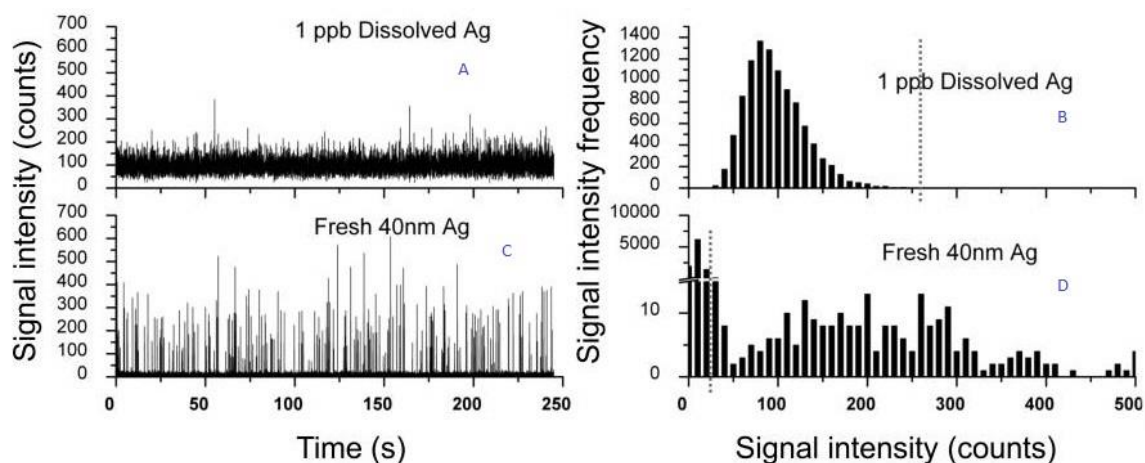


Figura 3: Gràfics de senyal en funció del temps i histogrames d'una solució de plata dissolta (A i C) i d'una solució AgNP (B i D) ^[7].

Així doncs, la hipòtesi en la qual es recolza aquest mètode de mesura és que cada un d'aquests pics que apareix en l'espectre representa una nanopartícula. Donant com a vàlida aquesta hipòtesi, la freqüència dels pics està directament relacionada amb al nombre de NP que conté la solució així com la intensitat d'aquests es pot relacionar de manera proporcional amb la massa de l'element, és a dir, el nombre d'àtoms que formen aquesta nanopartícula.

2. Objectives

Considering what has been said in the introduction regard the increasing use of metallic nanoparticles, due to the wide range of applications they have, the need has arisen to study the processes that take place once these nanoparticles reach the environment. In this area, the aim of this final degree project is to carry out a study about the interaction between silver nanoparticles and soil. Previously, to achieve this goal, it has to consider two more previous objectives:

- a) To determine quantitatively silver nanoparticles using ICP-OES.
- b) To study the stability and the manipulations of the silver nanoparticles.

To fulfil the principal objective, the studies about the interaction between silver nanoparticles and soils, I will carry out kinetic studies, equilibrium studies and soil absorption studies with different types of AgNP. These studies also include the evaluation of behavior of nanoparticles in front of different soils with different physic-chemist characteristics.

In addition, this final project has two complementary objectives: the comparison of two analytical techniques (ICP-OES and TXRF) for the measurements of silver nanoparticles and evaluation and discrimination of silver nanoparticles and silver solution using single particle qualitative analysis (SP-ICP-MS).

3. Procediments experimentals

3.1 Reactius i materials

- HNO₃ Hiperpur 69%, Panreac (Canadà)
- Silver Standard Solution (AgNO₃ en HNO₃), Merck (Alemanya), 1000 mg/L
- H₂O MilliQ Plus column (Millipore)
- Apòsit, Allevyn Ag Gentle Border (Anglaterra)
- Tireta, Hansaplast Universal (Barcelona)
- Flascó Poliestirè, Deltalab (Barcelona), 30 mL
- Flascó polipropilè, Deltalab (Barcelona), 50 mL
- Flascó Polietilè, Deltalab (Barcelona), 150 mL
- Flascó Polietilè, Deltalab (Barcelona), 200 mL
- Flascó pyrex, Vidrafox (Anglaterra), 22 mL
- Filtre acetat de cel·lulosa, Filterlab (Barcelona), 0'45 µm
- Xeringa ús únic Polietilè, Terumo (Bèlgica), 5 mL
- Xeringa ús únic Polietilè, Terumo (Bèlgica), 10 mL
- Pipeta Pasteur Polietilè, Rubilabor (Mèxic), 3 mL
- Micropipeta BioPettePlus, Labnet (Polònia), 1mL

3.2 Aparells i instruments

- ICP-OES 5100, Agilent technologies (USA)
- ICP-OES Libery Series II, Variant (Austràlia)
- ICP-MSb7500c, Agilent technologies (USA)
- Digestor-Extactor de microones, Milestone Ethos Plus (USA)
- Balança analítica, Sartorins Extended Series (Alemanya)
- Balança analítica, Mettler Toledo AX205 (Barcelona)
- Ultrasons, P Selecta (Barcelona)
- Centrífuga, Hettich Rotofix 32A (Alemanya)
- Agitador rotatori, Dinko (Barcelona)

3.3 Sòls estudiats

En aquest treball s'han utilitzat quatre sòls diferents, anomenats Vall Cebre 1, Vall Cebre 2, Castell Bisbal i Hivernacle de les pastanagues. Aquests sòls provenen de diferents zones de Catalunya.

Els dos sòls de Vall Cebre provenen de diferents parts d'un turó pròxim a la zona de Vall Cebre, a prop de Guardiola de Berguedà. Respecte els sòls de Castell Bisbal i de l'Hivernacle de les pastanagues, són dos sòls agrícoles, que provenen de Castell Bisbal (a prop de Martorell) i de Gavà (al costat de Viladecans) .

A continuació es poden observar algunes de les propietats físico-químiques i les distribucions de mida de partícula de cada un dels sòls.

Taula 1: Propietats físico-químiques dels sòls.

Sòl	pH (H ₂ O)	EC (µS/cm)	Humitat (%)	MO (%)	D (g/mL)	CEC (meq/100g)
VC 1	8	105,01	13,35	6,52	0,97	20,14
VC 2	7,4	2460,0	13,05	4,95	0,94	18,91
CB	7,6	276,5	9,29	5,66	1,15	6,50
HP	7,4	427,33	3,71	6,08	1,2	7,00

VC 1; Vall Cebre 1, VC 2; Vall Cebre 2, CB; Castell Bisbal i HP; Hivernacle de Pastagues. EC: conductivitat elèctrica, MO: matèria orgànica, D: densitat i CEC: capacitat de bescanvi catiònic.

Taula 2: Distribució de la mida de partícula.

Sòl	>2mm	2-1mm	1-0,5mm	0,5-0,25mm	0,25-0,1mm	<0,1mm
VC 1	5,7	11,2	29,3	21,7	10,3	21,2
VC2	14,6	8,1	11,6	19,4	18,2	28,2
CB	3,1	1,6	4,6	10,2	28,4	52,2
HP	4,66	2,5	3,01	12,54	73,93	3,82

VC 1; Vall Cebre 1, VC 2; Vall Cebre 2, CB; Castell Bisbal i HP; Hivernacle de Pastagues.

Si ens fixem amb les característiques físico-químiques dels sòls, aquells valors més destacables serien la conductivitat de la mostra de Vall Cebre 2, molt més alta que tota la resta, el sòl amb menys humitat és el de l'hivernacle de les pastanagues i finalment aquell sòl que mostra una capacitat de bescanvi iònic més gran és el sòl de Vall Cebre 1.

Pel que fa a la distribució de mida, el sòl de Vall Cebre 2 és el que té un percentatge més elevat de mida de partícules a més gran, mentre que el sòl de Vall Cebre 1 destaca la quantitat de partícules en l'interval de mida de 1-0'5mm. Per la seva banda, el sòl de Castell Bisbal és aquell que té el percentatge de distribució de mida més petita (<0'1 mm) i el sòl del Hivernacle de les pastanagues destaca en la quantitat de partícules de mida de l'interval 0'25-0'1 mm.

Una vegada es van tenir tamisats els sòls (2mm), aquests es van deixar assecar, durant una setmana, a un laboratori climatitzat a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ i se'n va calcular novament la humitat. Els resultats obtinguts pels quatre sòls són: Vall Cebre1= $3'9\pm 1'8\%$, Vall Cebre2= $2,9\pm 1'4$, Castell Bisbal= $0'6\pm 0'1\%$ i Hivernacle de pastanagues= $0'3\pm 0'1\%$.

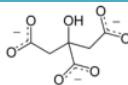
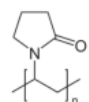
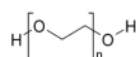
3.4 Nanopartícules de plata

El grup de recerca de Química Analítica i Ambiental (QAA) disposa de diferents tipus de AgNP:

- 1) AgNP citrate as stabilizer 40nm, Sigma-Aldrich (USA), 0'02 mg Ag/mL
- 2) AgNP citrate as stabilizer 100nm, Sigma-Aldrich (USA), 0'02 mg Ag/mL
- 3) AgNP PVP surface 100nm, NanoComposix (USA), 0'02 mg Ag/mL
- 4) AgNP PEG surface 100nm, NanoComposix (USA), 0'023 mg Ag/mL
- 5) AgNP PVP surface 75nm, NanoComposix (USA), 5'51 mg Ag/mL

Les característiques d'aquestes nanopartícules es poden consultar a la pagina web de l'empresa que les distribueix ⁸, i es poden apreciar a la taula 3:

Taula 3: Característiques de les diferents AgNP d'aquest treball.

Tipus AgNP	Superfície/Solvent	Estructura	Càrrega de la superfície
40 i 100 nm citrat	Citrat/2nM Citrat		Molt negativa
PVP 75 i 100 nm	Polivinilpirrolidona(PVP)/ 2nM Citrat		Negativa
PEG 100 nm	Polietilenglicol (PEG)/H ₂ O		Neutre

3.5 Procediments experimentals

3.5.1 Preparació de solucions de nanopartícules i dissolucions patró

La preparació de les corresponents mostres de nanopartícules de plata, requereix d'un tractament particular i a la vegada crític per tal d'aconseguir tan l'homogeneïtzació de la solució estoc com de la solució final. El procés comença amb la sonicació^[9] de la solució estoc durant 5 minuts. Una vegada transcorregut aquest temps, s'agita la solució vigorosament durant aproximadament 30 segons i seguidament es pren el volum necessari de solució estoc per a preparar les mostres per pesada, utilitzant H₂O MiliQ com a dissolvent. Com que els volums de solució estoc de nanopartícules necessaris eren petits, es requeria la utilització de la micropipeta per prendre els volums necessaris.

