

Estudis d'estabilitat i absorció en microplàstics de nanopartícules metàl·liques presents en aigües naturals. Estudis previs a l'ús de tractaments terciaris basats en sistemes naturals.

Estudiant: David Aranda Noguera

Correu electrònic: darandanoguera@gmail.com

Grau en Química

Tutora: Mònica Iglesias Juncà

Correu electrònic: monica.iglesias@udg.edu

Institució: Universitat de Girona

ÍNDIX

RESUM	i
RESUMEN	ii
ABSTRACT	iii
REFLEXIONS D'ÈTICA, SOSTENIBILITAT I PERSPECTIVA DE GÈNERE.....	iv
1. INTRODUCCIÓ	1
1.1. Nanopartícules.....	1
1.1.1. Classificació	1
1.2. Mètodes de síntesi de nanopartícules	2
1.3. Nanopartícules de plata	2
1.4. Nanopartícules d'òxid de titani.....	2
1.5. Caracterització i determinació de nanopartícules	3
1.6. Toxicitat i riscos	3
1.7. Microplàstics	4
2. OBJECTIVES	5
3. PROCEDIMENT EXPERIMENTAL	6
3.1. Materials i instruments	6
3.2. Preparació de solucions.....	7
3.2.1. Solucions de nanopartícules	7
3.2.2. Solucions de metalls iònics	7
3.2.3. Solucions d'àcids húmics i tensioactiu	7
3.3. Preparació de mostres i patrons	7
3.4. Determinació de la mida de partícula mitjançant sp-ICP-MS.....	8
3.5. Determinació de metalls amb ICP-OES.....	11
3.6. Cultius de <i>Daphnia Magna</i>	12
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....	13
4.1. Estudi de la mida de nanopartícules de plata	13
4.2. Estudis d'estabilitat de suspensions de nanopartícules en diferents materials i efecte dels àcids húmics	14
4.3. Estudi de la cinètica d'absorció de nanopartícules i ions metàl·lics en microplàstics.....	17
4.4. Estudis d'absorció de nanopartícules metàl·liques amb microplàstics.....	20
4.5. Verificació de la presència de plata i titani en els microplàstics	20
5. CONCLUSIONS	25
6. BIBLIOGRAFIA.....	26

RESUM

Durant els últims anys, la importància de la nanotecnologia ha crescut considerablement gràcies a les propietats úniques que ofereix. Entre els diferents nanomaterials existents, les nanopartícules (NPs) en concret presenten aplicacions en sectors com medicina, química, electrònica o en l'emmagatzematge d'energia, entre d'altres.

L'augment de l'ús de nanopartícules arreu del món implica també un augment en la seva acumulació en el medi ambient, tant en sòls com en aigües. D'altra banda, els microplàstics (MPs) també han augmentat la seva presència en el medi ambient i, malauradament, han acabat formant part de la dieta d'alguns animals marins i aus. Per tant, és imprescindible el correcte tractament d'aigües per millorar la salut d'humans, animals, plantes i ecosistemes, evitant l'acumulació excessiva de nanopartícules i microplàstics.

Per aquest motiu, es vol estudiar la possibilitat d'utilitzar la *Daphnia magna*, un crustaci planctònic amb capacitat filtrant, com a tractament terciari d'aigües residuals que continguin nanopartícules, microplàstics o els dos alhora. Per dur a terme aquests estudis, primer s'ha d'avaluar el comportament de NPs i MPs i com interactuen entre ells per poder extreure conclusions útils pels estudis amb les *Daphnia*. Per realitzar aquestes mesures s'han utilitzat tècniques espectroscòpiques per determinar la mida i concentració de les nanopartícules en les instal·lacions dels Serveis Tècnics de Recerca de la UdG.

En aquest projecte s'ha treballat amb nanopartícules de plata (AgNP) i de diòxid de titani (TiO₂NP) i microplàstics de polietilè. Els experiments realitzats s'han centrat en fer estudis d'estabilitat de les nanopartícules en recipients de diferents materials, intentant trobar les condicions adequades per evitar l'agregació o l'adhesió a les parets i en l'absorció de les NPs i els seus corresponents ions metàl·lics en la superfície dels microplàstics. També s'han analitzat la composició dels MPs després d'entrar en contacte amb les NPs per intentar determinar si es troben en la seva superfície.

RESUMEN

Durante los últimos años, la importancia de la nanotecnología ha crecido considerablemente gracias a las propiedades únicas que ofrece. Entre los diferentes nanomateriales existentes, las nanopartículas (NPs) en concreto tienen aplicaciones en sectores como medicina, química, electrónica o almacenaje de energía, entre otros.

El aumento del uso de las nanopartículas alrededor del mundo implica también un aumento en su acumulación en el medio ambiente, tanto en suelos como en el agua. Por otra parte, los microplásticos (MPs) también han aumentado su presencia en el medio ambiente y, desgraciadamente, han acabado formando parte de la dieta de algunos animales marinos y aves. Por lo tanto, es imprescindible el correcto tratamiento de aguas para mejorar la salud de humanos, animales, plantas y ecosistemas, evitando la acumulación excesiva de nanopartículas y microplásticos.

Por este motivo, se quiere estudiar la posibilidad de utilizar la *Daphnia magna*, un crustáceo planctónico con capacidad de filtración, como tratamiento terciario de aguas residuales que contengan nanopartículas, microplásticos o ambos a la vez. Para llevar a cabo estos estudios, primero se tiene que evaluar el comportamiento de NPs i MPs y como interaccionan entre ellos para poder extraer conclusiones útiles para los estudios con las *Daphnia*. Para realizar estas mediciones se han usado técnicas espectroscópicas para determinar el tamaño y la concentración de las nanopartículas en las instalaciones de los Servicios Técnicos de Investigación de la UdG.

En este proyecto se ha trabajado con nanopartículas de plata (AgNP) y de dióxido de titanio (TiO₂NP) y con microplásticos de polietileno. Los experimentos realizados se han centrado en estudios de estabilidad de las nanopartículas en recipientes de diferentes materiales, intentando encontrar las condiciones adecuadas para evitar la agregación o la adhesión a las paredes y en la absorción de NPs i sus correspondientes iones metálicos en la superficie de los microplásticos. También se ha analizado la composición de los MPs después de entrar en contacto con las NPs para determinar si se encuentran en su superficie.

ABSTRACT

In the last years, the nanotechnology importance has grown considerably due to the unique properties it offers. Among the different existing nanomaterials, nanoparticles (NPs) in particular show applications in sectors like medicine, chemistry, electronics and energy storage amongst others.

The increased in the use of nanoparticles worldwide implies an increase in their accumulation in the environment, including soils and waters. On the other hand, microplastics (MPs) have also increased their presence in the environment and, unfortunately, have become part of the diet of some marine animals and birds. Therefore, it is essential to properly treat water in order to improve the health of humans, animals, plants and ecosystems, avoiding excessive accumulation of nanoparticles and microplastics.

For this reason, the possibility of using *Daphnia magna*, a planktonic crustacean with filtration capacity, as a tertiary treatment for wastewater containing nanoparticles, microplastics, or both, is being studied. To carry out these studies, the behaviour of NPs and MPs and their interactions with each other must first be evaluated to draw useful conclusions for the studies with *Daphnia*. Spectroscopic techniques have been used to measure the size and concentration of nanoparticles in the facilities of the Technical Research Services of the University of Girona.

This project has worked with silver nanoparticles (AgNP) and titanium dioxide nanoparticles (TiO₂NP), as well as polyethylene microplastics. The conducted experiments focused on stability studies of nanoparticles in containers made of different materials, aiming to find suitable conditions to prevent aggregation or adhesion to the walls. The absorption of NPs and their corresponding metal ions on the surface of microplastics was also analysed. Additionally, the composition of the MPs after contact with NPs have been examined to determine if they are present on their surface.

REFLEXIONS D'ÈTICA, SOSTENIBILITAT I PERSPECTIVA DE GÈNERE

Reflexió d'ètica

Inicialment, el treball havia d'experimentar amb l'espècie *Daphnia magna* i la seva capacitat d'ingerir partícules microscòpiques per comprovar les interaccions que tindrien amb els microplàstics. L'experimentació amb animals ha estat un tema polèmic, degut a les nombroses males praxis i pobres condicions que patien els animals. D'una banda, l'experimentació ajuda a trobar medicines i tractaments efectius pels humans i està altament regulat, garantint la seguretat dels animals. D'altra banda, els arguments animalistes són que l'experimentació és cruel i es basa en el patiment i la mort dels animals. També reclamen que la majoria de vegades no es compleixen els requisits legals de manteniment i cura dels animals, advocant per mètodes alternatius de recerca, com l'experimentació in-vitro.

En aquest treball, no hi ha hagut retoc en els resultats i tota la informació extreta ha estat degudament referenciada, seguint els criteris ètics per evitar el plagi.

Reflexió de sostenibilitat

Durant el transcurs d'aquest treball, tots els residus líquids i sòlids s'han abocat als contenidors corresponents, dins el sistema de gestió de residus de la Facultat de Ciències i el Servei Tècnic de Recerca. En la preparació de solucions, s'intenta preparar la quantitat adequada per no generar residus innecessaris. Tot i això, el gran nombre de mostres preparades comporta generar un residu plàstic bastant gran, degut a que s'utilitzen contenidors, filtres i xeringues d'un sol ús per obtenir resultats fiables, i es dipositen al contenidor de residus sòlids.

Reflexió de perspectiva de gènere

La química, com molts altres branques de la ciència, no està exempta de la influència de les normes socials i les expectatives sobre els rols de gènere. Històricament, les dones han estat excloses de participar en l'educació i la recerca científica. Això, ha contribuït a la perpetuació dels estereotips de gènere i de la relegació de la dona a tasques que perpetuen estereotips de gènere. La infrarepresentació de les dones en els diferents camps de la ciència pot contribuir a la sensació del síndrome de la impostora a les científiques i alimentar el sentiment de que les estudiants estan en un lloc que no els hi pertany. Diversos estudis han demostrat que hi ha hagut biaixos de gènere a l'hora de publicar articles científics liderats per dones^[1] donats pel fet que les dones estan infrarepresentades com a autores, revisores i editores de revistes.

En conclusió, el biaix de gènere en la recerca i publicació científica és un assumpte significatiu que pot tenir conseqüències negatives per a les dones científiques i a la ciència en el seu

conjunt. Per tant, cal abordar aquests biaixos a través de més representació femenina en posicions de lideratge per impulsar equips més inclusius i diversos dins de la comunitat científica.

