

Anexos

A) INSTRUMENTOS

- Balanza de precisión PL – 2001 – L, precisión $\pm 0,1$ mg
- Medidor de pH micro pH 2001 (Crison, Barcelona, España)
- Sonda Conductividad (Hanna Instruments)
- Espectrofotómetro de absorción atómica: Perkin Elmer 2380 (Perkin Elmer, Massachusetts, EE.UU.)
- ICP-MS Elan DRC-e Perkin Elmer (Perkin Elmer, Massachusetts, EE.UU.)
- Cromatógrafo: Waters 2796 Bioseparations Module (Waters Corporation, Milford, EE.UU.)
- Columna: PL-PSDA Type 1 (5-300 nm)
- Detector de diodos en array: Waters 996 Photodiode Array Detector (Waters Corporation, Milford, EE.UU.)
- ICP – MS NexION 2000 Perkin Elmer

B) APARATOS

- Estufa Memmert (máximo 300 °C, precisión ± 1)
- Micropipetas 50-200 μ L (Bibby Sterilin, Stone, Reino Unido)
- Baño de Ultrasonidos (JP Selecta S.A., Barcelona, España)
- Incubadora (OVAN, Barcelona, España)
- Centrífuga Heraeus Multifuge X1R (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE.UU.)
- Microondas MARS HP – 500 Plus DS (CEM Corporation, Matthews, EEUU)
- Sistema de agitación rotatorio (Heidolph)
- Sistema de filtración de PTFE con filtro de membrana de nylon 0,45 μ m Filter Lab (Filtros Anioia, Barcelona, España)
- Molino Restch NM400

C) MATERIALES

- Mortero de ágata
- Vidrios de reloj
- Vasos de precipitado y botes de plástico de distintos volúmenes
- Espátula
- Cuentagotas de plástico
- Tubos falcón de 15 y 50 mL
- Tubos eppendorf de 2 mL
- Frasco lavador de plástico
- Vasos de teflón
- Viales de vidrio
- Jeringuillas de plástico de 2 mL

D) REACTIVOS

- Agua MiliQ obtenida a partir de agua tratada con un purificador Millipore (modelo Q-POD, Millipore Corporation, Massachusetts, EEUU)
- Ácido nítrico 69 – 70% (J.T. Baker, Phillipsburg, EE.UU.)
- Ácido clorhídrico (J.T. Baker, Phillipsburg, EE.UU.)
- Hidrogenofosfato de sodio (Na_2HPO_4) (Sigma-Aldrich Chemie, Stenheim, Alemania)
- DiHidrogenofosfato de sodio (NaH_2PO_4) (Sigma-Aldrich Chemie, Stenheim, Alemania)
- NaOH (Scharlau, Barcelona, Spain)
- Pepsina (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
- Pancreatina (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
- Cloranfenicol (C0378, Sigma Aldrich)
- Dodecilsulfato de sodio (SDS) (Bio-Rad Laboratories, Hercules, EE.UU.)
- Formaldehído 35-40% (Probus, Barcelona, España)
- Triton X-100 (Sigma-Aldrich Chemie, Stenheim, Alemania)
- D-Penicilamina 96-101% (Sigma-Aldrich Chemie, Stenheim, Alemania)

1.- CARACTERIZACIÓN DEL PIENSO

A) PESOS CÁLCULO DE HUMEDAD

	Réplica	Peso inicial (g) 10:00h	Peso 1 (g) 11:00h	Peso 2 (g) 12:00h	Peso 3 (g) 13:00h
Inicio polvo control	1	1,0589	0,9427	0,9391	0,9459
	2	0,9292	0,8347	0,8239	0,8287
Inicio polvo Ag	1	0,9067	0,8192	0,8037	0,8072
	2	0,9701	0,8962	0,8897	0,8949
Inicio pellet control	1	0,9872	0,8749	0,869	0,8727
	2	0,9795	0,8802	0,8754	0,8737
Inicio pellet Ag	1	1,0012	0,9073	0,9015	0,9082
	2	0,9124	0,8259	0,8285	0,8325
Crecimiento pellet control	1	0,9699	0,8793	0,8753	0,8817
	2	0,9239	0,8356	0,8297	0,8372
Crecimiento pellet Ag	1	0,9726	0,8759	0,8682	0,8737
	2	0,9629	0,8647	0,8594	0,8601

Tabla 1: Pesos obtenidos de cada muestra para el cálculo del % humedad

B) RESULTADOS OBTENIDOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE HUMEDAD

	Réplica	% Humedad	Valor medio (%)	RSD (%)
Inicio polvo control	1	10,67	10,74	0,95
	2	10,82		
Inicio polvo Ag	1	10,97	9,36	24,33
	2	7,75		
Inicio pellet control	1	11,60	11,20	5,03
	2	10,80		
Inicio pellet Ag	1	9,29	9,02	4,17
	2	8,76		
Crecimiento pellet control	1	9,09	9,24	2,22
	2	9,38		
Crecimiento pellet Ag	1	10,17	10,42	3,44
	2	10,68		

Tabla 2: Porcentajes de humedad obtenidos para cada réplica

Para caracterizar la humedad del pienso se siguió el procedimiento descrito en el apartado 3.3.1. El cálculo del porcentaje de humedad se ha realizado aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ HUMEDAD} = \frac{\text{Peso final (peso 3)} - \text{Peso inicial (peso 1)}}{\text{Peso 1}} * 100$$

Los resultados para cada réplica se muestran en la **tabla 2**, así como los resultados finales en la **tabla 3**.

	Humedad (%)	RSD(%)
Inicio polvo control	10,7	0,950
Inicio polvo Ag	9,36	24,3
Inicio pellet control	11,2	5,03
Inicio pellet Ag	9,02	4,17
Crecimiento pellet control	9,24	2,22
Crecimiento pellet Ag	10,4	3,44

Tabla 3: Resultados del % de humedad para las muestras de pienso

C) MUESTRAS pH Y CONDUCTIVIDAD

	Pienso (g)	Total (g)
Inicio polvo control	0,0504	50,4
Inicio polvo Ag	0,0522	50,2
Inicio pellet control	0,0559	50,9
Inicio pellet Ag	0,0553	50,3
Crecimiento pellet control	0,0501	50,1
Crecimiento pellet Ag	0,0503	50,3

Tabla 4: Pesos tomados de cada muestra para caracterización de pH y conductividad

D) RESULTADOS CARACTERIZACIÓN DE pH Y CONDUCTIVIDAD

	Medida	pH	Valor medio	RSD (%)	Conductividad (μScm^{-1})	Valor medio	RSD (%)
Agua MilliQ	1	5,67	5,60	1,77	0	0	0
	2	5,53			0		
Inicio polvo control	1	6,14	6,11	0,81	30	25	28,28
	2	6,07			20		
Inicio polvo Ag	1	6,11	6,07	0,93	30	30	0
	2	6,03			30		
Inicio pellet control	1	6,31	6,18	3,09	30	25	28,28
	2	6,04			20		
Inicio pellet Ag	1	6,33	6,19	3,20	40	40	0
	2	6,05			40		
Crecimiento pellet control	1	5,94	5,85	2,30	20	20	0
	2	5,75			20		
Crecimiento pellet Ag	1	5,93	5,90	5,90	20	20	0
	2	5,86			20		

Tabla 5: Valores de pH y conductividad obtenidos para cada réplica

	pH		CONDUCTIVIDAD (μScm^{-1})	
	Valor medio	RSD (%)	Valor medio	RSD%
Agua MilliQ	5,60	1,77	0	0
Inicio polvo control	6,11	0,810	25,0	28,3
Inicio polvo Ag	6,07	0,930	30,0	0
Inicio pellet control	6,18	3,09	25,0	28,3
Inicio pellet Ag	6,19	3,20	40,0	0
Crecimiento pellet control	5,85	2,30	20,0	0
Crecimiento pellet Ag	5,90	5,90	20,0	0

Tabla 6: Valores obtenidos de pH y conductividad para las muestras de pienso

2.- DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE Ag EN EL PIENSO POR ATAQUE MICROONDAS E ICP – MS

A) PESOS INICIALES DE MUESTRAS

Número de tubo	Muestra	Ag patrón (g)	Pienso (g)	Total (g)
1	Pienso Crecimiento Ag	-	0,1040	52,1441
2	Blanco	-	-	51,9461
3	Pienso Crecimiento Ag	-	0,1066	51,0563
4	Pienso Control Crec.	-	0,1006	50,9590
5	Recuperación Crec. Ag	0,5011	0,1020	52,1171
6	Pienso Control Crec.	-	0,1008	52,3155
7	Pienso Control Crec.	-	0,0999	51,3560
8	Recuperación Control Crec.	0,5042	0,1024	52,0837
9	Recuperación Blanco	0,5122	0,5122	52,1156
10	Blanco	-	-	52,6309
11	Pienso Crecimiento Ag	-	0,1164	52,2986
12	Blanco	-	-	52,8991

Tabla 7: Pesos iniciales de cada muestra para determinación del contenido total de Ag

B) RECTA DE CALIBRADO

Concentración teórica (μgL^{-1})	Ag 1 mgL^{-1} (g)	Total (g)	Concentración real (μgL^{-1})
Blanco	-	25,1761	0
1	0,0207	24,9952	0,828
5	0,1297	24,9830	5,192
10	0,2521	24,9208	10,120
15	0,3744	25,0118	14,969
20	0,5094	24,9260	20,436
25	0,6258	25,0186	25,013
30	0,7621	25,3596	30,052
50	1,2784	25,2338	50,662

Tabla 8: Pesos tomados para cada patrón de la recta de calibrado

Concentración (μgL^{-1})	Señal Intensidad Ag 107	Señal Intensidad Rh 103	Señal Intensidad Ag107/Rh
0	290	99694	0,003
5,192	77635	103564	0,747
10,120	153528	104457	1,467
14,969	230228	104758	2,197
20,436	315518	107495	2,932
25,013	386479	104459	3,698
30,052	461788	106479	4,334
50,662	769489	104687	7,348

Tabla 9: Valores de intensidad obtenidos para la recta de calibrado

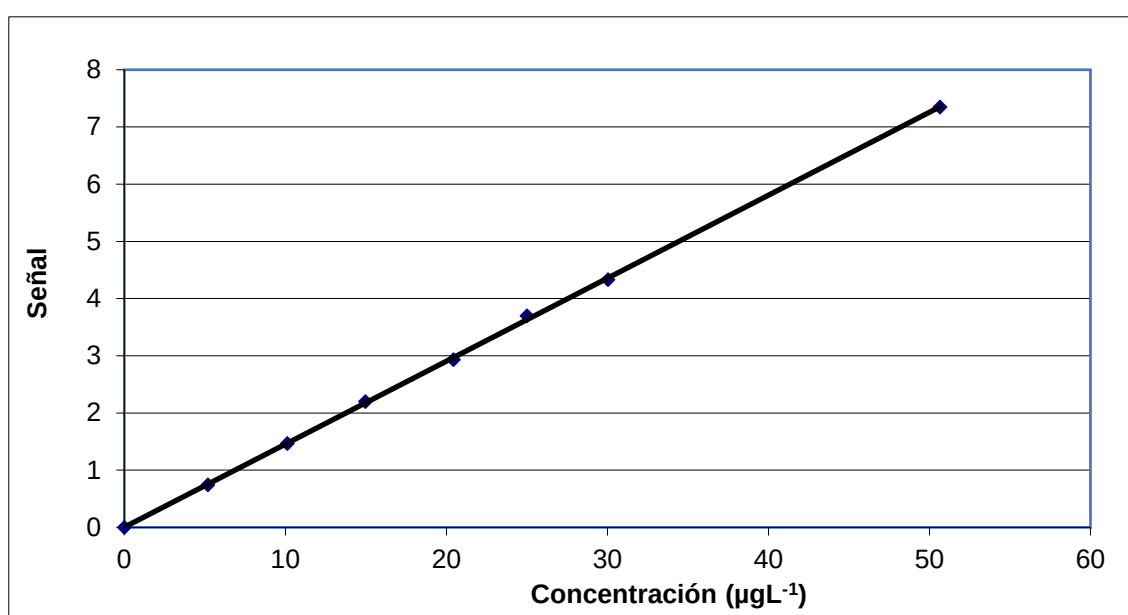


Figura 1: Representación gráfica de la recta de calibrado obtenida para determinación del contenido total de Ag

