

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Desarrollo y optimización de nuevos métodos de digestión en la
caracterización de propiedades nanométricas de sílice precipitada

Autor

Víctor Bordejé Galicia

Directores

Silvia Anoro López

Ana Isabel Elduque Palomo

Facultad de Ciencias, Máster en Química Industrial

Septiembre 2024, Zaragoza

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	2
Generalidades.....	2
La sílice precipitada como nanomaterial	4
Caracterización de nanomateriales	5
Evaluación de riesgos de nanomateriales	6
Preámbulo guía OECD 318	6
OBJETIVOS	7
PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	8
OECD 105	8
OECD 318	10
RESULTADOS	11
OECD 105	12
Desarrollo de nuevos métodos de digestión de muestra.....	15
OECD 318	20
CONCLUSIONES	23
BIBLIOGRAFÍA	24
ANEXO A: Equipos e Instrumentación	26
ANEXO B: Digestión convencional con ácido fluorhídrico	33
ANEXO C: Digestión alcalina	36
ANEXO D: Guía OECD 105	43
ANEXO E: Guía OCDE 318.....	46

ABREVIATURAS

DMDCS: Dimetildiclorosilano

EACH: Executive Agency for Health and Consumers

ECHA: Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas

FRX: Fluorescencia de Rayos X

ICP-OES: Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo

JRC: Joint Research Centre

NM: Nanomaterial

OECD: Organization for Economic Co-operation and Development

SAS: Sílice Amorfa Sintética

SCCS: Comité Científico de Seguridad de los Consumidores

SOP: Standard Operating Procedures

RESUMEN

El presente trabajo de fin de máster se apoya en el actual marco legislativo de reevaluación de materiales con características nanométricas. La creciente producción de nanomateriales eleva la probabilidad de su distribución y acumulación en el medioambiente, incrementando consigo el nivel de preocupación sobre sus efectos adversos.

Este estudio tiene como objetivo principal la caracterización de propiedades nanométricas de sílice amorfa sintética de distinta naturaleza química superficial según las guías de trabajo recomendadas por la OECD, contribuyendo así a la ampliación de la información toxicológica y eco-toxicológica de este tipo de materiales. Para su desarrollo, se busca el diseño e implementación de técnicas de digestión alternativas que eviten el uso de ácidos fuertes y corrosivos, como el ácido fluorhídrico, en línea con las recomendaciones de la Agencia Europea de Salud y Trabajo y el Plan Estratégico de la ECHA 2019-2023.

Para la caracterización nanométrica se hace uso de las guías de trabajo OECD 105 y 318, que abarcan el estudio de la solubilidad y estabilidad de dispersión de un material, respectivamente.

ABSTRACT

The present master's thesis is focused on the current legislative framework for materials re-evaluation with nanometric characteristics. The increase in the production of nanomaterials release the probability of their distribution and accumulation in the environment, generating high concern about their adverse effects.

The main objective of this study is the characterization of nanometric properties of Synthetic Amorphous Silica with different surface chemical properties according to Work Guidelines recommended by the OECD, thus contributing to the knowledge of toxicological and eco-toxicological properties on this type of materials. For its development, the design and implementation of alternative digestion techniques are sought to avoid the use of strong and corrosive acids, such as hydrofluoric acid, in line with the recommendations of the European Health and Work Agency and the ECHA Strategic Plan 2019-2023.

OECD 105 and OECD 318 guidelines are used for nanometric characterization, covering the study of solubility and dispersion stability, respectively.

INTRODUCCIÓN

El trabajo que se presenta a continuación ha sido desarrollado en las instalaciones de Industrias Químicas del Ebro, una de las cuatro compañías que integran el grupo IQE.

La empresa se sitúa como referente europeo en investigación, desarrollo, fabricación y comercialización de productos inorgánicos basados en la química del silicio y aluminio. Dentro de su cartera de productos, se encuentran aluminatos de sodio, silicatos de sodio, silicatos de potasio, zeolitas, sulfato de aluminio, silicato de aluminio, hidróxido de aluminio y sílice precipitada.

Generalidades

El silicio es uno de los elementos más abundantes de la corteza terrestre. Aproximadamente el 95% de la superficie de la Tierra se encuentra formada por minerales silíceos.