1. INTRODUCCIÓ

Durant la dècada dels 80 i els 90, la nanotecnologia va començar a ser estudiada i, en aquests últims anys, s'ha establert com una indústria molt important gràcies al potencial que ofereixen els nanomaterials en camps com en el diagnòstic, imatge i tractament de malalties humanes, així com en l'electrònica, l'emmagatzematge d'energia i en plaques solars, entre molts altres camps.^[2,3,4,5]

Alguns materials que es troben a l'escala nanoscòpica són les formes al·lotròpiques del carboni conegudes com a full·lerens i nanotubs de carboni, o CNT per les lletres en anglès *Carbon Nanotube*. Els full·lerens són esferes formades per un gran nombre d'àtoms de carboni (C_{60} , C_{76} , C_{80} , C_{240} , ...), descobertes l'any 1985 per Kroto^[6], mitjançant l'evaporació làser del grafit. Els CNT són una xarxa perfecta d'hexàgons de carboni (grafè) enrotllat per formar un tub buit, descoberts per lijima al 1991^[7]. S'han desenvolupat moltes tècniques per funcionalitzar^[8] la superfície dels nanomaterials segons les característiques desitjades, oferint un gran ventall de possibles aplicacions: en biomedicina, emmagatzematge d'hidrogen, nanocàpsules, d'entre altres.

1.1. Nanopartícules

Les nanopartícules es defineixen com partícules que tenen una mida entre 1 i 100 nm en les 3 dimensions i presenten comportaments diferents al seu equivalent de major escala, tot i tenir la mateixa composició química degut a la mida de les partícules i a les interaccions fisicoquímiques que presenten. L'estructura de les nanopartícules pot ser molt variada, depenent del tipus de cristallització del material, i algunes aplicacions poden requerir una morfologia determinada. Les NPs amorfes típicament presenten una forma esfèrica. Un dels aspectes més importants és la gran relació d'àrea de superfície per volum, proporcionant la capacitat d'actuar com a catalitzadors de reaccions químiques en la producció d'energia o en la síntesi de fàrmacs, per exemple.^[9,10]

1.1.1. Classificació

Les nanopartícules es poden classificar seguint diferents criteris, i normalment es divideixen en orgàniques i inorgàniques. La majoria de nanopartícules orgàniques es troben en organismes vius (liposomes, micelles, etc) i tenen una major biocompatibilitat que les nanopartícules dissenyades o sintetitzades en laboratoris.

Les NPs inorgàniques són aquelles que no tenen carboni i estan formades principalment per metalls de transició, sals i òxids metàl·lics, essent més estables i sobretot més tòxiques, degut a la presència de metalls de transició. Els metalls més utilitzats són Ag, Cu, Au, Pt, Pd, Re, Zn, Ru, Co, Cd, Al i Pb, i els òxids metàl·lics més comuns són Al_2O_3 , Fe_3O_4 , TiO_2 , Fe_2O_3 , ZnO , CeO_2 i SiO_2 .^[8]

1.2. Mètodes de síntesi de nanopartícules

Els avenços en l'estudi de les nanopartícules han augmentat el nombre de mètodes existents per sintetitzar-les, adaptant-se a les necessitats funcionals de cada cas, variant la forma, mida, partint dels àtoms com a matèria prima o reduint la mida de micropartícules fins a nanopartícules.

La síntesi biològica de NPs pot tenir lloc amb extractes d'organismes com plantes, fongs o bacteris, permetent la reducció dels ions de metalls en solució a nanopartícules col·loïdals, sense utilitzar reactius perillosos. L'acció d'enzims, proteïnes, aminoàcids o l'àcid làctic permet la reducció d'ions metalls en nanopartícules de diferents formes i mides, arribant a controlar relativament bé el rendiment i la mida variant la temperatura de reacció o el pH. ^[11]

La major part de mètodes per sintetitzar nanopartícules es categoritzen dins de la química humida, ja que consisteixen en la nucleació (reducció d'un complex metàl·lic, com AgNO_3 o AgClO_4) dels ions a nanopartícules col·loïdals en suspensió, mitjançant un agent reductor (per exemple, NaBH_4). Els agents estabilitzants més utilitzats són el citrat trisòdic ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) i la polivinilpirrolidona (PVP), que tenen la funció de regular el creixement de la partícula. Algunes de les tècniques de síntesi de nanopartícules són la síntesi hidrotermal, l'ablació làser, la microemulsió o la síntesi assistida amb microones o ultrasons. ^[8]

1.3. Nanopartícules de plata

Les nanopartícules de plata poden tenir mides i formes diferents, com octogonals, de diamant, esfèriques o fines làmines. Les propietats antimicrobianes, òptiques i elèctriques fan que siguin de les nanopartícules més utilitzades. En l'àmbit mèdic, s'han incorporat en els apòsits per ferides i s'utilitzen com a antisèptic i desinfectant. En el camp de l'electrònica, els materials amb nanopartícules de plata augmenten significativament la seva conductivitat elèctrica com, per exemple, pastes i resines epoxi, i també es poden utilitzar com a sensors. En l'apartat òptic, les nanopartícules de plata presenten ressonància plasmònica^[12] a una determinada longitud d'ona i absorbeixen o dispersen la llum incident molt bé. Aquest efecte permet que es puguin utilitzar plasmons superficials de AgNPs en bioimatge, espectroscòpia Raman (Surface Enhanced Raman Spectroscopy) o fluorescent. ^[13]

L'ús de NPs de plata en productes com plàstics o teixits pot resultar en l'arribada d'aquestes nanopartícules a ecosistemes aquàtics^[14] a través dels sistemes de tractament d'aigües i, si no s'eliminen adequadament es poden convertir en un contaminant perillós.

1.4. Nanopartícules d'òxid de titani

Les nanopartícules de titani venen en forma de TiO_2 sòlid, amb un diàmetre inferior a 100 nm. La disposició cristal·lina del diòxid de titani és d'*anatase* i *rutile*. Es sintetitzen amb el mètode de sol-gel, que consisteix en, a partir de l'alcoxid metàl·lic, convertir els monòmers en una

solució col·loidal, que és el precursor del gel, el qual es pot dipositar en un substrat com a una fina pel·lícula o precipitar i obtenir una pols sòlida. Les nanopartícules de TiO_2 s'utilitzen principalment en cremes solars degut a la seva capacitat per bloquejar la radiació ultraviolada del sol, sense deixar rastre en la pell, i poden arribar a les aigües residual a través del clavegueram de les llars. Altres usos d'aquestes nanopartícules en la indústria es troben en construcció, en materials com pintures, plàstics, ciments, finestres, rajoles o recobriments gràcies a les propietats d'absorció ultraviolada i d'esterilització fotocatalítica que ofereixen.^[15]

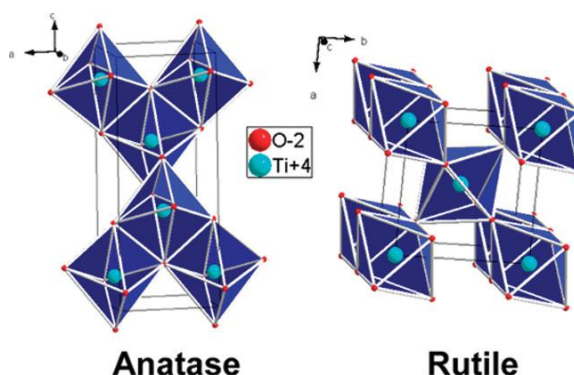


Figura 1. Morfologia cristal·lina de les nanopartícules de TiO_2 .^[16]

1.5. Caracterització i determinació de nanopartícules

Gràcies a la microscòpia electrònica, es poden caracteritzar la mida i la forma de les nanopartícules, perquè la microscòpia òptica no és prou sensible per detectar partícules d'aquest ordre de magnitud. També es pot acoblar aquesta tècnica amb alguna tècnica d'espectroscòpia, per realitzar anàlisis elementals de les mostres. La difracció de raigs X (XRD) permet conèixer l'estructura cristal·lina de les nanopartícules, i altres tècniques com la microscòpia d'escaneig d'electrons (SEM) o la microscòpia de transmissió d'electrons (TEM) permeten visualitzar-les i, per tant, conèixer altres propietats com l'estat d'agregació, l'estructura o la forma de les nanopartícules. Amb l'espectroscòpia de fluorescència de raigs X (XRF) es pot fer l'anàlisi qualitatiu d'una mostra sòlida i amb altres tècniques espectroscòpiques es pot determinar quantitativament la concentració en una solució^[17].

En aquest treball utilitzarem l'espectrometria de masses amb font de plasma d'acoblament inductiu en mode de partícula aïllada (SP-ICP-MS) per confirmar la nanoforma i mida de les nanopartícules de plata i l'espectrometria d'emissió atòmica amb plasma d'acoblament inductiu (ICP-OES) per determinar quantitativament la concentració de plata i titani a les mostres. També es farà servir la fluorescència de raigs X per fer l'espectre dels microplàstics amb les nanopartícules metàl·liques adsorbides.

1.6. Toxicitat i riscos

L'augment en l'ús i l'extensió de les nanopartícules en molts sectors ha comportat l'estudi dels seus efectes sobre la salut humana i animal. Actualment, els perills més preocupants són l'exposició per inhalació, ingesta, absorció dèrmica i possibles explosions de pols de

nanopartícules de carboni. Les nanopartícules que es troben en estat sòlid poden generar pols i, per tant, ser inhalades, entrant en el torrent sanguini i acumulant-se en diferents òrgans o dipositant-se en els alvèols pulmonars, provocant efectes nocius com inflamació, granulomes o fibrosis pulmonar.^[18] S'ha comparat l'efecte de nanotubs i nanofibres de carboni al tracte respiratori amb altres materials fibrogènics com la silica o l'asbest. La toxicitat que presenten a curt termini és prou significativa com per haver d'utilitzar equipament de protecció en els treballadors exposats a aquests nanomaterials, a més de prevenir la inhalació amb sistemes de ventilació efectius, com treballar sota una campana extractora de gasos.

La toxicitat de les nanopartícules de plata pot recaure en l'alliberació d'ions de plata quan les nanopartícules es troben en dissolució i s'ha estudiat el seu efecte citotòxic i genotòxic en cèl·lules humanes.^[19]

Les nanopartícules de TiO₂ tenen com a principals vies d'exposició l'absorció dèrmica, l'absorció gastrointestinal i la inhalació. Els estudis que s'han realitzat sobre els efectes nocius de les NPs de TiO₂ s'enfoquen sobretot en animals (rates) i no hi ha dades sobre ésser humans. Els efectes tòxics més importants observats són la inflamació pulmonar i el càncer de pulmó, i per això la Organització Mundial de la Salut (OMS) i l'Agència Internacional per a la Recerca del Càncer (IARC) han classificat les nanopartícules de TiO₂ com a compost del grup 2B (possiblement carcinogènic pels humans).^[15]

S'ha demostrat que les nanopartícules de titani afecten a algues^[20] i animals aquàtics^[21,22] quan es bioacumulen en cossos d'aigua.

1.7. Microplàstics

Els microplàstics són fragments de qualsevol tipus de plàstic amb una mida inferior a 5 mm i poden tenir diferents formes, com microfibrilles o microesferes. La gran part de MPs alliberats provenen de tèxtils sintètics, de les gomes dels neumàtics i dels pellets que s'utilitzen durant la producció de plàstics i són perjudicials.^[23] Els microplàstics es poden transportar a través de l'aire i l'aigua quan s'alliberen al medi ambient, resultant en possibles riscos de salut per humans, animals, plantes i altres organismes. Així, s'han detectat microplàstics presents en peixos, marisc, sal marina, aigua i altres begudes, incrementant l'exposició humana als microplàstics a través de la dieta. A part dels efectes nocius dels microplàstics quan s'acumulen en un organisme, aquests podrien alliberar additius o monòmers que poden ser fins i tot més perillosos que els propis microplàstics.^[24]

2. OBJECTIVES

The main objective of this work is to study the behaviour and stability of metallic nanoparticles such as silver and titanium dioxide nanoparticles in natural water and their interactions with polyethylene microplastics.