ECUACIÓN	$y = 0,1457x - 0,0080$		
PENDIENTE	$0,1457 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$	INCERTIDUMBRE	0,0010
ORDENADA EN EL ORIGEN	0,0080	INCERTIDUMBRE	0,0110
COEFICIENTE DE REGRESIÓN	0,9998		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	$0,0125 \mu\text{gL}^{-1}$		
LÍMITE DE DETECCIÓN	$0,0038 \mu\text{gL}^{-1}$		
RANGO LINEAL	$[0,0125 - 50,6622] \mu\text{gL}^{-1}$		
SENSIBILIDAD	$0,1457 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$		

Tabla 10: Parámetros de calidad y parámetros analíticos obtenidos para la recta de calibrado

C) DISOLUCIONES DE ESTANDAR INTERNO Y OPTIMIZACION. PARÁMETROS INSTRUMENTALES DE MEDIDA

Flujo de gas del nebulizador	0,98 Lmin ⁻¹
Intensidad para In	300000 cuentas
Voltaje lente	9,4 V
Detector	Dual
Número de barridos por lectura	20
Réplicas	5
Lectura por réplica	1
Dual time	50 ms
Flujo de gas plasmógeno	15 Lmin ⁻¹
Flujo de gas auxiliar	1,2 min ⁻¹
Potencia del plasma	1100W

Tabla 11: Parámetros instrumentales de medida para la determinación del contenido total

Concentración teórica (µgL⁻¹)	Rh 10mgL⁻¹ (g)	Total (g)	Concentración real (µgL⁻¹)
10	0,0486	50,0083	9,5941

Tabla 12: Pesos tomados para la disolución de estándar interno

Concentración teórica (µgL⁻¹)	Ag 1 mgL⁻¹ (g)	Total (g)	Concentración real (µgL⁻¹)
10	0,5034	50,0195	10,0334

Tabla 13: Pesos tomados para la disolución de optimización

D) CONCENTRACIÓN DE Ag EN LOS PIENSOS

		Concentración (mgKg⁻¹)	Media	s	DSR (%)
Crecimiento Control	Tubo 4	0,079	0,081	0,003	3,37
	Tubo 6	0,080			
	Tubo 7	0,084			
Crecimiento Ag	Tubo 1	18,45	15,96	2,313	14,50
	Tubo 3	15,53			

Tabla 14: Concentraciones obtenidas para la determinación del contenido total de Ag

3.- ESTUDIOS DE LIBERACIÓN DE Ag TOTAL EN AGUA

A) DETERMINACIÓN POR EAA – LLAMA

A1) Peso de cada muestra y diluciones

10 min de agitación + centrifugado

	Pienso (g)	Ag Patrón (g)	Total (g)	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Blanco	-	-	49,4055	7,6324	14,8945
Recuperación blanco	-	0,2527	50,2212	7,5468	15,0245
Crecimiento control I	0,0505	-	48,9938	7,6069	15,1748
Crecimiento control II	0,0533	-	49,6436	7,6339	14,9121
Recuperación control	0,0493	0,2536	49,7144	7,4931	15,0818
Crecimiento Ag I	0,0593	-	49,5276	7,5175	14,7197
Crecimiento Ag II	0,0519	-	50,4615	7,4525	14,9879
Crecimiento Ag III	0,0558	-	51,5927	7,6755	14,8901

Tabla 15: Pesos y diluciones para cada muestra en el estudio de liberación de Ag total en agua tras 10 min de agitación (EAA – Llama con centrifugación)

1 hora de agitación + centrifugado

	Pienso (g)	Ag Patrón (g)	Total (g)	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Blanco	-	-	49,5289	7,6224	14,9731
Recuperación blanco	-	0,2529	48,7731	7,5506	14,9106
Crecimiento control I	0,0509	-	50,9487	7,6964	15,0385
Crecimiento control II	0,0508	-	51,4937	7,7603	14,8163
Recuperación control	0,0553	0,2538	50,7915	7,5431	14,9541
Crecimiento Ag I	0,0491	-	50,1141	7,4081	14,9961
Crecimiento Ag II	0,0530	-	49,3818	7,5617	14,9057
Crecimiento Ag III	0,0514	-	49,5473	7,4147	14,8935

Tabla 16: Pesos y diluciones para cada muestra en el estudio de liberación de Ag total en agua tras 1h de agitación (EAA – Llama con centrifugación)

24h de agitación + centrifugado

	Pienso (g)	Ag patrón (g)	Total (g)	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Blanco	-	-	50,0890	7,5340	15,3960
Recuperación blanco	-	0,2502	50,1737	7,4993	15,0089
Crecimiento control I	0,0517	-	50,1031	7,5143	15,1644
Crecimiento control II	0,0533	-	50,5066	7,5610	15,7249
Recuperación control	0,0502	0,2517	50,4118	7,6515	14,9977
Crecimiento Ag I	0,0495	-	50,0539	7,5221	15,3497
Crecimiento Ag II	0,0513	-	50,0735	7,5864	16,1175
Crecimiento Ag III	0,0510	-	50,2383	7,4717	16,3413

Tabla 17: Pesos y diluciones para cada muestra en el estudio de liberación de Ag total en agua tras 24h de agitación (EAA – Llama con centrifugación)

10 min de agitación sin centrifugado

	Pienso (g)	Ag Patrón (g)	Total (g)	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Blanco	-	-	49,8504	7,4455	14,9892
Recuperación blanco	-	0,2571	50,7343	7,5175	15,2224
Crecimiento control I	0,0470	-	49,7938	7,5771	15,3365
Crecimiento control II	0,0445	-	49,7348	7,4927	14,8493
Recuperación control	0,0496	0,2596	49,7873	7,5124	14,8246
Crecimiento Ag I	0,0512	-	50,5685	7,4787	14,8103
Crecimiento Ag II	0,0484	-	49,9747	7,5141	14,9360
Crecimiento Ag III	0,0475	-	40,5252	7,5362	15,0299

Tabla 18: Pesos y diluciones para cada muestra en el estudio de liberación de Ag total en agua tras 10 min de agitación (EAA – Llama sin centrifugación)

1h de agitación sin centrifugado

	Pienso (g)	Ag Patrón (g)	Total (g)	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Blanco	-	-	49,6461	7,6613	15,3869
Recuperación blanco	-	0,2558	49,7213	7,5682	16,1249
Crecimiento control I	0,0521	-	49,8798	7,7191	15,1865
Crecimiento control II	0,0506	-	50,0013	7,6109	15,1824
Recuperación control	0,0516	0,2528	50,0407	7,4558	15,2916
Crecimiento Ag I	0,0510	-	50,4359	7,5292	14,9048
Crecimiento Ag II	0,0603	-	50,2066	7,4444	14,7540
Crecimiento Ag III	0,0471	-	50,2010	7,4792	14,7548

Tabla 19: Pesos y diluciones para cada muestra en el estudio de liberación de Ag total en agua tras 1h de agitación (EAA – Llama sin centrifugación)

24h de agitación sin centrifugado

	Pienso (g)	Ag Patrón (g)	Total (g)	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Blanco	-	-	49,0082	7,4351	14,5773
Recuperación blanco	-	0,2531	49,0512	7,4683	14,6843
Crecimiento control I	0,0492	-	49,5799	7,4889	14,7459
Crecimiento control II	0,0506	-	49,5056	7,4932	14,5621
Recuperación control	0,2555	0,2555	49,2094	7,4910	14,9014
Crecimiento Ag I	0,0501	-	48,9922	7,4687	14,8931
Crecimiento Ag II	0,0538	-	49,2782	7,5969	14,5067
Crecimiento Ag III	0,0508	-	49,2782	7,6504	15,1984

Tabla 20: Pesos y diluciones para cada muestra en el estudio de liberación de Ag total en agua tras 24h de agitación (EAA – Llama sin centrifugación)

A2) Rectas de calibrado

Recta 1:

Concentración teórica (mgL ⁻¹)	Ag 100 mgL ⁻¹ (g)	Total (g)	Concentración real (mgL ⁻¹)
Blanco	-	14,9856	0
1	0,1490	15,0986	0,9877
2	0,3052	15,0140	2,0328
3	0,4494	15,1205	2,9721
4	0,6089	15,0009	4,0591
5	0,7609	14,9683	5,0834

Tabla 21: Pesos tomados para cada patrón de la recta de calibrado 1

BLANCO	0,001	0,000	0,002	0,001	0,003	MEDIA	s
	0,004	0,001	0,002	0,001	0,001	0,0016	1,174*10 ⁻³
0,9877	0,062	0,061	0,059	0,060	0,059	0,0602	1,304*10 ⁻³
2,0328	0,122	0,120	0,121	0,121	0,122	0,1212	8,367*10 ⁻⁴
2,9721	0,171	0,175	0,174	0,176	0,172	0,1736	2,074*10 ⁻³
4,0591	0,229	0,228	0,227	0,225	0,226	0,227	1,581*10 ⁻³
5,0834	0,280	0,279	0,274	0,279	0,279	0,2782	2,387*10 ⁻³

Tabla 22: Valores de absorbancia obtenidos para la recta de calibrado 1

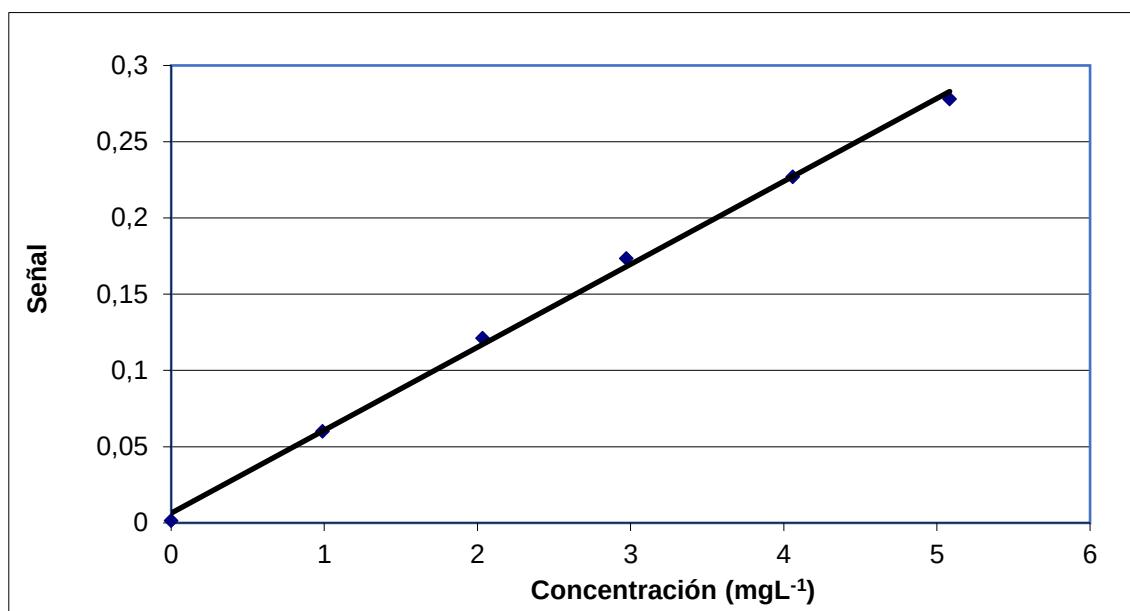


Figura 2: Recta de calibrado 1 para el estudio de liberación de Ag total en agua

ECUACIÓN	$y = 0,0544x + 0,0064$		
PENDIENTE	0,05440 Lmg ⁻¹	INCERTIDUMBRE	0,00114 Lmg ⁻¹
ORDENADA EN EL ORIGEN	0,00641	INCERTIDUMBRE	0,00349
COEFICIENTE DE REGRESIÓN	0,9983		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	0,2158 mgL ⁻¹		
LÍMITE DE DETECCIÓN	0,0647 mgL ⁻¹		
RANGO LINEAL	[0,2158 - 5,0834] mgL ⁻¹		
SENSIBILIDAD	0,0544 Lmg ⁻¹		

Tabla 23: Parámetros de calidad y parámetros analíticos Recta 1

Recta 2:

Concentración teórica (mgL ⁻¹)	Ag 100 mgL ⁻¹ (g)	Total (g)	Concentración real (mgL ⁻¹)
Blanco	-	15,0601	0
1	0,1501	15,0525	0,9972
2	0,3041	15,0370	2,0223
3	0,4525	15,0454	3,0076
4	0,6126	15,0961	4,0580

