Universitat de Girona

Facultat de Ciències

Memòria del Treball Final de Grau

Separació de nanopartícules de plata de plata iònica per a la seva determinació per espectroscòpia d'emissió atòmica mitjançant plasma induït per alta freqüència (ICP-OES). Estudi dels paràmetres que afecten a la separació per bescanvi iònic.

Estudiant: Marta Salleras Negre

Grau en Química

Correu electrònic: sallerasmartaa@gmail.com

Tutora: Mònica Iglesias Juncà

Institució: Universitat de Girona

Vistiplau tutora:

Nom de la tutora: Mònica Iglesias Juncà

Institució: Universitat de Girona

Correu electrònic: monica.iglesias@udg.edu

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació: 19/02/2019

Resum

En les últimes dècades, el camp de la nanotecnologia ha evolucionant tant que l'ús de les nanopartícules ha augmentat molt. Gràcies a les seves propietats, les nanopartícules tenen una àmplia aplicació tant en productes de consum habitual com en medecina, indústria, catàlisi, construcció, etc.

Després de la seva utilització, una gran quantitat de nanopartícules arriben al medi ambient, de manera que es poden trobar en diferents tipus de sòls, aigües i fins i tot en l'aire. Gràcies a diversos estudis realitzats en els darrers anys, s'ha pogut veure que les nanopartícules interaccionen amb el medi i, per tant, amb els éssers vius que hi conviuen. Aquesta interacció depèn de les característiques de les nanopartícules així com de les del medi i pot donar lloc a diversos problemes o malalties.

També s'ha vist que les propietats i comportament de les nanopartícules són diferents de l'element en solució corresponent, i per això és interessant poder estudiar les dues espècies per separat.

En aquest treball s'intenta trobar un mètode senzill que pugui separar les nanopartícules de plata de la plata iònica de manera quantitativa. Gràcies a la bibliografia trobada, s'espera que es pugui dur a terme una extracció sòlid-líquid mitjançant una resina de bescanvi iònic ja que la plata iònica està carregada positivament i les nanopartícules són neutres o lleugerament negatives.

Tot i que s'espera que aquesta extracció sigui simple, s'observa que hi ha una quantitat elevada de factors que afecten la interacció amb la resina i, per tant, impedeixen la separació de les dues formes de la plata. S'estudien alguns d'aquests factors, que són habituals en aigües naturals, i s'aplica el mètode en una mostra d'aigua de riu. En tots els casos, però, la separació quantitativa no ha estat possible.

També es duu a terme una determinació per espectroscòpia atòmica mitjançant l'ICP-OES i l'ICP-MS. Mentre que la tècnica de l'ICP-OES no pot discriminar entre plata iònica i nanopartícules, el mètode utilitzat en l'ICP-MS, anomenat *single particle*, sí que ho permet. A més a més, amb aquesta última tècnica també es pot determinar la mida de partícula i el percentatge de nanopartícules presents en la suspensió.

Resumen

Durante las últimas décadas, el campo de la nanotecnología ha evolucionado tanto que el uso de las nanopartículas ha aumentado mucho. Gracias a sus propiedades, las nanopartículas tienen una amplia aplicación tanto en productos de consumo habitual como en medicina, industria, catálisis, construcción, etc.

Después de su utilización, una gran cantidad de nanopartículas llegan al medio ambiente, de manera que se pueden encontrar en diferentes tipos de suelos, aguas y en el aire. Gracias a varios estudios realizados en los últimos años, se ha visto que las nanopartículas interaccionan con el medio y por consecuente, con los seres vivos que conviven en él. Esta interacción depende de les características de las nanopartículas, pero también de las del medio y pueden ocasionar diferentes problemas y enfermedades.

También se ha visto que las propiedades y comportamiento de las nanopartículas son diferentes del elemento en solución correspondiente y por eso es interesante poder estudiar las dos especies por separado.

En este trabajo se intenta encontrar un método sencillo que pueda separar las nanopartículas de plata de la plata iónica de manera cuantitativa. Gracias a la bibliografía encontrada, se espera que se pueda realizar una extracción sólido-líquido mediante una resina de intercambio iónico debido que la plata iónica está cargada positivamente y las nanopartículas son neutras o ligeramente negativas.

Aunque se espera que esta extracción sea simple, se observa que existe una cantidad elevada de factores que afectan la interacción con la resina y, por lo tanto, impiden la separación de las dos formas de la plata. Se estudian algunos de estos factores, que son habituales en aguas naturales, y se aplica el método en una muestra de agua de río. En todos los casos la separación cuantitativa no ha sido posible.

También se lleva a cabo una determinación por espectroscopia atómica mediante el ICP-OES y el ICP-MS. Mientras que la técnica del ICP-OES no puede discriminar entre plata iónica i nanopartículas, el método utilizado en el ICP-MS, llamado *single particle*, sí que lo permite. Además, con esta última técnica también se puede determinar el tamaño de partícula y el porcentaje de nanopartículas presente en la suspensión.

Abstract

In the last decades, nanotechnology has evolved so much that the use of nanoparticles has increased a lot. Thanks to its properties, nanoparticles have a wide application in regular consumer products as well as in medicine, industry, catalysis, construction, etc.

After its use, a large number of nanoparticles reach the environment, so that they can be found in different types of soils, water and even in the air. Thanks to various studies carried out in recent years, it has been shown that nanoparticles interact with the environment and, therefore, with the living beings that live there. This interaction depends on the characteristics of nanoparticles as well as those of the environment and can lead to various problems or diseases.

It also has been observed that the properties and behaviour of nanoparticles are different from the element in solution, so that it is interesting to study the two species separately.

In this project, we try to find a simple method that can separate the silver nanoparticles of ionic silver quantitatively. Thanks to the found literature, it is expected that a solid-liquid extraction can be carried out by means of an ion exchange resin since ionic silver is positively charged and nanoparticles are neutral or slightly positive.

Although it is expected that this extraction would be simple, it is observed that there is a high amount of factors that affect the interaction with the resin and, therefore, prevent the separation of the two forms of silver. Some of these factors, which are common in natural waters, are studied and the method is applied to a sample of a river water. However, in all cases the separation has not been possible.

A determination by atomic spectroscopy it also has been made through ICP-OES and ICP-MS. While ICP-OES technique can not discriminate between ionic silver and nanoparticles, the method used in ICP-MS, called single particle, does allow it. In addition, the particle size and the nanoparticles percentage present in the suspension can also be determined using this last technique.

Índex

1. INTRODUCCIÓ ..... - 2 -

1.1 NANOPARTÍCULES ..... - 2 -

1.1.1 Nanopartícules de plata ..... - 3 -

1.2 TOXICITAT I PROBLEMES AL MEDI AMBIENT ..... - 4 -

1.3 DETERMINACIÓ DE LES NANOPARTÍCULES ..... - 6 -

2. OBJECTIUS ..... - 8 -

3. PROCEDIMENT EXPERIMENTAL ..... - 9 -

3.1 REACTIUS, MATERIALS I APARELLS ..... - 9 -

3.2 PREPARACIÓ DE SOLUCIONS ..... - 10 -

3.2.1 Solucions de nanopartícules ..... - 10 -

3.2.2 Solucions de plata iònica ..... - 11 -

3.3 SEPARACIÓ D'Ag^+ I AGNP AMB UNA RESINA DE BESCANVI IÒNIC ..... - 11 -

3.3.1 Condicionament de la resina ..... - 11 -

3.3.2 Separació d'Ag^+ i AgNP amb la resina escollida ..... - 11 -

3.4 DETERMINACIÓ DE PLATA AMB ICP-OES ..... - 12 -

3.5 DETERMINACIÓ DEL PERCENTATGE I MIDA DE PARTÍCULA AMB ICP-MS ..... - 13 -

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ ..... - 14 -

4.1 ELECCIÓ DE LA FORMA QUÍMICA DE LA RESINA ..... - 14 -

4.2 CINÈTICA DE SOLUCIONS ..... - 15 -

4.3 RECUPERACIÓ EN FUNCIÓ DE LA CONCENTRACIÓ ..... - 16 -

4.4 RECUPERACIÓ EN BARREGES ..... - 16 -

4.5 EFECTE D'INTERFERENTS ..... - 17 -

4.5.1 Efecte de la presència de $NaNO_3$ ..... - 18 -

4.5.2 Efecte de la presència de cations divalents ..... - 19 -

4.5.3 Efecte de la concentració de calci ..... - 21 -

4.5.4 Comportament de les nanopartícules en presència de calci ..... - 22 -

4.5.5 Efecte dels àcids húmics ..... - 23 -

4.5.6 Efecte de la presència de lligands ..... - 24 -

4.6 ANÀLISI D'UNA MOSTRA D'AIGUA DE RIU ..... - 25 -

4.7 ESTUDI DE MATERIALS ..... - 27 -

5. SOSTENIBILITAT I ÈTICA ..... - 28 -

6. CONCLUSIONS ..... - 29 -

7. BIBLIOGRAFIA ..... - 29 -

1. Introducció

Des del 1959 que el físic Ricard Feynman va començar a estudiar la ciència a nanoescala s'han dut a terme molts estudis que han permès evolucionar en aquest camp. Tot i que encara no es parlava de nanotecnologia, Feynman descrivia "un procés en que els científics podrien manipular molècules i àtoms" però no va ser fins el 1981 que es va aconseguir veure aquestes partícules diminutes individualment amb el desenvolupament del microscopi d'efecte túnel (STM). Aquest tipus de microscopi consta d'una sonda amb una punxa molt fina que es col·loca molt a prop de la mostra però sense arribar a tocar la superfície. A través d'aquesta sonda s'hi fa passar un voltatge elèctric de manera que quan la sonda es mou per la superfície de la mostra, que ha de ser conductora o bé se li ha de fer un recobriment per tal que ho sigui, es genera una intensitat de corrent diferent en cada punt que es pot processar per mostrar-ne una imatge.

La nanotecnologia és la ciència que estudia la matèria a nanoescala, és a dir, en dimensions d'entre 1 i 100 nanòmetres. Les propietats dels materials en aquestes dimensions poden ser diferents a altres formes o mides del mateix material, per això actualment s'investiga la manera de crear aquests materials a nanoescala i ser capaços d'aprofitar-ne les seves propietats.

Aquestes propietats s'han utilitzat durant segles tot i no tenir-ne consciència. En l'era medieval, per exemple, s'utilitzaven les partícules d'or i plata de diferents mides per obtenir vidres de colors i col·locar-los en les finestres de les esglésies. Més endavant, també es van incorporar nanotubs de carboni en les espases, fet que n'augmentava la resistència i la força. [1]

1.1 Nanopartícules

Ja que el camp de la nanotecnologia estudia els materials que no superen els 100 nm, les nanopartícules corresponen a aquests materials que estan formats per partícules amb, com a mínim, una dimensió inferior a 100 nm. Són compostes per tres capes: la superficial, que es pot funcionalitzar, la intermitja, que és químicament diferent al nucli, i el nucli, la part central que sovint es considera la nanopartícula en si [2]. Existeixen diverses maneres de classificar les nanopartícules de les quals s'exposa la classificació segons les seves característiques físiques i químiques [3].

- *Orgàniques*. Consisteixen en nanopartícules biodegradables i no tòxiques amb gran sensitivitat a la radiació tèrmica i electromagnètica. Aquestes propietats les fa ideals per a la seva utilització en medicaments ja que es poden injectar en parts específiques del cos.
- *Inorgàniques*. Generalment es consideren nanopartícules basades en metalls i òxids de metall. Les primeres es sintetitzen a partir dels metalls corresponents i tenen propietats molt diferents entre elles mentre que les segones es sintetitzen per modificar les nanopartícules corresponents basades en metalls i millorar-ne les seves propietats com reactivitat, selectivitat o eficiència.

- *Basades en Carboni*. Es poden subclassificar en ful·lerens, grafè, nanotubs, nanofibres i carbó negre (*Figura 1)*. Els ful·lerens són molècules de carboni unides amb hibridació sp^2 que adopten una forma esfèrica. Són inerts, amb una interessant conductivitat elèctrica i transmeten llum en funció de la intensitat. El grafè és un al·lòtrop del carboni que forma una xarxa hexagonal al llarg de dues dimensions. Aquesta làmina sol tenir un gruix d'1 nm i posseeix unes conductivitats elèctrica i tèrmica elevades així com una força extrema. Els nanotubs de carboni (CNT) són estructures tubulars allargades similars a una làmina de grafè enrotllada que presenten una conductivitat elèctrica i tèrmica elevada, són flexibles i elàstics i amb resistència a la tracció. Les nanofibres corresponen a estructures similars als nanotubs però que es troben de forma apilada. Tenen unes propietats similars als CNT però són més dures. Per últim, el carbó negre és un material amorf de 20-70 nm, majoritàriament de forma esfèrica. Té una conductivitat elèctrica alta i és resistent a la degradació per UV.