To achieve the goal stated above, a set of specific objectives has been formulated:

- Determine the aggregation and dispersion behaviour of AgNPs and TiO₂NPs in different materials.
- Assess the stability of metallic nanoparticles in the presence of polyethylene microplastics over time.
- Investigate the adsorption of nanoparticles onto the microplastics surface
- Explore the differences on metallic nanoparticles and their respective metallic ions behaviour in the presence of microplastics.

These experiments aim to allow further investigation on nanoparticles and microplastics interactions with the water flea species *Daphnia magna*, because of their filtration capacity. Some objectives that could be stated for future work could be the impact on *D. magna* mobility, feeding behaviour, reproduction success or mortality.

3. PROCEDIMENT EXPERIMENTAL

3.1. Materials i instruments

Reactius:

- Solució estoc de plata iònica, 1000 mg·L⁻¹, Certipur®, Merck Millipore (Alemanya)
- Solució estoc de nanopartícules de plata, 4950 mg·Kg⁻¹, NanoComposix (Estats Units)
- Solució estoc de titani iònic, 1000 mg·L⁻¹, Sigma Aldrich (Alemanya)
- Nanopartícules de diòxid de titani, TiO₂, Sigma Aldrich (Alemanya)
- Àcids húmics, Sigma Aldrich (Alemanya)
- HNO₃ hiperpur 69%, Panreac (Canadà)
- Tensioactiu Tween® 80, Sigma Aldrich, (Alemanya)
- Aigua Milli-Q Plus column, Merck Millipore (Alemanya)
- Aigua ISO/reconstituïda
- Aigua mineral, Font Vella, (Barcelona)
- Microplàstics de polietilè *Fluorescent Violet Polyethylene Microspheres*, Cospheric (Estats Units)

Materials:

- Flascó poliestirè, 12 mL, 30 mL i 220 mL, Deltalab (Barcelona)
- Flascó polipropilè, 100 mL, Deltalab (Barcelona)
- Flascó vidre 100 mL, DWK Life Sciences (Alemanya)
- Micropipetes 20-200 µL i 100-1000 µL, Transfeerpette (Alemanya)
- Pipeta Pasteur Polietilè, 3 mL, Deltalab (Barcelona)
- Xeringa 5 mL, BD Discardit™ II (Estats Units)
- Filtres de xeringa 0.45 µL Clarify, Phenomenex (Estats Units)
- Matràs Kitasato 250 mL, Schott Duran® (Alemanya)
- Placa filtrant, Merck Millipore (Alemanya)
- Embut de vidre 15 mL, Merck Millipore (Alemanya)

Aparells i instruments:

- Agitador rotatori, Dinko (Barcelona)
- Bany d'ultrasons, P Selecta (Barcelona)
- Balança analítica, Cobos Precision ATX224 (Barcelona)
- Espectròmetre d'emissió òptica amb font de plasma d'acoblament inductiu 5100, Agilent Technologies (Estats Units)
- Espectròmetre de masses amb font de plasma d'acoblament inductiu 7500c, Agilent Technologies (Estats Units)
- Bomba de membrana ME 1C, Vacuubrand (Alemanya)
- Espectròmetre de fluorescència de raigs X XDV-SD, Fischerscope® (Alemanya)

3.2. Preparació de solucions

3.2.1. Solucions de nanopartícules

Les solucions de NPs de plata es preparen a partir de la solució estoc de 4950 mg, amb intermedis de 1000 mg·Kg⁻¹ i 10 mg·Kg⁻¹, seguint el següent procediment:

Primer es posa la solució mare en un bany d'ultrasons durant 5 minuts i s'agita manualment durant 1 minut vigorosament, per assegurar que les nanopartícules estiguin ben dissoltes i no quedin agregades. Llavors, es mesura per pesada en una balança analítica el volum necessari per fer la dilució amb una micropipeta i s'enrasa amb aigua Milli-Q al volum final. Cada vegada que es fa una dilució s'ha de seguir aquest procediment rigorosament per evitar l'agregació de les nanopartícules i poder obtenir resultats més fiables. Les solucions de AgNPs s'han de guardar a la nevera tapades amb paper de plata, degut a que la llum pot malmetre les nanopartícules.

Les nanopartícules de titani venen en forma sòlida com a diòxid de titani (TiO₂), es mesura el pes necessari per obtenir una dissolució de 1000 mg/Kg de Ti, tenint en compte el pes de les partícules d'oxigen, i s'enrasa amb aigua Milli-Q. Un cop tenim la dissolució líquida es segueix el mateix procediment que amb les nanopartícules de plata per fer l'intermedi de 10 mg·Kg⁻¹.

3.2.2. Solucions de metalls iònics

Les solucions de plata i titani en forma iònica segueixen el mateix procediment. Ambdues parteixen d'una solució estoc de 1000 mg·L⁻¹ i es mesura per pesada el volum necessari per fer l'intermedi de 10 mg·Kg⁻¹, utilitzant aigua Milli-Q per enrasar.

3.2.3. Solucions d'àcids húmics i tensioactiu

Els àcids húmics es troben en estat sòlid, per tant, es mesura el pes necessari per obtenir una dissolució de 250 mg·Kg⁻¹ d'àcids húmics i s'afegeix aigua Milli-Q fins al pes final, mitjançant la balança analítica. El tensioactiu es prepara a partir de la solució estoc i es dilueix amb aigua Milli-Q per obtenir una dissolució al 5%.

3.3. Preparació de mostres i patrons

Les mostres es preparen per duplicat, amb controls quan és necessari, i es calculen els pesos de cada reactiu per obtenir la concentració desitjada. Les mostres es preparen amb micropipeta per pesada, és a dir, s'anota el pes cada cop que s'afegeix un reactiu. En el cas de les mostres que contenen nanopartícules cal ultrasonar i agitar les nanopartícules abans de fer les mesures. Per preparar les diferents solucions, primer es pesen les nanopartícules o els metalls iònics, després els àcids húmics, seguit dels microplàstics, finalment la solució de tensioactiu 5% (només a les mostres que tenen microplàstics i als seus controls) i s'enrasa amb aigua mineral Font Vella o aigua reconstituïda.

Els patrons de plata i titani es preparen, en tubs de poliestirè, per pesada mesurant el volum de l'intermedi de 10 mg·Kg⁻¹ necessari per obtenir patrons per 0, 25, 50, 100, 150 i 200 µg·Kg⁻¹ del metall iònic, afegint HNO₃ d'una solució 1:10 per tenir una concentració de l'àcid al 0,01%

(v/v) i també el volum necessari de tensioactiu 5% per obtenir un 0,01% final si les mostres tenen microplàstics, enrasant amb aigua Milli-Q.

Les mostres i els patrons es guarden a la nevera des de la seva preservació fins el moment de mesurar en els espectròmetres. Abans de mesurar les concentracions dels metalls, totes les mostres que contenen nanopartícules s'ultrasonen i s'agiten, i aquelles mostres que contenen microplàstics es filtren amb un filtre de xeringa per evitar obturacions en el sistema d'introducció de mostra. Si la mostra conté nanopartícules i microplàstics alhora, primer s'ultrasonen i agiten les mostres i llavors ja es poden filtrar amb el filtre de xeringa.

Les mostres de microplàstics per analitzar al XRF es filtren al buit, amb el muntatge de filtració (kitasato, placa filtrant, filtre de paper i embut de vidre). Un cop filtrades, es disposen en un suport i es deixen assecar a l'aire.



Figura 2. Muntatge per filtrar al buit. A l'esquerra s'observa la bomba de buit, connectada al kitasato amb la placa filtrant i l'embut de vidre. Font pròpia.

3.4. Determinació de la mida de partícula mitjançant sp-ICP-MS

Per poder comprovar la forma i mida de les nanopartícules de plata en la solució estoc que hi havia emmagatzemada, es va analitzar en l'espectròmetre de masses en mode de partícula aïllada o *single particle* (sp-ICP-MS). En aquest cas, la concentració ha de ser molt petita i es va preparar una mostra de $200 \text{ ng}\cdot\text{Kg}^{-1}$ a partir d'un intermedi de $100 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$. En la taula 1 es troben especificades les condicions de treball de l'ICP-MS per dur a terme aquest experiment.

Taula 1. Condicions de treball en l'ICP-MS Agilent 7500c en mode *single particle*, per l'isòtop de Ag¹⁰⁷.

Potència (V)	1550
Temps d'adquisició (ms)	10
Temps de lectura (s)	58,72
Temps d'estabilització (s)	30
Velocitat bomba peristàltica (rpm)	12
Flux d'argó plasmogen (L/min)	15
Nebulitzador	Concèntric
Cambrà	Doble pas
Torxa	Fassel (<i>shield torch</i>)

Les dades de recompte de partícules obtingudes s'introdueixen en una plantilla d'Excel facilitada per la tutora, on s'incorporen dades com la concentració de la solució, el cabal d'entrada de la mostra i el temps d'integració i aquesta ens calcula el diàmetre de les partícules amb la seva desviació. A continuació, es pot veure una captura de la plantilla i es diferencien les caselles taronges, que indiquen propietats constants de l'element analitzat, grogues, on hem d'introduir dades i condicions de l'anàlisi (el diàmetre és l'indicat pel proveïdor) i les caselles verdes, que ens donen els resultats de diferents tipus de càlculs. Per poder diferenciar el soroll de fons i els senyals s'estableix un llindar, seguint la fórmula $\mu_B + (z_{1-\alpha} \sqrt{\mu_B + 1})$, on μ_B correspon a la mediana de comptes i $z_{1-\alpha}$ és un valor arbitrari per evitar els falsos positius, que en aquest cas és 5.



Figura 3. ICP-MS Agilent 7500c situat als Serveis Tècnics de Recerca de la UdG. Font pròpia.

3.5. Determinació de metalls amb ICP-OES

Per determinar la concentració de plata i titani a les mostres s'ha utilitzat l'ICP-OES, que ens permet treballar amb concentracions de l'ordre dels $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$. Cada vegada que es vol analitzar alguna mostra cal preparar patrons (a 0, 25, 50, 100, 150 i 200 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$) per poder fer la recta de regressió. Les mostres es col·loquen en un mostrejador automàtic i es programa a l'ordinador el nombre de mostres a analitzar i l'ordre que seguirà el mostrejador. A la taula 2 i 3 es detallen les condicions de treball de l'ICP-OES utilitzades en la determinació de la plata i el titani, respectivament.

Taula 2. Condicions de treball de l'ICP-OES 5100 per les nanopartícules de plata.