Se denomina comúnmente sílice al óxido de silicio en todas sus formas cristalinas, amorfas e hidratadas, cuya unidad básica son tetraedros SiO_4^{4-} (Figura 1). En el caso de la sílice, los cuatro átomos de oxígeno están unidos a átomos de silicio, formando una red tridimensional $(\text{SiO}_2)_n$ de enorme estabilidad, en la que cada átomo de silicio está unido a cuatro de oxígeno, quedando una relación de dos átomos de oxígeno por cada átomo de silicio.¹

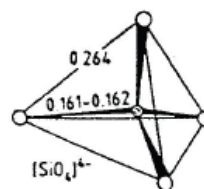


Figura 1. Tetraedro de SiO_4

La sílice se puede clasificar en tres grupos:

- **Sílice natural:** Grupo al que pertenece las formas de sílice que se sintetizan en la naturaleza. Generalmente, aparece en forma de cuarzo presentando una estructura cristalina en la formación de rocas.
- **Polvo incontrolado:** subproducto de procesos metalúrgicos.
- **Sílice amorfa sintética (SAS):** producto sintetizado de manera no natural y grupo al que pertenece la sílice precipitada.

La producción industrial de la sílice precipitada se obtiene por polimerización de una disolución de silicato soluble con ácidos, tradicionalmente conocido como precipitación en vía húmeda (Ecuación 1).

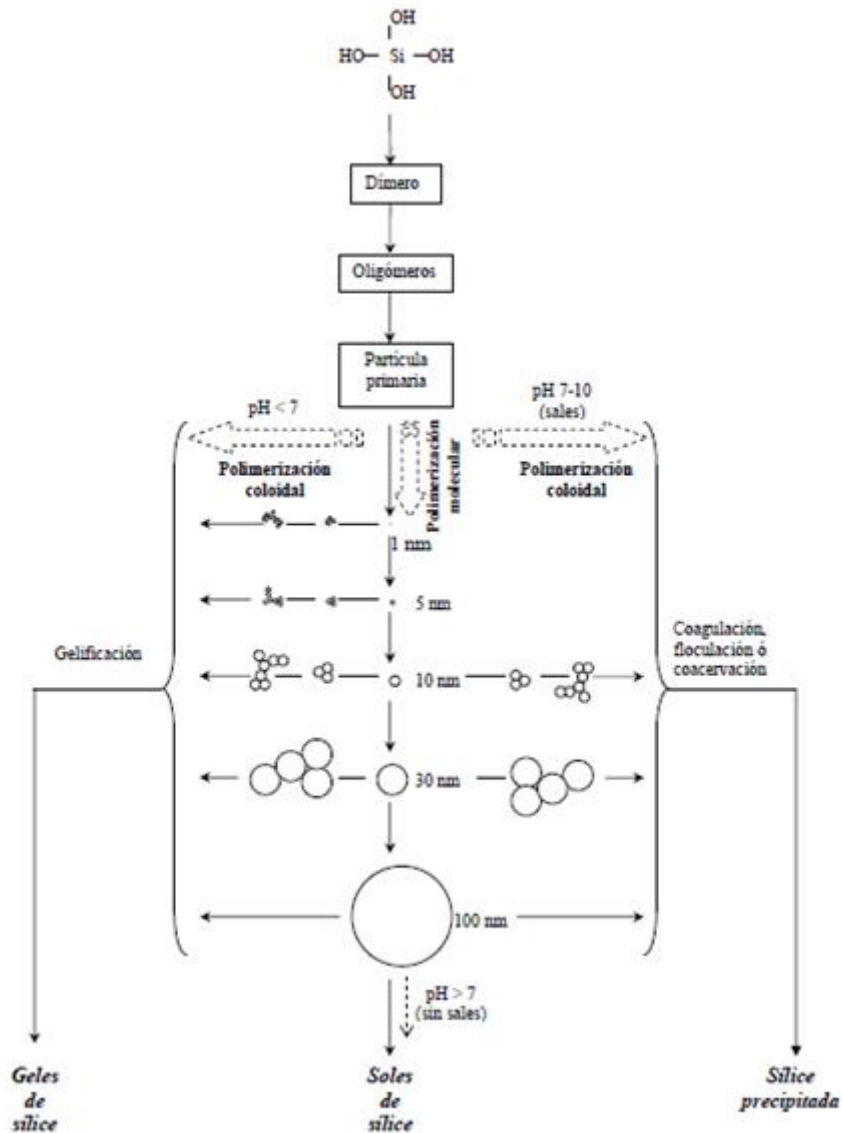
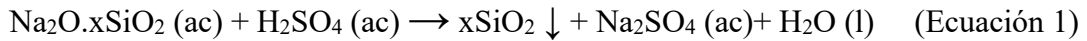