Els patrons utilitats per a la quantificació, van ser preparats amb plata en solució, provinent d'una solució estoc. El procés consisteix en la preparació d'una solució intermèdia, i a partir d'aquesta es preparen els patrons necessaris. En aquest cas, l'etapa de sonicació no és necessària, però sí la agitació de la solució estoc. Tots els patrons estaven preparats amb un 2% d'àcid (HNO₃) per ajudar a l'estabilitat de la solució. Tant les dissolucions de AgNP com les dissolucions patró es van preparar per pesada en tubs de poliestirè de 30mL de volum.

En cas que les patrons requerits fossin de AgNP (pels estudis de comparació d'instruments) i no de Ag⁺, la única variació en el procediment de preparació de patrons és la sonicació prèvia de les solucions estoc i la no utilització de HNO₃. Per a la resta del procés, la metodologia explicada amb anterioritat segueix sent vàlida.

3.5.2 Estudis d'estabilitat i tractament de les solucions de nanopartícules

En aquest treball no es disposava d'estudis previs de manipulació, tractament o emmagatzematge de dissolucions de AgNP, d'altre banda alguns dels treballs de la bibliografia indiquen la necessitat de dur a terme aquest tipus d'anàlisi^[4]. Així que els passos previs abans de tractar amb sòls van anar enfocats a com havia de ser la manipulació d'aquestes solucions. Una vegada es va tenir clar el procés a seguir per a la correcta preparació de les dissolucions es van provar diferents materials i condicions d'emmagatzematge, així com diferents maneres de transferir les solucions de nanopartícules.

Respecte les proves dels materials, una vegada les dissolucions de AgNP estaven preparades, es va dipositar la quantitat adequada de solució de AgNP en tubs de vidre (pyrex), poliestirè i polipropilè. Els diferents tubs van estar en agitació rotatòria durant 24 hores al laboratori (amb climatització a 22±2°C).

Per altre banda, per a les proves de manipulació, es van considerar dues opcions: la utilització de la pipeta de vidre per a dipositar solucions de AgNP o decantació directe d'aquesta. Amb les solucions de AgNP preparades, el procés va ser pipetejar amb una pipeta de vidre el volum adequat, mentre que per la decantació simplement es va decantar la quantitat corresponent de solució en els recipients adients.

Finalment, per a les proves d'emmagatzematge de les mostres, es van tenir en compte diferents aspectes: emmagatzematge a la nevera i al congelador. Després dels tractaments de manipulació adients les mostres van ser emmagatzemades a la nevera i analitzades al mateix dia, el dia posterior a l'experiment, i finalment, 6 dies després. Aquelles mostres emmagatzemades al congelador, van estar 6 dies congelades i al sisè dia es van deixar descongelar a temperatura ambient i es van analitzar.

Aquestes proves es van dur a terme perquè es sospitava que aquests tipus de processos podien afectar a l'estabilitat de l'analit, ja que algunes informacions indiquen que el procés de

congelació dona lloc a aglomeracions irreversibles de les NP^[8] i en quan el temps de contacte de la solució amb el tub a l'interior de la nevera, es volien descartar pèrdues de NP.

Per als estudis posteriors amb sòls, es coneixia la necessitat de la utilització de filtres com a tractament previ a l'anàlisi de la mostra. Per aquest motiu també es va determinar la recuperació de les nanopartícules després del procés de filtració. En aquest cas el procediment seguit va ser la utilització de xeringues d'ús únic per a agafar el volum adequat per filtrar, i seguidament es va filtrar aquest volum en un filtre d'acetat de cel·lulosa de 0'45µm de diàmetre de porus. Aquest procés es va dur a terme tant per les proves amb aquelles mostres que no havien estat emmagatzemades a la nevera, amb mostres que sí havien estat emmagatzemades a la nevera diferents dies i amb aquelles mostres emmagatzemades al congelador.

Per altra banda, una prova complementària que es va dur a terme va ser la recuperació de les AgNP de les parets dels tubs mitjançant àcid. Els motius d'aquesta prova s'expliquen més endavant en el treball, però tenen relació amb l'adsorció de les NP per part de les parets dels tubs utilitzats per fer els experiments. Per dur a terme aquest experiment, el primer pas va ser buidar els tubs de la solució de AgNP que contenien i netejar-los amb uns pocs mil·lilitres d'aigua MiliQ.

A continuació es van preparar dues solucions de HNO₃, de les concentracions adequades, i se'n va introduir el volum corresponent a cada una de les mostres mitjançant una pipeta de vidre. Les mostres es van separar segons el procés de recuperació escollit per a cada una d'elles: agitació rotatòria o bany d'aigua. En tots dos casos les condicions de treball van ser les mateixes per a totes les mostres. Una vegada transcorregut el temps establert es van analitzar les solucions mitjançant ICP-OES.

3.5.3 Estudis d'interacció de nanopartícules amb el sòl

Els estudis d'interacció entre nanopartícules de plata i els diferents sòls que s'han dut a terme en aquest treball són principalment dos: estudis cinètics i estudis d'equilibri. També es va dur a terme per duplicat la digestió dels sòls utilitzats en els estudis cinètics. Tots els estudis es van dur a terme en un laboratori climatitzat a una temperatura de 22±2°C.

Respecte als estudis cinètics, el procés experimental comença amb la preparació de les solucions de AgNP com s'ha explicat anteriorment. Una vegada preparades aquestes solucions, es van pesar les quantitats de sòl adequades en els tubs adients de poliestirè de 30mL, i a continuació es van addicionar els volums de la solució de nanopartícules de plata establert (amb l'ajut d'una pipeta de vidre). A més de les mostres amb sòl i solucions de AgNP, també es va preparar una mostra amb sòl però, que en aquest cas contenia H₂O MiliQ i no solució de AgNP. Aquesta mostra es va anomenar blanc del sòl.

La cinètica constava de 6 punts de recollida de mostra en diferents temps, així que es treballa amb una quantitat important de tubs i mostres, ja que cada punt es feia per duplicat i més la mostra del blanc del sòl també per duplicat.

Quan el sòl i la solució de AgNP ja havien entrat en contacte, es procedia a posar els tubs en agitació rotatòria durant els diferents temps establerts. Una vegada transcorregut aquest temps, es retiraven els tubs de l'agitador rotatori i es centrifuguen^[9] durant 8 minuts a 3.500 rpm.

Finalment, quan ha acabat el procés de centrifugació, se separa el sobrenedant del sòl, amb una pipeta Pasteur, i es guarda el sobrenedant a la nevera durant un màxim de 24 hores fins al

seu anàlisi. També es guarda a la nevera el sòl restant. Aquest sobrenedant s'haurà de sotmetre a un procés de filtració previ a l'anàlisi el mateix dia d'aquest.

Respecte el procediment dut a terme pels estudis d'equilibri de les nanopartícules, va ser el mateix que pels estudis de cinètica. En aquest cas però tan sols es posava en contacte una mostra (duplicada) per fer la recollida al temps corresponent. La resta de procés és el mateix que el descrit anteriorment en aquest apartat.

Per altre banda, es va dur a terme la digestió dels sòls mitjançant l'aparell de microones. Segons estudis previs^[10], les condicions de digestió òptimes per l'extracció de Ag dels sòls són les que s'explicaran a continuació.

El primer pas va consistir en recuperar els sòls dels experiment de cinètica (que han estat en contacte amb la dissolució de AgNP i emmagatzemats a la nevera) i es van posar a l'estufa perquè tingués lloc el procés d'assecatge de les mostres. La temperatura de l'estufa era de 65°C i les mostres es van deixar al seu interior durant 24 hores. Passat aquest temps, es van pesar els grams adients de mostra sòlida a l'interior dels reactors que s'utilitzarien en el procés de digestió.

A continuació es va addicionar aigua règia (HNO₃:HCl, relació 1:3)^[10] al reactor on hi havia dipositat el sòl. Seguidament es van tancar els reactors i es van col·locar en posició correcta dins l'aparell de microones i es va seleccionar el programa corresponent per a dur a terme la digestió. Aquest programa consta de 10 minuts on la temperatura augmenta de temperatura ambient a 200°C, seguit de 15 minuts a la mateixa temperatura i finalment un temps de refredament de uns 40 min.

Finalment, quan els reactors es van trobar a temperatura ambient, el contingut de l'interior es va sotmetre a filtració per gravetat, en un tub de poliestirè, mitjançant paper de filtre de cel·lulosa i es va utilitzar aigua MiliQ per assegurar la completa recuperació de la mostra. El tub on es va dipositar la mostra estava prèviament tarat, així que amb uns mil·lilitres d'aigua MiliQ es va acabar de preparar una dilució per pesada de la mostra, per posteriorment poder determinar el contingut total de plata. A més a més, aquest procés de dilució és ja adequat per a la mostra, ja que aquesta tenia un caràcter massa àcid i si no s'hagués diluït, el sistema de mostreig de l'aparell d'anàlisi s'hagués pogut malmetre.

Una vegada s'ha acabat l'etapa de digestió del microones, cal tenir en compte que cal repetir el mateix procés amb els reactors, anomenat procés de rentat, addicionant als reactors la mateixa barreja d'àcids, aquesta vegada però sense mostra de sòl, per tal de deixar nets els reactors que hem utilitzat per la següent usuari que els vulgui utilitzar.

3.5.4 Determinació de AgNP en mostres reals

En aquest treball les dues mostres reals amb les quals s'ha treballat són una tireta i un apòsit que s'utilitza en hospitals. Aquestes dues mostres es van triar perquè en els seus corresponents embolcalls indicaven la presència de plata. En primer lloc calia dur a terme una extracció de la plata de les dues mostres. Hi ha una gran varietat de processos d'extracció de metalls de mostres sòlides i cada un d'ells té un procés particular. En aquest treball es van seguir dos mètodes diferents de lixiviació (o extracció sòlid-líquid) amb petites variants; un anomenat TCLP^[11] (Toxicity Characteristic Leaching Procedure) i l'altre anomenat DIN 38414-S4^[12].

En el cas del mètode TCLP, és un mètode especificat en les normes de la EPA (USA Environmental Protection Agency) i aquest es basa en la utilització d'àcid acètic (CH₃COOH) pel

procés de lixiviació. En canvi, el mètode DIN 38414-S4 prové dels mètodes estàndards Alemanys (German Standard Method) i utilitza H₂O MiliQ com a extractant.

El primer pas comú per els dos processos, va ser tallar la tireta i l'apòsit en fraccions de 1cm², amb l'ajut d'un bisturí, i es va pesar 0'5g de mostra que es van dipositar en un tub de poliestirè.

Per aquelles mostres on s'hi va aplicar el mètode TCLP, aquest requeria d'un pas previ a l'addició de l'àcid, que consta de la mesura del pH en H₂O de la mostra. Si el valor del pH de la mostra és superior a 5, que és el cas de les nostres mostres, la dissolució d'àcid a utilitzar és CH₃COOH amb pH=2.88 ± 0'05.