Longitud d'ona (nm)	328,068 i 338,289
Temps de lectura (s)	3
Temps d'estabilització (s)	30
Velocitat bomba peristàltica (rpm)	12
Potència (V)	1200
Flux d'argó plasmogen (L/min)	12
Flux del nebulitzador (L/min)	0,7
Visió	Axial
Replicats per mesura	4
Nebulitzador	Concèntric (<i>sea spray</i>)
Cambra	Ciclònica de doble pas

Taula 3. Condicions de treball de l'ICP-OES 5100 per les nanopartícules de titani.

Longitud d'ona (nm)	334,188 i 334,941
Temps de lectura (s)	3
Temps d'estabilització (s)	30
Velocitat bomba peristàltica (rpm)	12
Potència (V)	1200
Flux d'argó plasmogen (L/min)	12
Flux del nebulitzador (L/min)	0,7
Visió	Axial
Replicats per mesura	3
Nebulitzador	Concèntric (<i>sea spray</i>)
Cambra	Ciclònica de doble pas

Un cop obtingudes les concentracions experimentals, es calcula la recuperació dels metalls, que consisteix en dividir la concentració experimental per la teòrica i multiplicar per 100 per obtenir el resultat com a percentatge.

3.6. Cultius de *Daphnia Magna*

Durant el transcurs del treball, es va intentar cultivar aquaris de *Daphnia magna*. Per fer-ho es van preparar dos aquaris amb aigua Font Vella, sense clor, amb un sistema programat de 14 hores de llum i 10 de fosc i amb sistemes de bombolleig d'aire. Les Daphnies, que es van obtenir del grup de recerca de Física Ambiental de la UdG, s'alimentaven dos cops a la setmana amb Espirulina i llevat. Tot i els esforços per mantenir una colònia sana i estable, els individus no aconseguien sobreviure prou temps i reproduir-se, impossibilitant l'experimentació amb aquests.



Figura 5. ICP-OES Agilent 5100 amb mostrejador automàtic dels Serveis Tècnics de Recerca de la UdG. Font pròpia.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

En aquest apartat es plasmen els resultats realitzats durant el transcurs del treball, ressaltant i discutint els aspectes més important d'aquests.

4.1. Estudi de la mida de nanopartícules de plata

Com s'ha comentat en l'apartat 3.4, s'ha utilitzat l'ICP-MS per determinar el diàmetre de les nanopartícules de plata i verificar el bon estat d'aquesta suspensió estoc.

A continuació es mostren diferents gràfics corresponent al temps d'escaneig, a la distribució de senyals i a la distribució de la mida de partícula.

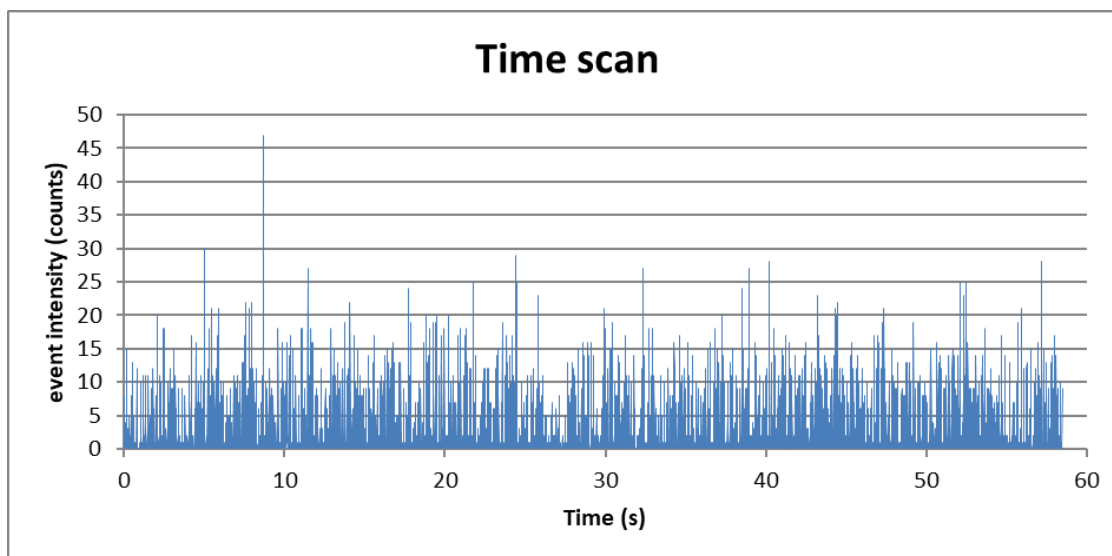


Figura 6. Recompte de les senyals detectades pel sensor al llarg del temps.

Amb les dades de la figura 6 podem assegurar que es tracten de nanopartícules perquè el soroll de base és proper a 0 i cada pic representa la detecció d'una nanopartícula per part de l'instrument. L'alçada del pic indica la intensitat de la nanopartícula detectada, que es pot relacionar amb la seva mida. Com més gran sigui la partícula més quantitat de metall s'ionitza i arriba simultàniament al detector, obtenint una major intensitat.

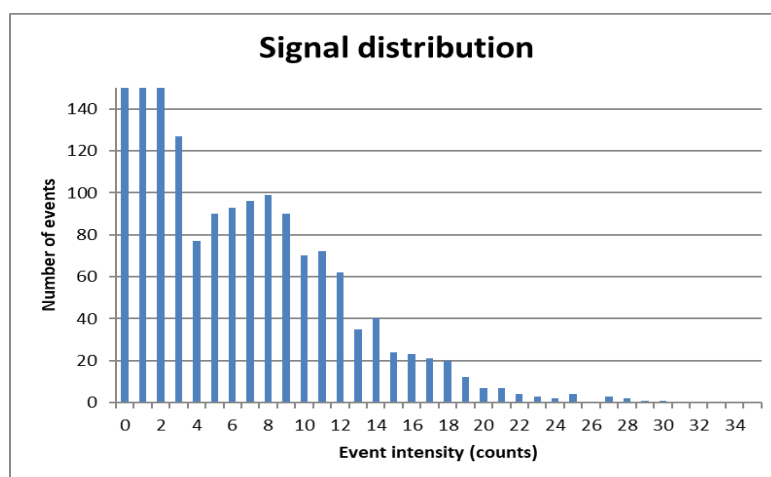


Figura 7. Distribució dels senyals corresponents a $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de AgNP.

En la figura de distribuci3 de senyals només es tenen en consideraci3 els senyals que superen el llindar establert per minimitzar l'aparici3 de falsos positius. D'aquesta manera, només els senyals que superin els 6 comptes es comptabilitzen per calcular la mida de les nanopartícules.

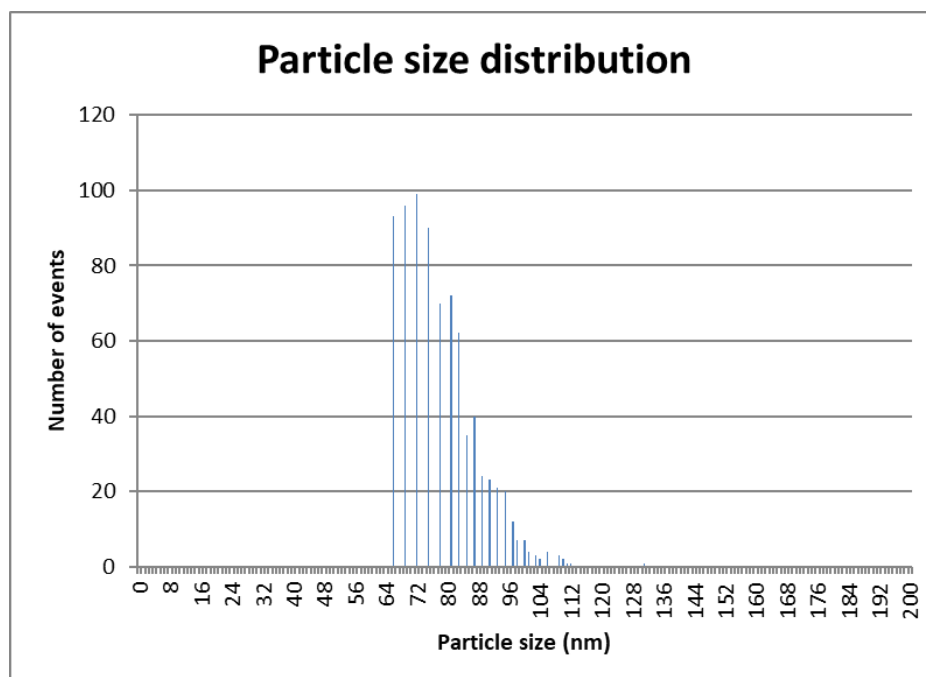


Figura 8. Distribuci3 del diàmetre de les nanopartícules de plata en nanòmetres.

En la figura 8 es pot observar que gran part de les nanopartícules es troben entre 66 i 80 nm, i si tenim en compte la resta de senyals obtenim el resultat definitiu de les nanopartícules amb una mida de **79 nm ± 10 nm**.

En aquest experiment la sensibilitat de l'equip no va ser massa bona, resultant en un gràfic de la distribuci3 de mida que no segueix una distribuci3 gaussiana complerta. Aquest fet, juntament amb el llindar mínim per no tenir falsos positius, ha comportat que possiblement s'hagin descartat senyals de partícules que haurien d'haver estat comptabilitzades.

4.2. Estudis d'estabilitat de suspensions de nanopartícules en diferents materials i efecte dels àcids húmics

És sabut que les nanopartícules en general i les de plata en particular presenten certa inestabilitat quan es troben en soluci3. La mida i la massa tan petita que presenten fa que un cop s'agreguen les nanopartícules o s'adhereixen a les parets del contenidor sigui molt difícil separar-les, formant clústers de centenars de partícules individuals i reduint significativament el rendiment d'aquestes. Per evitar aix3 s'utilitzen agents estabilitzadors durant la seva síntesi, els quals s'adhereixen a la superfície de les nanopartícules.^[13] Per ajudar a mantenir les nanopartícules estables en la dissoluci3 es pot utilitzar un surfactant, que s'adhereix a la superfície i mitjançant repulsions electrostàtiques o estèriques redueix la tensi3 superficial i

millora la dispersió de les nanopartícules.^[8] Altres estudis també han considerat la presència de matèria orgànica en les aigües, com els àcids húmics (AH) procedents de matèria orgànica vegetal morta, pot interactuar amb les nanopartícules i estabilitzar-les.^[25]

Per poder escollir un recipient adequat per dur a terme els experiments es van preparar mostres de nanopartícules de plata a $100 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ amb un pes final de 100 g, modificant les següents variables: el tipus d'aigua utilitzada, la concentració d'àcids húmics i evidentment el material dels recipients. En aquest cas, es volia simular les condicions que tindrien els futurs experiments amb les *Daphnies* i les mostres no es van posar en agitació, ja que les *Daphnies* no proliferen en aigües turbulentes. La figura 9 mostra les recuperacions que es van obtenir analitzant les mostres en l'ICP-OES després de 24 hores.