Tabla 24: Pesos tomados para cada patrón de la recta de calibrado 2

						MEDIA	s
BLANCO	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	5,164*10 ⁻⁴
	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001		
0,9972	0,059	0,05	0,06	0,06	0,059	0,058	4,278*10 ⁻³
2,0223	0,117	0,117	0,117	0,118	0,118	0,117	5,477*10 ⁻⁴
3,0076	0,174	0,17	0,177	0,174	0,176	0,174	2,683*10 ⁻³
4,0580	0,255	0,248	0,246	0,246	0,242	0,248	4,775*10 ⁻³

Tabla 25: Valores de absorbancia obtenidos para la recta de calibrado 2

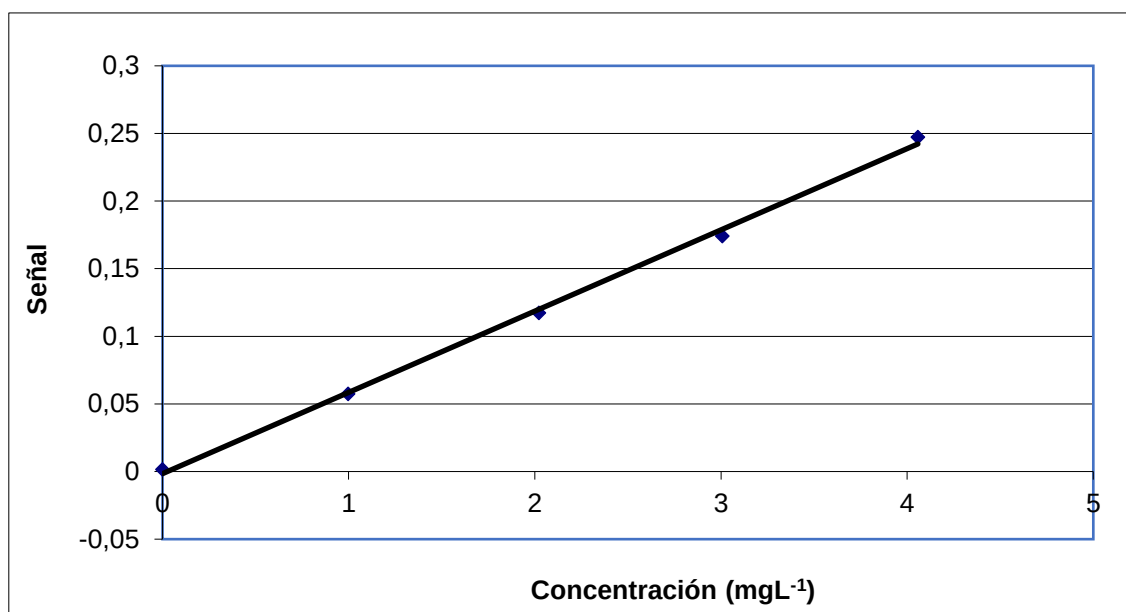


Figura 3: Recta de calibrado 2 para el estudio de liberación de Ag total en agua

ECUACIÓN	$y = 0,0601x - 0,0015$		
PENDIENTE	$0,06008 \text{ Lmg}^{-1}$	INCERTIDUMBRE	$0,00149 \text{ Lmg}^{-1}$
ORDENADA EN EL ORIGEN	$- 0,00154$	INCERTIDUMBRE	$0,00368$
COEFICIENTE DE REGRESIÓN	$0,9982$		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	$0,0859 \text{ mgL}^{-1}$		
LÍMITE DE DETECCIÓN	$0,0258 \text{ mgL}^{-1}$		
RANGO LINEAL	$[0,2158 - 4,0580] \text{ mgL}^{-1}$		
SENSIBILIDAD	$0,0601 \text{ Lmg}^{-1}$		

Tabla 26: Parámetros de calidad y parámetros analíticos Recta 2

Recta 3:

Concentración teórica (mgL^{-1})	Ag 100 mgL^{-1} (g)	Total (g)	Concentración real (mgL^{-1})
Blanco	-	14,9575	0
1	0,1495	14,8715	1,0066
2	0,2996	14,6263	2,0484
3	0,4521	14,7325	3,0687
4	0,6032	14,7960	4,0768
5	0,7623	15,4977	4,9188

Tabla 27: Pesos tomados para cada patrón de la recta de calibrado 3

						MEDIA	s
BLANCO	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	$3,162 \cdot 10^{-4}$
	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001		
1,007	0,066	0,066	0,067	0,067	0,067	0,067	$5,477 \cdot 10^{-4}$
2,048	0,125	0,124	0,123	0,123	0,122	0,123	$1,140 \cdot 10^{-4}$
3,069	0,199	0,200	0,199	0,197	0,195	0,198	$2,000 \cdot 10^{-3}$
4,077	0,260	0,258	0,254	0,254	0,254	0,256	$2,828 \cdot 10^{-3}$
4,919	0,305	0,303	0,300	0,296	0,296	0,300	$4,062 \cdot 10^{-3}$

Tabla 28: Valores de absorbancia obtenidos para la recta de calibrado 3

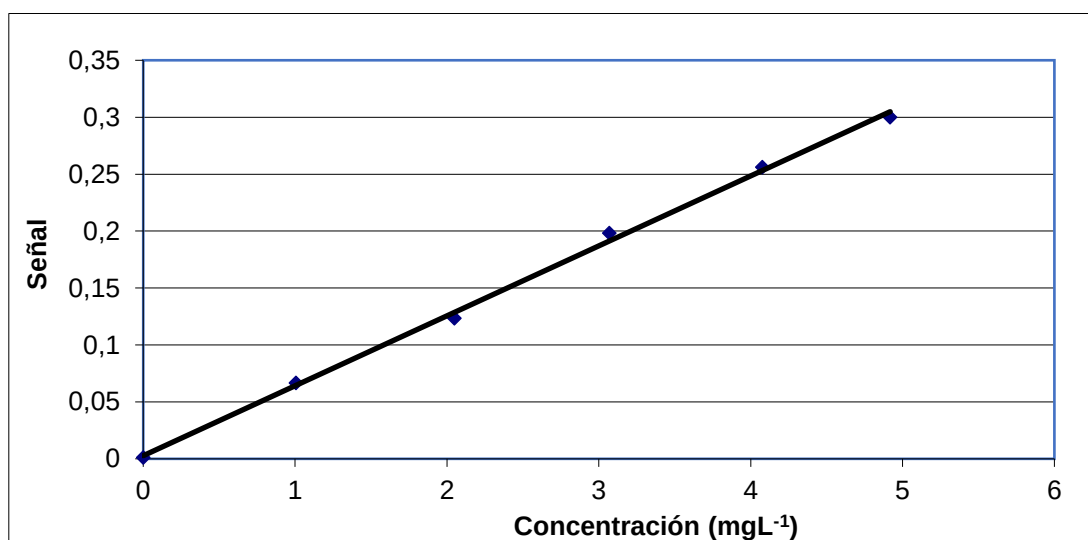


Figura 4: Recta de calibrado 3 para el estudio de liberación de Ag total en agua

ECUACIÓN	$y = 0,0614x + 0,0027$		
PENDIENTE	0,06142 Lmg ⁻¹	INCERTIDUMBRE	0,00127 Lmg ⁻¹
ORDENADA EN EL ORIGEN	0,00274	INCERTIDUMBRE	0,00385
COEFICIENTE DE REGRESIÓN	0,9983		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	0,0515 mgL ⁻¹		
LÍMITE DE DETECCIÓN	0,0154 mgL ⁻¹		
RANGO LINEAL	[0,0515 – 4,9188] mgL ⁻¹		
SENSIBILIDAD	0,0614 Lmg ⁻¹		

Tabla 29: Parámetros de calidad y parámetros analíticos Recta 3

A3) Parámetros instrumentales de medida

λ	328,07 nm
W (Anchura rendija)	0,7 nm
Ganancia	84
Llama aire : acetileno	40 : 15 unidades arbitrarias
t integración	1 seg
t respuesta	3 seg
nº réplicas muestras	3
nº réplicas blanco	10
modelo	Perkin Elmer 2380

Tabla 30: Parámetros instrumentales de medida para el estudio de liberación de Ag total en agua

A4) Test t estadístico: comparación de pendientes

Recta 1 vs Recta 2:

	Valor 1	Valor 2
Magnitud	0,0544	0,06008
Incertidumbre	0,00114	0,00149
Grados de libertad	4	3
Parámetro z o t	3,03	
probabilidad de que la diferencia sea aleatoria:	1 cola	2 colas
asumiendo distribución z	0,12%	0,25%
distribución t asumiendo varianzas comparables	0,96%	1,92%
distribución t (varianzas no comparables)	2,82%	5,64%

Tabla 31: Test t estadístico para la comparación de recta 1 vs recta 2

Recta 1 vs Recta 3:

	Valor 1	Valor 2
Magnitud	0,0544	0,06142
Incertidumbre	0,00114	0,00127
Grados de libertad	4	4
Parámetro z o t	4,11	
probabilidad de que la diferencia sea aleatoria:	1 cola	2 colas
asumiendo distribución z	0,00%	0,00%
distribución t asumiendo varianzas comparables	0,17%	0,34%
distribución t (varianzas no comparables)	0,73%	1,47%

Tabla 32: Test t estadístico para la comparación de recta 1 vs recta 3

Recta 2 vs Recta 3:

	Valor 1	Valor 2
Magnitud	0,06008	0,06142
Incertidumbre	0,00149	0,00127
Grados de libertad	3	4
Parámetro z o t	0,68	
probabilidad de que la diferencia sea aleatoria:	1 cola	2 colas
asumiendo distribución z	24,68%	49,37%
distribución t asumiendo varianzas comparables	25,79%	51,57%
distribución t (varianzas no comparables)	27,14%	54,28%

Tabla 33: Test t estadístico para la comparación de recta 1 vs recta 2

A5) Resultados

		MUESTRA	Abs.	Conc. Obt. (mgL ⁻¹)
SIN CENTRIFUGAR	10 min	CONTROL I	0,0008	< LC
		CONTROL II	0,001	< LC
	1h	CONTROL I	0,001	< LC
		CONTROL II	0,008	< LC
	24h	CONTROL I	0,000	< LC
		CONTROL II	0,000	< LC
CON CENTRIFUFACION	10 min	CONTROL I	0,0016	< LC
		CONTROL II	0,0014	< LC
	1h	CONTROL I	0,0012	< LC
		CONTROL II	0,0018	< LC
	24h	CONTROL I	0,0016	< LC
		CONTROL II	0,008	< LC

Tabla 34: Valores de absorbancia y concentraciones obtenidas para las muestras de pienso crecimiento control

		MUESTRA	Abs.	Conc. Obt. (mgL ⁻¹)
SIN CENTRIFUGAR	10 min	Ag I	0,0012	< LC
		Ag II	0,001	< LC
		Ag III	0,001	< LC
	1h	Ag I	0,0012	< LC
		Ag II	0,001	< LC
		Ag III	0,001	< LC
	24h	Ag I	0,000	< LC
		Ag II	0,000	< LC
		Ag III	0,000	< LC
CON CENTRIFUFACION	10 min	Ag I	0,0004	< LC
		Ag II	0,0006	< LC
		Ag III	0,0012	< LC
	1h	Ag I	0,0004	< LC
		Ag II	0,0008	< LC
		Ag III	0,0016	< LC
	24h	Ag I	0,0014	< LC
		Ag II	0,0006	< LC
		Ag III	0,0008	< LC

Tabla 35: Valores de absorbancia y concentraciones obtenidas para las muestras de pienso crecimiento control

B) DETERMINACIÓN POR ICP – MS

B1) Contenido de cada muestra y diluciones

10 min de agitación + centrifugado

	Pienso (g)	Ag Patrón (g)	Total (g)	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Blanco	-	-	49,9462	0,1501	14,8401
Recuperación blanco	-	0,2528	49,9076	0,1505	14,8353
Crecimiento control I	0,0492	-	49,2938	0,1512	15,1064
Crecimiento control II	0,0541	-	50,7363	0,1517	14,6759
Recuperación control	0,0555	0,2526	49,5525	0,1501	15,0334
Crecimiento Ag I	0,0512	-	50,1160	0,1499	14,7279
Crecimiento Ag II	0,0549	-	49,3794	0,1490	15,1380
Crecimiento Ag III	0,0500	-	40,4108	0,1505	14,8264

Tabla 36: Pesos y diluciones para cada muestra en el estudio de liberación de Ag total en agua tras 10 min de agitación (ICP – MS)