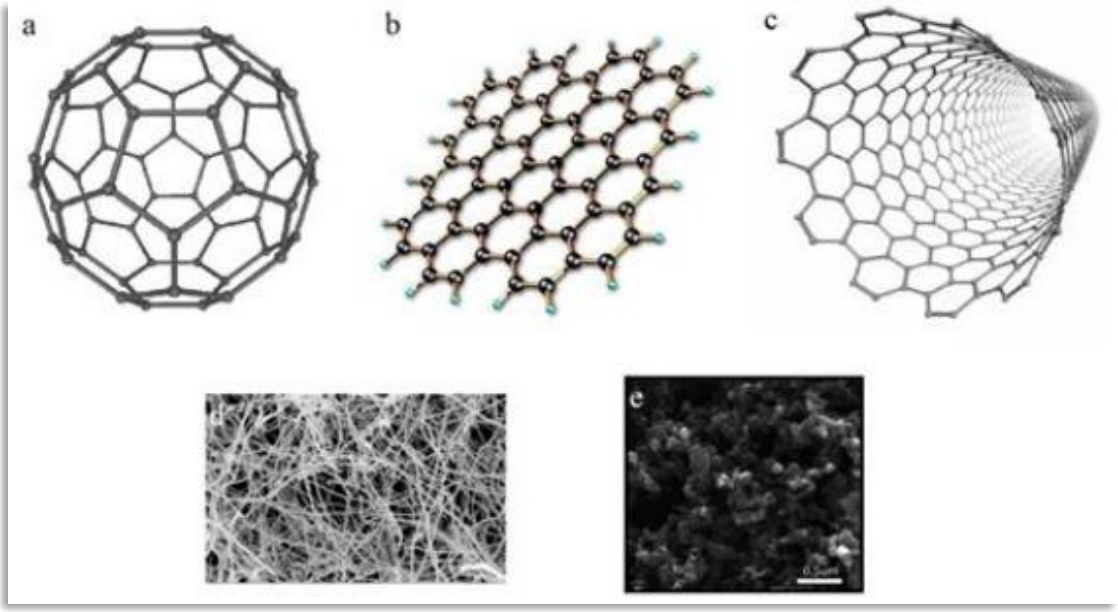

Figura 1. Nanopartícules basades en carboni. a) Ful·lerè, b) Grafè, c) Nanotubs, d) Nanofibres, e) Carbó negre [3].

Existeix diferència entre les nanopartícules naturals i les manufacturades però, en general, es consideren úniques ja que les seves propietats físiques, químiques i biològiques varien en funció de la seva relació entre superfície i volum.

Les nanopartícules tenen una àmplia aplicació ens diversos àmbits com cosmètica, electrònica, medecina, catàlisi, construcció, energies renovables, etc. degut a la seva eficàcia energètica, estabilitat a llarg termini i selectivitat entre d'altres [3].

1.1.1 Nanopartícules de plata

Dins de les nanopartícules inorgàniques basades en metalls, unes de les més utilitzades són les de plata, les quals presenten una solubilitat i estabilitat elevades. Degut que les propietats

fisicoquímiques de la partícula tenen un impacte considerable en les propietats biològiques i toxicològiques, és necessari caracteritzar factors com la mida, forma, solubilitat, agregació o àrea superficial entre d'altres [4].

Les seves propietats depenen en gran part del recobriment que tinguin, molt important per evitar l'agregació. Aquesta agregació es produeix quan les partícules interaccionen entre elles degut a forces atractives i s'adhereixen les unes amb les altres. En canvi, quan existeix un recobriment, les forces repulsives són les que dominen les interaccions i les partícules són estables en una dispersió col·loïdal [5].

A més a més, les propietats òptiques que posseeixen les permet interaccionar amb longituds d'ona específiques. Això és degut a que les línies de conducció i València es troben molt a prop una de l'altra, fet que permet que els electrons es puguin moure lliurement. Aquesta propietat permet que puguin absorbir i dispersar la llum de manera molt eficient i és molt útil en la seva caracterització ja que permet utilitzar espectroscòpia de llum visible [4].

De totes les aplicacions que tenen les nanopartícules de plata, l'ús en medecina com a substància antibacteriana és la més coneguda. Tot i que el mecanisme d'acció encara no s'ha establert, s'ha determinat que les nanopartícules de plata són capaces d'adherir-se a la superfície de la membrana dels microbis, fet que en fa variar la seva estabilitat i produeix la mort de la cèl·lula. Per altra banda, es suggereix que les nanopartícules de plata s'adhereixen directament als àcids nucleics impedint els processos de replicació de la cèl·lula. S'ha estudiat també que les nanopartícules més petites són més eficaces ja que tenen més habilitat per penetrar a la membrana [6].

A més a més, gràcies a les seves propietats antifúngiques, antivirals, antiinflamatòries, anticancerígenes i antiangiogèniques, també tenen una àmplia aplicació en altres camps com biomedicina, indústria, cosmètica, productes domèstics, sensors òptics, farmàcia, etc.

1.2 Toxicitat i problemes al medi ambient

Com s'ha comentat anteriorment, les nanopartícules són molt utilitzades en productes de consum habitual i, a més a més, el seu ús ha augmentat en els darrers anys. Després del seu ús, la gran majoria d'aquestes partícules acaben arribant en la natura i se les pot trobar en aigües tant superficials com subterrànies, en diferents tipus de sòls o en l'aire. Una vegada en aquests medis també poden interaccionar amb els éssers vius mitjançant diversos mecanismes, però encara no s'ha determinat si són perjudicials i en cas afirmatiu, en quina dosi. Es considera que el major efecte es té al estar molt de temps exposat a dosis baixes ja que l'efecte a llarg termini pot incidir a patir malalties degeneratives. Altrament, existeix la possibilitat que les nanopartícules es puguin translocar, és a dir, que puguin moure's per l'individu i afectar a altres sistemes [7].

En alguns casos, quan les partícules es posen en contacte amb medis biològics on hi ha presents proteïnes o polímers es forma una capa que recobreix la partícula anomenada corona (*Figura 2*) de manera que ja no es troben les nanopartícules nues. Degut que el comportament ve determinat pel nou compost format i no pel nanomaterial en sí, és necessari estudiar també el medi corresponent.

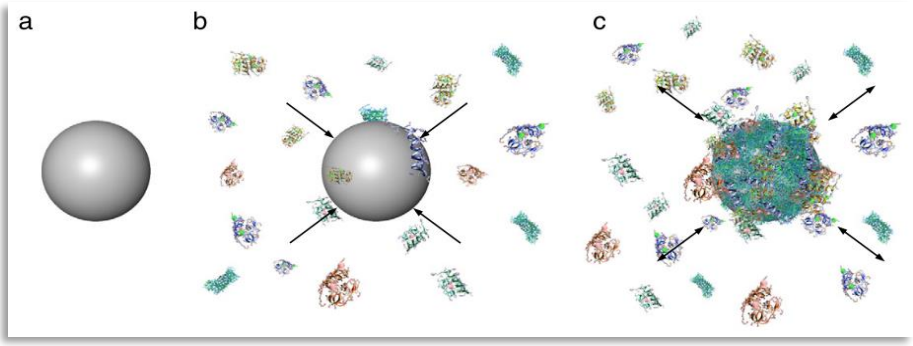

Figura 2. Formació de la corona de la nanopartícula: a) Nanopartícula nua, b) Interacció de la nanopartícula amb les proteïnes, c) Formació de la corona [7].

Una vegada es troben dins els organismes, les nanopartícules poden interaccionar amb les cèl·lules. Els mecanismes que tenen lloc en aquestes interaccions són tant físics com químics i són els responsables de la seva resposta biològica. Aquestes interaccions són possibles degut que les nanopartícules poden entrar dins la cèl·lula mitjançant diversos mecanismes com l'endocitosi o la difusió per membrana. En aquest últim cas l'absorció de la nanopartícula depèn de les propietats de la seva superfície. Aquest fet és crucial en la síntesi de medicaments ja que cal precisar molt en les propietats de la nanopartícula per tal que sigui apta i pugui absorbir-se sense malmetre'n l'estabilitat. En la *Figura 3* es mostra la interacció entre nanopartícules i cèl·lules i els seus efectes.

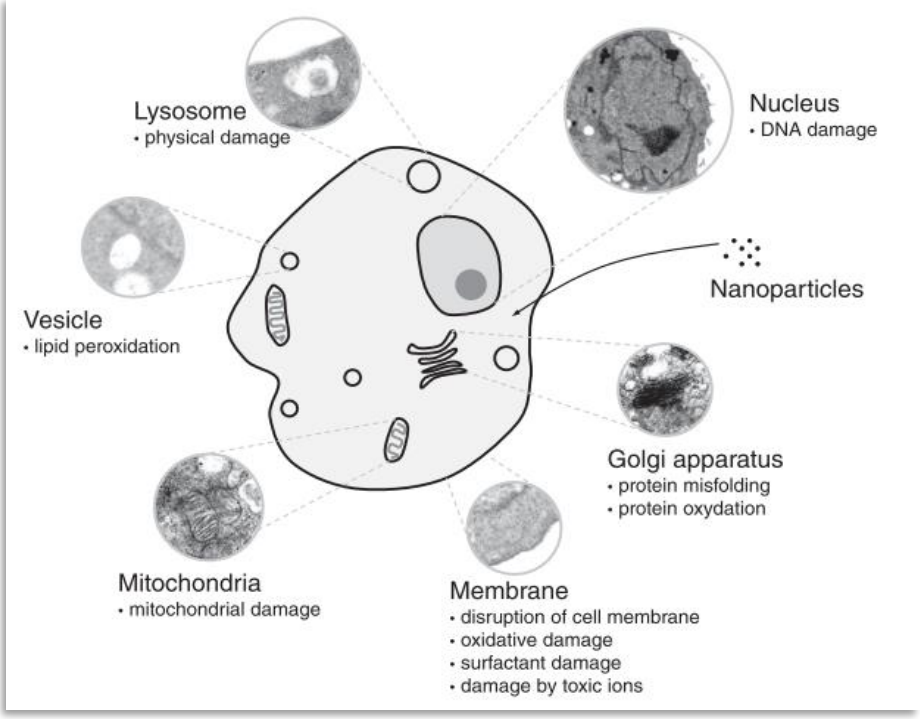

Figura 3. Mecanismes nanotoxicològics produïts per la interacció de les nanopartícules amb les cèl·lules [7].

De la mateixa manera que el medi on es troben les nanopartícules influeix en la seva toxicitat, també ho fan les característiques de la nanopartícula com la mida, forma, càrrega, etc. S'ha de tenir present que les possibles impureses existents poden ser responsables de la toxicitat, per això és essencial conèixer tots els factors implicats per poder fer una avaluació precisa.

1.3 Determinació de les nanopartícules

Actualment es sintetitza més quantitat i varietat de nanopartícules que en la última dècada i és per això que es requereix una caracterització més precisa. Tot i així, la concentració en què es troben en mostres ambientals (de l'ordre de ppb) i els efectes matriu en fan complicada la seva determinació.

Existeixen varies tècniques d'anàlisi que determinen diferents propietats de les nanopartícules:

La majoria de tècniques utilitzades en la caracterització morfològica es basen en la microscòpia. Aquestes són la microscòpia electrònica de rastreig (SEM) i la de transmissió (TEM), que generen una imatge a partir de la qual s'obté informació sobre la superfície de les nanopartícules. Si s'utilitzen juntament amb l'espectroscòpia de dispersió de raigs X (EDX) permeten examinar la composició química. L'espectroscòpia fotoelectrònica de raig X (XPS) i les tècniques de dispersió de llum (DLS) també són molt utilitzades ja que permeten fer estudis de profunditat per determinar la variació de la composició en les diferents capes i determinar la mida i distribució de la dispersió, respectivament [2], [4].

Per tal de quantificar les nanopartícules es sol utilitzar l'ICP-MS (espectroscòpia de masses acoblada a plasma induït d'alta freqüència) i l'ICP-OES (espectroscòpia d'absorció atòmica amb plasma induït d'alta freqüència). Els principals avantatges d'aquests aparells són que tenen límits de detecció baixos, no requereixen un tractament de mostra complex i són ràpids en l'anàlisi. Per contra, aquestes dues tècniques només permeten determinar la quantitat total d'un element en la mostra però no permeten discriminar la quantitat que es troba en forma de partícules, per això sovint s'utilitzen acoblats a sistemes previs de separació.