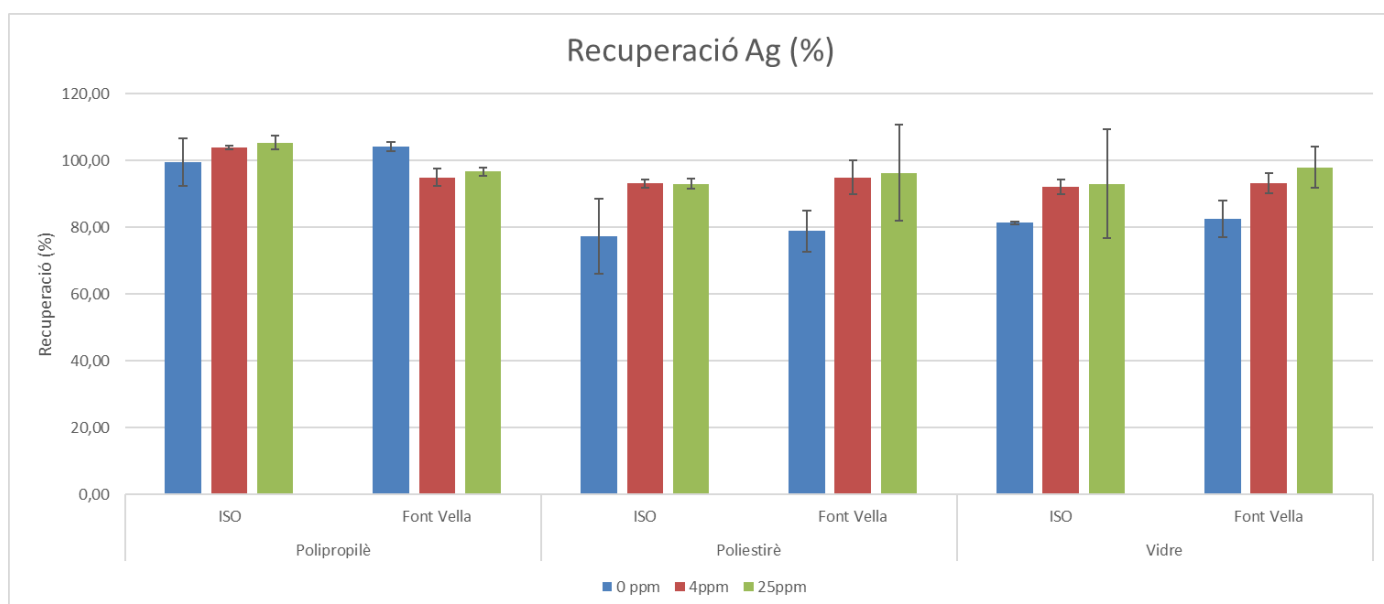


Figura 9. Recuperació de nanopartícules de plata en recipients de polipropilè, poliestirè i vidre, a diferents concentracions d'àcids húmics.

Es pot observar com els dos tipus d'aigües donen resultats molt semblants i en els següents experiments només s'utilitzarà aigua mineral Font Vella, perquè és més fàcil d'obtenir en grans quantitats. També es pot veure com, en els recipients de poliestirè i vidre, la presència d'àcids húmics ajuda a que la recuperació sigui propera al 100%.

També es va realitzar un experiment molt semblant al primer utilitzant les nanopartícules de d'òxid de titani, però només en recipients de poliestirè i vidre i amb 0, 2 i 4 $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ d'àcids húmics, per comprovar si les partícules d'òxid de titani tenien el mateix comportament que les de plata (figura 10).

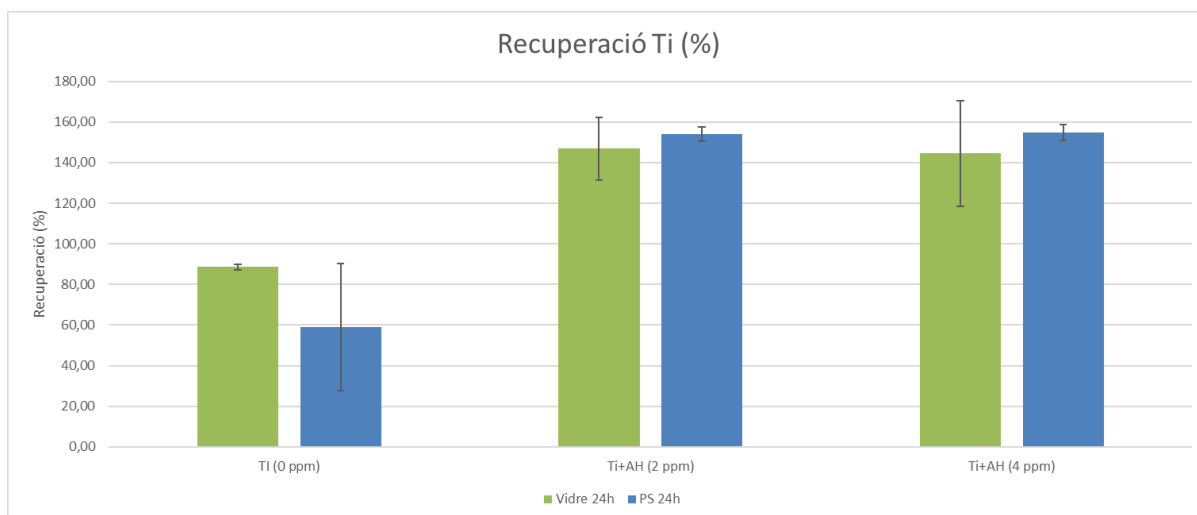


Figura 10. Recuperació de nanopartícules de titani en recipients de vidre (verd) i poliestirè (blau), a diferents concentracions d'àcids húmics.

La presència d'àcids húmics també augmenta la recuperació del titani envers les mostres sense àcids húmics. En aquest experiment la recuperació és excessivament elevada i es pot deure a que la recta de calibratge no era prou precisa. Per aquest motiu, a partir d'aquest punt tots els patrons es van començar a preparar amb un 0,01% àcid nítric per estabilitzar els ions metàl·lics i millorar les rectes de calibratge. Els resultats obtinguts amb 2 i 4 mg·Kg⁻¹ d'àcids húmics no presenten diferències significatives, amb un valor de p en el test ANOVA amb $\alpha=0,05$ de 0,92 i 0,83 pel vidre i el poliestirè respectivament, indicant que amb un 2% és suficient per estabilitzar la dissolució de NPs.

Seguidament, es va fer un experiment amb AgNPs a 100 µg·Kg⁻¹ només en contenidors de vidre amb un pes final de 50 g, per determinar si les recuperacions també són bones amb 2 mg·Kg⁻¹ d'àcids húmics. Aquestes mostres tampoc es van agitar, per obtenir unes condicions els més semblants possibles a l'ecosistema de les Daphnies, però en aquest cas es van afegir microplàstics de poliestirè a 1 mg/mL, és a dir, 50 mg de microplàstics.

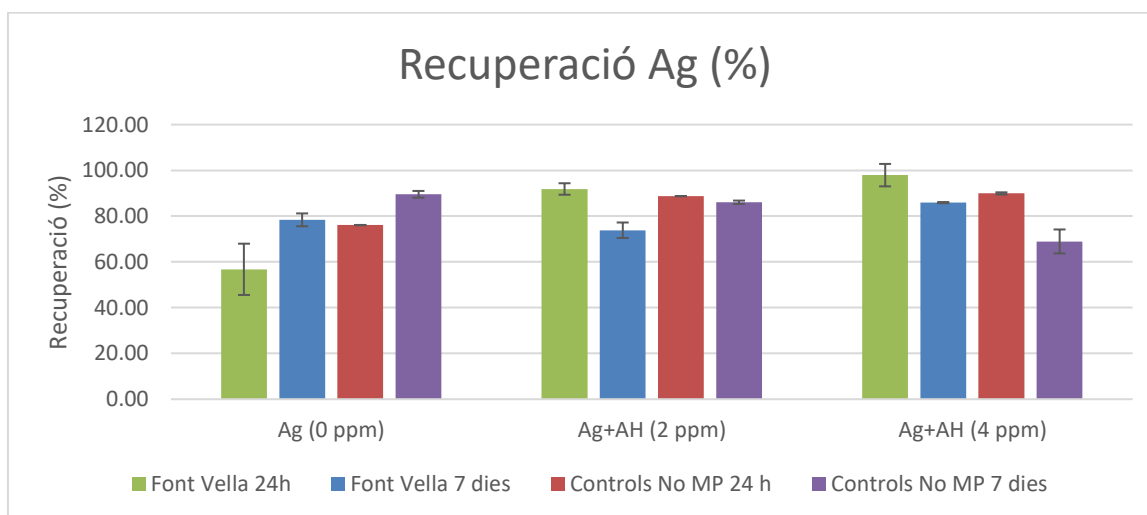


Figura 11. Recuperació de AgNPs en vidre amb 0, 2 i 4 mg·Kg⁻¹ d'àcids húmics i microplàstics durant 24 h i 7 dies, i els respectius controls.

Les columnes verdes i blaves de la figura 11 corresponen a les mostres amb microplàstics reposades durant 24 h i 7 dies, respectivament. Les columnes vermelles i liles corresponen als controls sense microplàstics, també reposats 24 h i 7 dies, respectivament. La presència d'àcids húmics evita que les nanopartícules s'agreguin o quedin adherides a les parets del recipient^[25], però no hi ha diferències entre els valors de 2 i 4 mg·Kg⁻¹ de les mostres i els controls a 24 hores, amb valors de p en el test ANOVA amb $\alpha=0,05$ de 0,26 i 0,067 respectivament. Per tant, utilitzarem 2 mg·Kg⁻¹ d'àcids húmics per mantenir el contingut orgànic total el més baix possible.

4.3. Estudi de la cinètica d'absorció de nanopartícules i ions metàl·lics en microplàstics

L'estudi de la cinètica es centra en el temps que triguen els microplàstics en adsorbir les nanopartícules en la seva superfície. S'han realitzat experiments tant amb nanopartícules com amb els ions metàl·lics, per tal de comprovar si es és possible separar les NPs i els ions del mateix element mitjançant els microplàstics. Les condicions de l'experiment són les mateixes per les mostres de nanopartícules i d'ions metàl·lics: concentració del metall de 100 µg·Kg⁻¹, 2 mg·Kg⁻¹ d'àcids húmics, 1 mg/ml de microplàstics (excepte els controls) i 0,01% (v/v) de tensioactiu, en tubs de poliestirè de 30 mL amb un volum final de 20 mL. Totes les mostres i controls s'agiten a 50 rpm durant el temps corresponent i s'analitzen mitjançant l'ICP-OES. Les barres d'error representades a les gràfiques corresponen a la desviació estàndard entre els duplicats de cada mostra.



Figura 12. Mostres amb microplàstics i controls en l'agitador rotatori.