Figura 2. Polimerización de la sílice

El mecanismo de reacción se basa en una polimerización molecular (Figura 2). El monómero polimeriza irremediabilmente por condensación de dos grupos hidroxilo para formar enlaces siloxano Si-O-Si dando lugar a dímeros y otras especies moleculares del ácido silícico de mayor peso molecular (ácido polisilícico).

Como resultado de la polimerización molecular se obtiene un sol de sílice, una suspensión de partículas coloidales de sílice. Estas suspensiones, en determinadas condiciones,

pueden perder su estabilidad dando lugar a una segunda polimerización, denominada polimerización coloidal, donde las partículas coloidales se unen generando agregados de distintos tamaños (100-500 nm) obteniéndose así los distintos tipos de SAS entre los que se encuentra la sílice precipitada. A su vez, los grupos hidroxilo presentes en los agregados se unen entre sí por medio de enlaces de tipo puentes de hidrógeno e interacciones de Van der Waals formando partículas de mayor tamaño o aglomerados (1-100 μm).

Una vez sintetizadas, las propiedades de adsorción, adhesión, químicas y catalíticas que presenta la sílice precipitada dependen de la química y geometría de la superficie de las partículas primarias, por ello, la SAS puede ser tratada posteriormente dando lugar a materiales con fines muy concretos, denominados sílices de superficie modificada.²

Se diferencian dos grupos de sílices en función del grado de modificación superficial. Las sílices hidrófilas, o no tratadas, y las sílices hidrófobas. Estas últimas se obtienen mediante un mecanismo de reacción en los grupos hidroxilo superficiales, que consta del acoplamiento de diferentes silanos con los grupos silanol de la superficie.

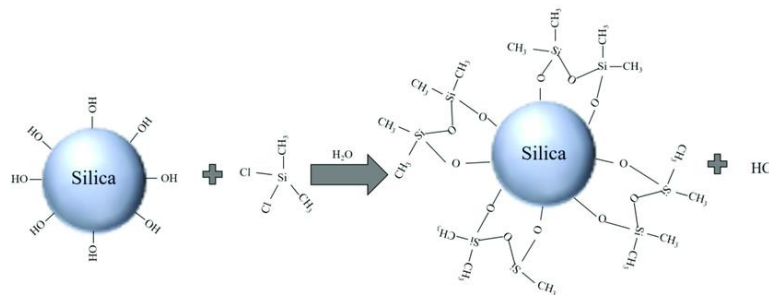


Figura 3. Tratamiento superficial de sílice con dimetildiclorosilano

La sílice precipitada como nanomaterial

El 10 de junio de 2022, la Comisión Europea publicó la Recomendación 2022/C 229/01 sobre la definición de nanomaterial, donde se abordó cómo deben entenderse los términos y conceptos utilizados en la definición de nanomateriales.

En dicho documento, se define como nanomaterial (NM) a aquellos materiales que consisten en partículas sólidas, independientemente de su origen, naturales o manufacturadas, e independientemente de su estado de aglomeración y agregación, en los que el 50%, o más, de sus partículas constituyentes cumplen al menos una de las siguientes condiciones:

- a) Una o varias dimensiones externas de la partícula están en el rango de tamaño 1 nm a 100 nm.
- b) La partícula tiene una forma alargada, como varilla, fibra o tubo, con dos dimensiones externas más pequeñas que 1 nm y una dimensión es mayor que 100 nm.
- c) La partícula tiene forma de placa, donde una dimensión externa es menor de 1 nm y las demás dimensiones sean superiores a 100 nm.³

Atendiendo a la definición y los tamaños de partícula de las partículas constituyentes de la sílice, descritos en la Figura 2, se clasifica el material bajo el marco legislativo de los nanomateriales.