En ambdós casos, la mostra líquida és conduïda a un nebulitzador mitjançant una goma peristàltica. L'aerosol produït es dirigeix cap a un plasma d'argó i la col·lisió d'aquests en produeix l'atomització i/o ionització, fent que els àtoms o els ions s'excitin a nivells energètics superiors. Per una banda, en l'ICP-OES, es detecta l'energia alliberada en forma de fotons que s'emet quan els electrons corresponents es relaxen. Aquesta energia, que és característica per cada element, es detecta i es processa per donar la informació en forma de concentració [8]. Per l'altra banda, en l'ICP-MS, els ions generats als plasma arriben al detector separats segons la seva relació entre massa i càrrega, el quan en registra el corrent i en produeix un espectre de masses.

Pel que fa als mètodes acoblats s'utilitzen, majoritàriament, el *field-flow fractonation (FFF)*, la cromatografia hidrodinàmica i l'electroforesi capil·lar [9].

- *Field-flow fractonation*. Mètode que separa les partícules en funció de la seva mida mitjançant el temps d'elució; les més grosses eluiran més tard que les més petites. La solució travessa una membrana i té lloc la separació.
- *Cromatografia hidrodinàmica*. Mètode basat en la separació per exclusió. De la mateixa manera que el cas anterior, la separació de les partícules té lloc per la diferència en el temps d'elució però es realitza mitjançant una columna per on es fa passar la solució. Aquesta columna és un material porós que permet l'elució en funció de les mides de cada partícula.
- *Electroforesi capil·lar*. Aquesta tècnica separa les partícules en funció de la seva velocitat de desplaçament que tenen en un medi líquid al sotmetre-les a un camp elèctric. La mostra s'introdueix en un extrem del capil·lar, que prèviament s'ha emplenat d'una solució tampó, mentre que en l'altre s'hi troba el detector. Llavors s'aplica el voltatge i les partícules viatgen en funció de la seva càrrega i mida.

A part dels mètodes acoblats, es poden utilitzar sistemes de separació prèvia més senzills que poden facilitar l'anàlisi i disminuir els costos. Els més comuns corresponen a tècniques de separació líquid-líquid, sòlid-líquid i al *Cloud Point Extraction* [10].

- *Extracció líquid-líquid (LLE)*. Aquesta tècnica se sol utilitzar com a fase de neteja en la barreja de dos líquids immiscibles. Per tal de preconcentrar les nanopartícules, es complexen amb un lligand present en un dissolvent orgànic. Llavors, es centrifuga el sobrenedant i se'n redueix el volum per evaporació.
- *Extracció sòlid-líquid (SLE)*. En aquesta separació s'utilitzen resines de bescanvi iònic, que permeten mantenir la mida i forma de les nanopartícules. Les de bescanvi aniònic són selectives a les nanopartícules mentre que les de bescanvi catiònic, a altres ions carregats positivament. El procediment consisteix en barrejar la solució per homogeneïtzar-la, posar-la en contacte amb la resina i eluir la substància adsorbida. Segons el tipus de resina que s'utilitzi les nanopartícules es retindran en la resina o quedaran lliures en la solució.
- *Cloud Point Extraction (CPE)*. Consisteix en la transferència d'un tensioactiu d'un líquid a un altre mitjançant escalfament. Quan la temperatura de la mescla sobrepassa la temperatura *cloud point*, en la que la mescla comença a ser tèrbola, les molècules de tensioactiu formen micel·les i s'agreguen entre elles. Finalment, es centrifuga i es recull la fase sòlida. Quan aquest mètode es duu a terme en una solució que conté nanopartícules, aquestes s'adhereixen al tensioactiu i es poden recuperar en la fase sòlida.

Una altra manera de determinar la quantitat de nanopartícules que hi ha en una solució sense necessitar una tècnica de separació correspon al mode de partícula aïllada utilitzat en l'ICP-MS, comunament anomenat *single particle*. Aquest mètode pot determinar la concentració de la suspensió, la massa i la distribució de partícules ja que és capaç de discriminar la quantitat d'un element present en forma de nanopartícula o de substància dissolta. El detector es configura per realitzar un anàlisi en TRA (time resolved analysis), és a dir, mesura en continu durant un cert temps amb lectures molt curtes. Si el temps de cada lectura és prou petit (de l'ordre de milisegons o inferior)

i la solució és prou diluïda, en cada lectura, o en només algunes, es detectarà una única partícula. Aquesta partícula generarà un núvol d'ions que es mostrarà com un pic intens. Si en aquesta mostra hi ha present el mateix element en solució, també es mostrarà un senyal però aquest serà continu en totes les mesures [11]. En la *Figura 4* es mostren dos exemples d'espectre.

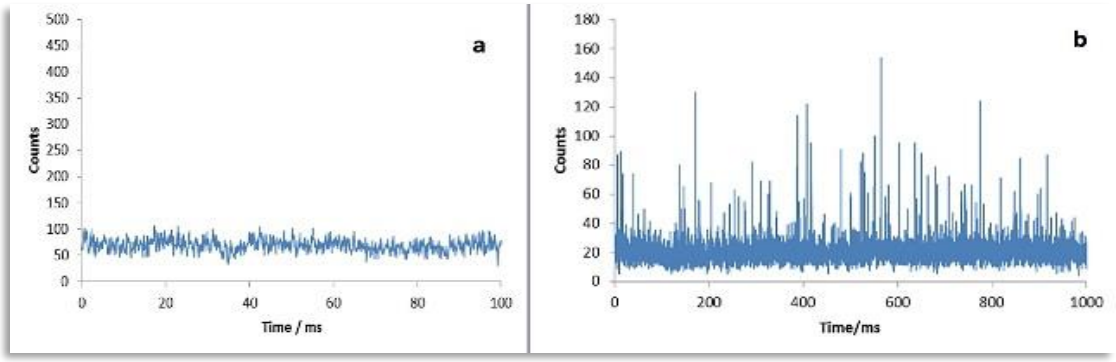

Figura 4. Representació gràfica d'un anàlisi en ICP-MS; a) plata iònica, b) solució de nanopartícules i plata dissolta

2. Objectius

As has been said in the introduction, nanoparticles have great properties that are worth studying. They also have a different toxicity than the corresponding ionized metal, so that is interesting to separate them and study them independently.

The aim of this project consists in finding a method that can quantitatively separate the ionic silver from the silver nanoparticles, which can be carried out in the laboratory in an easy way. The main idea is that thanks to the charge's difference between nanosilver and ionic silver, the separation can be done through an ion exchange mechanism. To achieve this objective we have studied the literature and we have chosen DOWEX 50W-X8 to carry out the experiments.

This general objective can be divided into some other more concrete objectives:

- Study the protonated form and the acidic form of the resin.
- Observe the behaviour of Ag+ and AgNPs is separate aqueous solutions in the presence of the resin.
- See the interaction between the resin and a mixed solution of ionic silver and nanoparticles.
- Study the effects of the species present in natural waters, which can affect to the behaviour of nanoparticles as well as of the ionic silver.
- Apply this method to a natural water sample to see other effects that we might not be taken into account.

Moreover, it is also intended to achieve experience in lab methodologies as well as in atomic spectroscopy techniques, learn the basic sample treatment procedure and be able to treat data and evaluate the results.

3. Procediment experimental

3.1 Reactius, materials i aparells

Reactius

- HNO_3 Hiperpur 69%, Panreac (Canadà)
- NaOH, Fisher Scientific (EUA)
- H_2O MilliQ Plus column (Millipore)
- Àcid cítric anhidre, Panreac (Barcelona)
- Àcid tartàric anhidre, Panreac (Barcelona)
- Àcids húmics, Sigma Aldrich (Alemanya)
- $NaNO_3$ 99.9%, Panreac (Barcelona)
- $AgNO_3$ 99.9%, Alfa (Alemanya)
- Solució patró de plata, 1000 ppm, Merk (Alemanya)
- Solució patró de calci, 1000 ppm, Merk (Alemanya)
- Solució patró de zinc, 1000 ppm, Merk (Alemanya)
- Solució patró de magnesi, 1000 ppm, Merk (Alemanya)
- Solució patró de plata, 1000 ppm, Merk (Alemanya)
- Resina DOWEX 50W-X8, Sigma Aldrich (Alemanya)

Materials

- Flascó poliestirè, 12 mL, 30 mL i 200 mL, Deltalab (Barcelona)
- Flascó polipropilè, 50 mL, Deltalab (Barcelona)
- Micropipetes Transferpette, 20-200 µL, 100-1000 µL, 10-100 µL i 0.5-5 mL (Alemanya)
- Pipeta Pasteur Polietilè, 3 mL, Rubilabor (Mèxic)
- Filtres 0.45 µm, Whatman (Alemanya)

Aparells i instruments

- ICP-OES 5100, Agilent tecnologies (USA)
- ICP-MS 7500c, Agilent tecnologies (USA)
- Balança analítica, Mettler Toledo AX205 (Barcelona)
- Balança analítica, Cobos Precision ATX224
- Bany d'ultrasons, P Selecta (Barcelona)
- Estufa, P Selecta (Barcelona)
- Agitador rotatori, Dinko (Barcelona)
- pHmetre, Crison (Barcelona)

Nanopartícules de plata

Les suspensions de nanopartícules de plata utilitzades en aquest treball tenen un recobriment de PVP i es van obtenir de NanoComposix (EUA). Ambdues tenen una concentració teòrica aproximada de 5000 ppm però degut que les concentracions inicials de les solucions preparades amb el lot #DMW0382 donaven un 30% d'error en la mesura, més endavant es va decidir treballar amb la suspensió més nova (lot #ALJ0044) per poder-ne corregir l'error.

Taula 1. Propietats de les nanopartícules de plata utilitzades, Nanocomposix (EUA).

Suspensió de nanopartícules	Diàmetre (nm)	Concentració (mg/L)	Diàmetre hidrodinàmic (nm)	Potencial Z (mV)	pH
#DMW0382	77,5±7.0	5000	110,2	-35,7	4,8
#ALJ0044	79±11	4950	119	-37	4,9

3.2 Preparació de solucions

Ja que en la majoria de casos el volum necessari per preparar les solucions és molt petit, aquestes es preparen per pesada amb l'ajut de la balança analítica, anotant els valors necessaris per tal de poder-ne recalcular els valors de concentració corresponents. Les solucions es preparen en flascons de poliestirè d'un sol ús i s'identifiquen adequadament.

A més a més, com que la plata s'oxida fàcilment, una vegada s'han preparat les solucions de nanopartícules, s'emboliquen els tubs amb paper d'alumini i es guarden a la nevera per tal de prevenir-ne l'oxidació.

3.2.1 Solucions de nanopartícules

Degut que les nanopartícules de plata tendeixen a aglomerar-se, les suspensions s'han de preparar seguint un procediment estricte per tal d'assegurar-ne la homogeneïtat.

Es prepara una solució intermèdia de 10 ppm a partir de la solució estoc de 5000 ppm. Per fer-ho, cal començar amb una sonicació de la solució estoc durant 5 minuts seguida d'una agitació manual de, com a mínim, 1 minut. Aquest pas es realitza ja que anteriors companys de laboratori l'havien considerat òptim per tal d'evitar l'agregació de les nanopartícules [12]. A continuació, s'agafa el volum que es necessita per a preparar l'intermedi i s'afegeix directament al flascó aigua MilliQ fins a un valor determinat.

Per a preparar la solució final es torna a repetir el procediment anterior amb la solució intermèdia preparada, posant èmfasi en la sonicació i agitació.

3.2.2 Solucions de plata iònica

Es preparen les solucions de plata iònica a partir del nitrat de plata sòlid. Com que les solucions finals són de concentració molt baixa, es prepara una solució intermèdia de 10 ppm.

El reactiu sòlid es pesa directament al tub i s'afegeix aigua fins a un volum determinat. S'agita bé perquè es dissolgui i homogeneïtzi i a continuació es pren el volum necessari per a la solució final. Igual que en la solució anterior, es pesa directament al nou tub i s'afegeix aigua fins al volum corresponent.

3.3 Separació d'Ag^+ i AgNP amb una resina de bescanvi iònic

Com s'ha comentat en l'apartat 1.3, existeixen diversos mètodes de tractament de la mostra previs a l'anàlisi que permeten separar les nanopartícules de l'element dissolt. En aquest cas, com que es vol trobar un mètode senzill, s'aprofita la diferència de càrrega entre les nanopartícules de plata i la plata dissolta es decideix utilitzar una resina de bescanvi iònic.