Per altre banda, aquelles mostres on es va aplicar el mètode DIN 38414-S4 no va ser necessària la mesura de pH, ja que tan sols va ser necessari addicionar el volum corresponent d'aigua MiliQ pel procés d'extracció.

Una vegada complerts aquests passos, les mostres del mètode TCLP es van posar el agitació rotatòria durant 2 hores, el mateix temps que per les mostres amb el mètode DIN 38414-S4. Una vegada transcorregut aquest temps es van filtrar les mostres amb una xeringa i un filtre (0'45µm) d'un sol ús i es van analitzar.

3.5.5 Determinació del contingut de nanopartícules

En aquest treball la tècnica de mesura més utilitzat ha estat ICP-OES, però cal tenir en compte que en la bibliografia consultada fins el moment, la majoria de treballs determinen les analitzen les AgNP mitjançant ICP-MS.

Els dos instruments ICP-OES dels quals disposa el grup de recerca de Química Analítica i Ambiental de la Universitat difereixen en varis aspectes. L'instrument ubicat a la Facultat de Ciències (marca Variant) té un nebulitzador babington, amb una cambra de doble pas i mesura en posició radial, mentre que ICP-OES (marca Agilent) ubicat a la part dels STR del Parc tecnològic (Serveis Tècnics de Recerca), té un nebulitzador concèntric, una cambra ciclònica i és de doble visió de mesura, radial i axial.

En la bibliografia consultada, es detalla que la utilització de ICP-OES com a tècnica analítica requereix d'un procés de digestió previ de digestió^[4], així doncs un dels objectius era comprovar si es podia mesurar el contingut de plata total en forma de AgNP sense la utilització de la digestió.

Per tal de poder analitzar aquelles mostres que havien estat en contacte amb el sòl, quan aquestes es treien de la nevera, es deixaven a temperatura ambient durant aproximadament 15 minuts i posteriorment es filtraven (com s'ha explicat anteriorment). Finalment es posaven al bany d'ultrasons durant 5 minuts abans de dur a terme l'anàlisi. Per altre banda, es va utilitzar un estoc de plata iònica (Ag⁺) per a la preparació de patrons, un procés ja explicat en els corresponent apartat d'aquest treball.

Taula 4: Condicions de mesura per dels diferents instruments ICP-OES.

	ICP-OES Variant	ICP-OES Agilent
Potència (W)	1.000	1.200
λ (longitud d'ona)	328,068 i 338,289	328,068 i 338,289
Temps de lectura (s)	1	1
Velocitat bomba (rpm)	15	12
Flux plasma (L/min)	12	12
Temps estabilització (s)	15	20
Visió	Radial	Axial (doble visió)
Replicats per mesura	3	3
Nebulitzador	Babington	Concèntric
Cambrà	Doble pas	Ciclònica

Les condicions d'anàlisi amb les quals es van dur a terme les mesures, tan amb l'ICP-OES Variant (Facultat de Ciències) com amb l'ICP-OES Agilent (Serveis Tècnics de Recerca), es presenten a taula 4.

Pel que fa a les mesures mitjançant SP-ICP-MS, no es varen dur a terme anàlisis quantitatives, sinó anàlisis qualitatives, ja que tan sols s'utilitzaran els resultats per a comparacions de gràfics en funció del temps i de histogrames. Per aquest motiu es van preparar patrons amb una concentració aproximada de 1ppb de les diferents nanopartícules, així com també de Ag⁺.

Les mesures es van dur a terme seguint la bibliografia consultada ^[7,13]. En la taula 4 s'especifiquen les condicions de mesura per els anàlisis de SP-ICP-MS.

Taula 5: Condicions d'anàlisi mitjançant SP- ICP-MS.

	ICP-MS Agilent 7500 C
Potència (V)	1550
Massa mesurada	107 i 109
Temps d'adquisició de mesura (ms)	10
Temps de lectura (s)	60
Temps estabilització (s)	20
Velocitat bomba (rpm)	12
Flux de plasma (L/min)	15
Nebulitzador	Babington
Cambrà	Doble pas

Respecte el procediment per l'anàlisi de nanopartícules de plata amb TXRF (fluorescència de raig-X per reflexió total), comença amb els mateixos passos que per ICP-OES, ja que les mostres s'han de filtrar i posteriorment ultrasonar, així com els patrons de nanopartícules.

A continuació és pren un volum de 0'5 mL de mostra i s'introdueix en un eppendorf juntament amb 50 μ L de una dissolució de Pd (patró intern). Seguidament, es vorteja la mostra, durant aproximadament un minut, per tal que aquesta sigui homogènia, i en acabat s'ultrasona novament durant 5 minuts. Una vegada transcorregut aquest temps la mostra es vorteja per última vegada.

Amb el reflector (placa de vidre de forma rodona de pocs centímetres de diàmetre i aproximadament mig mil·límetre de gruixudària) fixat en una peça que el subjecte, es diposita la quantitat corresponent de silicó (amb l'ajuda d'una micropipeta) al centre del reflector i

aquesta s'asseca amb l'ajuda d'una làmpada d'IR (infraroig). La utilització d'aquesta silicona permet la fixació posterior de la mostra. Una vegada la silicona està seca, es pren el volum de mostra adient i es diposita novament al centre del reflector, a sobre de la silicona seca, i s'asseca amb la mateixa làmpada. Una vegada realitzats tots aquest passos ja tenim els reflectors a punt per a l'anàlisi.

4. Resultats i discussió

4.1 Determinació del contingut de plata de nanopartícules mitjançant ICP-OES

Com ja s'ha comentat anteriorment, el més habitual és analitzar les AgNP mitjançant ICP-MS, malgrat que segons la bibliografia consultada també es podrien analitzar aquestes nanopartícules amb ICP-OES. Cal tenir en compte que amb aquesta última tècnica la mesura que es du a terme és de plata total, sense tenir la possibilitat de saber si és AgNP o Ag^+ . El primer repte doncs era comprovar si es podien analitzar amb ICP-OES les solucions de AgNP.

El grup de recerca de QAA (Química Analítica i Ambiental) té a l'abast la utilització de dos equips ICP-OES, un ubicat a la Facultat de Ciències (visió radial) i l'altre als STR (doble visió). A priori l'aparell dels STR hauria de obtenir millors resultats de mesura, ja que ens ofereix la possibilitat de mesurar en axial i té un sistema de detecció és de transferència de càrrega. Aquest sistema de detecció proporciona millor sensibilitat i la possibilitat de treballar a concentracions més baixes (ppb) gràcies a que proporciona uns LOD (Límit de Detecció) més baixos en comparació amb la mesura amb l'aparell radial, on la sensibilitat i els LOD són menors i per tant suposa una limitació quan es mesura a baixes concentracions, com serà el nostre cas.

Així doncs, el primer experiment per poder corroborar si es podia quantificar amb ICP-OES la plata total provinent de una solució de AgNP sense un procés previ de digestió i amb patrons preparats a partir d'una solució de plata estàndard (a partir de AgNO_3), va consistir en preparar diferents mostres que contenen concentracions de AgNP diferents i analitzar-les en els dos aparells de mesura dels quals disposava.

En aquesta primera prova, les AgNP escollides van ser les dues en medi citrat. Per aquesta prova es van preparar solucions (AgNP citrat de 40 i 100nm) de diferents concentracions (150 i 1200 ppb), per duplicat i sense ús de solució intermèdia. Les mostres (volum de 10 mL) es van dipositar en tubs de poliestirè i l'anàlisi d'aquestes es va dur a terme el mateix dia. A més a més es van filtrar algunes de les mostres per tal de comprovar si aquest procés tenia algun efecte sobre la mesura de la mostra.

Taula 6: Recuperacions obtingudes amb els dos instruments de ICP-OES per a diferents solucions de AgNP. Les mostres amb la lletra F fan referència a aquelles mostres que han estat filtrades.

Mostra	[AgNP] (ppb)	ICP-OES 5100 axial		ICP-OES Liberty radial	
		% Recuperació	Des. Est.	% Recuperació	Des. Est.
AgNP 40nm	150	99,3	0,1	107,7	1,2
AgNP 100nm	150	106,5	0,1	103,4	4,5
AgNP 40nm	1200	90,9	0,8	114,1	1,9
AgNP 100nm	1200	96,4	0,2	106,5	0,3
AgNP 40nm F	1200	106,6	0,2		
AgNP 100nm F	1200	94,0	0,1		

Valors: mitjana (n=2)

Els resultats ens mostren que per a les dues mides de AgNP, i també per aquelles mostres filtrades, les recuperacions de l'analit són bones. Cal tenir en compte que hi ha un cert error en la mesura, que pot ser degut la preparació de la mostra i també al fet que les solucions de nanopartícules no són solucions estàndards.

D'aquestes dades doncs en podem concloure que, si l'anàlisi es du a terme al mateix dia que la preparació de la mostra, amb aquest tipus d'instrument, es possible quantificar plata provinent de les AgNP, sense necessitat d'una digestió prèvia.

A la vista dels resultats obtinguts es va decidir utilitzar l'ICP que ens oferia la possibilitat de mesura en posició axial (situat als STRs), ja que aquest aparell ens proporciona més sensibilitat i un LOD més baix a diferència de l'ICP òptic de la facultat que treballa en posició radial.

Una vegada escollit l'aparell, es va voler comprovar si algunes de les manipulacions que es duen a terme a les dissolucions de les AgNP durant el procés experimental tenen algun efecte sobre la mesura d'aquestes. Així doncs les manipulacions que es van considerar van ser les de la utilització de la pipeta de vidre per a traspasar volums en comparació, la decantació directe de la solució com a alternativa. El motiu d'aquestes proves recau en la poca informació sobre el tractament d'aquestes nanopartícules en els procediments experimentals estudiats en la bibliografia, així com la poca experiència en el grup de recerca de QAA.

En aquest cas, les condicions experimentals van ser les següents: concentració de AgNP en les dissolucions de 200 ppb, 10mL de dissolució (les mostres pipetejades i decantades adequades) i analitzar les mostres el mateix dia. A més a més, es va comprovar la determinació del contingut de plata de les mostres de AgNP en medi citrat de 40 i 100 nm i complementàriament les AgNP amb medi de PVP i PEG (totes dues de mida de 100nm). Totes les mostres es van preparar per duplicat. També es va aprofitar per corroborar que el procés de filtració no tenia afectació pel que fa a pèrdua de l'analit per a cap de les nanopartícules estudiades.

Taula 7: Recuperacions obtingudes amb ICP-OES després de diferents manipulacions i filtracions.