1h de agitación sin centrifugado

	Pienso (g)	Ag Patrón (g)	Total (g)	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Blanco	-	-	49,7004	0,1509	15,1503
Recuperación blanco	-	0,2499	49,1341	0,1519	15,1052
Crecimiento control I	0,0581	-	49,2329	0,1514	14,5049
Crecimiento control II	0,0557	-	49,2238	0,1516	15,0201
Recuperación control	0,0531	0,2502	50,1323	0,1501	15,2705
Crecimiento Ag I	0,0493	-	49,9568	0,1503	14,7216
Crecimiento Ag II	0,0509	-	49,6600	0,1508	14,8780
Crecimiento Ag III	0,0589	-	49,5330	0,1523	15,0315

Tabla 37: Pesos y diluciones para cada muestra en el estudio de liberación de Ag total en agua tras 1h de agitación (ICP – MS)

24h de agitación sin centrifugado

	Pienso (g)	Ag Patrón (g)	Total (g)	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Blanco	-	-	49,1451	0,1486	14,7453
Recuperación blanco	-	0,2513	49,7430	0,1495	15,0466
Crecimiento control I	0,0498	-	50,2148	0,1499	14,6344
Crecimiento control II	0,0537	-	49,8104	0,1474	14,6914
Recuperación control	0,0515	0,2523	50,2204	0,1515	14,7664
Crecimiento Ag I	0,0484	-	49,4288	0,1489	14,9099
Crecimiento Ag II	0,0639	-	49,4531	0,1489	14,8066
Crecimiento Ag III	0,0590	-	50,1272	0,1490	14,5680

Tabla 38: Pesos y diluciones para cada muestra en el estudio de liberación de Ag total en agua tras 24h de agitación (ICP – MS)

B2) Recta de calibrado

Concentración teórica (μgL^{-1})	Ag 1 mgL^{-1} (g)	Total (g)	Concentración real (μgL^{-1})
0	-	14,2703	0
1	0,0110	14,5290	0,7582
5	0,0745	14,5290	5,1277
50	0,7519	14,7971	50,8140
100	1,5456	14,5852	105,9704

Tabla 39: Pesos tomados para cada patrón de la recta de calibrado

Concentración (μgL^{-1})	Señal Intensidad Ag 107	Señal Intensidad Rh 103	Señal Intensidad Ag107/Rh
0	1016	122830	0,0083
0,7582	12594	120619	0,1044
5,1277	77624	124611	0,6229
50,8140	774472	119009	6,5077
105,9704	1631699	118861	13,7278

Tabla 40: Valores de intensidad obtenidos para la recta de calibrado

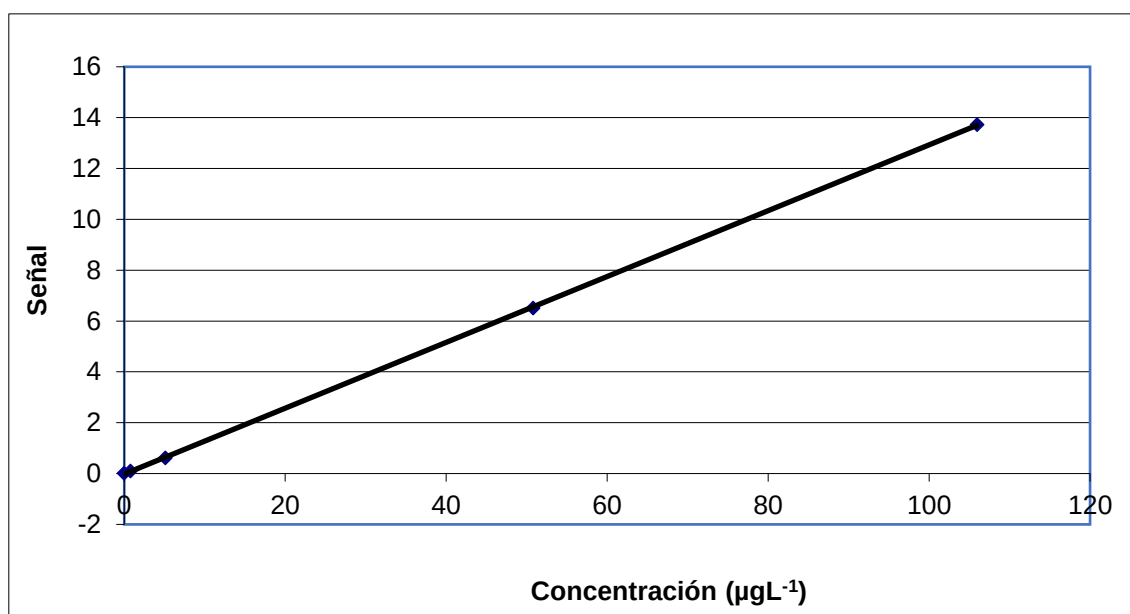


Figura 5: Representación gráfica de la recta de calibrado obtenida para determinación del contenido total de Ag

ECUACIÓN	$y = 0,1260x + 0,0008$		
PENDIENTE	$0,1260 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$	INCERTIDUMBRE	$0,0031 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$
ORDENADA EN EL ORIGEN	$0,0008$	INCERTIDUMBRE	$0,0047$
COEFICIENTE DE REGRESIÓN	$0,9993$		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	$0,0143 \mu\text{gL}^{-1}$		
LÍMITE DE DETECCIÓN	$0,0043 \mu\text{gL}^{-1}$		
RANGO LINEAL	$[0,0143 - 105,9704] \mu\text{gL}^{-1}$		
SENSIBILIDAD	$0,1260 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$		

Tabla 41: Parámetros de calidad y parámetros analíticos obtenidos para la recta de calibrado

B3) PARÁMETROS INSTRUMENTALES DE MEDIDA

Flujo de gas del nebulizador	$0,90 \text{ Lmin}^{-1}$
Intensidad para In	200000 cuentas
Voltaje lente	7 V
Detector	Dual
Número de barridos por lectura	20
Réplicas	5
Lectura por réplica	1
Dual time	50 ms
Flujo de gas plasmógeno	15 Lmin^{-1}
Flujo de gas auxiliar	$1,2 \text{ min}^{-1}$
Potencia del plasma	1100W

Tabla 42: Parámetros instrumentales de medida

B4) Resultados

Muestra	Intensidad Ag 107	Concentración μgL^{-1}	Concentración mgKg^{-1}	RSD (%)	% de plata liberada
Blanco	-	-	-	-	-
Blanco + 5 ppm	732902	48,645	-	0,9	95,02
Control I	610	< LC	< LC	< LC	-
Control II	653	< LC	< LC	< LC	-
Control + 5 ppm	69013	4,642	-	0,5	9,12
Ag I	4114	0,210	0,2055	5,7	1,29
Ag II	5064	0,274	0,2464	23,6	1,54
Ag III	4880	0,269	0,2174	9,3	1,36

Tabla 43: Valores de intensidades, Concentraciones y % liberación de las muestras tras 10 min agitación

Muestra	Intensidad Ag 107	Concentración μgL^{-1}	Concentración mgKg^{-1}	RSD (%)	% de plata liberada
Blanco	-	--	-	-	-
Blanco + 5 ppm	677864	44,574	-	1,3	89,00
Control I	711	< LC	< LC	< LC	-
Control II	648	< LC	< LC	< LC	-
Control + 5 ppm	99710	6,623	-	0,9	13,50
Ag I	5773	0,326	0,3303	22,1	2,07
Ag II	6587	0,395	0,3854	8,9	2,41
Ag III	6229	0,362	0,3044	54,8	1,91

Tabla 44: Valores de intensidades, Concentraciones y % liberación de las muestras tras 10 min agitación

Muestra	Intensidad Ag 107	Concentración μgL^{-1}	Concentración mgKg^{-1}	RSD (%)	% de plata liberada
Blanco	-	-	-	-	-
Blanco + 5 ppm	683378	47,524	-	0,7	93,34
Control I	575	< LC	< LC	< LC	-
Control II	628	< LC	< LC	< LC	-
Control + 5 ppm	69738	4,592	-	0,3	8,91
Ag I	7733	0,497	0,5076	10,7	3,18
Ag II	9920	0,615	0,4760	36,2	2,98
Ag III	9279	0,569	0,4834	7,2	3,03

Tabla 45: Valores de intensidades, Concentraciones y % liberación de las muestras tras 10 min agitación

		Concentración μgL^{-1}	Concentración mgKg^{-1}	% Ag Liberada	MEDIA	RSD (%)
10 min	Crec. Ag I	0,21	0,2055	1,29	1,40	9,43
	Crec. Ag II	0,274	0,2464	1,54		
	Crec. Ag III	0,269	0,2174	1,36		
1h	Crec. Ag I	0,326	0,3303	2,07	2,13	12,16
	Crec. Ag II	0,395	0,3854	2,41		
	Crec. Ag III	0,362	0,3044	1,91		
24h	Crec. Ag I	0,497	0,5076	3,18	3,06	3,38
	Crec. Ag II	0,615	0,4760	2,98		
	Crec. Ag III	0,569	0,4834	3,03		

Tabla 46: Valores de concentración y % de Ag liberada para las muestras de pienso crecimiento Ag

		Concentración $\mu\text{g L}^{-1}$	% Ag Liberada
10 min	BLANCO + 5	48,645	95,02
	CONTROL + 5	4,6420	9,12
1h	BLANCO + 5	44,574	89,00
	CONTROL + 5	6,6230	13,15
24h	BLANCO + 5	47,524	93,34
	CONTROL + 5	4,5920	8,90

Tabla 47: Valores de concentración y % de Ag liberada para las muestras de adición

4.- ESTUDIOS DE LIBERACIÓN DE Ag TOTAL EN EL PROCESO DE DIGESTIÓN “IN VITRO”

A) Preparación de disoluciones

1. PB = TAMPON FOSFATO DE SODIO 0,2M (500mL)
 - Disolver 17,05g de Na₂HPO₄ en 500 mL de agua MilliQ
 - Disolver 13,8g de NaH₂PO₄ en 500 mL de agua Milli
 - Mezclar 385 mL de Na₂HPO₄ y 115 mL de NaH₂PO₄
2. PBS = TAMPON BIFOSFATO DE SODIO 0,1M (500mL)
 - 220 mL de NaH₂PO₄
 - 30 mL Na₂HPO₄
 - 250 mL de agua MilliQ
3. HCl 0,2M: 3,446g en 500mL
4. NaOH 0,6M: 12g en 500 mL

B) EAA – Llama para fase gástrica y fase intestinal

B1) Contenido de cada muestra

	Pienso (g)	Ag+(100mgL ⁻¹)/ AgNP(20 mgL ⁻¹) (g)	PB (g)	HCl (g)	Pepsina (g)	Cloranf. (g)	Total (g)
Blanco	-	-	7,0015	2,6857	0,3113	0,1539	10,1524
Ag STD 1	-	0,4951	7,1295	2,7153	0,2882	0,1430	10,7711
Ag STD 2	-	0,4976	7,1255	2,7533	0,3128	0,1449	10,8341
AgNP STD 1	-	0,4914	7,0437	2,7346	0,3080	0,1396	10,7173
AgNP STD 2	-	0,4854	7,0653	2,7431	0,3377	0,1562	10,7877
Cr. Control 1 + Ag	0,1500	0,4955	7,0591	2,6951	0,3094	0,1409	10,8500
Cr. Control 2 + Ag	0,1497	0,4790	7,0037	2,7137	0,3128	0,1416	10,8005
Cr. Control 1 + AgNP	0,1513	0,4932	6,9748	2,6445	0,2988	0,1438	10,7064
Cr. Control 2 + AgNP	0,1541	0,4963	7,0364	2,6986	0,3113	0,1480	10,8447

Tabla 48: Pesos exactos de las disoluciones empleadas para la fase gástrica

	Pienso (g)	Ag+(100mgL ⁻¹)/ AgNP(20 mgL ⁻¹) (g)	PB (g)	HCl (g)	Pepsina (g)	Cloranf. (g)	Total (g)
Blanco	-	-	7,1912	2,7257	0,2922	0,1379	10,347
Ag STD 1	-	0,7494	7,2144	2,751	0,3069	0,1607	11,1824
Ag STD 2	-	0,7614	7,1195	2,7524	0,3121	0,1296	11,075
AgNP STD 1	-	0,745	7,2946	2,7416	0,3083	0,1404	11,2299
AgNP STD 2	-	0,7599	7,1915	2,7269	0,3059	0,1556	11,1398
Cr. Control 1 + Ag	0,1511	0,7548	7,2829	2,7314	0,3097	0,14	11,3688
Cr. Control 2 + Ag	0,1530	0,766	7,1596	2,7333	0,3088	0,142	11,2594
Cr. Control 1 + AgNP	0,1507	0,7578	7,234	2,6909	0,3074	0,1406	11,282
Cr. Control 2 + AgNP	0,1497	0,7552	7,1028	2,7409	0,3043	0,1407	11,198