3.3.1 Condicionament de la resina

Gràcies a cerques bibliogràfiques i la disponibilitat de reactius del laboratori, es decideix utilitzar la resina DOWEX 50W-X8 de manera similar a Wilkinson en el seu estudi [13]. Existeixen dues maneres de condicionar-la: a fase àcida (A) i a fase sòdica (B). El procediment per condicionar-la a resina àcida és comú a ambdós casos mentre que per fer-ho a fase sòdica es requereixen uns passos més.

(A) En primer lloc, es pesen aproximadament 10 mg de resina directament al tub de 12 mL i s'hi afegeixen 10 mL de HNO3 1,5M. Es col·loquen els tubs a l'agitador a 35 rpm i es deixen rodar durant una hora. A continuació, ja que la resina es diposita ràpidament al fons del tub, s'extreu tot l'àcid possible amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur i s'hi afegeixen 10 mL d'aigua MilliQ a mode de rentat. S'agiten a 35 rpm durant uns 10 minuts i s'extreu l'aigua de la mateixa manera. Finalment, es deixen els tubs sense tap tota la nit a l'estufa a 60ºC com a màxim i l'endemà es comprova que la resina estigui completament seca per a poder-la utilitzar.

El procediment anterior és comú per a les dues formes químiques; els següents passos es duen a terme abans de posar-la a l'estufa només si es vol obtenir la resina en forma sòdica.

(B) S'insereixen 10 mL de NaOH 0,1M i es deixen en agitació durant una altra hora a 35 rpm. S'extreuen amb una pipeta Pasteur nova i es tornen a fer agitar 10 mL d'aigua durant 10 minuts. S'extreu l'aigua i es porta a l'estufa.

3.3.2 Separació d'Ag^+ i AgNP amb la resina escollida

Com que la resina utilitzada és de bescanvi catiònic, s'espera que la plata dissolta hi interaccioni i que les nanopartícules quedin en suspensió. Una vegada la resina es troba en la fase desitjada s'hi

addiciona, en el mateix tub, 10 mL de la solució de plata iònica o de la suspensió de nanopartícules que s'ha preparat anteriorment. Es tapa i es deixa en agitació el temps determinat per a l'extracció. Finalment, es deixa el tub en vertical uns quants segons perquè la resina es dipositi al fons del tub i es pren el sobrenedant. Com que el volum utilitzat per l'anàlisi en l'ICP-OES és d'aproximadament 5 mL, es pot abocar cautelosament el sobrenedant necessari en un altre tub sense necessitat d'utilitzar cap estri addicional. D'aquesta manera s'eviten pèrdues d'analit i, a més a més, es redueixen els residus materials.

3.4 Determinació de plata amb ICP-OES

Per tal de realitzar una recta de calibratge en l'ICP-OES i poder determinar el contingut total de plata cal preparar un conjunt de solucions patró de plata. En aquest cas no és necessària la sonicació de la solució patró però sí ho és l'agitació.

De la mateixa manera que en el procediment de preparació de solucions, es decideix preparar una solució intermèdia de 2000 ppb a partir de la solució estoc de 1000 ppm. A continuació, s'agita i es preparen cinc solucions d'entre 10 i 250 ppb. Com que la solució estoc conté un 2% d'àcid nítric, no es necessari afegir cap reactiu per garantir-ne l'estabilitat.

En aquest treball s'han utilitzat les mateixes condicions d'anàlisi per tots els experiments que es tabulen a continuació:

Taula 2. Condicions de treball de l'ICP-OES

Longitud d'ona (nm)	328,068 i 338,289
Temps de lectura (s)	3
Temps d'estabilització (s)	25
Velocitat de la bomba (rpm)	12
Potència (W)	1200
Flux de l'argó plasmogen (L/min)	12
Flux del nebulitzador (L/min)	0,7
Visió	Axial
Replicats per mesura	3
Nebulitzador	Concèntric (*sea spray*)
Cambra	Ciclònica de doble pas

Una vegada obtingudes totes les dades, és possible calcular els valors de concentració recuperats (*Equació 1*). En tots els experiments s'analitzen les solucions inicials i finals, és a dir, abans i després del contacte amb la resina. D'aquesta manera les recuperacions es poden calcular amb valors inicials reals i permet comprovar si les solucions són estables o no.

$$R\ (\%) = \frac{[anàlisi]f}{[anàlisi]i} x100 \qquad [\ 1\ ]$$

3.5 Determinació del percentatge i mida de partícula amb ICP-MS

Per a dur a terme un anàlisi en l'ICP-MS en mode *single particle* és necessari preparar solucions de concentracions molt baixes, 200 ppt aproximadament. Per fer-ho, primer s'analitzen les mostres amb l'ICP-OES ja que d'aquesta manera es sap la concentració de plata total real i es pot calcular la dilució que s'ha de fer.

Es treballa amb una fulla d'excel obtinguda de treballs previs que és una modificació de la coneguda com a fulla de Rikilt [14]. En aquest document, en el qual es separen els fulls per patrons i per mostres, existeixen una sèrie de dades constants per a tots els anàlisis com la densitat de la plata i l'abundància isotòpica. Per dur a terme els càlculs de mida de partícula i del percentatge de nanopartícules que hi ha a les mostres cal introduir els valors que varien en diferents anàlisis com la concentració de la solució, el diàmetre teòric de la partícula, el cabal d'entrada al detector i el temps d'integració. Una vegada s'han entrat totes les dades només cal enllaçar aquesta plantilla amb els valors mesurats amb l'ICP-MS i se n'obtenen els resultats. També s'obtenen espectres que representen la intensitat dels comptes per temps obtinguts o bé el nombre de compres en funció de la mida (*Figura 5*).

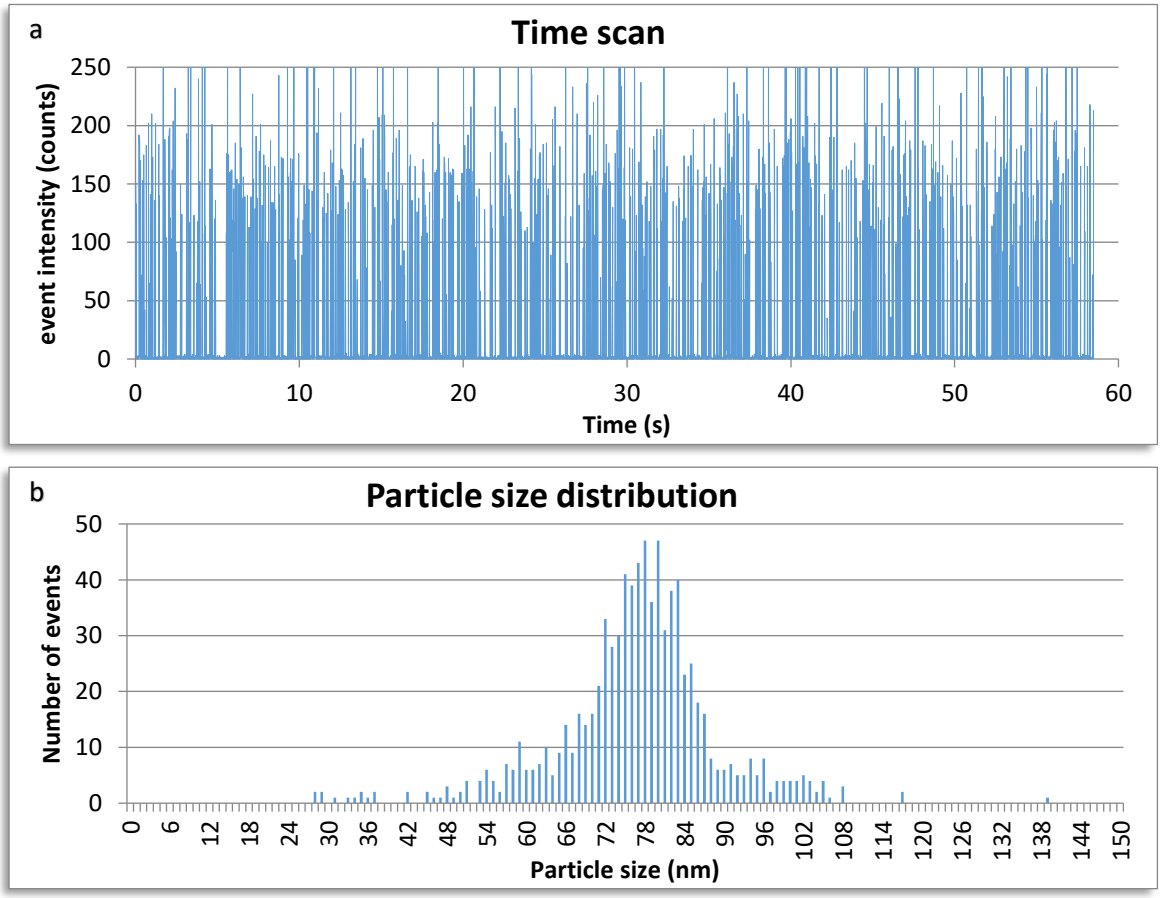

Figura 5. Representació d'un anàlisi per sp-ICP-MS. a) Representació de la senyal en funció del temps, b) Distribució de la mida de partícula.

4. Resultats i discussió

Tal com s'ha explicat anteriorment, l'objectiu d'aquest treball és aconseguir separar quantitativament les nanopartícules de la plata iònica d'una mostra real mitjançant una resina de bescanvi catiònic. Degut que la plata iònica està carregada positivament i les nanopartícules es consideren neutres o lleugerament positives, s'espera que després d'utilitzar la resina la plata iònica quedi retinguda en aquesta i la solució només contingui nanopartícules.

Per poder determinar si aquesta separació és possible s'estudien diversos factors com la presència d'interferents o la concentració en barreges entre d'altres. Aquests experiments, que imiten les condicions de les aigües naturals, es mostren en els següents apartats. En tots ells, exceptuant aquells en que es vol veure l'efecte de la concentració, s'utilitzen solucions de plata i de nanopartícules de 100 ppb.

4.1 Elecció de la forma química de la resina

Com s'ha comentat en el punt *3.3.1* existeixen dues formes de condicionar la resina. En l'article utilitzat com a referència (Wilkinson, 2013) es van realitzar els experiments amb la resina en forma sòdica però degut que no s'explica l'afinitat d'aquesta per a la plata, es decideix comprovar l'efectivitat de totes dues per saber quina és la opció que permet extreure millor les nanopartícules d'una solució que també contingui plata dissolta.

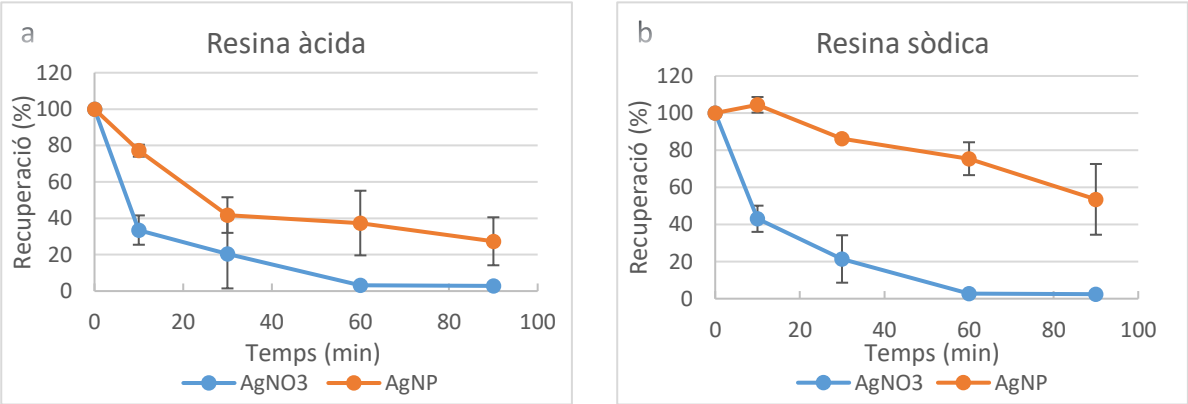

Figura 6. Recuperació en funció del temps: a) Resina àcida, b) Resina sòdica. Les barres d'error indiquen la desviació estàndard de dos replicats.

Com es pot veure en la *Figura 6*, al voltant dels 60 minuts de contacte entre les solucions i la resina, existeix una major diferència entre la recuperació de nanopartícules i la de plata iònica amb la resina sòdica.