	Pipetejades	Decantació	Pipetejar + filtració	Decantació + filtració
Mostra AgNP	% Recuperació	% Recuperació	% Recuperació	% Recuperació
40 nm	93,5 ($\pm 1,7$)	91,8 ($\pm 2,1$)	93,4	94,5
100 nm	95,6 ($\pm 4,6$)	95,0 ($\pm 0,5$)	93,4	95,6
100 nm PEG	98,7 ($\pm 1,1$)	92,5 ($\pm 1,4$)	96,8	94,6
100 nm PVP	110 ($\pm 2,2$)	111,7 ($\pm 0,6$)	99,9	91,8

Valors: mitjana (\pm SD)

Novament, si l'anàlisi es duu a terme al mateix dia, es pot observar com els resultats de recuperacions en tots els casos són bones (cal tenir en compte que aquestes solucions de AgNP nos són solucions patró), tant amb les manipulacions de pipetejar o decantar i amb posterior filtració o no.

4.2 Estudis d'estabilitat de les nanopartícules

Fins el moment, les mostres sempre han estat mesurades el mateix dia. Però al haver-hi poca informació sobre l'estabilitat i les condicions d'emmagatzematge de les AgNP, un dels apartats del treball es basa en resoldre aquest tipus de dubtes sobre l'estabilitat. Per exemple l'estabilitat d'aquestes nanopartícules al llarg del temps d'emmagatzematge, ja que no sempre seria possible realitzar l'anàlisi al mateix dia, o segons els materials que es poguessin utilitzar per a dipositar aquest analit.

En primer lloc es va avaluar quin era el millor material dels recipients per tal que les nanopartícules es mantinguessin estables. Al laboratori es disposa de tres tipus de tubs on es podien dur a terme aquestes proves: tubs de vidre (pyrex), poliestirè i polipropilè.

L'experiment es va dur a terme amb un volum de 20mL de concentració 200 ppb (AgNP medi citrat 40nm) mitjançant una dissolució intermèdia de concentració 2 ppm. Aquests tubs es van sotmetre a 24 hores d'agitació rotatòria a una temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Les mostres es van

prepara per duplicat. Una vegada transcorregut aquest temps es van analitzar les mostres mitjançant ICP-OES.

Taula 8: Recuperacions de nanopartícules en diferents materials.

Mostra	% Recuperació	Des. Est.
Poliestirè	68,3	4,2
Polipropilè	71,5	4,3
Vidre	69,2	0,1

Valors: mitjana (n=2)

Els resultats obtinguts de l'experiment es poden veure en la Taula 5, i es pot apreciar com cap dels tres materials supera un 72% de recuperació de l'analit. La primera conclusió doncs és que hi ha hagut una pèrdua d'analit, d'aproximadament un 30%. Amb les condicions en les quals s'ha dut l'experiment, si les AgNP no es troben en la solució analitzada, llavors es lògic pensar que s'hagin adsorbit en les parets el tub.

La segona conclusió seria que pràcticament no hi ha diferències significatives entre les recuperacions dels diferents materials. Amb aquesta situació doncs, es va decidir escollir el poliestirè com a material de treball per dos motius principals: per la seva facilitat d'utilització (material un sol ús) i per el preu del material, més barat que el polipropilè o el vidre.

Així doncs, es va dissenyar un experiment per tal de comprovar si efectivament les AgNP podien quedar adsorbides a les parets dels tubs de poliestirè. Els tubs de poliestirè que es van utilitzar per aquest experiment es van deixar rodant durant 24 hores en el laboratori sota condicions de climatització a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, i contenien 10mL de dissolució de 1ppm de AgNP. Una vegada transcorregut aquest temps, la solució de AgNP es va analitzar amb ICP-OES.

Els tubs, una vegada analitzada la solució de AgNP, es van buidar i esbandir amb uns pocs mil·lilitres de H_2O MiliQ i finalment es van posar en contacte amb 10 mL HNO_3 de concentració 3 i 5 M. A més a més, es van provar dos mètodes de contacte: agitació rotatòria i bany d'aigua a 65°C , tots dos mètodes amb un temps de 24 hores. Finalment, transcorregut aquest temps es va mesurar la solució àcida que contenien els tubs.

Per tal de calcular el percentatge de recuperació, el primer a tenir el compte és que la concentració total per a calcular el percentatge de recuperació prové de dues determinacions diferents. La primera determinació és de la solució de AgNP que han estat en agitació rotatòria i la segona determinació és de la solució àcida amb la qual s'han extret les AgNP de les parets dels tubs. Així doncs, el percentatge de recuperació es calcula amb la concentració total de plata (de les dues determinacions) respecte les AgNP que hi havia inicialment.

Taula 9: Recuperacions finals de les proves amb àcid. [Ag]1= concentració Ag^+ en la solució en agitació rotatòria; [Ag]2= concentració Ag^+ en la solució àcida; [AgNP]t= concentració solució AgNP inicial.

Tractament	[HNO_3] (M)	[Ag]1 (ppb)	[Ag]2 (ppb)	[AgNP]t (ppb)	% Recuperació	Des. Est.
Bany aigua	3	558,8	274,7	1002,3	83,2	13,6
Agitació	3	428,0	505,1	1002,3	93,1	1,6
Bany aigua	5	281,2	434,7	999,9	71,6	18,3
Agitació	5	211,3	846,6	999,9	105,8	15,2

Valors: mitjana (n=2)

Observant els resultats obtinguts, es pot veure com la hipòtesis que s'havia pronosticat és certa, ja que analitzant Ag^+ de la solució inicial (AgNP) i de la solució àcida s'obtenen uns valors de recuperació acceptables, per tant, es recupera, en bona part, la plata. Es pot apreciar també

com amb el tractament amb agitació rotatòria s'obtenen uns valors de recuperació millors que no amb el bany d'aigua.

Una vegada estudiada l'estabilitat en l'agitació de les mostres, es va voler estudiar l'estabilitat de l'analit si aquest es dipositava a la nevera o al congelador a l'espera de l'anàlisi (sense agitació rotatòria). A més a més també es van dipositar unes mostres al congelador que es van descongelar al cap de sis dies i es van analitzar.

Els resultats es mostren a la Figura 4:

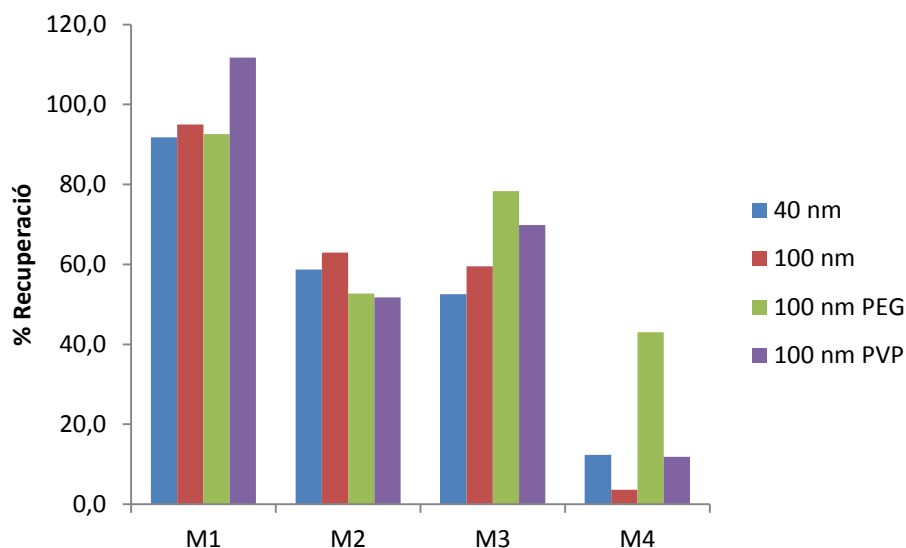


Figura 4: Recuperacions de les diferents mesures d'estabilitat de les solucions. M1= anàlisi al mateix dia; M2= anàlisi després de 6 dies a la nevera; M3= anàlisi de mostres congelades; M4= anàlisi de mostres congelades i filtrades.

Podem concloure dels resultats obtinguts, que les recuperacions es veuen afectades pel pas del temps quan les mostres estan emmagatzemades. Aquelles mostres que han estat 6 dies a la nevera, de manera general, podem afirmar que les recuperacions han disminuït de mitjana un 40% respecte l'anàlisi dut a terme el mateix dia. Per altre banda, tenim una disminució semblant en les mostres que han estat al congelador, respecte aquelles mostres no congelades i analitzades al mateix dia.

Finalment, el resultat més sorprenent el trobem en aquelles mostres que han estat al congelador i que s'han filtrat abans de l'anàlisi. En aquest cas les recuperacions, de mitjana, han disminuït un 90%, excepte les de superfície de PEG. Habitualment quan es congela la mostra s'acostumen a aturar els processos que s'estan succeint en la solució, malgrat això novament el comportament de les nanopartícules surt del habitual i durant el procés de congelació és possible que aquestes formin agregacions de partícules de mida més gran i que al filtrar-les no superin el filtre.

Per aquest motiu es veuria una disminució tan accentuada en les recuperacions, a excepció de les AgNP de PEG, on la disminució és d'aproximadament un 50% respecte les mostres mesurades al mateix dia i sense congelació. Una possible explicació podria provenir de la superfície d'aquesta AgNP en particular, ja que segons la descripció del fabricant d'aquestes AgNP, la superfície de PEG (polietilenglicol) proporcionaria una excel·lent dispersió en medi aquós, i per tant és probable que s'aglomerin amb més dificultat que la resta de AgNP.

Cal destacar també, que es va dur a terme una prova d'estabilitat a 24 hores a la nevera amb una mostra en un tub de poliestirè amb 10mL de solució de concentració 1 ppm de AgNP en medi citrat de 100nm. Els resultats obtinguts van ser de una recuperació del $104,6 \pm 1,2\%$, demostrant així que es poden dur a terme anàlisis quantitius de la mostra 24 hores després de la preparació d'aquesta.

4.3 Estudis interacció amb el sòl

El principal objectiu d'aquest treball és l'estudi de la interacció de les nanopartícules amb el sòl. En aquest treball es disposa de quatre sòls amb característiques físiques i químiques diferents i de fins a cinc tipus de AgNP diferents. Així doncs es van dur a terme estudis cinètics, càlcul del balanç de massa, estudis d'equilibri i estudis de comparació de comportament entre tots els sòls i les AgNP.

4.3.1 Estudis cinètics

El primer pas dels estudis d'interacció amb el sòl és l'estudi cinètic de l'adsorció de les nanopartícules en els diferents sòls. Les condicions de treball d'aquest experiment van ser les següents: es va dipositar un gram de sòl que es va posar en contacte amb 20 mL de dissolució 10ppm de AgNP PVP 75nm. L'experiment es va dur a terme en un laboratori climatitzat a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Els temps d'agitació rotatòria de la barreja de sòl i solució de AgNP van ser de 10, 20 i 30 minuts i 1, 2 i 4 hores. Tots els experiments es van realitzar per duplicat.