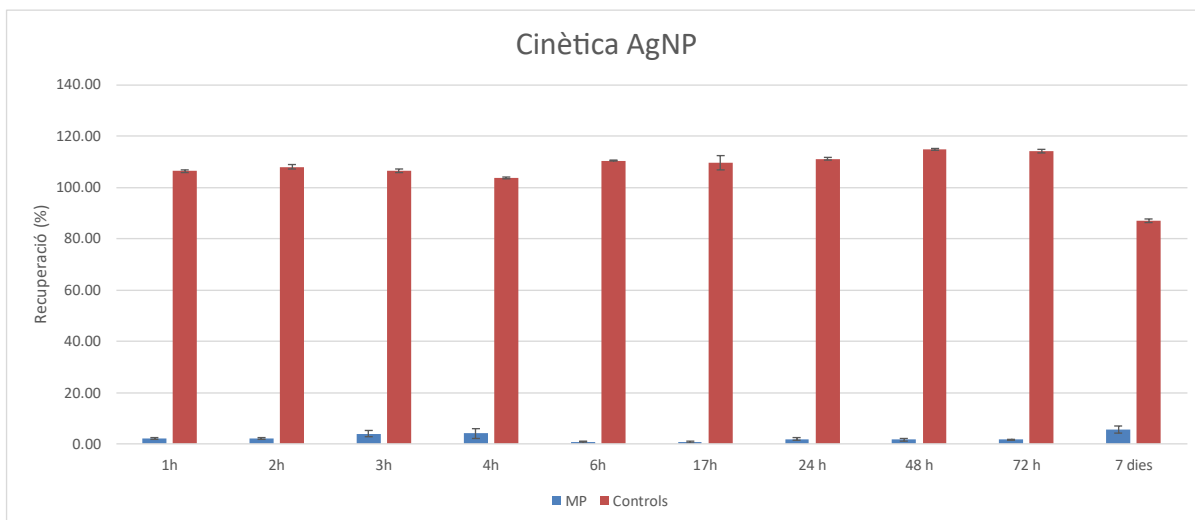


Figura 13. Recuperació de les nanopartícules de plata amb microplàstics (blau) i sense microplàstics (vermell) a diferents temps d'agitació.

Com es pot observar en la figura 13, l'adsorció completa de les nanopartícules té lloc en menys d'una hora, ja que la recuperació de plata en les mostres amb MP es troba en tots els casos molt proper a 0. Tots els controls han donat una recuperació al voltant del 100%, indicant que les suspensions de nanopartícules són estables en absència de microplàstics i per tant es queden retingudes en les partícules de polietilè. La figura mostra que en el control, al cap de 7 dies d'agitació, disminueix lleugerament la recuperació de plata, possiblement degut a l'exposició a la llum i a la degradació de les nanopartícules.

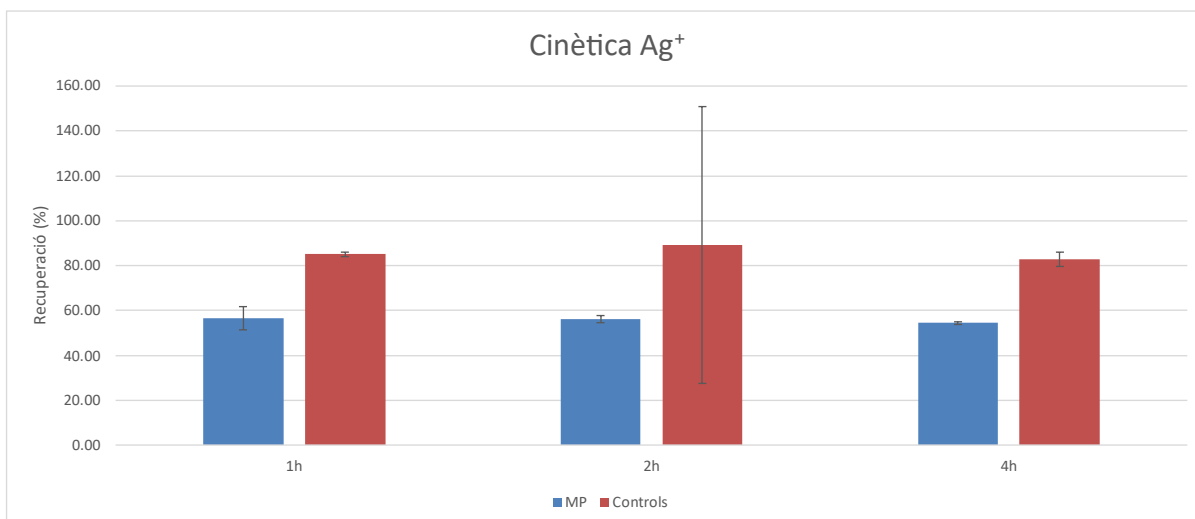


Figura 14. Recuperació dels ions de plata amb microplàstics (blau) i sense microplàstics (vermell) a diferents temps d'agitació.

En el cas dels cations de plata Ag⁺ (figura 14), les mostres amb microplàstics tenen una recuperació propera al 60% i la dels controls es troba al voltant del 80%. Això ens diu que els ions no queden tan retinguts en els microplàstics com les nanopartícules, podent arribar a

separar parcialment ions i NPs. També s'ha de tenir en compte que els ions de plata reaccionen amb el clor de l'aigua mineral per donar clorur de plata, que precipiten i es redueix la concentració de plata dissolta, això podria explicar les baixes recuperacions dels controls. Aquests resultats mostren que es podrien utilitzar els microplàstics si volguéssim separar els ions i les nanopartícules de plata d'una solució, perquè tenen una absorció diferent entre ells. En aquest cas caldria estudiar les millors condicions per dur a terme la separació.

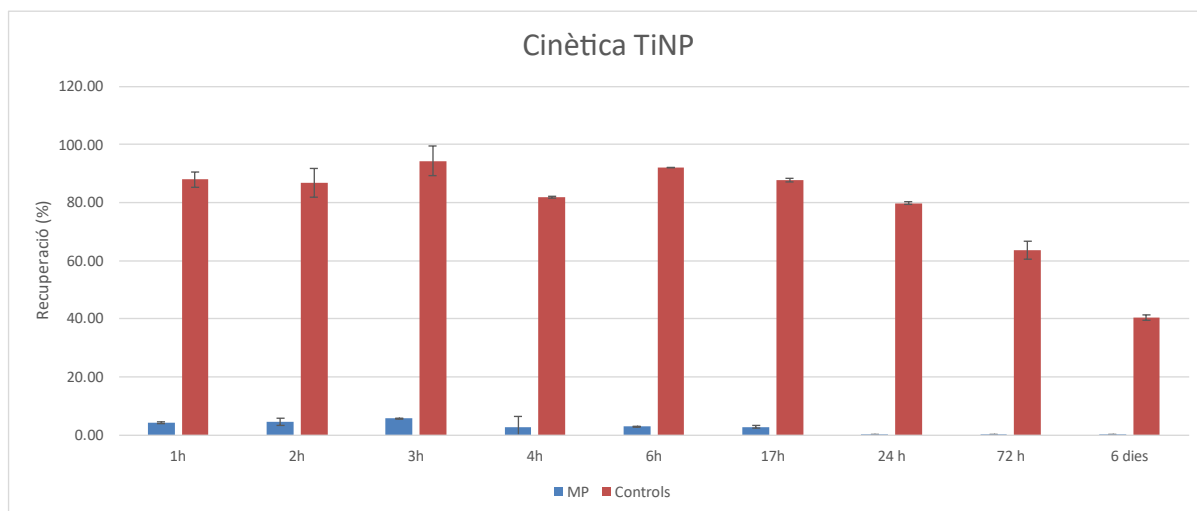


Figura 15. Recuperació de les nanopartícules d'òxid de de titani amb microplàstics (blau) i els controls (vermell) a diferents temps d'agitació.

Com es pot veure en la figura 15, la cinètica de les nanopartícules de TiO_2 és bastant semblant a la cinètica de les NPs de plata, amb les mostres que contenen microplàstics amb una recuperació molt baixa i els controls amb una recuperació més propera al 90-100%. En el cas del titani també s'observa la decaiguda en la recuperació dels controls a partir de les 24 hores, per tant, el ritme de degradació de les nanopartícules de titani és major que les de plata, el que sembla indicar (caldrà verificar-ho) que la degradació de les nanopartícules de titani és més ràpida que les de plata o que les nanopartícules d'òxid de titani amb el temps s'adsorbeixen a les mateixes parets dels recipients.

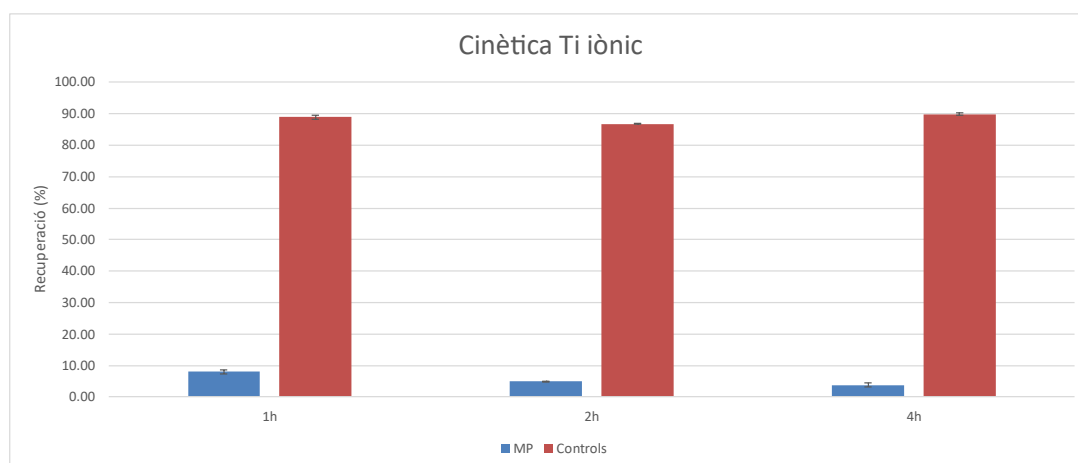


Figura 16. Recuperació de ions de titani amb microplàstics (blau) i els controls (vermell) a diferents temps d'agitació.

La cinètica dels ions de titani Ti^{4+} , representada a la figura 16, ens mostra que en les primeres hores els microplàstics ja han adsorbit completament els ions metàl·lics i per tant en aquest cas el comportament és molt similar a les nanopartícules, el que implica que no es podran separar com passava amb la plata.

4.4. Estudis d'absorció de nanopartícules metàl·liques amb microplàstics

L'experiment preparat per estudiar l'absorció dels MPs consisteix en variar la concentració de NPs metàl·liques per intentar trobar el punt on els microplàstics es saturen i la concentració de metall dissolt augmenta progressivament. Les condicions de l'experiment són les mateixes que en l'estudi de la cinètica de les nanopartícules, però modificant la concentració de NPs. Totes les mostres es posen a l'agitador rotatori durant 2 hores per assegurar que s'arriba a l'equilibri, com indiquen les seves cinètiques.