Per una banda, s'observa que la corba que representa la solució de plata iònica no varia gaire d'una forma en l'altre. Això pot ser degut a que al ser un ió positiu s'intercanvia en totes dues amb la mateixa facilitat de manera que la forma de la resina no l'afecta.

Per altra banda, però, veiem que la recuperació de nanopartícules disminueix més dràsticament amb la resina àcida. Com que la resina utilitzada és de bescanvi catiònic i les nanopartícules són lleugerament negatives s'espera que no es vegin implicades en l'intercanvi i es mantinguin en la solució. Tot i així, és possible que en presència d'àcid les nanopartícules es degradin i es converteixin en plata iònica de manera que s'adsorbeixin a la resina i no es detectin en l'anàlisi.

Així doncs, s'arriba a la conclusió que el millor mètode de treball és utilitzar la resina en forma sòdica, fet que coincideix amb els experiments de Wilkinson [13].

Cal dir, però, que els valors de concentració inicials analitzats d'ambdues solucions no coincidien amb els teòrics, fet que posa en dubte l'estabilitat de les solucions preparades.

4.2 Cinètica de solucions

Mentre que en l'estudi realitzat per Wilkinson s'utilitzava la resina de bescanvi iònic en una columna, en aquest treball es van fer els experiments en *batch*, és a dir, es va posar en contacte amb la solució i es va deixar agitar durant un cert temps i llavors es va separar la solució de la resina. És per això que calia esbrinar quanta estona de contacte era necessària per a què la separació fos òptima.

En l'experiment anterior s'intueix que treballant amb la resina en forma sòdica la separació de nanopartícules i plata iònica és major al cap d'una hora. Tot i així, es decideix repetir l'experiment i estudiar les zones més pròximes als 60 minuts.

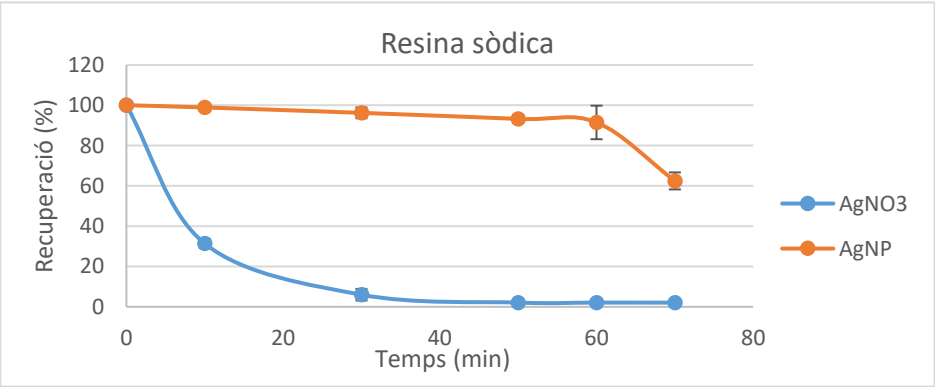

Figura 7. Representació gràfica de la recuperació al llarg del temps de contacte amb la resina. Les barres d'error indiquen la desviació estàndard de dos replicats.

Tot i que la recuperació de les nanopartícules varia una mica respecte l'experiment anterior, també s'observa una tendència a disminuir que es manté gradual i a partir del minut 60 s'observa una baixada brusca.

Ben al contrari, la recuperació de la solució de plata iònica presenta una baixada exponencial durant els primers 30 minuts i llavors es manté més o menys constant a uns valors del 5-10%, fet que sí que coincideix amb el primer experiment. Això pot ser degut que la plata iònica interacciona molt fàcilment amb el sodi de la resina de manera que al cap de mitja hora ja s'ha adsorbit la major part.

Es determina, doncs, que el temps òptim per dur a terme l'experiment és d'uns 50-60 minuts, on la recuperació de plata iònica és gairebé nul·la i la de nanopartícules és del 90% aproximadament.

En aquest experiment també s'observen pèrdues d'analit en les concentracions inicials d'ambdues solucions.

4.3 Recuperació en funció de la concentració

Un altre aspecte important a estudiar consisteix en saber si la recuperació varia al canviar la concentració d'ambdues solucions. Realitzant l'experiment per separat amb les condicions que s'han establert anteriorment, es veu que dins del rang de treball corresponent la concentració no afecta gaire a la recuperació d'ambdues solucions. Aquest resultat és molt satisfactori ja que no limita els futurs experiments que es vulguin realitzar.

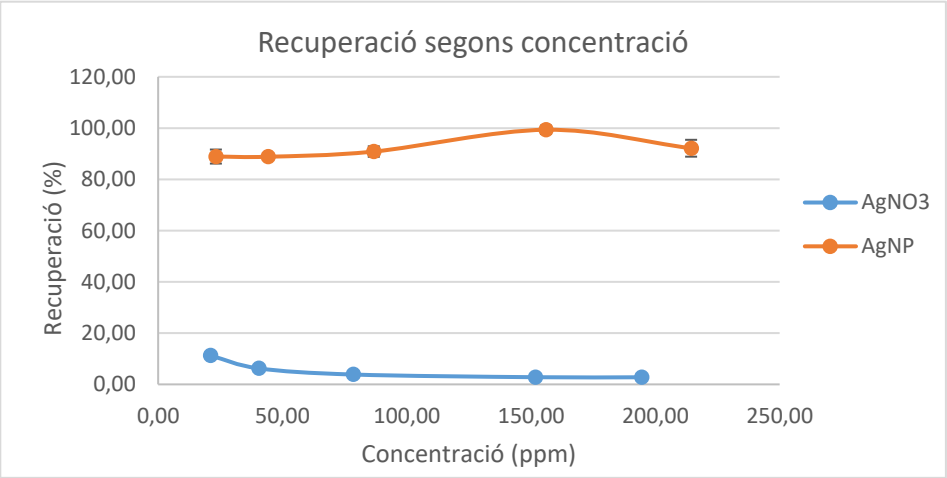

Figura 8. Recuperació de les solucions en funció de la concentració inicials. Les barres d'error indiquen la desviació estàndard de dos replicats.

En aquest experiment no es detecta la pèrdua d'analit en les concentracions inicials degut que es va repetir posteriorment amb noves solucions.

4.4 Recuperació en barreges

Una vegada es determina que la recuperació per ambdues solucions es manté força constant, s'espera que es mantingui en barreges. Així doncs, degut que l'aparell no discrimina les nanopartícules de la plata iònica, s'aproxima que després que la solució estigui en contacte amb la resina, el sobrenedant contindrà un 90% de nanopartícules i un 5% de plata iònica respecte la barreja inicial ja que són els valors trobats experimentalment.

Taula 3. Recuperació de plata total en les barreges preparades. Es presenta la mitjana de dos duplicats.

Conc. inicial teòrica (ppb)			Conc. inicial anàlisi (ppb)	Conc. final esperada (ppb)	Conc. final anàlisi (ppb)	Er (%)
Ag+ AgNP	15 5	**20,00**	12,80	5,25	2,99	43,05
Ag+ AgNP	7,5 31,25	**38,75**	13,01	28,50	8,68	69,54
Ag+ AgNP	43,75 2,5	**46,25**	26,37	4,44	0,98	77,92
Ag+ AgNP	25 25	**50,00**	21,87	23,75	11,94	49,73
Ag+ AgNP	25 37,5	**62,50**	28,22	35,00	18,69	46,60
Ag+ AgNP	25 43,75	**68,75**	37,99	40,63	29,59	27,16
Ag+ AgNP	25 50	**75,00**	41,54	46,25	34,63	25,14
Ag+ AgNP	50 50	**100,00**	57,65	47,50	43,53	8,36

En la *Taula 3* es mostren les concentracions mitjanes analitzades i les esperades així com l'error relatiu entre elles. Es pot veure que la concentració analitzada després de l'experiment es distancia molt dels valors esperats, però com que la concentració inicial d'ambdues formes de la plata torna a ser menor que la calculada teòricament, no es pot fer una comparació precisa d'aquestes concentracions finals. A més a més, aquest fet corrobora que existeixen pèrdues d'analit abans de realitzar l'experiment de contacte amb la resina.

Tot i així, no s'observa cap tendència en la recuperació de plata i es creu convenient estudiar altres factors que puguin perjudicar la interacció de la plata amb la resina

A partir d'aquest punt es decideix fer servir el patró de plata de 1000 ppm en lloc del nitrat de plata sòlid per preparar les solucions de treball de plata iònica per intentar millorar l'estabilitat de la solució de plata iònica. Les solucions es preparen seguint el mateix procediment que el dels patrons. Com que es coneix que les nanopartícules són menys estables, sobretot al llarg del temps, no es modifica la preparació d'aquestes solucions.

4.5 Efecte d'interferents

Les aigües naturals i residuals contenen cations en solució que poden interferir en l'intercanvi iònic que té lloc amb la resina [15]. Per tal d'estudiar els efectes que tenen aquests cations en l'adsorció de AgNPs i Ag^+, es duen a terme els experiments d'adsorció tal i com s'ha fet fins ara però en presència dels cations més habituals en aigües naturals i en una concentració similar a la que es

troben en aquestes. Per això es busca quins són aquestes cations i en quina concentració es troben en diferents tipus d'aigua. Els valors es troben a la *Taula 4*.

Taula 4. Concentracions dels principals cations presents en diferents tipus d'aigua [15].

Ions principals	Aigua de riu (g/kg)	Aigua de llac (g/kg)
Ca^{2+}	0,015	0,043
Mg^{2+}	0,004	0,006
Na^{+}	0,006	0,012
Zn^{2+}	0,005	0,002
Cu^{2+}	0,002	0,0005

En tots els casos es decideix treballar a la concentració més alta del catió, que correspon a la d'aigua de llac, per tal d'observar el comportament de la plata iònica i de les nanopartícules de plata en les condicions més extremes. Per dur a terme aquests experiments s'addicionen les quantitats de reactiu i s'analitza la concentració de plata a l'ICP-OES igual que en els experiments anteriors.

En aquest conjunt d'experiments les concentracions inicials de plata iònica analitzades es mantenen similars a les calculades. La pèrdua en la plata iònica que s'obtenia al treballar amb nitrat de plata pot ser deguda al fet que la solució stock d'ICP conté un 2% d'àcid nítric que estabilitza la solució, mentre que la solució preparada no. També és possible que el nitrat de plata sòlid no sigui 100% anhidre, de manera que al preparar les solucions contingui un percentatge més elevat d'aigua del suposat.

4.5.1 Efecte de la presència de $NaNO_3$

En primer lloc es contempla l'efecte del sodi addicionant $NaNO_3$. S'analitzen diverses solucions amb un rang de concentracions similars a les anotades a la *Taula 4* i se'n calculen les recuperacions.

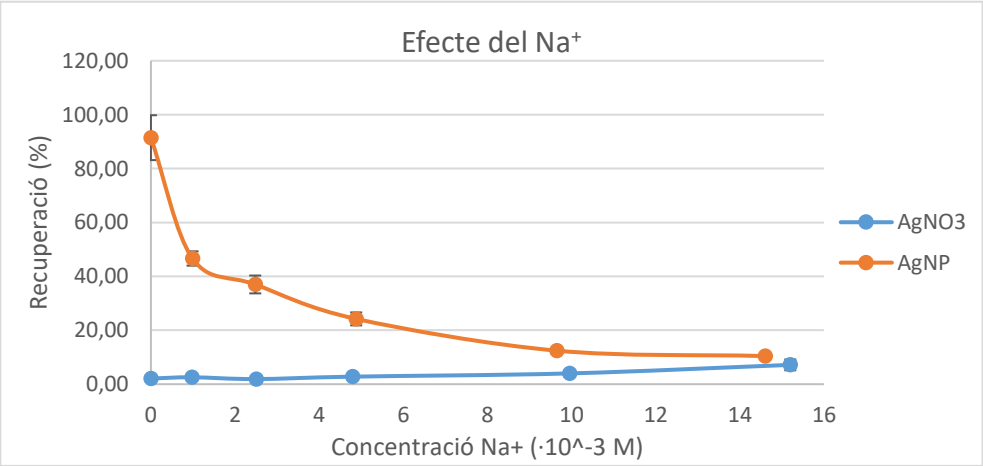

Figura 9. Representació gràfica de la recuperació de solucions en funció de la concentració de sodi. Les barres d'error representen la desviació estàndard de dos replicats.

Com es pot observar a la *Figura 9*, per una banda, la recuperació de la plata iònica es manté constant a les concentracions més baixes però pren una tendència lleu a incrementar al augmentar la concentració de sodi. Tot i així, la recuperació es manté a valors per sota del 10%. Això pot ser degut que a partir d'una concentració determinada el sodi competeixi amb la plata per interaccionar amb la resina, produïnt que al finalitzar l'experiment quedi més plata en solució i, per tant, n'augmenti la recuperació.