Tabla 49: Pesos exactos de las disoluciones empleadas para la fase intestinal parte 1

	PBS (g)	NaOH (g)	Pancreatina (g)	Total (g)
Blanco	2,8567	1,5810	0,2421	14,9565
Ag STD 1	2,8142	1,5488	0,3039	15,8493
Ag STD 2	2,7623	1,4988	0,3204	15,6565
AgNP STD 1	2,8476	1,4944	0,3105	15,8824
AgNP STD 2	2,8233	1,5041	0,3039	15,7711
Cr. Control 1 + Ag	2,8308	1,4744	0,3084	15,9824
Cr. Control 2 + Ag	2,8087	1,4932	0,3081	15,8694
Cr. Control 1 + AgNP	2,8528	1,5037	0,3032	15,9417
Cr. Control 2 + AgNP	2,8567	1,5573	0,2973	15,9093

Tabla 50: Pesos exactos de las disoluciones empleadas para la fase intestinal parte 2

B2) Recta de calibrado

Concentración teórica (mgL ⁻¹)	Ag 100 (mgL ⁻¹) (g)	Total (g)	Concentración real (mgL ⁻¹)
Blanco	-	14,8578	0
1	0,1515	15,7319	0,9630
2	0,3003	14,7993	2,0291
3	0,4538	14,7632	3,0738
4	0,6085	14,7406	4,1280
5	0,7616	15,1543	5,0256
7	1,0514	15,9749	6,5816

Tabla 51: Pesos tomados para cada patrón de la recta de calibrado

Concentración (mgL ⁻¹)	Señal 1	Señal 2	Señal 3	Señal 4	Señal 5	Media	Desviación
0	0,002	0,002	0,001	0,001	0,002	0,001	5,271*10 ⁻⁴
	0,001	0,002	0,001	0,001	0,002		
0,9630	0,061	0,061	0,061	0,062	0,062	0,061	5,477*10 ⁻⁴
2,0291	0,126	0,127	0,127	0,127	0,126	0,127	5,477*10 ⁻⁴
3,0738	0,188	0,186	0,188	0,186	0,186	0,187	1,0955*10 ⁻³
4,1280	0,245	0,247	0,246	0,245	0,246	0,246	8,366*10 ⁻⁴
5,0256	0,295	0,294	0,297	0,295	0,294	0,295	1,224*10 ⁻³
6,5816	0,38	0,381	0,381	0,381	0,384	0,381	1,517*10 ⁻³

Tabla 52: Valores de absorbancia obtenidos para la recta de calibrado

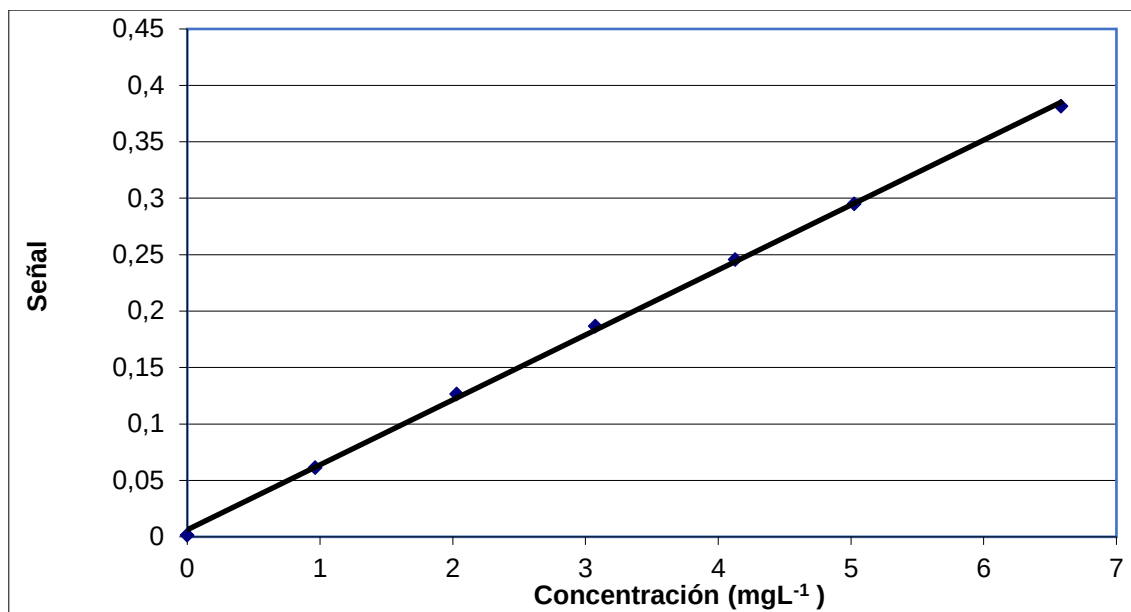


Figura 6: Representación gráfica de la recta de calibrado

ECUACIÓN	$y = 0,0575x + 0,0063$		
PENDIENTE	$0,0575 \text{ Lmg}^{-1}$	INCERTIDUMBRE	$0,0007 \text{ Lmg}^{-1}$
ORDENADA EN EL ORIGEN	$0,0063$	INCERTIDUMBRE	$0,0029$
COEFICIENTE DE REGRESIÓN	$0,9994$		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	$0,0917 \text{ mgL}^{-1}$		
LÍMITE DE DETECCIÓN	$0,0269 \text{ mgL}^{-1}$		
RANGO LINEAL	$[0,0092 - 6,5816] \text{ mgL}^{-1}$		
SENSIBILIDAD	$0,0575 \text{ Lmg}^{-1}$		

Tabla 53: Parámetros de calidad y parámetros analíticos obtenidos para la recta de calibrado

B3) Parámetros instrumentales de medida

λ	328,07 nm
W (Anchura rendija)	0,7 nm
Ganancia	84
Llama aire : acetileno	40 : 15 unidades arbitrarias
t integración	1 seg
t respuesta	3 seg
nº réplicas muestras	3
nº réplicas blanco	10
modelo	Perkin Elmer 2380

Tabla 54: Parámetros instrumentales de medida

B4) Resultados

SIN CENTRIFUGADO				
		ABS	CONC. DILUÍDA (mgL ⁻¹)	Ag LIBERADA (%)
Ag STD 1	Fase1	0,206	3,471	76,993
	Fase1	0,208	3,505	77,764
	Fase1	0,208	3,505	77,764
	AVERAGE	0,207	3,494	77,507
	SD	0,001	0,0201	0,445
	RSD	0,557	0,574	0,574
Ag STD 2	Fase1	0,201	3,384	75,126
	Fase1	0,201	3,384	75,126
	Fase1	0,200	3,366	74,740
	AVERAGE	0,201	3,378	74,997
	SD	0,001	0,010	0,223
	RSD	0,288	0,297	0,297
AgNP 1	Fase1	0,047	0,708	15,739
	Fase1	0,047	0,708	15,739
	Fase1	0,046	0,690	15,353
	AVERAGE	0,047	0,702	15,611
	SD	5,773*10 ⁻⁴	0,010	0,223
	RSD	1,237	1,429	1,429
AgNP2	Fase1	0,046	0,690	15,645
	Fase1	0,046	0,690	15,645
	Fase1	0,045	0,673	15,251
	AVERAGE	0,046	0,684	15,514
	SD	5,773*10 ⁻⁴	0,010	0,227
	RSD	1,264	1,465	1,465
Crec. control 1 + Ag	Fase1	0,056	0,864	19,295
	Fase1	0,055	0,847	18,907
	Fase1	0,056	0,864	19,295
	AVERAGE	0,056	0,858	19,165
	SD	5,773*10 ⁻⁴	0,010	0,224
	RSD	1,037	1,169	1,168
Crec. control 2 + Ag	Fase1	0,050	0,760	17,471
	Fase1	0,049	0,742	17,071
	Fase1	0,049	0,742	17,071
	AVERAGE	0,049	0,748	17,205
	SD	5,773*10 ⁻⁴	0,010	0,231
	RSD	1,170	1,341	1,341
Crec. control 1 + NP	Fase1	0,011	< LC	< LC
	Fase1	0,011	< LC	< LC
	Fase1	0,011	< LC	< LC

	AVERAGE	0,011	< LC	< LC
	SD	2,124E-18	< LC	< LC
	RSD	1,931E-14	< LC	< LC
Crec. control 2 + NP	Fase1	0,012	< LC	< LC
	Fase1	0,012	< LC	< LC
	Fase1	0,012	< LC	< LC
	AVERAGE	0,012	< LC	< LC
	SD	2,124E-18	< LC	< LC
	RSD	1,770E-14	< LC	< LC

Tabla 55: Valores de absorbancia y concentraciones obtenidas para la fase gástrica sin centrifugado

CON CENTRIFUGADO				
		ABS	CONC. DILUIDA (mgL ⁻¹)	Ag Liberada (%)
Ag STD 1	Fase1	0,008	< LC	< LC
	Fase1	0,008	< LC	< LC
	Fase1	0,008	< LC	< LC
	AVERAGE	0,008	< LC	< LC
	SD	0	< LC	< LC
	RSD	0	< LC	< LC
Ag STD 2	Fase1	0,008	< LC	< LC
	Fase1	0,008	< LC	< LC
	Fase1	0,008	< LC	< LC
	AVERAGE	0,008	< LC	< LC
	SD	0	< LC	< LC
	RSD	0	< LC	< LC
AgNP 1	Fase1	0,04	< LC	< LC
	Fase1	0,04	< LC	< LC
	Fase1	0,04	< LC	< LC
	AVERAGE	0,04	< LC	< LC
	SD	0	< LC	< LC
	RSD	0	< LC	< LC
AgNP2	Fase1	0,05	< LC	< LC
	Fase1	0,05	< LC	< LC
	Fase1	0,05	< LC	< LC
	AVERAGE	0,05	< LC	< LC
	SD	8,498E-18	< LC	< LC
	RSD	1,699E-14	< LC	< LC
Crec. control 1 + Ag	Fase1	0,021	0,256	5,715
	Fase1	0,021	0,256	5,715
	Fase1	0,021	0,256	5,715
	AVERAGE	0,021	0,256	5,715
	SD	0	2,884E-16	0
	RSD	0	1,127E-13	0
Crec. control 2 + Ag	Fase1	0,022	0,273	6,284
	Fase1	0,022	0,273	6,284
	Fase1	0,022	0,273	6,284
	AVERAGE	0,022	0,273	6,284
	SD	4,249E-18	0	0
	RSD	1,9315E-14	0	0
Crec. Control 1 + AgNP	Fase1	0,008	< LC	< LC
	Fase1	0,008	< LC	< LC
	Fase1	0,008	< LC	< LC
	AVERAGE	0,008	< LC	< LC
	SD	0	< LC	< LC

	RSD	0	< LC	< LC
Crec. control 2 + AgNP	Fase1	0,009	< LC	< LC
	Fase1	0,009	< LC	< LC
	Fase1	0,009	< LC	< LC
	AVERAGE	0,009	< LC	< LC
	SD	0	< LC	< LC
	RSD	0	< LC	< LC

Tabla 56: Valores de absorbancia y concentraciones obtenidas para la fase gástrica con centrifugado