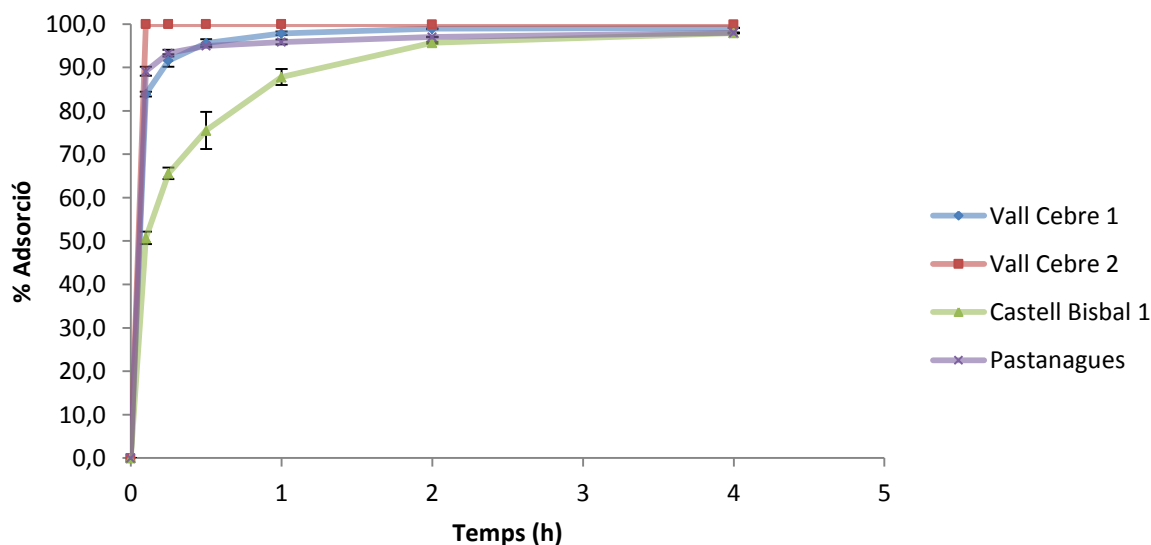


Figura 5: Representació dels diferents estudis cinètics. En l'eix d'abscisses es representa el temps de contacte i en l'eix d'ordenades es representa l'adsorció de les AgNP en el sòl.

Observant els resultats obtinguts sobre les cinètiques amb diferents sòls, es pot observar com les tendències d'adsorció varien en funció del sòl. El sòl de Vall Cebre 2 és el que té, amb diferència, una adsorció més ràpida, mentre que el de Castell Bisbal és el que presenta una adsorció més lenta. Els dos sòls restants, el de Vall Cebre 1 i el de l'hivernacle de les pastanagues són els que tenen un comportament més semblant.

Es pot concloure doncs que, excepte el sòl de Castell Bisbal 1, l'adsorció de AgNP és molt ràpida i a més a més eficient i també es pot observar en tots els casos com, un cop

transcorregudes 2 hores ja s'ha assolit l'equilibri en tots els sòls arribant a valors d'adsorció molt propers al 100%.

Si ens fixem amb les distribucions de mida de partícula dels sòls (apartat de sòls estudiats), es pot veure clarament com aquells sòls amb un percentatge més gran de mida de partícula més petites, com el cas del sòl de Castell Bisbal, són aquells sòls que té una cinètica més lenta. Aquests resultats són inesperats, donat que la mida més petita implica una major superfície de contacte. Per tant probablement aquest no sigui el factor predominant en aquesta cinètica.

Per altra banda, el sòl que presenta una cinètica més ràpida (Vall Cebre 2) coincideix amb el sòl que té una major conductivitat elèctrica, i aquest fet, juntament amb la capacitat de bescanvi iònic podrien explicar aquestes diferències, tenint en compte que la superfície d'aquestes nanopartícules segons el fabricant estan carregades negativament.

4.3.2 Digestió dels sòls

Tenint en compte els resultats dels experiments de cinètica anteriors, es va suposar que es du a terme un procés d'adsorció de les AgNP per part del sòl, ja que l'anàlisi de la solució sobrenedant que havia estat en contacte durant 4 hores amb el sòl pràcticament no contenia plata. Així doncs la resta de AgNP (o de plata si aquesta s'ha fraccionat) hauria de trobar-se al sòl o a les parets del tub on s'hi ha dipositat la mostra.

La hipòtesis va ser que, en presència de sòl, les AgNP tinguessin més afinitat pel sòl que no per a les parets dels tub. Per tal de corroborar aquest fet, es va dur a terme el balanç de massa, a través de la digestió dels sòls de les cinètiques que havien estat en contacte amb les solucions de AgNP.

Les mostres utilitzades per realitzar aquest estudi van ser les mostres de l'últim temps de les proves de cinètica, és a dir, aquelles mostres de sòl que havien estat en contacte amb la solució de AgNP durant 4 hores. A més a més també es van mesurar unes mostres de sòl que havien tingut el mateix tractament de cinètica però que estaven en contacte amb H₂O MilliQ. Es van pesar 0'5g de sòl sec al reactor (cada mostra per duplicat) i s'hi van addicionar 12mL d'aigua règia ^[10]. Una vegada finalitzat el procés de digestió al microones es van diluir les mostres i es van analitzar mitjançant ICP-OES.

Taula 10: Resultats recuperació de les digestions dels sòls de Vall Cebre 1 i 2.

Mostra	Ag sòl (µg)	Ag inicial (µg)	% Recuperació	Des. Est.
Vall Cebre 1	8,5	9,9	85,9	20,9
Blanc VC1	<LOD	-	-	-
Vall Cebre 2	10,7	10,0	107,0	20,1
Blanc VC2	<LOD	-	-	-

Valors: mitjana (n=2)

Amb els resultats obtinguts podem afirmar que la hipòtesi inicial s'ha complert, i per tant es pot afirmar que aquella plata, o nanopartícula de plata, que no es troba al sobrenedant es troba majoritàriament adsorbida al sòl i no a les parets dels tubs. Malgrat que les desviacions dels resultats són altes, cal tenir en compte que la mostra és molt heterogènia i pateix un procés llarg i complex (cinètica i digestió) i, per tant, els resultats obtinguts del balanç de massa es poden considerar acceptables.

4.3.3 Estudis d'equilibri

Per tal de poder comparar els diferents comportaments entre els diferents tipus de nanopartícules de plata i diferents sòls, es van realitzar uns estudis preliminars que van consistir en determinar una ratio sòl/solució (volum i concentració) adequada per poder treballar correctament amb l'instrument de mesura.

En primer lloc es va fixar el volum i la concentració de la dissolució AgNP utilitzada en aquest experiment en 10 mL i 1 ppm (AgNP medi citrat 100 nm de diàmetre), i es van provar diferents quantitats de sòls. Tots els estudis d'estabilitat es van dur a terme en un laboratori climatitzat a una temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$. El sòl utilitzat va ser l'anomenat Hivernacle de les Pastanagues i el temps d'agitació rotatòria va ser de 2 hores (temps necessari per assolir l'equilibri).

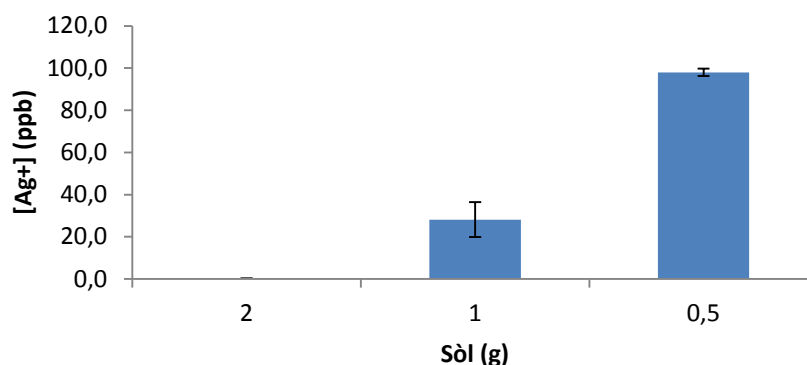


Figura 6: Resultats de concentració de plata determinada mitjançant ICP-OES (després d'un temps de contacte de 2h amb el sòl), amb volum i concentració fixes de AgNP per diferents quantitats de sòl.

Observant els resultats obtinguts, les millors condicions en que es podien dur a terme les mesures de la solució, per tal d'obtenir l'error més petit possible i per poder obtenir el màxim de senyal de la solució, han estat les de 0'5 g de sòl. Aquests resultats ja eren previsibles, ja que com més quantitat de sòl hi hagi en contacte amb la solució de AgNP major serà l'adsorció de les AgNP i per tant el senyal de plata en solució serà menor.

Amb la quantitat de sòl de 0'5 g i amb 10 mL de dissolució 1 ppm es va aconseguir mesurar una quantitat acceptable de plata en dissolució per fer els estudis d'equilibri. Per tant aquesta quantitat de sòl seria la escollida per dur a terme els experiments d'equilibri.

Una vegada es va escollir la quantitat de sòl pels estudis de estabilitat, per acabar de trobar les condicions experimentals, es van dur a terme diferents proves per a la determinació del volum de solució i la concentració de les solucions de AgNP.

En aquest experiment es van provar els volums de 10, 15 i 20 mL i les concentracions de 1, 5 i 10 ppm. En aquest cas però, degut al elevat volum de dissolució de AgNP de superfície citrat que s'hagués requerit per assolir aquestes concentracions, es va prendre la decisió de seguir l'experiment amb les AgNP de PVP de 75nm de diàmetre, donat que es disposava d'una solució estoc més concentrada.

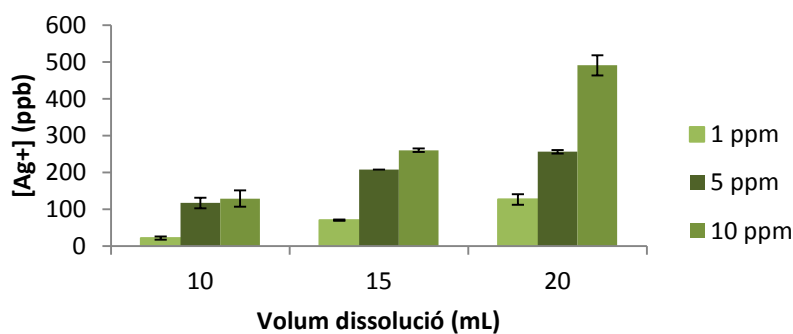


Figura 7: Resultats de concentració de plata en la solució sobrenedant determinada mitjançant ICP-OES. Resultats utilitzant 0'5g de sòl per a totes les mostres.

Observant la figura 7, es pot apreciar com el resultat més alt de concentració de plata en solució és la mostra amb 20 mL de concentració 10 ppm. Aquest resultat era pronosticable, ja que com més volum i més concentració hi hagi en la solució un cop assolit l'equilibri més plata en solució es trobarà al sobrenedant. Aquest mateix raonament serveix per a la resta de mostres. També es pot veure com de manera general l'efecte del volum té una tendència més significativa que no la concentració.