Per l'altra banda, es veu una baixada brusca en la recuperació de nanopartícules que comença a estabilitzar-se en les concentracions més elevades d'electròlit aconseguint valors molt similars a la recuperació de la plata iònica. Aquest comportament, que de moment és inexplicable, fa plantejar la opció que s'oxidi una part de les nanopartícules o bé que existeixi alguna interacció amb el sodi que en faci variar la seva adsorció.

4.5.2 Efecte de la presència de cations divalents

Com es pot veure a la *Taula 4*, els ions divalents més comuns presents en aigües naturals corresponen al calci, magnesi, zinc i coure. En aquest experiment es mesura l'efecte que tenen per separat així com el de la barreja de tots ells tant en la recuperació de la plata iònica com de les nanopartícules de plata. Els resultats es mostren a la *Figura 10*.

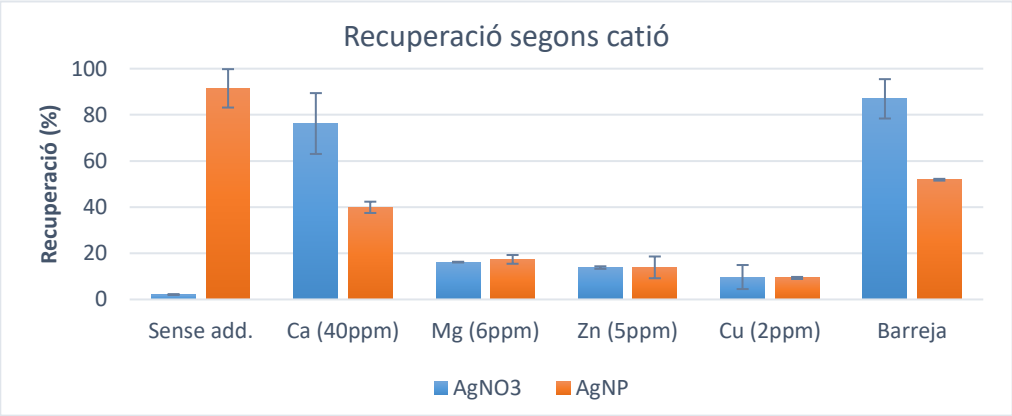

Figura 10. Representació gràfica de la recuperació de les solucions de Ag+ i AgNP segons el catió addicionat. Les barres d'error representen la desviació estàndard de dos replicats.

En primer lloc, s'observa que les solucions que contenen la barreja es comporten de manera similar a les que contenen calci, fet que no sorprèn ja que aquest és l'ió més abundant, és a dir, que es troba en una concentració molt més elevada que la resta i per tant té un efecte predominant en la barreja. Els resultats mostren que al addicionar calci el comportament de les solucions enfront la resina és pràcticament inversa al que tenien en absència d'aquest metall. És a dir, amb l'addició del calci es recupera un 40% de nanopartícules i un 80% de plata iònica aproximadament mentre que en la seva absència s'aconseguien recuperacions del 90% i gairebé nul·les, respectivament.

Pel que fa als altres interferents, es pot observar que les recuperacions d'ambdues solucions coincideixen força; la solució de plata iònica es recupera fins a un 15% i la de nanopartícules disminueix extremadament fins més o menys els mateixos valors.

En el cas de la plata iònica, l'augment en la seva recuperació i per tant la disminució en la seva adsorció per part de la resina es pot explicar per un efecte de competició dels ions divalents amb els grups funcionals de la resina. És a dir, el catió addicionat competeix amb la plata per adherir-se a la resina i en fa variar la recuperació. Es creu que aquest efecte és el mateix per cada ió però com que la concentració de calci és molt més elevada que la dels altres cations, aquest efecte s'observa de manera més clara. De fet, els valors de recuperació de la barreja són els més elevats ja que la suma de les concentracions de tots els cations contribueixen en la competició. Aquest comportament s'ha vist en altres estudis de resines de bescanvi catiònic similars de manera que es considera lògic [16].

En el cas de les nanopartícules però, l'efecte és molt diferent i difícil d'explicar. Com que es considera que per si mateixes les nanopartícules no poden interaccionar amb la resina degut a la diferència de càrrega, es plantegen dues hipòtesis que explicarien el que succeeix. En la primera es proposa que les nanopartícules interaccionen amb els cations divalents que a la seva vegada interaccionen amb la resina. Així, els cations divalents actuarien donant lloc a una mena de pont entre les nanopartícules i la resina, produint la seva adsorció o retenció a la resina. En la segona es proposa que els ions afectin a la superfície del tub de manera que les nanopartícules puguin quedar-s'hi retingudes. Més endavant s'estudien aquestes hipòtesis.

Tot i que l'oxidació de les nanopartícules a plata iònica no s'explica gaire per si sol ja que en aquest cas actuarien com a tal i per tant no quedarien retingudes en presència de calci, es vol estudiar aquest comportament per si hi ha algun efecte d'aquest tipus.

Determinació de la mida de partícula i percentatge de AgNPs

Per veure si els cations divalents tenen efecte sobre la solució de nanopartícules de plata es realitza un sp-ICP-MS. S'analitzen les solucions de nanopartícules abans i després d'estar amb contacte amb la resina i s'obtenen els resultats següents que es mostren a la *Taula 5*.

Taula 5. Mida de partícula i percentatge de AgNPs presents en cada solució.

Solució AgNP	Mida de partícula (nm)	Quantitat AgNPs (%)
Ca^{2+} inicial	73	65
Ca^{2+} final	70	20
Mg^{2+} inicial	72	58
Mg^{2+} final	72	40
Zn^{2+} inicial	69	50
Zn^{2+} final	63	54
Cu^{2+} inicial	73	69
Cu^{2+} final	73	68
Barreja inicial	79	59
Barreja final	79	22

En tots els casos menys en la barreja de cations, tant en la mida com en el percentatge s'obtenen valors més baixos que els teòrics. Aquest fet confirma que una part de les nanopartícules s'hagi oxidat a plata iònica i per això hagin disminuït de mida, però no explica la pèrdua en la concentració ja que la concentració de plata total no hauria de variar.

També es pot observar que la quantitat de nanopartícules en les solucions inicials es troba al voltant del 60%. Com que aquestes solucions estaven preparades amb la suspensió de nanopartícules més vella i els patrons analitzats corresponien a la solució més nova, es va veure un canvi molt clar en la seva composició; la suspensió més vella contenia un percentatge més elevat de plata iònica que la més nova. Gràcies a aquest resultat es considera que la solució de nanopartícules que s'ha utilitzat fins aquest moment està malmesa i es comença a fer servir la més nova.

Pel que fa a la pèrdua de nanopartícules durant el temps de l'experiment, s'aprecia que és més important quan la concentració de catió és major; l'efecte més rellevant s'observa en la barreja mentre que pel coure i pel zinc el percentatge de nanopartícules es manté força constant. Això corrobora que les nanopartícules no s'oxiden a plata iònica durant el temps de l'experiment i reforça les hipòtesis plantejades.

4.5.3 Efecte de la concentració de calci

Degut els resultats de l'experiment anterior, es decideix estudiar amb més profunditat l'efecte dels ions divalents. En aquest experiment i en tots es següents les concentracions inicials analitzades coincideixen amb les calculades de manera que ja no existeixen pèrdues d'analit. Ja que el calci és l'ió present més abundant, es pren com a referència per estudiar-lo. De la mateixa manera que en el cas del sodi, se'n fa un estudi en funció de la seva concentració.

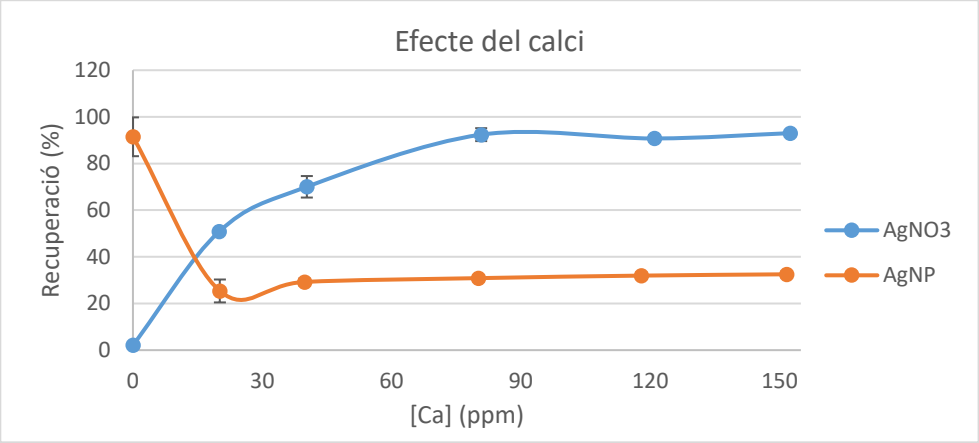

Figura 11. Representació gràfica de la recuperació de solucions en funció de la concentració de Calci. Les barres d'error representen la desviació estàndard de dos replicats.

Per una banda, es pot veure que l'addició del calci produeix que la recuperació de nanopartícules es mantingui constant a valors del 30%, aproximadament, independentment de la concentració d'aquest. A més, aquest valor coincideix amb l'experiment anterior realitzat a 40 ppm d'interferent.

Per l'altra banda, en presència de calci, s'observa una tendència a augmentar en la recuperació de plata iònica que comença al 50% i s'estabilitza cap al 90%. En aquest cas, com s'ha comentat anteriorment, el calci i la plata competeixen per adherir-se a la resina i al augmentar la concentració d'interferent, l'adsorció de plata es veu més inhibida. D'aquesta manera, queda lliure a la solució i es recupera en la seva totalitat. A més a més, quan la concentració de calci és d'uns 40 ppm, la recuperació és del 70% aproximadament, fet que també coincideix amb l'experiment anterior i, per tant, el fa reproduïble.

Altrament, tot i que el comportament de les solucions és difícil d'explicar, el fet que a concentracions altes de calci hi hagi una absorció de nanopartícules i no de plata, fa pensar que es podrien separar els dos analits d'una manera diferent a la plantejada. És a dir, que en presència de calci es podrien extreure les nanopartícules i quedaria la plata en solució.

4.5.4 Comportament de les nanopartícules en presència de calci

Com s'ha esmentat anteriorment, degut que la resina és de bescanvi catiònic i les nanopartícules són neutres o relativament negatives, no sembla massa factible que tingui lloc una interacció per bescanvi iònic entre totes dues, de manera que en primer lloc es decideix estudiar la segona hipòtesi plantejada en què es considera la possibilitat que quedin retingudes al tub on es duu a terme l'experiment.

Per estudiar aquesta hipòtesi es van agafar les solucions preparades en l'experiment anterior, tant de Ag^+ com de AgNP, i es van posar a agitar amb els mateixos paràmetres de la metodologia experimental però sense resina. Seguidament, es van analitzar les solucions sobrenedats i els resultats es van comparar amb els obtinguts anteriorment amb presència de resina.

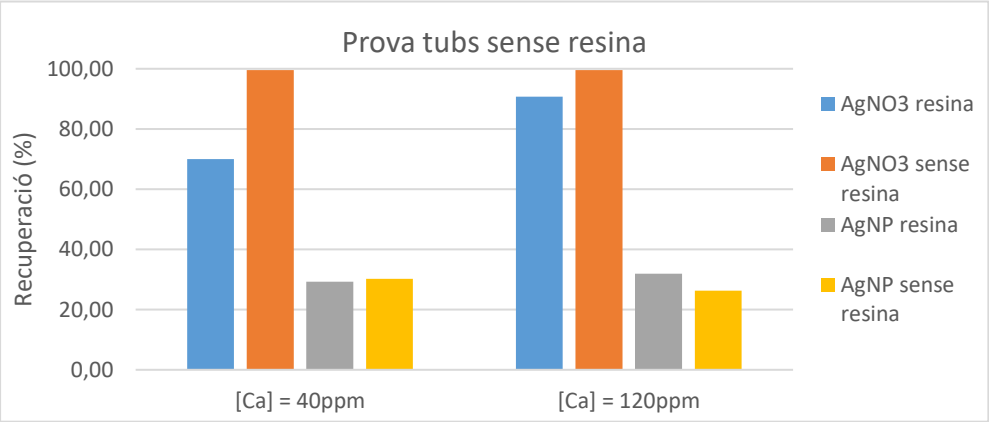

Figura 12 . Representació gràfica de la recuperació de plata de diversos experiments

En la *Figura 12* es pot observar la recuperació de cada solució en funció de la concentració de calci i de la presència o absència de resina. Pel que fa a les barres blava i grisa corresponen als valors de recuperació de l'experiment anterior mentre que les barres taronja i groga són les obtingudes en la nova prova, sense resina.