SIN CENTRIFUGADO				
		ABS	CONC.DILUIDA (mgL ⁻¹)	Ag Liberada (%)
Ag STD 1	Fase 1 + Fase 2	0,26	4,48	96,58
	Fase 1 + Fase 2	0,27	4,49	96,96
	Fase 1 + Fase 2	0,26	4,46	96,21
	AVERAGE	0,26	4,48	96,58
	SD	0,001	0,02	0,37
	RSD	0,38	0,39	0,39
Ag STD 2	Fase 1 + Fase 2	0,24	4,06	85,16
	Fase 1 + Fase 2	0,24	4,08	85,52
	Fase 1 + Fase 2	0,24	4,03	84,43
	AVERAGE	0,24	4,06	85,04
	SD	1,53*10 ⁻³	0,03	0,56
	RSD	0,63	0,65	0,65
AgNP 1	Fase 1 + Fase 2	0,061	0,95	20,67
	Fase 1 + Fase 2	0,062	0,97	21,05
	Fase 1 + Fase 2	0,062	0,97	21,05
	AVERAGE	0,062	0,96	20,93
	SD	5,773*10 ⁻⁴	0,01003268	0,22
	RSD	0,94	1,04	1,04
AgNP2	Fase 1 + Fase 2	0,061	0,95	20,13
	Fase 1 + Fase 2	0,061	0,95	20,13
	Fase 1 + Fase 2	0,061	0,95	20,13
	AVERAGE	0,061	0,95	20,13
	SD	0	0	0
	RSD	0	0	0
Crec. control 1 + Ag	Fase 1 + Fase 2	0,23	3,92	84,69
	Fase 1 + Fase 2	0,23	3,89	83,94
	Fase 1 + Fase 2	0,23	3,87	83,57
	AVERAGE	0,23	3,89	84,07
	SD	1,53*10 ⁻³	0,03	0,57
	RSD	0,66	0,68	0,68
Crec. control 2 + Ag	Fase 1 + Fase 2	0,22	3,64	76,99
	Fase 1 + Fase 2	0,22	3,68	77,72
	Fase 1 + Fase 2	0,22	3,71	78,46
	AVERAGE	0,22	3,68	77,72
	SD	0,002	0,03	0,73
	RSD	0,92	0,94	0,94
Crec. control 1 + NP	Fase 1 + Fase 2	0,047	0,71	15,18
	Fase 1 + Fase 2	0,047	0,71	15,18
	Fase 1 + Fase 2	0,047	0,71	15,18
	AVERAGE	0,047	0,71	15,18
	SD	0	0	0

	RSD	0	0	0
Feed control 2 + NP	Fase 1 + Fase 2	0,047	0,71	15,20
	Fase 1 + Fase 2	0,048	0,72	15,58
	Fase 1 + Fase 2	0,047	0,71	15,20
	AVERAGE	0,05	0,71	15,33
	SD	$5,7735 \cdot 10^{-4}$	0,01	0,21
	RSD	1,22	1,41	1,41

Tabla 57: Valores de absorbancia y concentraciones obtenidas para la fase intestinal con centrifugado

CON CENTRIFUGADO				
		ABS	DILUTED CONC. (ppm)	RECOVERY (%)
Ag STD 1	Fase 1 + Fase 2	0,15	2,41	51,99
	Fase 1 + Fase 2	0,15	2,43	52,36
	Fase 1 + Fase 2	0,15	2,43	52,36
	AVERAGE	0,15	2,42	52,24
	SD	$5,7735 \cdot 10^{-4}$	0,01	0,22
	RSD	0,40	0,41	0,41
Ag STD 2	Fase 1 + Fase 2	0,16	2,58	54,19
	Fase 1 + Fase 2	0,16	2,64	55,28
	Fase 1 + Fase 2	0,16	2,62	54,92
	AVERAGE	0,16	2,61	54,80
	SD	$1,53 \cdot 10^{-3}$	0,03	0,56
	RSD	0,98	1,02	1,02
NP 1	Fase 1 + Fase 2	0,02	0,24	5,19
	Fase 1 + Fase 2	0,02	0,24	5,19
	Fase 1 + Fase 2	0,02	0,24	5,19
	AVERAGE	0,02	0,24	5,19
	SD	0	0	0
	RSD	0	0	0
NP2	Fase 1 + Fase 2	0,018	0,20	4,31
	Fase 1 + Fase 2	0,018	0,20	4,31
	Fase 1 + Fase 2	0,018	0,20	4,31
	AVERAGE	0,018	0,20	4,31
	SD	0	0	0
	RSD	0	0	0
Feed control 1 + Ag	Fase 1 + Fase 2	0,22	3,77	80,94
	Fase 1 + Fase 2	0,22	3,77	81,32
	Fase 1 + Fase 2	0,22	3,77	81,32
	AVERAGE	0,22	3,76	81,19
	SD	$5,7735 \cdot 10^{-4}$	0,01	0,22
	RSD	0,26	0,27	0,27
	Fase 1 + Fase 2	0,21	3,59	75,89

Feed control 2 + Ag	Fase 1 + Fase 2	0,21	3,59	75,89
	Fase 1 + Fase 2	0,21	3,61	76,26
	AVERAGE	0,21	3,60	76,01
	SD	$5,7735 \cdot 10^{-4}$	0,01	0,21
	RSD	0,27	0,28	0,28
Feed control 1 + NP	Fase 1 + Fase 2	0,042	0,62	13,32
	Fase 1 + Fase 2	0,041	0,60	12,94
	Fase 1 + Fase 2	0,042	0,62	12,94
	AVERAGE	0,042	0,61	13,07
	SD	$5,7735 \cdot 10^{-4}$	0,01	0,21
	RSD	1,38	1,63	1,65
Feed control 2 + NP	Fase 1 + Fase 2	0,04	0,66	14,08
	Fase 1 + Fase 2	0,04	0,66	14,08
	Fase 1 + Fase 2	0,04	0,66	14,08
	AVERAGE	0,04	0,66	14,08
	SD	0	0	0
	RSD	0	0	0

Tabla 58: Valores de absorbancia y concentraciones obtenidas para la fase intestinal con centrifugado

C) ICP – MS

C1) Contenido de cada muestra y diluciones fase gástrica y fase intestinal

	Pienso (g)	Ag ⁺ (100mgL ⁻¹)/ AgNP(20 mgL ⁻¹) (g)	PB (g)	HCl (g)	Pepsina (g)	Cloranf. (g)	Total (g)
Blanco	-	-	7,196	2,8293	0,2925	0,1419	10,4597
Cr. Control 1	0,1446	-	7,2068	2,7681	0,2992	0,1427	10,5614
Cr. Control 2	0,1493	-	7,2210	2,7497	0,2993	0,1562	10,5755
Crecimiento Ag 1	0,1556	-	7,2004	2,7768	0,3016	0,1427	10,5771
Crecimiento Ag 2	0,1506	-	7,2294	2,7734	0,2977	0,1499	10,601
Crecimiento Ag 3	0,1551	-	7,2073	2,7868	0,2996	0,1418	10,5906
Ag STD 1	-	0,4927	7,2022	2,7959	0,2993	0,1420	10,9321
Ag STD 2	-	0,5026	7,1997	2,7339	0,3018	0,1419	10,8799
AgNP STD 1	-	0,4926	7,2656	2,7762	0,2970	0,1437	10,9751
AgNP STD 2	-	0,4949	7,2606	2,7772	0,2958	0,1417	10,9702
Cr. Control 1 + Ag	0,1486	0,5064	7,2108	2,8155	0,2977	0,1425	11,1215
Cr. Control 2 + Ag	0,1535	0,5002	7,2206	2,7833	0,2971	0,1412	11,0959
Cr. Control 1 + AgNP	0,1477	0,4990	7,1979	2,7620	0,2969	0,1403	11,0438
Cr. Control 2 + AgNP	0,1463	0,4095	7,2529	2,786	0,2971	0,1434	11,0352

Tabla 59: Pesos exactos de las disoluciones empleadas para la fase gástrica

	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Ag STD 1	0,1934	49,3745
Ag STD 2	0,1973	49,4616
AgNP STD 1	0,9867	49,7935
AgNP STD 2	0,9846	50,1963
Cr. Control 1 + Ag	0,1930	49,8330
Cr. Control 2 + Ag	0,1932	49,4443
Cr. Control 1 + AgNP	0,9795	50,2871
Cr. Control 2 + AgNP	0,9889	49,5657

Tabla 60: Diluciones para la fase gástrica

	Pienso (g)	Ag+(100mgL ⁻¹)/ AgNP(20 mgL ⁻¹) (g)	PB (g)	HCl (g)	Pepsina (g)	Cloranf. (g)	Total (g)
Blanco	-	-	7,2453	2,7838	0,2866	0,1430	10,4587
Cr. Control 1	0,1466	-	7,2586	2,8520	0,3103	0,1427	10,5636
Cr. Control 2	0,1553	-	7,1258	2,8397	0,3083	0,1422	10,4160
Crecimiento Ag 1	0,1493	-	7,1669	2,7988	0,3019	0,1505	10,4181
Crecimiento Ag 2	0,1460	-	7,2448	2,8170	0,3036	0,1430	10,5084
Crecimiento Ag 3	0,1453	-	7,1899	2,8305	0,3059	0,1480	10,4743
Ag STD 1	-	0,7552	7,1915	2,8123	0,3031	0,1463	10,4532
Ag STD 2	-	0,7583	7,2614	2,7942	0,3048	0,1442	10,5046
AgNP STD 1	-	0,7450	7,2327	2,7756	0,2991	0,1424	10,4498
AgNP STD 2	-	0,7884	7,2064	2,8195	0,3044	0,1436	10,4739
Cr. Control 1 + Ag	0,1486	0,7612	7,1499	2,8006	0,2963	0,1434	10,3902
Cr. Control 2 + Ag	0,1452	0,7598	7,1447	2,8114	0,3195	0,1435	10,4191
Cr. Control 1 + AgNP	0,1522	0,7292	7,1714	2,8021	0,3004	0,1519	10,4258
Cr. Control 2 + AgNP	0,1514	0,7690	7,2332	2,8005	0,3010	0,1399	10,4746

Tabla 61: Pesos exactos de las disoluciones empleadas para la fase intestinal (parte 1)

	PBS (g)	NaOH (g)	Pancreatina (g)	Total (g)
Blanco	2,8272	1,5683	0,3061	15,1603
Cr. Control 1	2,8039	1,5434	0,3119	15,2228
Cr. Control 2	2,8438	1,5661	0,3111	15,1370
Crecimiento Ag 1	2,8128	1,5291	0,3151	15,0751
Crecimiento Ag 2	2,7296	1,5174	0,3039	15,0593
Crecimiento Ag 3	2,8304	1,5519	0,3110	15,1676
Ag STD 1	2,8239	1,5036	0,3086	15,0893
Ag STD 2	2,7743	1,5580	0,3000	15,1369
AgNP STD 1	2,8480	1,5049	0,3000	15,1027
AgNP STD 2	2,8218	1,4935	0,3000	15,0892
Cr. Control 1 + Ag	2,8379	1,5099	0,3000	15,0380
Cr. Control 2 + Ag	2,8766	1,5268	0,3000	15,1225
Cr. Control 1 + AgNP	2,8722	1,5213	0,3000	15,1193
Cr. Control 2 + AgNP	2,8847	1,4978	0,3000	15,1571

Tabla 62: Pesos exactos de las disoluciones empleadas para la fase intestinal (parte 2)

	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Ag STD 1	0,1930	49,0609
Ag STD 2	0,2001	50,0763
AgNP STD 1	1,0035	49,5536
AgNP STD 2	1,0029	49,0967
Cr. Control 1 + Ag	0,1958	49,0036
Cr. Control 2 + Ag	0,1880	49,1560
Cr. Control 1 + AgNP	1,0098	49,1708
Cr. Control 2 + AgNP	1,0078	49,1477

Tabla 63: Diluciones para la fase intestinal

C2) Recta de calibrado fase gástrica

Concentración teórica (μgL^{-1})	Ag 1 mgL^{-1} (g)	Total (g)	Concentración real (μgL^{-1})
0	-	15,0240	0
1	0,0141	14,2162	0,9730
5	0,0721	14,8878	4,7509
10	0,1519	15,3746	9,6922
20	0,3024	14,8206	20,0163
25	0,3764	14,8742	24,8248
30	0,4535	14,7597	30,1418
50	0,7545	14,9758	49,4240

Tabla 64: Pesos tomados para cada patrón de la recta de calibrado para la fase gástrica

Concentración (μgL^{-1})	Señal Intensidad Ag 107	Señal Intensidad Rh 103	Señal Intensidad Ag107/Rh
0	479	117702	0,004
0,9730	17216	116405	0,144
4,7509	75349	116091	0,645
9,6922	153502	116368	1,315
20,0163	383048	116025	3,298
24,8248	390708	117037	3,334
30,1418	471141	118226	3,981
49,4240	881984	116337	7,577