Tot i que les concentracions a l'equilibri augment amb la concentració inicial i el volum, en cap cas s'ha arribat a la saturació del sòl, doncs la quantitat de plata adsorbida per gram de sòl augmenta de manera important.

Finalment doncs, la conclusió a la qual es va arribar va ser que les condicions escollides per a realitzar els estudis comparatius posteriors, serien les de 0'5 g sòl i 20 mL de solució de concentració 1 ppm de plata en forma de AgNP. Malgrat no ser les condicions amb les quals es va obtenir més senyal de plata, es va escollir aquesta opció perquè en la preparació de dissolucions amb concentracions de 5 i 10 ppm es consumia una gran quantitat de dissolució estoc, i a més l'interval de concentracions amb les condicions escollides ja és un interval adequat per apreciar diferències entre les diferents mesures.

4.3.4 Comparació de l'adsorció de les diferents nanopartícules en sòls

Així doncs, una vegada establertes les condicions de treball pels experiments de comparació, es va procedir a estudiar l'adsorció de les diferents nanopartícules en els diferents sòls. Les AgNP estudiades van ser les de medi de citrat de 100nm, les AgNP de 100nm de diàmetre de medi de PVP i PEG, i finalment les de medi de PEG de mida de diàmetre 75nm. Totes elles es van provar amb els quatre tipus de sòls: Vall Cebre 1 i 2, Castell Bisbal i Hivernacle de les pastanagues. Totes les mostres es van analitzar per duplicat.

En la figura 8 es mostren els resultats per a les proves de comparació de l'adsorció de les diferents nanopartícules en els diferents sòls:

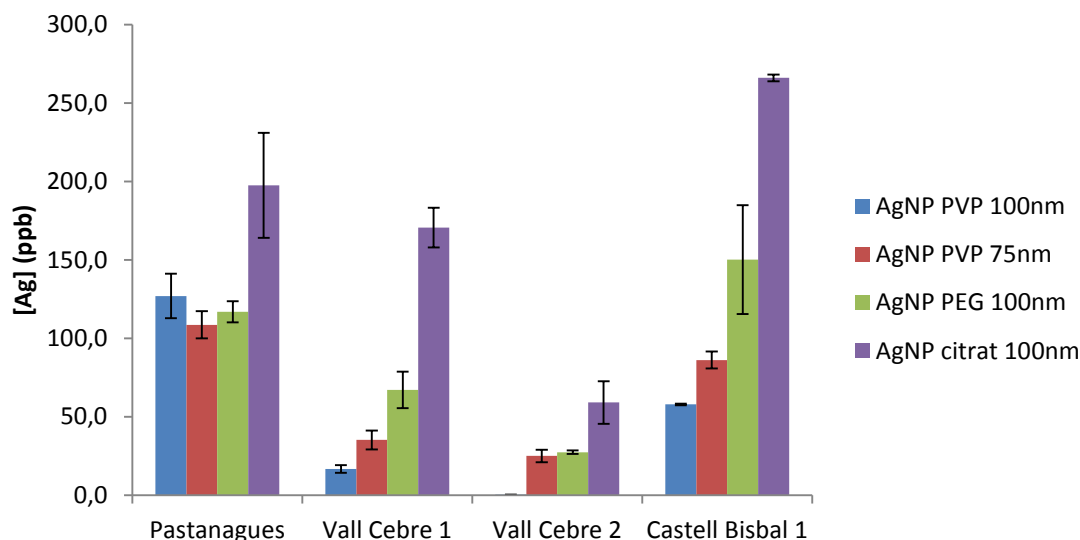


Figura 8: Resultats d'adsorció de AgNP en el diferents sòls. Condicions experimentals: 0'5g sòl i 20mL de dissolució AgNP 1ppm. Mostres en agitació rotatòria durant 2 hores.

Els resultats obtinguts ens mostren clarament les tendències dels diferents sòls amb les diferents AgNP. La primera gran conclusió és que el sòl de Vall Cebre 2 és el sòl que més adsorbeix les nanopartícules, de qualsevol mida i medi, ja que s'han obtingut els valors més baixos de concentració de plata. A continuació s'hi situaria el sòl de Vall Cebre 1, amb uns valors semblants als de Vall Cebre 2, excepte per les AgNP en medi de citrat. Seguidament, trobaríem el sòl de Castell Bisbal i finalment el sòl del Hivernacle de les Pastanagues.

Una altra conclusió destacable seria que les AgNP en medi de citrat són les que menys s'adsorbeixen en tots els sòls, mentre que per aquelles que tenen una superfície recoberta, la que menys s'adsorbeix són les AgNP amb superfície de PEG de diàmetre 100 nm. En línies generals es pot observar com les AgNP PVP 100 nm són les més adsorbides, seguides per AgNP PVP 75 nm, tot i que en algun sòl les diferències no són significatives.

Si s'observen amb deteniment els sòls de Castell Bisbal i de l'Hivernacle de les Pastanagues, s'observen unes adsorpcions menors en comparació amb els altres dos sòls, tot i que el comportament és desigual per a les diferents nanopartícules entre els dos sòls en qüestió, ja que pel sòl de l'Hivernacle de les Pastanagues, les AgNP en medi PVP tan per mida de diàmetre de 75 i 100nm tenen uns valors molt propers a les AgNP de PEG 100nm. Això no succeeix amb el sòl de Castell Bisbal, on les AgNP PVP de 75 i 100nm són més adsorbides que les de PEG. Cal tenir en compte que el sòl és una matriu heterogènia molt complexa i que en algunes ocasions en els resultats es poden observar controvèrsies evidents.

Malauradament no s'ha aconseguit determinar una correlació clara entre l'adsorció i la distribució de la mida de partícula. Podem afirmar però que el sòl de Vall Cebre 2 és aquell que més adsorbeix, que coincideix amb el sòl que té una conductivitat elèctrica més elevada.

4.4 Comparació de diferents tècniques instrumentals (ICP-OES i TXRF)

En el mateix grup de recerca on he realitzat el meu treball, hi ha uns altres investigadors que també treballen amb AgNP però que utilitzaven la tècnica de fluorescència de raig-X per reflexió total (TXRF) per la determinació de les nanopartícules.

Per tal de poder fer un estudi de comparació entre les dues tècniques de mesura, es va dur a terme un experiment i es van analitzar les mostres amb les dues tècniques de mesura. L'experiment escollit per a la comparació va ser un estudi cinètic. Les condicions de treball per aquest cinètica van ser: 1g sòl Hivernacle de Pastanagues i 20mL de dissolució AgNP PVP 75nm de 10ppm. Els temps de presa de mostra es van acordar a 10,20 i 30 minuts i 1, 2, 4 i 6 hores. L'experiment es va dur a terme en un laboratori climatitzat a una temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$.

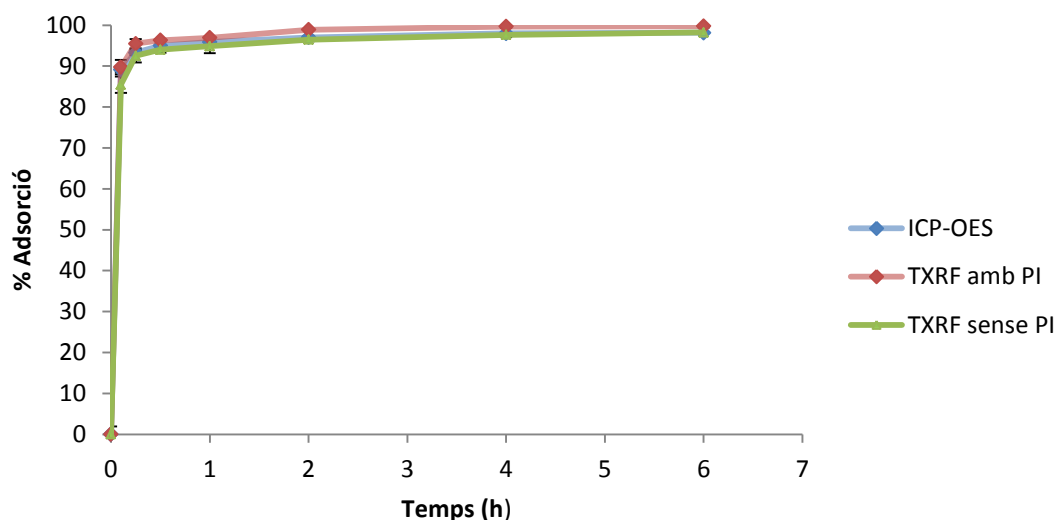


Figura 9: Resultats experiment de cinètica amb comparació dels valors d'adsorcions amb ICP-OES i TXRF amb i sense patró intern (Pd).

Observant els resultats obtinguts podem concloure que no hi ha diferències significatives entre les dues tècniques de mesura, ja que els resultats són pràcticament els mateixos, per tant tant la tècnica de ICP-OES com la de TXRF es poden considerar vàlides per a l'anàlisi de la plata en solució provinent de AgNP.

4.5 Anàlisi de nanopartícules mitjançant ICP-MC pel mètode de la partícula aïllada (SP-ICP-MS)

Una de les parts més interessants del treball pel que fa a tècnica analítica i al tractament de dades es troba en aquest apartat. Com s'ha explicat en la introducció és una mètode de mesura recent.

Cal esmentar que en el procés previ de mesura per SP-ICP-MS van tenir lloc bastants problemes amb l'instrument, i aquest fet va retardar molt el dia dels anàlisis de les mostres, fins el punt d'haver de repetir els processos experimentals fins a tres vegades, fins que finalment algunes d'elles es van poder analitzar en unes condicions òptimes. Els problemes amb l'instrument van ser múltiples: obturació, problemes de sensibilitat, soroll de, entre d'altres.

Finalment algunes mostres es van poder analitzar, per exemple mostres de Ag^+ , AgNP 75nm amb recobriment de PVP, una mostra que havia estat en contacte amb el sòl i gairebé la totalitat de mostres de AgNP . Totes les mostres i patrons tenien una concentració aproximada d' 1 ppb de plata.

En el mètode SP-ICP-MS el més habitual és representar els resultats en forma d'un gràfic on es representa la intensitat (comptes) vs temps (s) o en forma d'histograma, on es pot representar el nombre de pics vs l'intensitat (comptes).

Per a la mostra de Ag^+ (Figura 10) es pot observar com el senyal en funció del temps té uns valors constants (amb el corresponent soroll associat) i diferents a zero. Aquest fet concorda amb els exemples que s'han trobat a la bibliografia^[7] sobre mostres que contenen plata en solució, ja que com s'ha explicat anteriorment, aquesta mostra correspon a una solució on els àtoms de plata estan dispersos de manera homogènia donant lloc a un senyal continu.