Com es pot veure amb la barra taronja, independentment de la concentració de calci, la recuperació de Ag^+ es manté al 100% quan es posa a girar dins el tub sense resina i per tant es pot dir que no existeixen pèrdues. Ben al contrari i també independentment de la concentració de calci, si es mira la barra groga es veuen valors de recuperació del 30% aproximadament que coincideixen amb els valors trobats quan es posa en contacte la solució de nanopartícules amb la resina. Així doncs, es pot concloure que la resina no es veu implicada en la pèrdua de nanopartícules sinó que és la presència del calci que en produeix la pèrdua i, per tant, la possible adsorció al tub.

Per corroborar que les nanopartícules es trobaven adherides a les parets del tub, es va dur a terme el següent experiment. Els tubs sense resina, que havien mostrat recuperacions de nanopartícules del 30%, es van buidar i s'hi va afegir HNO_3 5M. Es van deixar en agitació dues hores i es van analitzar, recuperant un 10% de la plata. Tot i que semblava que la hipòtesi era certa i les nanopartícules es trobaven retingudes en el tub, es va repetir el procés de recuperació amb HNO_3 i aquesta vegada es va deixar 24 hores en agitació. Al analitzar de nou la solució de HNO_3 que havia estat en contacte amb el tub es van obtenir valors de recuperació del 80% de la plata que s'havia eliminat de la solució inicial. Ja que s'ha vist que al augmentar el temps de contacte la recuperació de plata augmenta, es creu que és possible recuperar tot el contingut de plata si es deixa en agitació durant més temps.

Així doncs, caldrà fer més estudis per determinar l'efecte de la presència del calci i intentar estudiar l'adsorció de nanopartícules de plata als tubs de poliestirè.

4.5.5 Efecte dels àcids húmics

En alguns estudis previs s'ha vist que les nanopartícules es troben estabilitzades en medis naturals en presència de matèria orgànica degut que aquesta evita la seva agregació [17]. Per comprovar si aquesta és una possible solució s'utilitzen els àcids húmics, una barreja de diversos àcids que serveixen per simular els que estan presents en aigües o sòls naturals. Les concentracions esperades per a aigües naturals i residuals es troben a 5 ppm i 25 ppm, respectivament [18]. Els resultats obtinguts es mostren en la *Figura 13*.

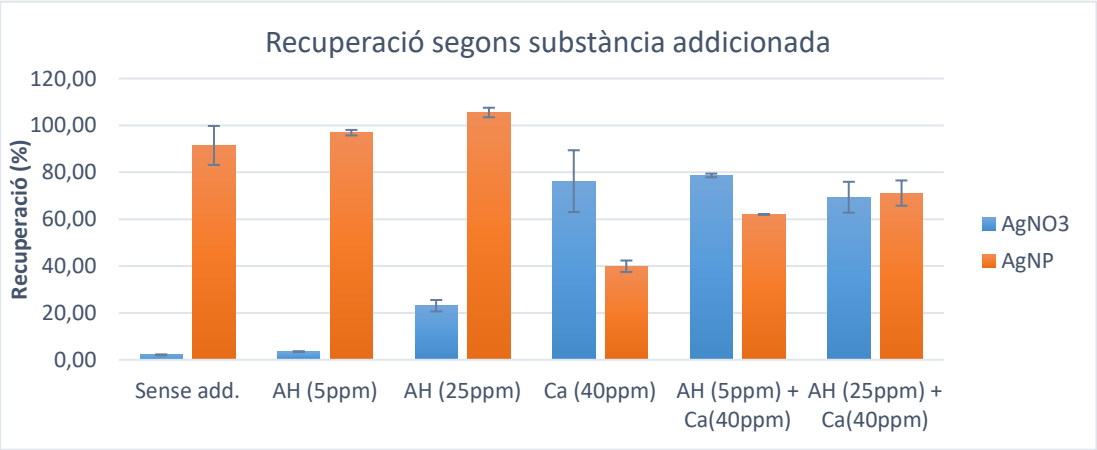

Figura 13. Representació gràfica de l'efecte dels àcids húmics i el calci en la recuperació de les solucions. Les barres d'error representen la desviació estàndard de dos replicats.

Com es pot veure en els dos primer casos on no s'ha addicionat calci, les solucions no es veuen gaire afectades per la presència dels àcids húmics tot i que la recuperació de plata en ambdues formes augmenta una mica en augmentar la concentració d'aquest. S'observa, per tant, que aquests àcids estabilitzen mínimament la dues solucions, de manera que es recuperen en major quantitat.

Pel que fa a la barreja d'àcids húmics i calci, es veu que en general la recuperació de plata iònica no es veu afectada però la de nanopartícules augmenta fins a valors molt similars a les dues formes de la plata. Aquest és el pitjor dels casos ja que la separació seria nul·la. És a dir, en el cas que es volgués dur a terme l'experiment en aquestes condicions, la solució resultant després d'estar en contacte amb la resina contindria un 70% de nanopartícules i també un 70% de plata iònica, de manera que no s'hauria realitzat cap separació sinó que només s'hauria disminuït la concentració de les dues espècies en la mateixa proporció. Així doncs, es torna a apreciar l'efecte inhibidor del calci que s'ha comentat anteriorment i es determina que la presència d'àcids húmics no resol el seu efecte.

4.5.6 Efecte de la presència de lligands

Una possible solució a la competència dels ions divalents i sobretot del calci consisteix en complexar-lo perquè no afecti en els experiments. Es busquen agents complexants que siguin més afins al calci que a la plata perquè aquesta quedi lliure i es pugui adsorbir a la resina. Les substàncies utilitzades i els seus valors corresponents es mostren a la *Taula 6.*

Taula 6. Constants de dissociació i complexació de les substàncies utilitzades per al calci [19].

Agent complexant	Fórmula	pKa (T=25ºC)	log Kf Ca (força iònica = 0,5)
Àcid cítric	$HO_2C(OH)C(CH_2CO_2H)_2$	pka1 3,08 pka2 4,74 pka3 5,4	CaH_3L 10,9 CaH_2L 8,4 CaHL 3,5
Àcid tartàric	$HOOC(CHOH)_2COOH$	pka1 3,03 pka2 4,36	CaHL 4,85 CaL 1,7

No s'han trobat valors de complexació de la plata per aquestes substàncies i s'espera que l'equilibri de complexació corresponent sigui poc important. Tot i així, el grau de protonació varia en funció del pH i en fa variar l'equilibri, per això es va tenir en compte en aquest experiment.

Per assegurar que els agents complexants s'addicionin en excés, es calcula que en l'equilibri hi hagi el triple de mols de complexant que de calci i s'obtenen unes concentracions d'aproximadament 575 ppm d'àcid cítric i 450 ppm d'àcid tartàric.

Per altra banda, es mesura el pH i s'obtenen valors d'aproximadament 2,4 en totes les solucions.

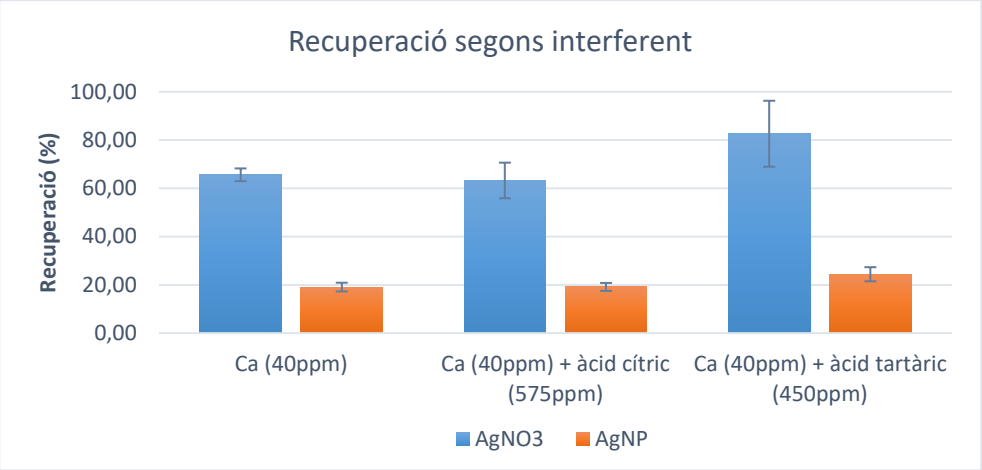

Figura 14. Representació gràfica de la recuperació de solucions en funció de les substàncies addicionades. Les barres d'error representen la desviació estàndards de dos duplicats.

Com es pot observar en la *figura 14*, en general, tot i l'addició en excés d'agents complexants la recuperació de plata iònica i de nanopartícules no varia gaire en comparació a la trobada en presència de calci. Això pot ser degut a factors com el pH, que al ser tant àcid provoca que els lligands es trobin majoritàriament protonats i no es puguin complexar amb el calci.

4.6 Anàlisi d'una mostra d'aigua de riu

Tot i que els resultats dels experiments realitzats amb aigua sintètica no són gaire favorables es decideix dur-lo a terme amb una mostra d'aigua de riu per veure quin efecte tenen totes les substàncies presents.

Es va agafar aigua del riu Manol, ubicat prop de Figueres, com es mostra en la *Figura 15*. La mostra es va guardar tapada i refrigerada fins al moment de l'experiment. Es va filtrar per reduir impureses i se'n van caracteritzar diverses propietats, que es tabulen a continuació.

Figura 15. Ubicació de la presa d'aigua de riu.

Taula 7. Característiques principals de l'aigua del riu Manol.

Ions principals (ppm)				Nutrients (mg/L)		pH	Conductivitat (µS)	TOC (mg/L)
Cations		Anions						
Ca^{2+}	140,79	Cl^-	55,53	Amoni	ND	8,13	720	1,93
Mg^{2+}	10,5	SO_4^-	14,67	Nitrits	0,13			
Na^+	28,44	Br^-	0,09	Nitrats	20,53			
Zn^{2+}	ND	F^-	0,08	Fosfats	0,02			
K^+	3,09	ClO_2^-	<LOQ	Fòsfor total	ND			
		ClO_3^-	<LOQ					

Com es pot veure a la *Taula 7*, l'aigua de riu utilitzada mostra una concentració elevada de calci, un pH força elevat i un contingut baix de matèria orgànica.

En aquest cas, es fortifica la mostra d'aigua amb solucions de concentracions conegudes, es realitza l'experiment i s'analitzen de la mateixa manera que ens les proves anteriors. Es van realitzar addicions de solució de plata iònica, de nanopartícules i de barreges.

En primer lloc, es prepara una solució de nanopartícules i una de plata iònica d'aproximadament 100 ppb, es posa en contacte amb la resina i s'analitza. Els valors es mostren a la *Figura 16*.

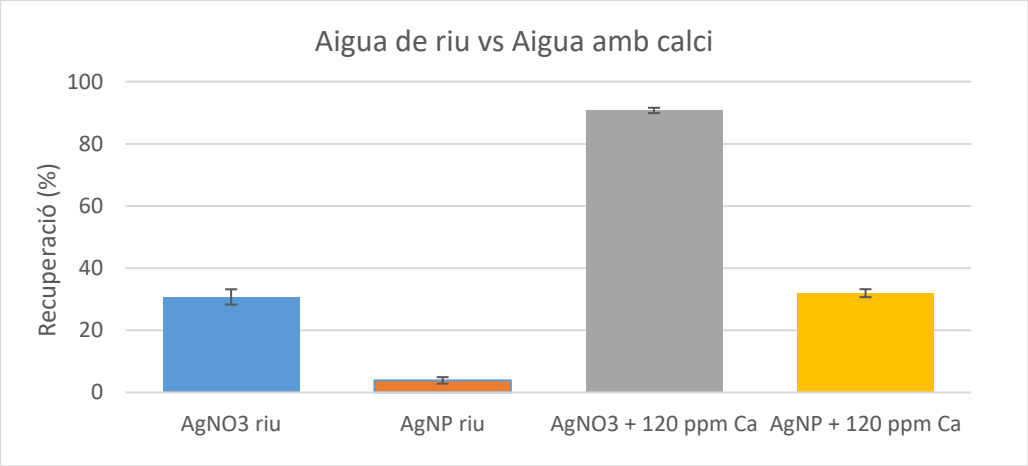

Figura 16. Representació gràfica de la recuperació de plata en diverses condicions. Les barres d'error representen la desviació estàndard de dos replicats.