Tabla 65: Valores de intensidad obtenidos para la recta de calibrado

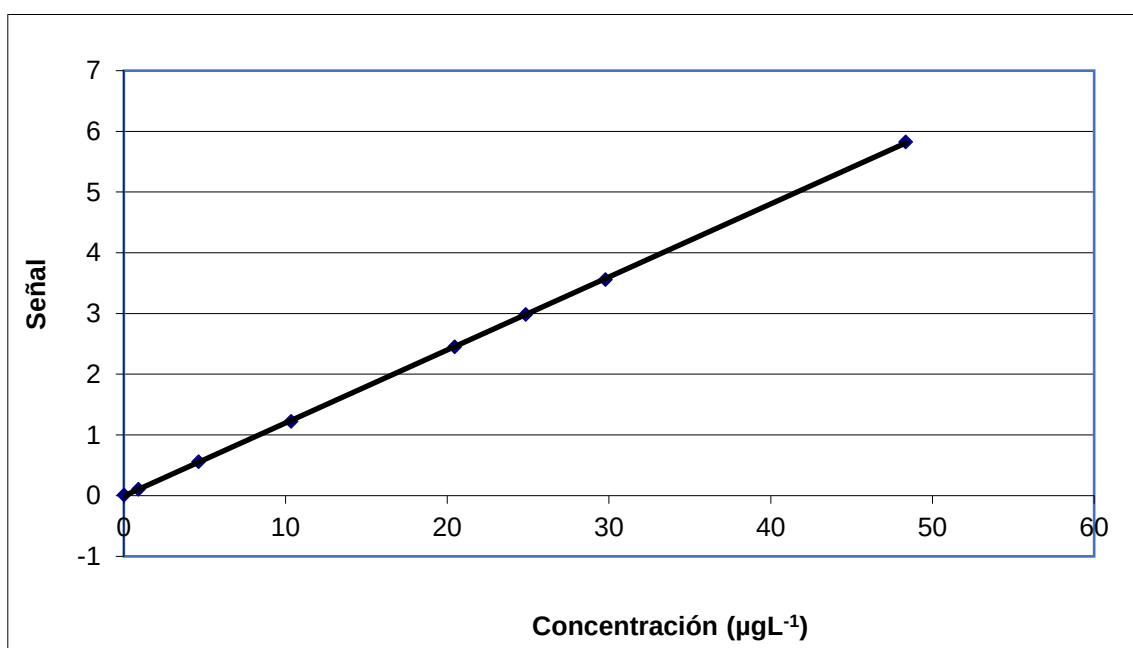


Figura 7: Representación de la recta de calibrado obtenida para la fase gástrica

ECUACIÓN	$y = 0,1377x - 0,0091$		
PENDIENTE	$0,1377 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$	INCERTIDUMBRE	$0,0043 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$
ORDENADA EN EL ORIGEN	$0,0091$	INCERTIDUMBRE	$0,010$
COEFICIENTE DE REGRESIÓN	$0,9989$		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	$0,0136 \mu\text{gL}^{-1}$		
LÍMITE DE DETECCIÓN	$0,0041 \mu\text{gL}^{-1}$		
RANGO LINEAL	$[0,0136 - 49,4240] \mu\text{gL}^{-1}$		
SENSIBILIDAD	$0,1377 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$		

Tabla 66: Parámetros de calidad y parámetros analíticos obtenidos para la recta de calibrado

C3) Parámetros instrumentales de medida fase gástrica

Flujo de gas del nebulizador	$0,90 \text{ Lmin}^{-1}$
Intensidad para In	21000 cuentas
Voltaje lente	$7,0 \text{ V}$
Detector	Dual
Número de barridos por lectura	20
Réplicas	5
Lectura por réplica	1
Dual time	50 ms
Flujo de gas plasmógeno	15 Lmin^{-1}
Flujo de gas auxiliar	$1,2 \text{ min}^{-1}$
Potencia del plasma	1100W

Tabla 67: Parámetros instrumentales de medida para la fase gástrica

C4) Resultados para la fase gástrica

Muestra	Intensity of 107Ag/Rh(cps)	Conc. ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc. ($\mu\text{g L}^{-1}$) dilucion	CONC. RSD(%)	Ag(%) Liberado	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
Blanco	0,006	0,0025		9,4			
Crec. control I	0,008	< LC	< LC	< LC	< LC	< LC	< LC
Crec. control II	0,009	< LC	< LC	< LC	< LC		
Crec. Crecimiento Ag I	1,324	9,546	no dilución	35,3	28,60	30,93	4,59
Crec. Crecimiento Ag II	1,674	12,089	no dilución	14	36,22		
Crec. Crecimiento Ag III	1,295	9,339	no dilución	26,9	27,98		
Ag STD 1 (5ppm)	0,116	0,779	198,88	1,9	4,35	4,35	0,36
Ag STD 2 (5 ppm)	0,108	0,718	180,00	8,5	3,84		
AgNP1 (1 ppm)	0,221	1,54	77,72	8,1	8,66	8,68	0,04
AgNP2 (1 ppm)	0,222	1,542	78,60	8,1	8,71		
Crec. control 1 + AgNPs	0,844	6,06	311,12	1,5	34,43	38,90	6,33
Crec. control 2 + AgNPs	0,894	6,422	321,88	2,1	43,37		

Tabla 68: Valores de intensidad, concentración y % de liberación obtenidos para la fase gástrica

C5) Recta de calibrado fase intestinal

Concentración teórica (μgL^{-1})	Ag 1 mgL^{-1} (g)	Total (g)	Concentración real (μgL^{-1})
0	-	14,8410	0
1	0,0139	15,2118	0,8964
5	0,0721	15,1334	4,6126
10	0,1563	14,8390	10,3329
20	0,3055	14,6527	20,4532
25	0,3728	14,7173	24,8495
30	0,4497	14,8138	29,7800
50	0,7524	15,2683	48,3423

Tabla 69: Pesos tomados para cada patrón de la recta de calibrado para la fase intestinal

Concentración (μgL^{-1})	Señal Intensidad Ag 107	Señal Intensidad Rh 103	Señal Intensidad Ag107/Rh
0	677	96384	0,007
0,8964	10738	97925	0,103
4,6126	54114	95784	0,558
10,3329	119971	97473	1,224
20,4532	238068	96781	2,453
24,8495	286430	95885	2,981
29,7800	340507	95620	3,557
48,3423	567608	97371	5,823

Tabla 70: Valores de intensidad obtenidos para la recta de calibrado

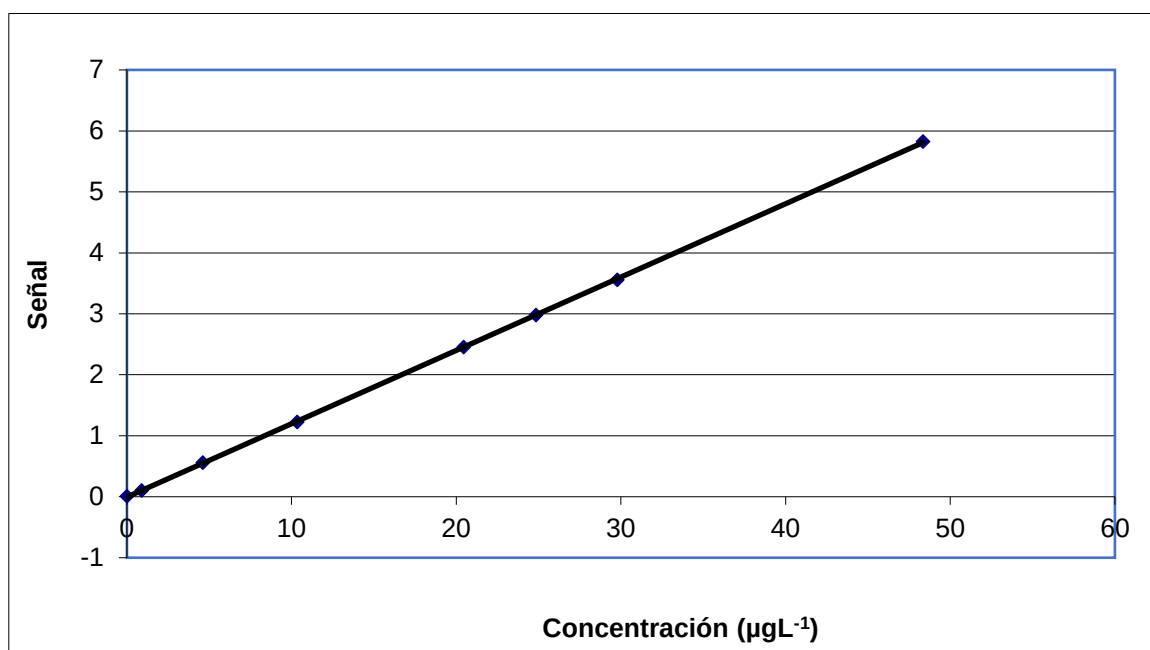


Figura 8: Representación de la recta de calibrado obtenida para la fase intestinal

ECUACIÓN	$y = 0,1202x - 0,0047$		
PENDIENTE	$0,1202 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$	INCERTIDUMBRE	$0,0004 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$
ORDENADA EN EL ORIGEN	$- 0,0047$	INCERTIDUMBRE	$0,0011$
COEFICIENTE DE REGRESIÓN	$0,9989$		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	$0,0217 \mu\text{gL}^{-1}$		
LÍMITE DE DETECCIÓN	$0,0065 \mu\text{gL}^{-1}$		
RANGO LINEAL	$[0,0217 - 48,3423] \mu\text{gL}^{-1}$		
SENSIBILIDAD	$0,1202 \text{ L}\mu\text{g}^{-1}$		

Tabla 71: Parámetros de calidad y parámetros analíticos obtenidos para la recta de calibrado

C6) Parámetros instrumentales de medida fase intestinal

Flujo de gas del nebulizador	$0,86 \text{ Lmin}^{-1}$
Intensidad para In	141000 cuentas
Voltaje lente	6,4 V
Detector	Dual
Número de barridos por lectura	20
Réplicas	5
Lectura por réplica	1
Dual time	50 ms
Flujo de gas plasmógeno	15 Lmin^{-1}
Flujo de gas auxiliar	$1,2 \text{ min}^{-1}$
Potencia del plasma	1100W

Tabla 72: Parámetros instrumentales de medida para la fase intestinal

C7) Resultados para la fase intestinal

Muestra	Intensity of 107Ag/Rh(cps)	Conc. ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc. ($\mu\text{g L}^{-1}$) dilucion	CONC. RSD(%)	Ag(%) Liberado	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
Blanco	0,07	0,098		5,6			
Crec. control I	0,014	0,155	no dilución	4,5	97,895	82,11	22,33
Crec. control II	0,008	0,103	no dilución	2,5	66,316		
Crec. Crecimiento Ag I	1,747	14,574	15,751	2,0	43,661	47,18	9,17
Crec. Crecimiento Ag II	1,612	13,451		1,4	40,296		
Crec. Crecimiento Ag III	2,307	19,227		4,5	57,600		
Ag STD 1 (5ppm)	0,735	6,157	1565,118	7,0	32,280	35,28	4,24
Ag STD 2 (5 ppm)	0,888	7,423	1857,653	4,9	38,276		
AgNP1 (1 ppm)	0,722	6,044	298,457	5,9	30,252	30,47	0,30
AgNP2 (1 ppm)	0,783	6,549	320,604	0,5	30,680		
Crec. control 1 + Ag	1,349	11,257	2817,331	1,1	57,452	57,01	0,63
Crec. control 2 + Ag	1,261	10,529	2752,997	6,4	56,559		
Crec. control 1 + AgNPs	1,255	10,478	510,211	0,8	52,894	55,09	3,11
Crec. control 2 + AgNPs	1,428	11,921	581,355	1,4	57,293		

Tabla 73: Valores de intensidad, concentración y % de liberación obtenidos

5.- HDC ICP MS

A) Preparación fase móvil

	SDS (g)	PA (g)
Fase móvil	0,1319	0,1493

Tabla 74: Pesos tomados para preparación de la fase móvil

Una vez pesados el SDS y la PA se completa hasta un volumen total de 1L con agua MilliQ y se ajusta la fase móvil a un pH de 7,5 aproximadamente con HNO₃ y/o NaOH. Posteriormente, se filtra 2 veces para evitar la entrada de sólidos a la columna del cromatógrafo. Y por último, se debe sonicar durante 10 minutos en un baño de ultrasonidos.