Caracterización de nanomateriales

Como consecuencia de la falta de conocimiento científico y la ausencia de pruebas que demuestren la seguridad de algunos nanomateriales, su marco regulatorio constituye un desafío. Por este motivo, las autoridades y organismos europeos han desarrollado proyectos para la obtención de datos fiables sobre las características fisicoquímicas de los NMs promoviendo una nueva comprensión de su toxicidad y generando una serie de recomendaciones para uso reglamentario.

Ejemplo de ello, entre 2010 y 2013, la Agencia Ejecutiva para la Salud y Consumidores (EAHC) propuso el desarrollo del proyecto Nanogenotox, un programa de acción comunitaria sobre la seguridad de los nanomateriales, donde uno de sus principales objetivos es desarrollar y probar métodos adecuados y procedimientos operativos estándar (SOP) para el análisis y la caracterización de los NMs y sus dispersiones. Además, se menciona la posibilidad de usar los SOPs internacionalmente conocidos, como pueden ser las guías propuestas por OECD (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico).⁴

Otro ejemplo es el informe redactado por el Centro Común de Investigación (JRC) sobre los métodos analíticos necesarios para la identificación de nanomateriales de acuerdo con la Recomendación de la Comisión Europea sobre la definición de nanomaterial. En dicha recomendación, se pone de manifiesto la importancia de evaluación de la estabilidad de las dispersiones que forman los nanomateriales en disolución debido a que la mayor parte de técnicas de caracterización se realizan en disolución. Para ello, se recomienda el uso de la guía OECD 318 como método simple y eficaz de análisis de estabilidad de una

dispersión en medio acuoso bajo condiciones representativas de los ambientes acuáticos naturales.⁵

Evaluación de riesgos de nanomateriales

Como resultado del reciente incremento en la producción y uso de nanomateriales en nuestra vida cotidiana, ciertos organismos legislativos han cuestionado su correcta evaluación del riesgo y han desarrollado una serie de recomendaciones basándose en métodos de caracterización como los mencionados en el apartado anterior.

En este trabajo se utilizan las guías OECD 105 y OECD 318 como métodos de evaluación y comparación de riesgos de sílice precipitada hidrófila e hidrófoba. Mientras que la guía OECD 105 se engloba en la sección de propiedades fisicoquímicas y describe métodos para determinar la solubilidad en agua de las sustancias de prueba, estrechamente relacionada con la química superficial del nanomaterial, la guía OECD 318 analiza la estabilidad de una dispersión con objetivo de evaluar el destino de los nanomateriales en el medio acuático, además de poder ayudar a predecir el comportamiento de los nanomateriales en las pruebas eco-toxicológicas y toxicológicas.^{6,7}

Preámbulo guía OECD 318

Atendiendo a la guía OECD 318, donde se tratan muestras diluidas, y teniendo en cuenta la baja solubilidad de los nanomateriales ensayados, se establece como objetivo principal la selección de un método de digestión de muestra que permita la cuantificación del material.

El ácido fluorhídrico es el ácido por excelencia utilizado en las digestiones de matrices silíceas cristalinas debido a su eficacia en la rotura de los fuertes enlaces Si-O. Habitualmente, se emplea combinado con otros ácidos oxidantes como HNO₃ y/o HClO₄ para asegurar la disolución completa y producir estados de oxidación uniformemente altos en las soluciones finales.⁸

Sin embargo, el ácido fluorhídrico se encuentra clasificado según el Reglamento CE 1272/2008 de clasificación de sustancias químicas con las indicaciones de peligro H290, H300+H310+H330 y H314 como muy corrosivo y presentando toxicidad elevada por contacto, inhalación o ingestión pudiendo llegar a causar graves lesiones oculares y quemaduras en la piel.⁹

Se requieren importantes medidas de control y métodos de protección para su manipulación, además de la complejidad, en una posible recuperación tras las digestiones debido a la neutralización del exceso con ácido bórico.