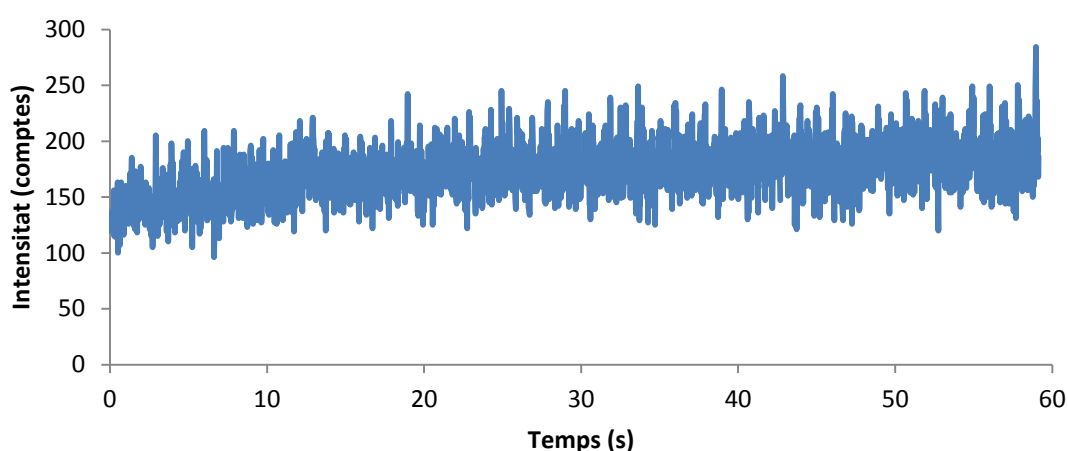


Figura 10: Gràfic de senyal en funció del temps mitjançant SP-ICP-MS de mostra Ag^+ .

Així doncs, l'histograma corresponent a aquesta mostra hauria de tenir un únic pic al voltant de la zona dels 170 comptes, ja que és el valor mig del senyal de comptes d'aquesta mostra de plata.

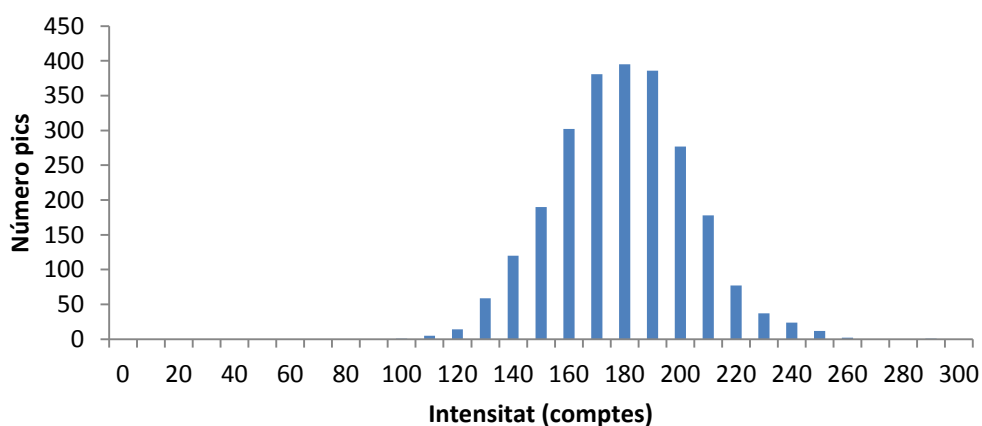


Figura 11: Histograma SP-ICP-MS per la mostra de Ag^+ .

I efectivament això és el que succeeix, es pot veure en la figura 11 com es forma clarament un únic pic d'intensitats al voltant dels 170 comptes, corroborant així la hipòtesis pronosticada. Quan es va analitzar la mostra de AgNP però aquests fets canvien radicalment. La solució de nanopartícules és una solució amb elements distribuïts de forma discreta i aquest fet és clau per a l'entesa de l'espectre i de l'histograma.

En aquest cas l'espectre hauria de tenir un senyal de fons molt proper a 0 comptes i tan sols s'haurien de veure senyals de pics corresponents a les nanopartícules.

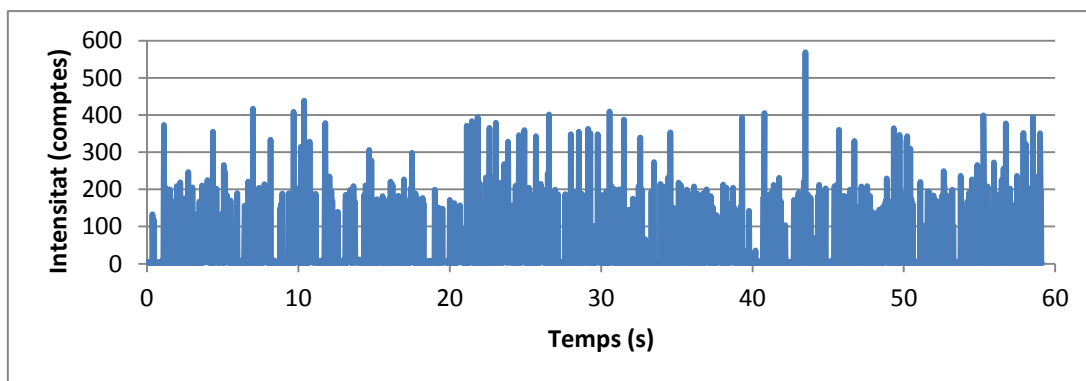


Figura 12: Gràfica en funció del temps de SP-ICP-MS, mostra AgNP PVP 75nm concentració 0'2 ppb.

Com es pot observar en la figura 12, els resultats obtinguts ens permeten apreciar els pics de les nanopartícules. Novament aquests espectres s'assemblen als consultats en la bibliografia^[7], així que podem concloure que s'ha pogut dur a terme correctament l'anàlisi qualitatiu de mostres de AgNP. Tots els altres tipus de nanopartícules analitzades donaven espectres molt similars a aquest.

Una altra gran diferència entre SP-ICP-MS de la plata en solució i les nanopartícules de plata està en l'histograma. En aquest cas es poden apreciar dos pics, el primer a valors molt propers a zero, fet que indica que hi ha una gran quantitat de senyals de intensitat molt propera a zero, mentre que el segon té una forma molt més eixamplada i es troba a la part dreta de l'histograma on hi ha els valors alts d'intensitats.

Aquest fet característic de l'histograma AgNP de 75 nm (Figura 14), coincideix perfectament amb les dades bibliogràfiques trobades, on també es poden apreciar aquests dos pics (figura 3 gràfic D). Per tant podem afirmar que els resultats obtinguts per aquest experiment són similars als bibliogràfics.

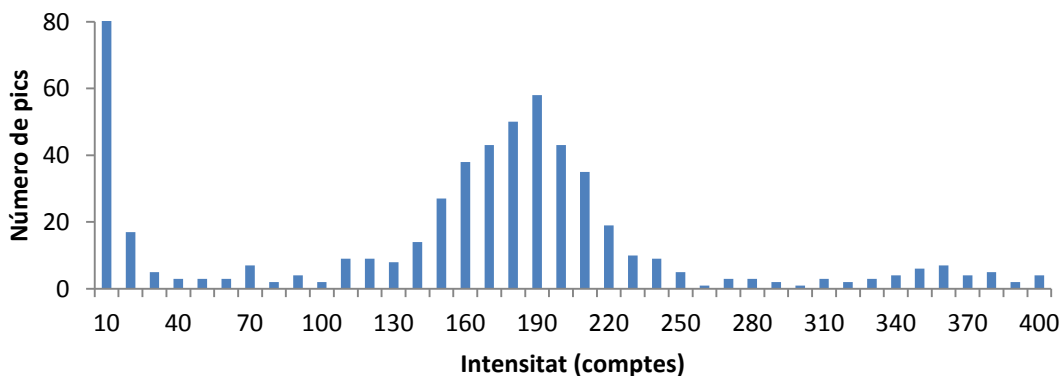


Figura 13: Histograma SP-ICP-MS de mostra AgNP PVP 75nm de concentració 0'2 ppb. S'ha retallat l'eix perquè es pugues apreciar els valors dels pics de les AgNP. El pic de valor 10 arriba fins a un valor de 2000.

Una vegada es va comprovar com la mesura de Ag^+ i AgNP mitjançant SP-ICP-MS era correcte, es va mesurar una mostra de cinètica (AgNP PVP 75nm), concretament la mostra de solució que havia estat en contacte amb el sòl de Vall Cebre 1 durant 4 hores, per tal d'intentar determinar en quina forma es trobaven les nanopartícules de la solució sobrenedant.

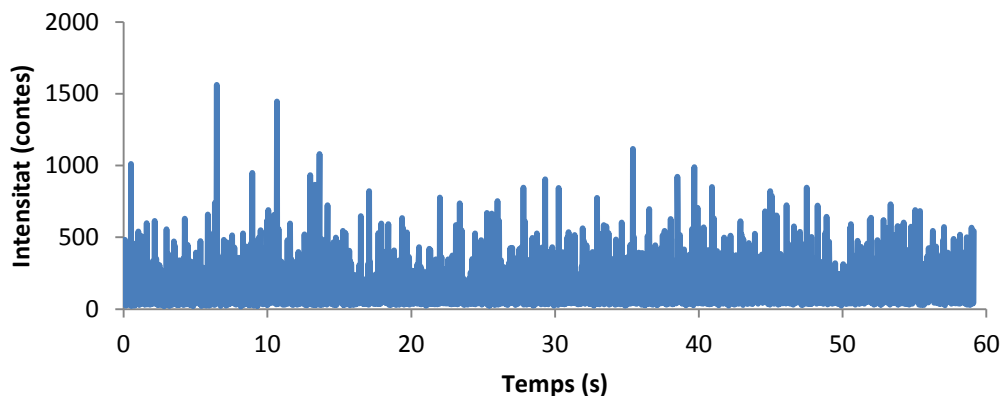


Figura 14: Gràfica en funció del temps de SP-ICP-MS de la mostra AgNP PVP 75nm que ha estat en contacte amb el sòl (experiment de cinètica). Concentració de la mostra pròxima a 0'8 ppb.

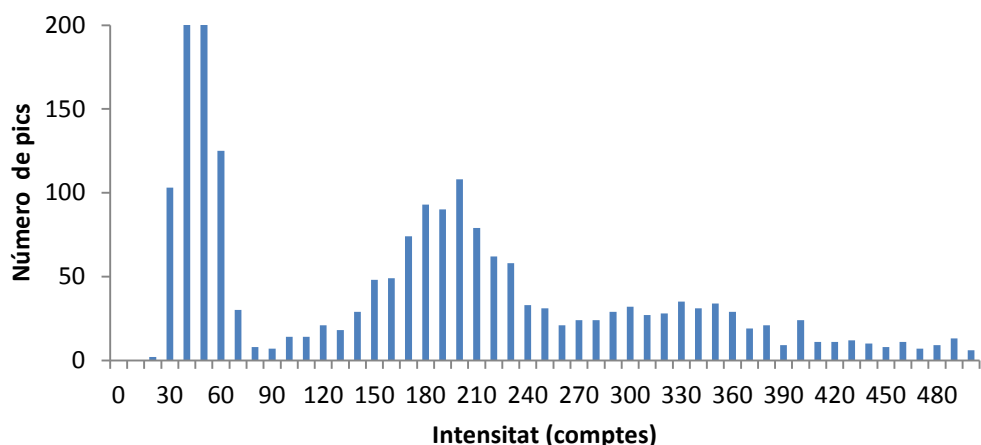


Figura 15: Histograma SP-ICP-MS de la mostra AgNP PVP 75nm que ha estat en contacte amb el sòl (experiment de cinètica). Concentració de la mostra 0'8 ppb.