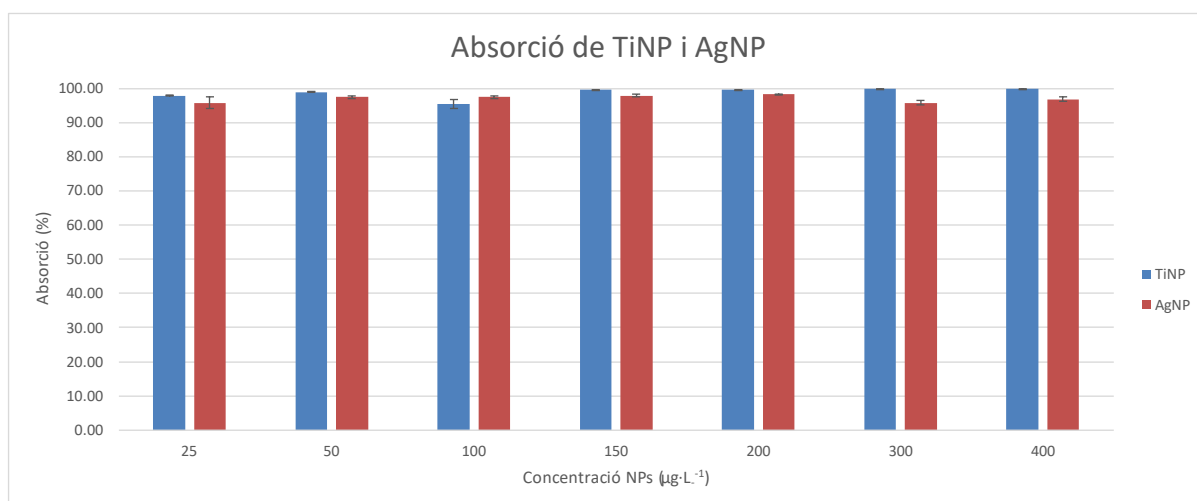


Figura 17. Absorció de les nanopartícules de plata (vermell) i d'òxid de titani (blau) a diferents concentracions en microplàstics de polietilè.

En ambdós tipus de nanopartícules no s'arriba al punt de saturació i les absorcions són pràcticament del 100%. Per poder arribar a observar la corba d'absorció probablement s'haurien d'utilitzar concentracions per sobre de $400 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de nanopartícules, cosa que tampoc té massa sentit perquè són concentracions molt poc probables en aigües residuals i encara menys en aigües naturals.

4.5. Verificació de la presència de plata i titani en els microplàstics

Donat que els resultats obtinguts semblaven mostrar que les nanopartícules de plata i d'òxid de titani s'absorbien molt bé en els microplàstics de polietilè, vàrem voler verificar la presència d'aquestes en la superfície del plàstic. Per fer-ho es va utilitzar la fluorescència de raigs X.

Per realitzar aquesta anàlisi es van filtrar al buit algunes de les mostres més concentrades de l'experiment d'absorció i també es va preparar una mostra idèntica però sense cap mena de nanopartícula, per utilitzar-la com a blanc. Les mostres es deixen assecar durant uns dies i es disposen amb cura sobre un suport assegurant que el paper de filtre queda totalment pla i s'introdueix en l'espectròmetre de fluorescència de raigs X.



Figura 18 i 19. Espectròmetre de fluorescència de raigs X i safata d'inserció de mostra. Font pròpia.



Figura 20. Mostres de microplàstics filtrades al buit. Font pròpia.

Es van analitzar: una mostra de microplàstics amb nanopartícules d'òxid de titani (concentració inicial de $400 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$), una amb nanopartícules de plata (concentració inicial de $300 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$) i el blanc de microplàstics sense NPs.

Taula 4. Condicions de treball de l'espectròmetre de fluorescència de raigs X per mesurar titani.

Material del tub	Tungstè
Voltatge (kV)	50
Corrent (mA)	1000
Filtre primari	Alumini 1000 μm
Col·limador (mm)	3
Temps de mesura (s)	200

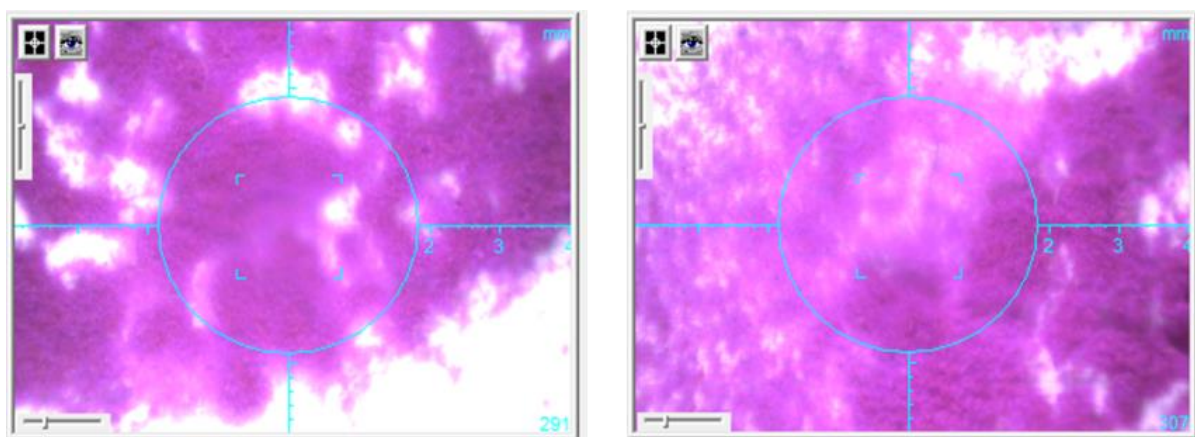


Figura 21. Àrea analitzada dels microplàstics de la mostra amb TiNPs (esquerra) i del blanc (dreta).

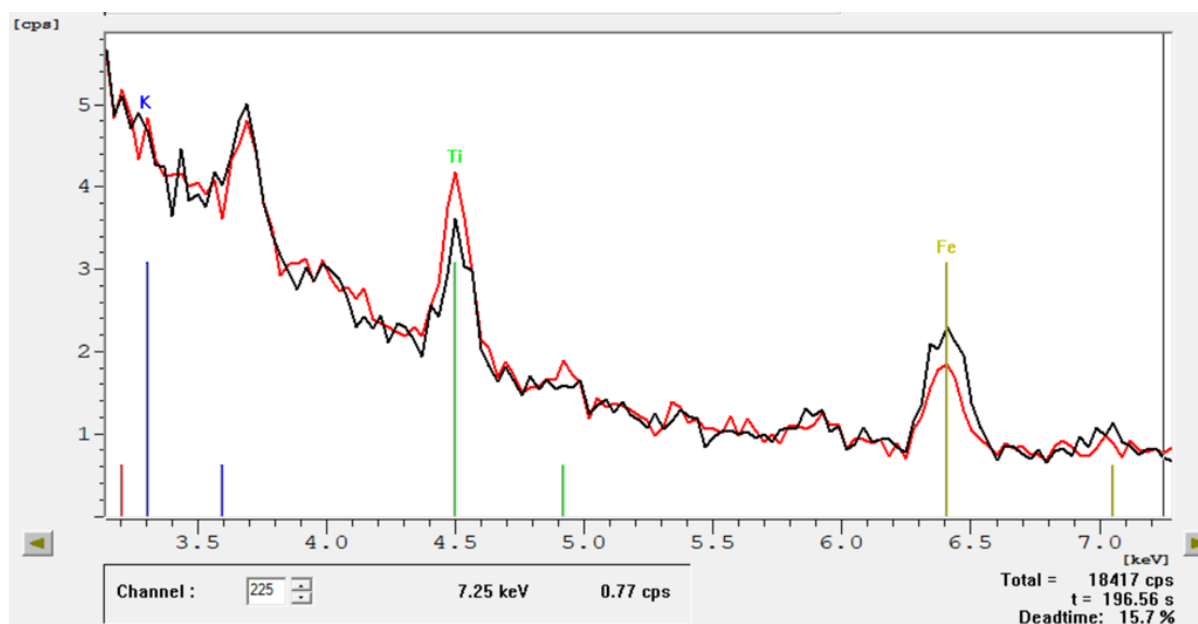


Figura 22. Espectre de fluorescència de raigs X de la mostra amb TiNPs (vermell) i del blanc (negre).

Si observem la figura 22 es pot veure que el pic corresponent al titani, en color verd, apareix tant en el blanc com en la mostra i, encara que el pic de la mostra sigui lleugerament més gran, la mesura no és quantitativa i per tant no ens permet verificar l'absorció de les partícules d'òxid de titani donada la presència de titani al blanc sense cap mena de nanopartícules.

Vam intentar analitzar la mostra de plata amb les mateixes condicions que el titani, indicades a la taula 4, però el soroll en la zona on hauria de sortir era massa gran i es van modificar les condicions.

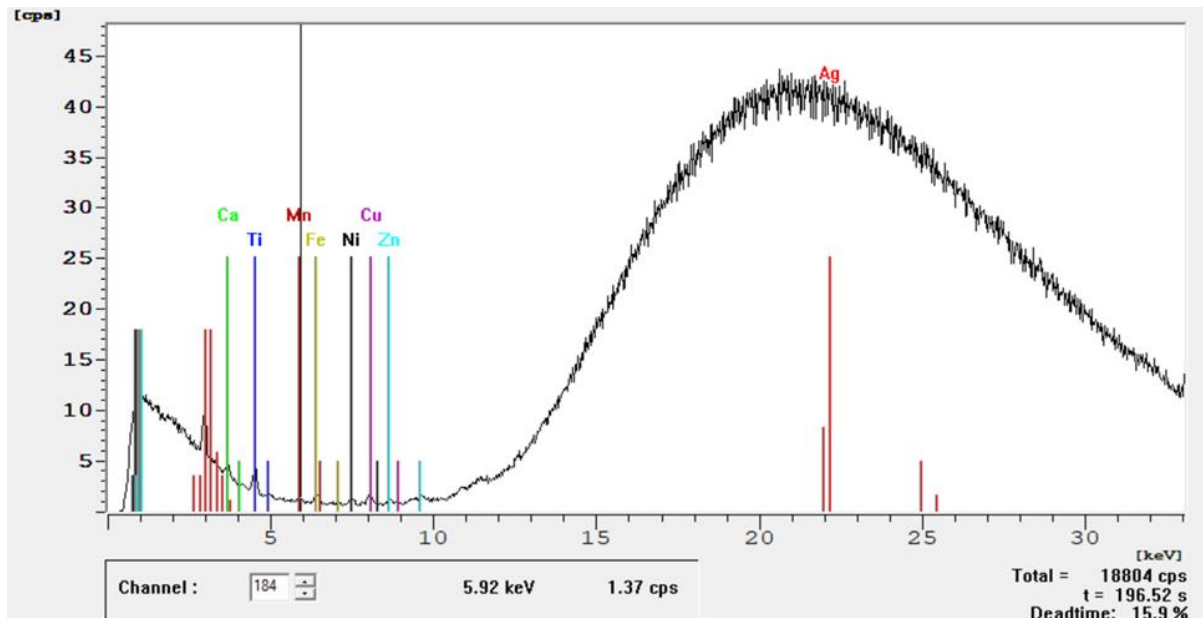


Figura 23. Espectre de fluorescència de raigs X de la plata amb les condicions de la Taula 4.

Taula 5. Condicions de treball de l'espectròmetre de fluorescència de raigs X per mesurar plata.