Como resultado de las dificultades mencionadas anteriormente, y siguiendo los objetivos y metas de desarrollo sostenible a nivel europeo, se busca la sustitución de ácidos corrosivos por métodos de digestión alternativos con el fin de desarrollar un medioambiente no tóxico basado en la circularidad de los productos químicos, fijada en el Plan Estratégico de la ECHA 2019-2023.¹⁰

OBJETIVOS

El incremento en los últimos años en la producción de nanomateriales, que aumenta la probabilidad de distribución y acumulación en el medio ambiente, ha generado la reevaluación de los productos bajo un nuevo marco legislativo.

El objetivo principal de este trabajo es la caracterización de propiedades nanométricas de sílice precipitada en función de su química superficial, mediante el desarrollo de métodos de digestión alternativos que permitan predecir su comportamiento en medioambientes simulados, contribuyendo al desarrollo de pruebas de seguridad que amplíen la información toxicológica y eco-toxicológica de estos materiales.

El método de digestión debe adaptarse a las concentraciones teóricas de las alícuotas y límites de las técnicas de cuantificación empleadas, además de tener presente en todo momento el marco de la Química Verde.

Se buscan alternativas a los métodos tradicionales de digestión con ácidos fuertes y corrosivos, como el ácido fluorhídrico, siguiendo las recomendaciones de Agencia Europea de Salud y Trabajo. Las ventajas asociadas a la sustitución de este tipo de reactivos se resumen en los siguientes puntos.

- Mejorar la salud a corto y largo plazo de los trabajadores expuestos a la sustancia peligrosa.
- Reducir la contaminación del medioambiente.
- Disminuir los costes asociados a medidas de control en el uso de este tipo de reactivos.
- Reducir los tiempos de preparación y digestión de muestras.

- Disponer de técnicas de cuantificación alternativas a otras de mayor coste económico.

La sustitución de productos químicos peligrosos se incluye en la memoria del Plan Estratégico de la ECHA 2019-2023, adecuándose al plan de desarrollo de un medioambiente no tóxico y una economía circular.

El método de digestión validado se empleará en la cuantificación de sílice siguiendo el procedimiento descrito en la guía OCDE 105 con el objetivo de estudiar la solubilidad del material en función del tipo de recubrimiento superficial.

Por último, el desarrollo de la guía OCDE 318 ampliará información toxicológica mediante el estudio de alta, media o baja estabilidad de las dispersiones de los materiales en distintas condiciones ambientales simuladas. La estabilidad de la dispersión se considera un elemento clave de estudio para la evaluación de la disponibilidad y transporte de nanomateriales en el medioambiente contribuyendo a la evaluación de los riesgos.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

OECD 105

Esta guía de trabajo se dedica a la determinación de la solubilidad de una sustancia expresada como la concentración másica de saturación de la sustancia en agua a una temperatura determinada.

En función del valor obtenido, las sustancias se pueden clasificar como muy solubles, totalmente solubles, solubles, moderadamente solubles, ligeramente solubles, muy poco solubles o insolubles según la Tabla 1.¹¹

Tabla 1. Definición de términos de solubilidad propuestos por la SCCS.

Término	Solubilidad (g/L)
Muy soluble	>1000
Totalmente soluble	100-1000
Soluble	33,3-100
Ligeramente soluble	10-33,3
Poco soluble	1-10
Muy poco soluble	0,1-1
Insoluble	<0,1

Se preparan disoluciones de una concentración de 50 g/L de sílice precipitada hidrófila, IBERSIL®A-150, y disoluciones de 50 g/L de sílice hidrófoba comercial. En el caso de la sílice hidrófoba, la muestra se “moja” previamente con 20 g de una disolución etanol:agua al 50% para mejorar su dispersión en agua.

Adicionalmente, con objeto de estudiar el efecto de la presencia de etanol en la solubilidad del material, se preparan disoluciones adicionales de IBERSIL®A-150 en las mismas condiciones que las descritas anteriormente para la sílice hidrófoba.

La preparación de las muestras se resume en la Tabla 2.