Es pot veure que les recuperacions de plata iònica i nanopartícules són del 30% i 4%, aproximadament. Aquests valors no coincideixen amb cap dels resultats dels experiments realitzats, per tant és difícil explicar quin o quins efectes hi tenen lloc.

Com que en la caracterització de l'aigua es determina que la concentració de calci és de 140 ppm aproximadament, es comparen amb les recuperacions obtingudes anteriorment després de l'addicció de 120 ppm de calci. Es veu que la tendència de recuperació és la mateixa però en menys quantitat. És a dir, es recupera més plata iònica que nanopartícules però aquesta recuperació disminueix unes tres vegades en ambdós casos.

Seguidament, es preparen diverses barreges de diferents concentracions de plata iònica i de nanopartícules i es segueix el mateix procediment de determinació. Les barreges preparades es mostren a la *Taula 8*.

Taula 8. Concentracions de les diferents solucions preparades amb aigua de riu.

Solució	[Ag+] teòrica (ppb)	[AgNP] teòrica (ppb)	[Ag inicial] anàlisi (ppb)	[Ag final] anàlisi (ppb)	Recuperació (%)
1	51	94	132,19	23,35	17,66 ± 1,34
2	20	77	83,99	12,89	15,53 ± 0,65
3	82	19	89,41	22,99	25,71 ± 1,29
4	20	38	46,66	10,42	22,32 ± 0,08
5	50	38	78,25	20,29	25,93 ± 0,43
6	49	46	80,15	20,49	25,56 ± 0,87

Com es pot veure a la taula, els valors de concentració inicials són inferiors als teòrics; es produeixen pèrdues d'entre el 10 i el 20%. En les sis solucions es recupera un 20-25% de plata, però no es pot saber amb certesa quina part correspon a la forma iònica o bé a les nanopartícules. Suposant una recuperació d'un 30% de plata iònica i un 4% de nanopartícules, els valors trobats no difereixen massa del que s'esperaria.

En qualsevol cas, en comportament d'aquesta aigua no es pot explicar amb les resultats obtinguts fins ara, ni per la suspensió de nanopartícules ni per la de plata iònica, fet que indica que cal estudiar amb molta més profunditat els efectes que hi tenen lloc així com buscar la manera d'aconseguir determinar quina quantitat hi ha de cada forma de plata.

4.7 Estudi de materials

Per finalitzar aquest treball es va voler determinar si el material utilitzat podia tenir efecte en els experiments realitzats. Per fer-ho, es van comparar les recuperacions de cada forma de plata en diverses solucions en tubs de materials diferents després d'una hora d'agitació en absència de resina.

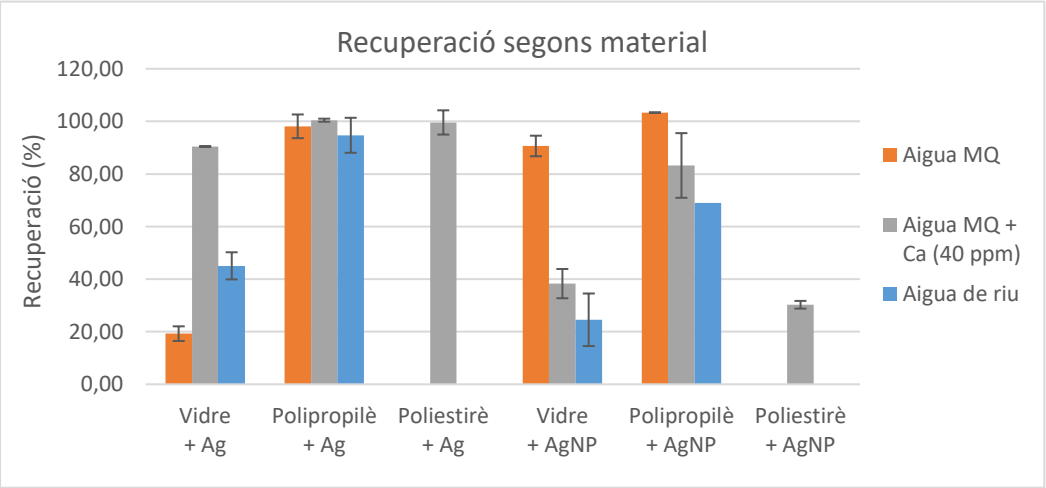

Figura 17. Recuperació de plata segons material. Les barres d'error representen la desviació estàndard de dos replicats.

La *Figura 17* mostra la recuperació de plata per cada forma i cada material. La barra taronja representa l'experiment realitzat amb aigua MilliQ, la grisa, amb aigua MilliQ fortificada amb 40 ppm de calci i la barra blava, amb aigua de riu. No es tenen dades de la recuperació en poliestirè en absència de resina per l'aigua de riu i se sap que les recuperacions en aigua MilliQ són, aproximadament, del 100% per la plata iònica i del 60% per les nanopartícules.

Com es pot observar, en el cas de la plata iònica amb aigua MilliQ s'obtenen recuperacions similars entre poliestirè i polipropilè de gairebé 100% però molt més baixes pel vidre, disminuint fins al 20%. Per les nanopartícules, s'obtenen recuperacions similars entre vidre i polipropilè (90-100%) i menors, tot i que amb una diferència menys pronunciada, pel poliestirè (60%).

En el cas de l'aigua fortificada amb calci, es veuen recuperacions similars pels tres materials provats amb la plata iònica, recuperant gairebé el total, però pel que fa a les nanopartícules el polipropilè és la millor opció, seguit del vidre i, finalment, el poliestirè amb uns rendiments del 80, 40 i 30%, respectivament.

Per últim, en l'aigua de riu, tot i que només es poden comparar el vidre i el polipropilè, es veu que en ambdós casos s'obté una recuperació major al utilitzar el segon material, aconseguint recuperacions del 95% per plata iònica i 70% per les nanopartícules.

Així doncs, es determina que seria més efectiu treballar amb tubs de polipropilè en lloc dels de poliestirè ja que generalment aconsegueixen valors de recuperació més elevats. Tot i així, seria interessant fer un estudi més extens i provar altres materials.

5. Sostenibilitat i ètica

L'objectiu d'aquest treball es basava en trobar un mètode senzill capaç de separar les nanopartícules i la plata iònica de forma quantitativa. Un dels seus grans avantatges és que no utilitza reactius contaminants ni tòxics, de manera que l'impacte al medi ambient es redueix.

Degut que es treballa a concentracions molt baixes, per evitar problemes de contaminació creuada es fa servir material d'un sol ús i, per tant, es genera una quantitat elevada de residu plàstic. Tot i així, si es coneix bé el procediment que es realitzarà, es pot evitar utilitzar material innecessari. També és important conèixer les quantitats de substàncies que s'utilitzaran ja que així no es faran servir reactius en excés.

Com que tot i les precaucions per reduir-lo es genera força residu, cal assegurar-se que tant material com reactius es llencin en els contenidors corresponents, ja que d'aquesta manera s'evitarà contaminar més el medi ambient.

Per últim, és fonamental mencionar que en aquest treball s'han respectat els aspectes ètics. Ja que un dels aspectes bàsics per a realitzar-lo ha estat la recerca bibliogràfica, s'ha referenciat tota la informació que s'ha utilitzat.

6. Conclusions

The objective of this project was to find a simple method capable of quantitatively separate silver nanoparticles of ionic silver using an ion exchange method. Thanks to the literature and due to the available reagents, we decided to use the resin DOWEX 50W-X8. Although this objective has not been achieved, we have obtained results that will allow us to deepen into the behaviour of nanoparticles in the environment.

From the results obtained, we can summarize the following conclusions:

- Sodium form of the resin can better separate better the ionic silver from the nanoparticles than the protonated form. It has been observed that sodium form of the resins adsorbs Ag^+ preferably and the AgNP remains dispersed in the aqueous solution.
- The interaction between the resin and the silver solutions, both ionic and nanoparticles, changes when they are present separately or in a mixed solution.
- The presence of cations has an important effect on the behaviour of nanoparticles as well as of ionic silver. It has been demonstrated that the presence of calcium inhibit the interaction of Ag^+ with the resin and produce the adsorption of AgNP onto the walls of polystyrene tubes. Some preliminary results seems to indicate a different behaviour with other materials. This behaviour is very interesting and need to be more deeply investigated.
- Although the presence complexing agents did not solve the problem caused by calcium and do not present many effect on both species of silver, the presence of humic acids enhanced a bit the recuperation of AgNPs.
- The behaviour of a river water sample spiked with Ag^+ and AgNPs is different from any of the cases studied before. Although the initial concentrations present loses below 20%, the recuperations of each form of silver after contact with the resin are lower than that expected from our previous results.

Although we have not been able to achieve the main objective, we have obtained interesting results that will be object of study for the research group or future students.

7. Bibliografia

[1] J. Ramsden, “What is Nanotechnology? | Nano,” in *Nanotechnology: An Introduction, Second Edition*, 2016, pp. 1–18.

[2] I. Khan, K. Saeed, and I. Khan, “Nanoparticles: Properties, applications and toxicities,” *Arabian Journal of Chemistry*, May-2017.

[3] A. M. Ealias and M. P. Saravanakumar, “A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application,” in *IOP Conference Series: Materials Science*

and Engineering, 2017, vol. 263, no. 3.

[4] X. F. Zhang, Z. G. Liu, W. Shen, and S. Gurunathan, "Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 17, no. 9. 2016.

[5] D. Raghavan, B. Zewde, A. Ambaye, J. Stubbs III, and D. Raghavan, "A Review of Stabilized Silver Nanoparticles – Synthesis, Biological Properties, Characterization, and Potential Areas of Applications," *JSM Nanotechnol Nanomed*, vol. 4, no. 2, p. 1043, 2016.

[6] G. Franci *et al.*, "Silver nanoparticles as potential antibacterial agents," *Molecules*, vol. 20, no. 5, pp. 8856–8874, 2015.

[7] A. Elsaesser and C. V. Howard, "Toxicology of nanoparticles," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 64, no. 2. pp. 129–137, Feb-2012.

[8] Radboud University, "ICP-OES - General Instrumentation," *Radboud University*, 2018. [Online]. Available: https://www.ru.nl/science/gi/facilities-activities/elemental-analysis/icp-oes/.

[9] "Instruments | Nanolytics." [Online]. Available: https://www.nanolytics.de/en/instruments.

[10] I. De la Calle, M. Menta, and F. Séby, "Current trends and challenges in sample preparation for metallic nanoparticles analysis in daily products and environmental samples: A review," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 125, pp. 66–96, 2016.

[11] S. Wilbur, M. Yamanaka, and S. Sannac, "Characterization of nanoparticles in aqueous samples by ICP-MS," *Agil. Technol.*, 2017.

[12] Andreu LLort i Curós, "Estudis d'adsorció de nanopartícules metàl·liques en sòls," Universitat de Girona.

[13] M. Hadioui, S. Leclerc, and K. J. Wilkinson, "Multimethod quantification of Ag+release from nanosilver," *Talanta*, vol. 105, pp. 15–19, 2013.

[14] RIKILT Wageningen, "Single Particle Calculation tool," 2013. Available: https://www.wur.nl/en/Research-Results/Research-Institutes/rikilt/show-rikilt/Single-Particle-Calculation-tool.htm.

[15] M. González, C. Orozco, A. Perez, J. Alfayate, and F. Rodriguez, *Contaminación ambiental : una visión desde la química*. Thomson, 2003.

[16] A. Chakrabarti and M. M. Sharma, "Cationic ion exchange resins as catalyst," *React. Polym.*, vol. 20, no. 1–2, pp. 1–45, Jul. 1993.

[17] I. L. Gunsolus, M. P. S. Mousavi, K. Hussein, P. Bühlmann, and C. L. Haynes, "Effects of Humic and Fulvic Acids on Silver Nanoparticle Stability, Dissolution, and Toxicity," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, no. 13, pp. 8078–8086, 2015.

[18] S. P. Mandyla, G. Z. Tsogas, A. G. Vlessidis, and D. L. Giokas, "Determination of gold nanoparticles in environmental water samples by second-order optical scattering using dithiotreitol-functionalized CdS quantum dots after cloud point extraction," *J. Hazard. Mater.*, vol. 323, pp. 67–74, Feb. 2017.

[19] Carlos Montuenga, "TABLAS_COMPLEJOS_RINGBOM_1972," *Alhambra*.