Material del tub	Tungstè
Voltatge (kV)	50
Corrent (mA)	1000
Filtre primari	Molibdè 70 µm
Col·limador (mm)	3
Temps de mesura (s)	200

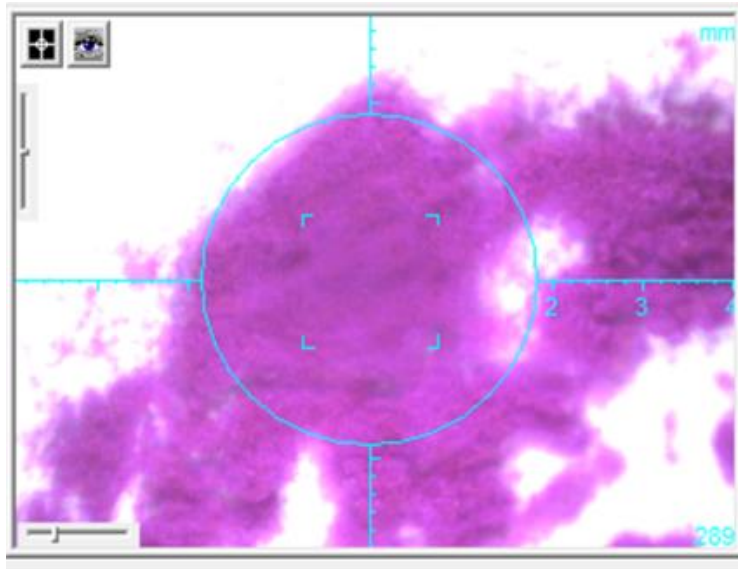


Figura 24. Àrea analitzada dels microplàstics de la mostra amb AgNPs.

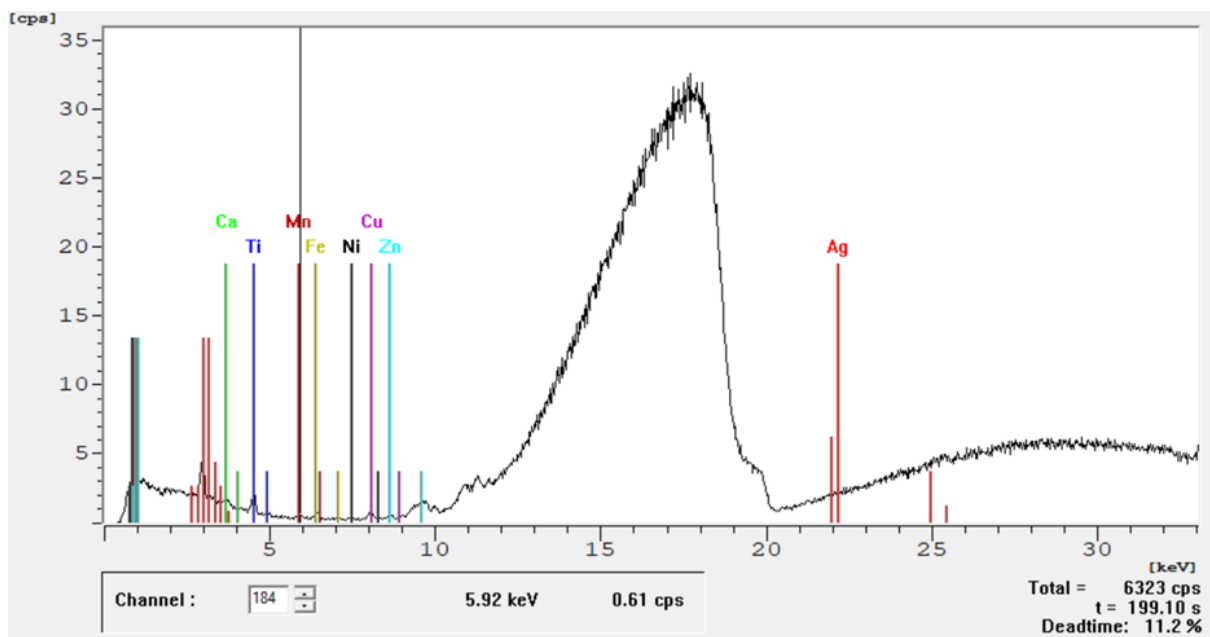


Figura 25. Espectre de fluorescència de raigs X de la plata les condicions de la Taula 5.

Tot i el canvi de condicions experimentals que es van utilitzar, com es veu en la figura 25, malauradament no es pot apreciar cap pic a la zona de la plata, al voltant dels 22 keV.

Així doncs, no es va poder verificar l'absorció de les nanopartícules metàl·liques sobre la superfície dels microplàstics. En un futur es podrien fer mesures mitjançant microscòpia electrònica de rastreig amb detector de raigs X per intentar confirmar la presència de les nanopartícules en la superfície dels microplàstics.

5. CONCLUSIONS

As stated before, the main objectives of this project were to study the stability of metallic nanoparticles in natural water and their interactions with microplastics. In order to achieve this goal, experimentation was performed and the outcoming results lead to the next conclusions:

- Silver and titanium dioxide nanoparticles are more stable in water samples with the presence of humic acids, just using $2 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, than without humic acids.
- Both nanoparticles are also almost completely absorbed by microplastics in less than an hour, absorbing even high NPs concentration ($400 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).
- Silver ions were slightly absorbed by MPs, so silver ions and NPs could be partially separated through microplastics. Titanium ions were completely absorbed after an hour too, so we can't separate them from TiO_2 NPs using microplastics.
- XRF spectrometry showed that blank microplastics already contain titanium, so we can't confirm definitely the adsorption of titanium dioxide nanoparticles onto the microplastics surface. Unfortunately, silver nanoparticles weren't detected by XRF.

These results allow us to better understand the behaviour of nanoparticles and microplastics in order to do further studies about the *Daphnia magna* filtration activity in water treatment.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Science History Institute. (2023, 27 maig). *Women Do Science, Too* | Science History Institute. <https://www.sciencehistory.org/learn/women-in-chemistry>
2. Madhyastha, H., & Chauhan, D. N. (2022). *Nanopharmaceuticals in Regenerative Medicine*. CRC Press. ISBN: 9781003153504
3. Hubler, A., & Osuagwu, O. (2010). *Digital quantum batteries: Energy and information storage in nanovacuum tube arrays*. Complexity, NA. <https://doi.org/10.1002/cplx.20306>
4. Vaziri, M. R. R., Omidvar, A., Jaleh, B., & Shabestari, N. P. (2017). *Investigating the extrinsic size effect of palladium and gold spherical nanoparticles*. Optical Materials, 64, 413-420. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2017.01.014>
5. Taylor, R. W., Coulombe, S., Otanicar, T., Phelan, P. E., Gunawan, A., Lv, W., Rosengarten, G., Prasher, R., & Tyagi, H. (2013). *Small particles, big impacts: A review of the diverse applications of nanofluids*. Journal of Applied Physics, 113(1), 011301. <https://doi.org/10.1063/1.4754271>
6. Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S., Curl, R. F., & Smalley, R. E. (1985). *C60: Buckminsterfullerene*. Nature, 318(6042), 162-163. <https://doi.org/10.1038/318162a0>
7. Iijima, S. (1991). *Helical microtubules of graphitic carbon*. Nature, 354(6348), 56-58. <https://doi.org/10.1038/354056a0>
8. Rizvi, M., Gerengi, H., & Gupta, P. (2022). *Functionalization of Nanomaterials: Synthesis and Characterization*. American Chemical Society eBooks (pp. 1-26). <https://doi.org/10.1021/bk-2022-1418.ch001>
9. Laroui, H., Wilson, D., Dalmaso, G., Salaita, K., Murthy, N., Sitaraman, S. V., & Merlin, D. (2011). *Nanomedicine in GI*. American Journal of Physiology-gastrointestinal and Liver Physiology, 300(3), G371-G383. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00466.2010>
10. Astruc, D. (2020). *Introduction: Nanoparticles in Catalysis*. Chemical Reviews, 120(2), 461-463. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00696>
11. Yumei, L., Lv, Y., Qiang, L., & Jie, B. (2017). *Rapid Biosynthesis of Silver Nanoparticles Based on Flocculation and Reduction of an Exopolysaccharide from Arthrobacter sp. B4: Its Antimicrobial Activity and Phytotoxicity*. Journal of Nanomaterials, 2017, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2017/9703614>

12. Stockman, M. I. (2011). *Nanoplasmonics: The physics behind the applications*. *Physics Today*, 64(2), 39-44. <https://doi.org/10.1063/1.3554315>
13. El-Nour, K. M. A., Eftaiha, A. F., Al-Warthan, A., & Ammar, R. A. (2010). *Synthesis and applications of silver nanoparticles*. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(3), 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.04.008>
14. Blaser, S. A., Scheringer, M., MacLeod, M., & Hungerbühler, K. (2008). *Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: Contribution of nano-functionalized plastics and textiles*. *Science of The Total Environment*, 390(2-3), 396-409. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.10.010>
15. Shi, H., Magaye, R., Castranova, V., & Zhao, J. (2013). *Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data*. *Particle and Fibre Toxicology*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1743-8977-10-15>
16. Dambournet, D., Belharouak, I., & Amine, K. (2009). *Tailored Preparation Methods of TiO₂ Anatase, Rutile, Brookite: Mechanism of Formation and Electrochemical Properties*. *Chemistry of Materials*, 22(3), 1173-1179. <https://doi.org/10.1021/cm902613h>
17. Tiede, K., Boxall, A. B., Tear, S., Lewis, J. S., David, H., & Hassellöv, M. (2008). *Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment*. *Taylor & Francis Online*, 25(7), 795-821. <https://doi.org/10.1080/02652030802007553>
18. Hodson, L., Methner, M. M., & Zumwalde, R. D. (2009). *Approaches to safe nanotechnology managing the health and safety concerns associated with engineered nanomaterials*. The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). <https://doi.org/10.26616/nioshpub2009125>
19. Asharani, P. V., Mun, G. L. K., Hande, M. P., & Valiyaveetil, S. (2008). *Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells*. *ACS Nano*, 3(2), 279-290. <https://doi.org/10.1021/nn800596w>
20. Aruoja, V., Dubourguier, H., Kasemets, K., & Kahru, A. (2009). *Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of The Total Environment*, 407(4), 1461-1468. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.053>
21. Zhu, X., Chang, Y., & Chen, Y. (2010). *Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ nanoparticle aggregates in Daphnia magna*. *Chemosphere*, 78(3), 209-215. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.11.013>
22. Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H., & Kahru, A. (2008). *Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria Vibrio fischeri and crustaceans Daphnia magna and Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 71(7), 1308-1316. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.11.047>

23. Wang, C., Zhao, J., & Xing, B. (2021). Environmental source, fate, and toxicity of microplastics. *Journal of Hazardous Materials*, 407, 124357. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124357>
24. Boucher, J., & Friot, D. (2017). *Primary microplastics in the oceans: A global evaluation of sources*. IUCN. <https://doi.org/10.2305/iucn.ch.2017.01.en>
25. Watanabe, C. H., Domingos, R. F., & Benedetti, M. F. (2023). *Dissolution and fate of silver nanoparticles in the presence of natural aquatic organic matter*. *Journal of Environmental Exposure Assessment*, 2(1), 6. <https://doi.org/10.20517/jeea.2022.24>