Tabla 2. Procedimiento preparación disoluciones de medida

Muestra	Preparación		Concentración final
IBERSIL®A-150	5 g muestra	100 mL agua	50 g/L
IBERSIL®A-150 (EtOH)	5 g muestra + 10 g etanol + 10 g agua	80 mL agua	50 g/L
Hidrófoba comercial	5 g muestra + 10 g etanol + 10 g agua	80 mL agua	50 g/L

Una vez preparadas, las disoluciones se colocan en el agitador orbital y se mantiene agitación ininterrumpida durante 6 días (144 horas) a 300 rpm.

Finalizado el tiempo de agitación, la muestra se filtra a través de dos filtros de membrana. Un primer filtro de 0,45 μm y posteriormente uno de 0,2 μm . Una vez comprobado que la disolución es transparente y no quedan sólidos en suspensión, se toman 5 g de muestra y se llevan a un volumen final de 25 mL.⁶

OECD 318

Esta guía de trabajo se incluye en la sección de destino y comportamiento ambiental de los productos químicos. Tiene como propósito evaluar la capacidad de un nanomaterial para alcanzar una dispersión coloidal y conservar esta dispersión bajo condiciones ambientales relevantes, propiedad exigida por el JRC de la Comisión Europea para la identificación y medida de los nanomateriales en medios ambientes simulados.

La estabilidad se evalúa mediante el análisis del contenido en silicio en el sobrenadante de las dispersiones, que simulan las diferentes condiciones ambientales, hasta un tiempo establecido, clasificando la estabilidad de la dispersión según la concentración final en:

- **Baja estabilidad de dispersión:** Si la concentración final obtenida en el sobrenadante es menor o igual a un 10% de la concentración inicial.
- **Baja/Intermedia estabilidad de dispersión:** Si la concentración final obtenida en el sobrenadante se encuentra entre el 10% y 50% de la concentración inicial.
- **Alta/Intermedia estabilidad de dispersión:** Si la concentración final obtenida en el sobrenadante se encuentra entre el 50% y 90% de la concentración inicial
- **Alta estabilidad de dispersión:** Si la concentración final obtenida en el sobrenadante es igual o superior al 90% de la concentración inicial.

Se prepara una disolución stock de la muestra de estudio de concentración 5 g/L mediante la disolución de 1,25 g de muestra en un volumen de 250 mL. Para la muestra hidrófoba se realiza la disolución con un 10% en peso de etanol para favorecer su incorporación en agua.

Las disoluciones resultantes se someten a una sonicación suave empleando un sonotrodo marca HIELSCHER, con el objetivo de obtener un tamaño de partícula homogéneo, que se caracteriza empleando un equipo de difracción láser Mastersizer 2000 (ver Anexo A).

Posteriormente, se preparan las distintas disoluciones de estudio de acuerdo con el siguiente procedimiento y la Tabla 3:

1. Se adicionan 20 mL de la disolución de stock de 5g/L de la muestra de estudio en un tubo falcon de base plana.
2. Se añaden 2 mL de la disolución de NaHCO_3 .
3. Se adicionan distintos volúmenes de electrolito para obtener las distintas concentraciones (0 ó 1 ó 10 mM) de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Concretamente 0,4 y 4 mL de la disolución de stock de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,1M para obtener una concentración de 1 mM y 10 mM respectivamente.
4. Se enrasa hasta 35 mL.
5. Se añaden los mL necesarios de HNO_3 o NaOH para conseguir los 3 valores de pH propuestos: 4, 7 y 9.
6. Se enrasa a un volumen final de 40 mL.

Tabla 3. Esquema de disoluciones de medida

Test con NaHCO_3				
pH	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$			Total muestras
	0	1	10	
4	3x	3x	3x	9
7	3x	3x	3x	9
9	3x	3x	3x	9

En un paso previo al análisis y con el objetivo de partir del mismo grado de homogeneidad en las muestras, se sonicán los tubos falcon durante 30 segundos a 50 W.