En els resultats obtinguts, es pot apreciar, tan en l'espectre com en l'histograma, la presència de la Ag^+ i AgNP en la mostra que ha estat en contacte amb el sòl.

S'arriba a aquesta conclusió perquè en l'espectre s'observa un senyal continu que té un valor mig que no és zero, fet que indica la presència de plata en dissolució, mentre que a més a més també es poden apreciar una gran quantitat de pics discrets que donen peu a pensar en presència de nanopartícules.

Aquest fet però encara es veu més clar en l'histograma, on es poden apreciar dos pics, el primer molt clarament marcat a la zona dels 45 comptes, que representa la plata en dissolució, mentre que el segon pic molt més ample amb un màxim als 200 comptes és degut a la presència de AgNP. Novament comparant l'histograma obtingut amb un de la bibliografia^[5] podem veure com concorden.

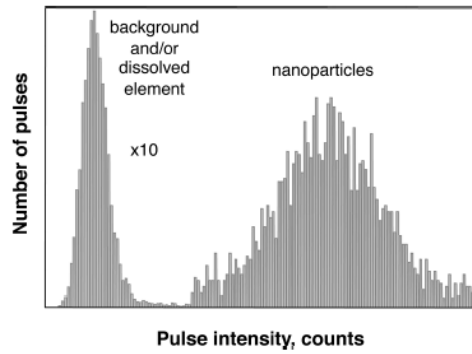


Figura 16: Histograma SP-ICP-MS compost per Ag^+ i AgNP [5].

Es pot apreciar però com el pic de NP en la mostra no és tan pronunciat com en l'espectre de la bibliografia, i això pot ser degut a que l'anàlisi de les NP es va dur a terme dos dies després de la seva preparació, ja que si les nanopartícules s'havien degradat el número de pics de intensitats disminueix, mentre que augmenta el rang on es poden apreciar aquests pics. Malgrat aquest fet, es pot concloure doncs la presència de plata en dissolució, provinent de les AgNP, com AgNP en la mostra que ha estat en contacte amb el sòl.

Finalment, es van dur a terme les mesures de les tires i l'apòsit. En aquest cas es van seguir dos mètodes estàndards d'extracció, comentats anteriorment, que requerien la utilització de 10mL d'àcid acètic o H_2O per a dur a terme la lixiviació. Una vegada transcorregut el temps acordat (2 hores), les mostres es va filtrar i ultrasonar es van diluir a 1ppb per dur a terme el seu anàlisi.

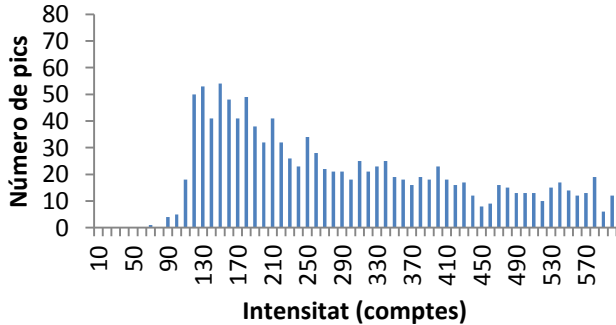


Figura 17: Histograma de la tira amb tractament DIN. Concentració 10ppb.

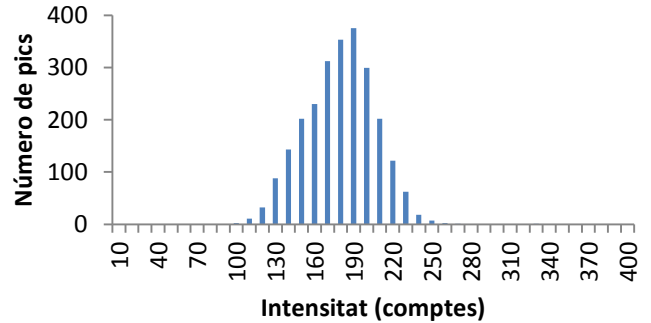


Figura 18: Histograma de l'apòsit amb tractament TCLP. Concentració 1 ppb.

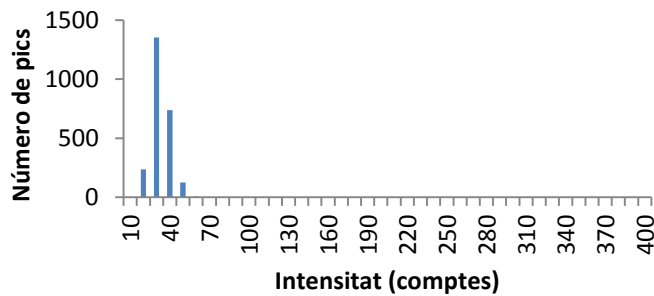


Figura 19: Histograma de la tira amb tractament TCLP. Concentració <LOD.

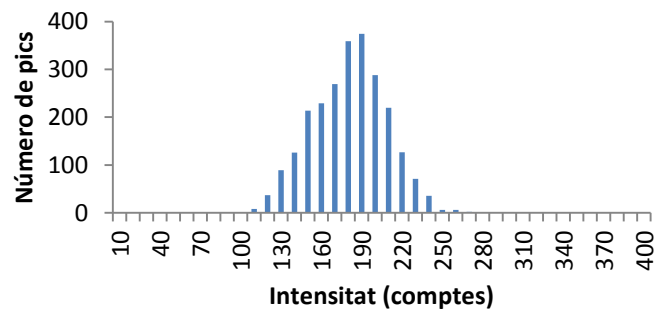


Figura 20: Histograma de l'apòsit amb tractament TCLP. Concentració 1ppb.

Amb els resultats obtinguts, es pot apreciar com en el cas de la tireta amb el mètode DIN 38414-S4 s'observen una gran quantitat de AgNP de mides de diàmetre diferents i amés també plata en solució, mentre que la mateixa mostra amb el tractament de TCLP tan sols s'aprecia plata en solució. En tots dos casos de la mostra d'apòsit, per el mètode DIN 38414-S4 i amb el mètode TCLP, es pot observar de manera molt un pic de Ag^+ .

5. Conclusions

The studies carried in this final degree project, have allowed determining the variability of the quantitative analysis of all silver of silver nanoparticles using ICP-OES without a previous digestion as some previous studies indicated. Also, it has been verified that the manipulations that have been tested during the experiments, as the use of glass pipettes and filtration of the silver nanoparticles solutions with a 0.45 μm filter pore, haven't effect in the quantitative analysis. Regarding the storage of the silver nanoparticles, the analysis of dilute solutions of nanoparticles should be carried out within and samples must be stored in the refrigerator and not in the freezer.

On the other hand, the adsorption kinetic studies in soils performed with silver nanoparticles with PVP surface and 75 nm, allows us to establish in 2 hours the maximum time required to achieve the equilibrium for the silver nanoparticles by the soils is fast. In addition, it has been shown that the four different soils have a big capacity to absorb silver nanoparticles. The comparison of the absorption balances of the different surfaces in the particles, showed how the nanoparticles stabilized in citrate media absorbed less in the soil than those that have a surface of PEG or PVP. Of the four soils studied, the soils of VallCebre are those that show a slightly higher adsorption equilibrium.

Finally, it has been proved there are no measurements differences using ICP-OES or TXRF techniques, and it allows using TXRF for these types of analysis (nanoparticles) or for another applications. Through SP-ICP-MS analysis has been able to distinguish between silver nanoparticles and ionic silver solutions, of similar concentrations. This fact has enabled us to confirm the presence of ionic silver and silver nanoparticles in sample that have been in contact with the soils and in a strip sample using a variation in the DIN 38414-S4 leaching process.

6 Bibliografia

-
- ¹ Klaine, Stephen J.; Alvarez, Pedro J.J.; Batley, Graeme E.; Fernandes, Teresa F.; Handy, Richard D.; Lyon, Delina Y.; Mahendra, Shaily; McLaughlin, Michael J.; Lead, JamienR.; *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27, 1825-1851.
- ² Tourinho, Paula s.; Van Gestel, Cornelis A. M.; Lofts, Stephen; Svendsen, Claus; Soares, Amadeu M. V. M.; Loureiro, Susana; *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2012, 31, 1679-1692.
- ³ Simonet B. M.; Valcárcel M.; *Anal. Bioanal. Chem*, 2009, 393, 17-21.
- ⁴ Ferreira da Silva, Bianca; Pérez, Sandra; Gardinalli, Piero; Singhal, R.K.; Mozeto, Antonio A.; Barceló, Damià; *Trends in Analytical Chemistry*, 2011, 30, 3.
- ⁵ Laborda, Francisco; Bolea, Eduardo; Jimènez-Lamana, Javier; *Anal. Chem.*, 2014, 86, 2270-2278.
- ⁶ Laborda, Francisco; Jimènez-Lamana, Javier; Bolea, Eduardo; Castillo, Juan R.; *J. Anal. At. Spectrom.*, 2013, 28, 1220-1232.
- ⁷ Touriniemi, Jani; Cornelis, Geert; Hassellöv, Martin; *Anal. Chem.*, 2012, 84, 3965-3972.
- ⁸ *NanoComposix Europe*. Nanocomposix. Consultat el 26/05/2015.
http://cdn.shopify.com/s/files/1/0257/8237/files/Standard_Capping_Agents.pdf
- ⁹ Cornelis, Geert; Pang, Liping; Doolette, Casey; Kirby, Jason K.; Mike J. McLaughlin; *Science of the Total Environment*, 2013, 463-464, 120-130.
- ¹⁰ Blancafort, Guillem; Rubirola, Adrià; Tarragó, Elena; *Impacte de l'aplicació de fangs de depuradora en un sòl agrícola. Projecte de ciències ambientals. Universitat de Girona*. 2012.
- ¹¹ Toxicity Characteristic Leaching Procedure (TCLP). U.S.EPA Test Methods for valuation Solid Waste. Physical/Chemical Methods. SW-846.
- ¹² German standards methods for the examination of water, waste water and sludge. Group S (sludge and sediments). Determination of leachability by water (S4).
- ¹³ Solà, Albert; *Anàlisi de nanopartícules de plata en aigua. Treball de recerca. Saint George's School*. 20115.