B) Contenido disoluciones digestión

	Pienso (g)	Ag+(100mgL ⁻¹)/ AgNP(20 mgL ⁻¹) (g)	PB (g)	HCl (g)	Pepsina (g)	Cloranf. (g)	Total (g)
Crecimiento Ag 1	0,1487	-	7,1886	2,7475	0,3115	0,1413	10,5376
Crecimiento Ag 2	0,1446	-	7,2399	2,7464	0,297	0,1415	10,5694
Ag STD 1	-	0,7676	7,2649	2,7637	0,3295	0,1403	11,266
AgNP STD 1	-	0,6229	7,1968	2,5742	0,2996	0,1463	10,8398
Cr. Control 1 + Ag	0,1525	0,7507	7,1405	2,7371	0,3149	0,1419	11,2376
Cr. Control 2 + Ag	0,1568	0,756	7,1652	2,7448	0,3342	0,1532	11,3102
Cr. Control 1 + AgNP	0,1502	0,7419	7,1668	2,7684	0,3073	0,1423	11,2769
Cr. Control 2 + AgNP	0,1504	0,7601	7,3034	2,7503	0,3191	0,1513	11,4346

Tabla 75: Pesos exactos de las disoluciones empleadas para la digestión HDC – ICP – MS (Parte 1)

	PBS (g)	NaOH (g)	Pancreatina (g)	Total (g)
Crecimiento Ag 1	2,8207	1,5047	0,3103	15,1733
Crecimiento Ag 2	2,8108	1,4908	0,3086	15,1796
Ag STD 1	2,7548	1,5232	0,312	15,856
AgNP STD 1	2,7954	1,5221	0,312	15,4693
Cr. Control 1 + Ag	2,8229	1,4985	0,3141	15,8731
Cr. Control 2 + Ag	2,7419	1,5035	0,3049	15,8605
Cr. Control 1 + AgNP	2,6317	1,4973	0,3132	15,7191
Cr. Control 2 + AgNP	2,6088	1,4989	0,3129	15,8552

Tabla 76: Tabla 69: Pesos exactos de las disoluciones empleadas para la digestión HDC – ICP – MS (Parte 2)

C) Diluciones

	Peso tomado (g)	Peso final (g)
Ag STD 1	0,9439	6,0746
AgNP STD 1	2,9413	5,7090
Cr. Control 1 + Ag	0,4504	6,0194
Cr. Control 2 + Ag	0,4652	6,1002
Cr. Control 1 + AgNP	2,9573	6,2027
Cr. Control 2 + AgNP	2,9290	5,9421

Tabla 77: Diluciones realizadas para HDC – ICP – MS

D) Recta de calibrado tamaños

Concentración teórica (µg ^L ⁻¹)	Tamaño de la NP	Patrón 20 mg ^L ⁻¹ (g)	Total (g)	Concentración real (µg ^L ⁻¹)
250	10	0,0787	6,0306	261,01
250	20	0,0754	5,9339	254,13
250	40	0,0730	5,8885	274,94
250	60	0,0732	6,0199	243,19

Tabla 78: Pesos tomados para los patrones para la recta de calibrado de tamaños

	10nm	20nm	40nm	60nm
	Réplica 1	Réplica 1	Réplica 1	Réplica 1
tr (min)	7,97	7,85	7,76	7,72
Área	54163,9	31274	21868,6	22296,8
ti (min)	7,5	7,4	7,5	7,5
tf (min)	9,2	10	10	9,7
W (min)	1,7	2,6	2,5	2,2
Área sin col	84872,6	81131,6	74867,8	87047,5
RECUPERACIÓN	63,82	38,55	29,21	25,61

Tabla 79: Parámetros obtenidos para la recta de calibrado de tamaños

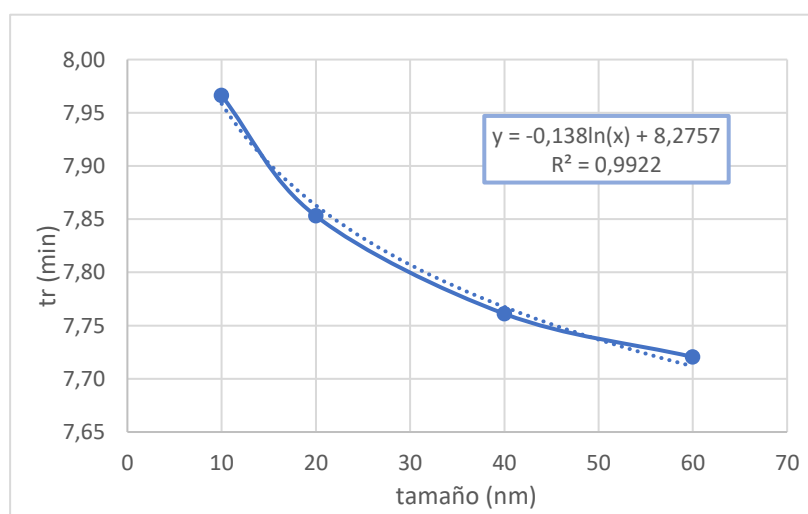


Figura 9: Representación gráfica de la recta de calibrado obtenida de tamaños

E) Recta de calibrado concentraciones

Concentración teórica (μgL^{-1})	Ag (I) 1 mgL^{-1} (g)	Total (g)	Concentración real (μgL^{-1})
100	1,0074	9,8191	103,17
250	2,4238	10,0486	242,55
350	3,4374	9,9548	347,22

Tabla 80: Pesos tomados para los patrones para la recta de calibrado de concentraciones

Concentración real (μgL^{-1})	Área 1	Área 2	Media	s	DSR (%)
103,17	34728,62	28506,92	31617,77	4399,408	13,91
242,55	81784,44	63159,34	72471,89	13169,93	18,17
347,22	96202,53	92483,53	2629,732	2629,732	2,79

Tabla 81: Valores de área obtenidos para la recta de calibrado de concentraciones

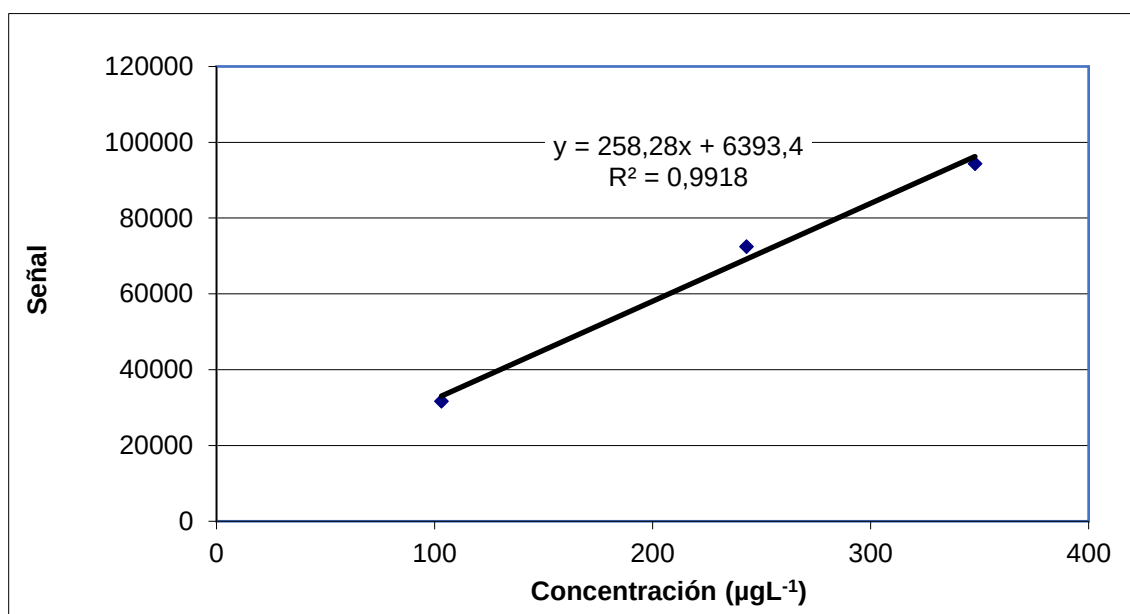


Figura 10: Representación gráfica de la recta de calibrado para de concentraciones

F) Condiciones instrumentales

Flujo de gas del nebulizador	0,86 L/min
Intensidad para In	140000 cuentas
Voltaje lente	5,8 V
Detector	Dual
Número de barridos por lectura	20
Réplicas	5
Lectura por réplica	1
Dual time	50 ms
Flujo de gas plasmógeno	15 Lmin ⁻¹
Flujo de gas auxiliar	1,2 min ⁻¹
Potencia del plasma	1100W

Tabla 82: Condiciones instrumentales de medida para HDC – ICP – MS

G) Resultados

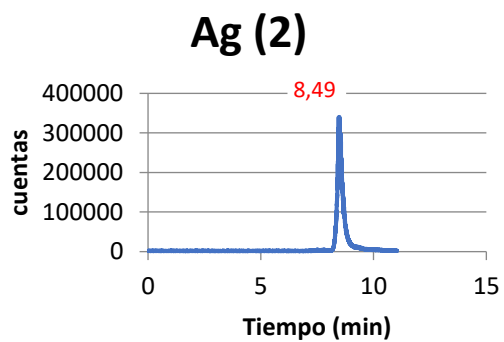
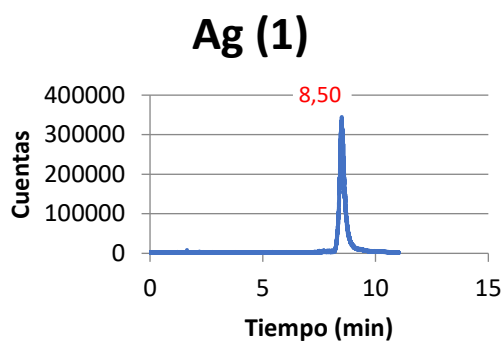
		Réplica	Tr (min)	Área	Ti (min)	Tf (min)	W (min)	Concentración (μgL^{-1})
CRECIMIENTO 2		1	8,53	11490,25	7,60	10,58	2,98	19,73
		2	8,54	11348,65	7,41	10,69	3,27	19,18
		Réplica	Tr (min)	Área	Ti (min)	Tf (min)	W (min)	Concentración (μgL^{-1})
CONTROL 1 + Ag		1	8,438	81198,1	7,80	10,42	2,62	289,62
		2	8,45	79993,4	7,75	10,53	2,78	284,96
		Réplica	Tr (min)	Área	Ti (min)	Tf (min)	W (min)	Concentración (μgL^{-1})
CONTROL 1 + AgNP		1	8,5	80413,2	7,53	10,62	3,09	286,58
		2	8,53	80037,0	7,53	10,62	3,09	285,13
		Réplica	Tr (min)	Área	Ti (min)	Tf (min)	W (min)	Concentración (μgL^{-1})
Ag		1	8,5	96713,9	8,15	10,36	2,21	349,69
		2	8,49	99130,7	8,13	10,59	2,46	359,05
		Réplica	Tr (min)	Área	Ti (min)	Tf (min)	W (min)	Concentración (μgL^{-1})
AgNP	NP peak	1	7,83	11732,7	7,14	7,93	0,79	20,67
		2	7,85	15826,7	7,21	8,06	0,85	36,52
	Ag peak	1	8,52	34938,3	7,96	9,28	1,33	110,52
		2	8,4978	34589,6	8,01	9,24	1,23	109,17

Tabla 83: Parámetros obtenidos para la digestión in vitro mediante HDC – ICP – MS

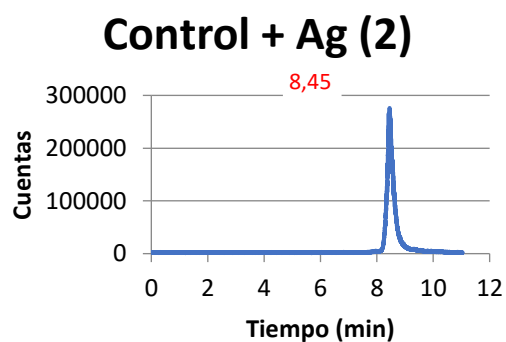
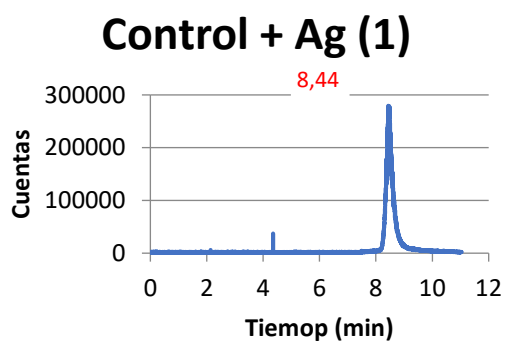
Muestra	Área	ti (min)	tf (min)	tr (min)	Recuperación (%)
250 ppb Ag	5,08E+04	8,537	10,669	8,7452	80,447

Tabla 84: Parámetros obtenidos para el cálculo de la recuperación. Medida con y sin columna de Ag(I)

H) Cromatogramas obtenidos



Figuras 11-12: Cromatogramas obtenidos para cada réplica de las muestras de patrón Ag(I)



Figuras 13-14: Cromatogramas obtenidos para cada réplica de las muestras de adición control + Ag(I)