Tras la sonicación, tomamos 1 g de muestra de sobrenadante, considerando la concentración de silicio en esta alícuota como la concentración máxima inicial. Posteriormente, se toma del sobrenadante una alícuota de 1 g cada hora hasta alcanzar las 6 horas de experimentación.⁷

RESULTADOS

Este apartado presenta los resultados obtenidos en el desarrollo de las metodologías recomendadas en las guías OECD 105 y 318, determinación de la solubilidad y evaluación de la estabilidad de dispersiones en medios ambientes simulados de sílices precipitadas amorfas con distinta naturaleza química superficial. Los valores obtenidos permitirán clasificar las propiedades de los materiales estudiados dentro del marco

jurídico establecido para nanomateriales. Además, en el desarrollo de la guía OECD 318 se expone el estudio y validación de un nuevo método de ataque de digestión de muestra específico para este tipo de material que permite su posterior análisis mediante Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES).

OECD 105

La cuantificación de silicio se realiza mediante análisis en ICP-OES (ver Anexo A) por interpolación en una recta de calibrado que se prepara en un paso previo al análisis. Los límites superior e inferior de concentraciones preparadas para la recta son 100 y 0,5 ppm, respectivamente. Se preparan un total de 9 puntos a partir de un patrón comercial de silicio de 1000 ppm. En la Figura 4 se representa un ejemplo de la recta de calibrado preparada para el análisis.

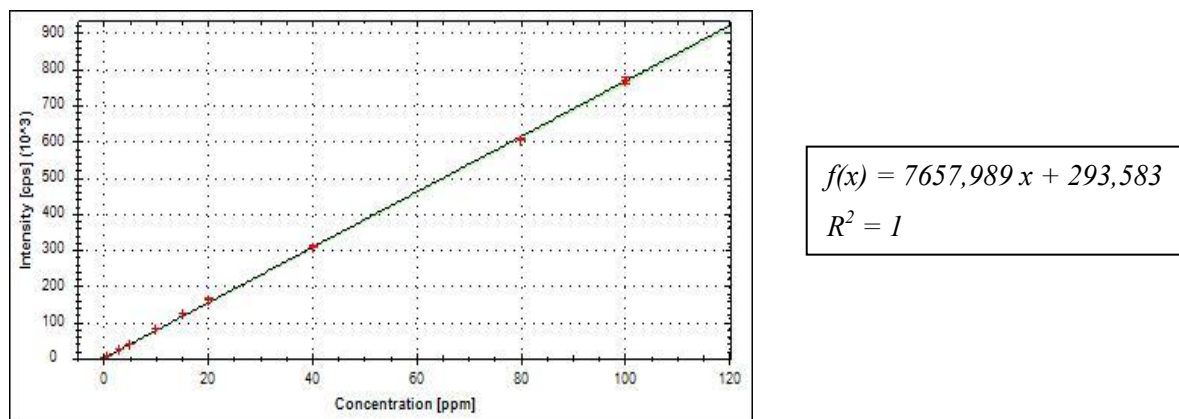


Figura 4. Recta de calibración de 0,5 a 100 ppm.

Las concentraciones obtenidas en función del tiempo de agitación se representan en la Figura 5.

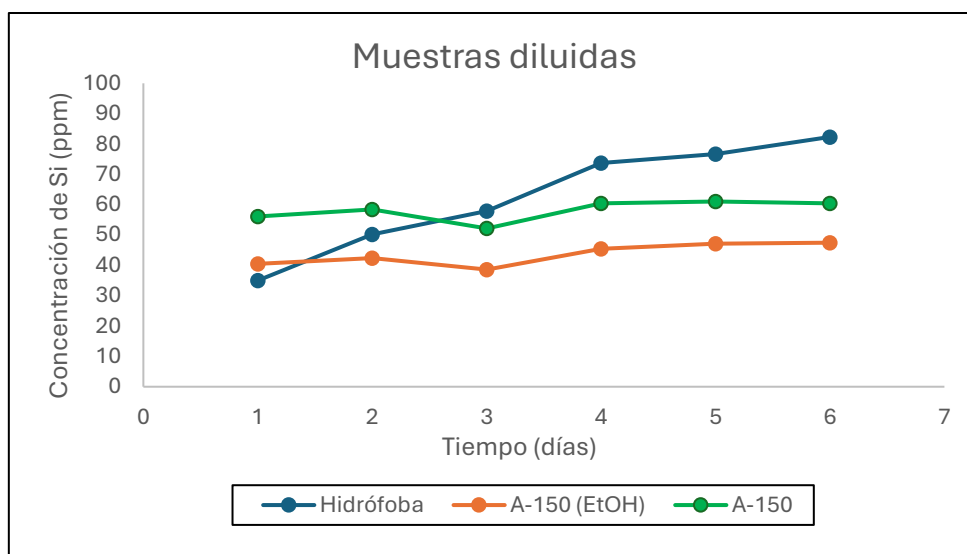


Figura 5. Distribución de la concentración según el tiempo de agitación para muestras hidrófilas sin etanol (verde) y con etanol (naranja) e hidrófoba (azul)

Si se comparan los resultados obtenidos en las muestras hidrófobas e hidrófilas, las sílices hidrófilas alcanzan la saturación en las primeras 24 horas, mientras que las sílices hidrófobas presentan un mayor tiempo de saturación (6 días aproximadamente) como consecuencia del tratamiento superficial realizado. El acceso de las moléculas del disolvente a la superficie de la sílice hidrófoba se encuentra impedido estéricamente, dificultando la reacción con los grupos hidroxilo residuales.

Por otro lado, en la Figura 5, se observa la influencia del etanol en la solubilidad del material. La adición de etanol genera una disminución de la solubilidad como consecuencia de la disminución de grupos hidroxilo en el disolvente que actúan como catalizadores del proceso de solubilización.

Se decide ampliar el tiempo del procedimiento experimental en las sílices hidrófobas como resultado de las diferencias encontradas en la saturación de ambos materiales. Además, la realización en paralelo del mismo procedimiento con dos muestras hidrófobas, modificadas por distintas vías con dimetildiclorosilano (DMDCS) en Industrias Químicas del Ebro, (RSP86SFC y RST07SFC, respectivamente), pone de manifiesto las tendencias observadas. Los resultados aparecen en las Figuras 6 y 7.

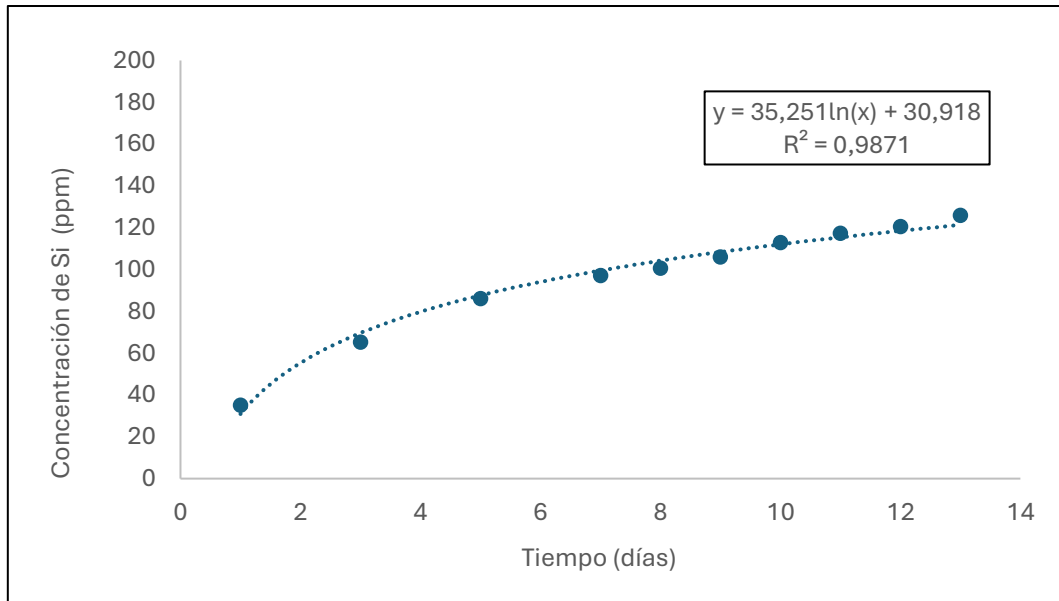


Figura 6. Distribución de la concentración según el tiempo de agitación para sílice hidrófoba comercial hasta observar saturación.

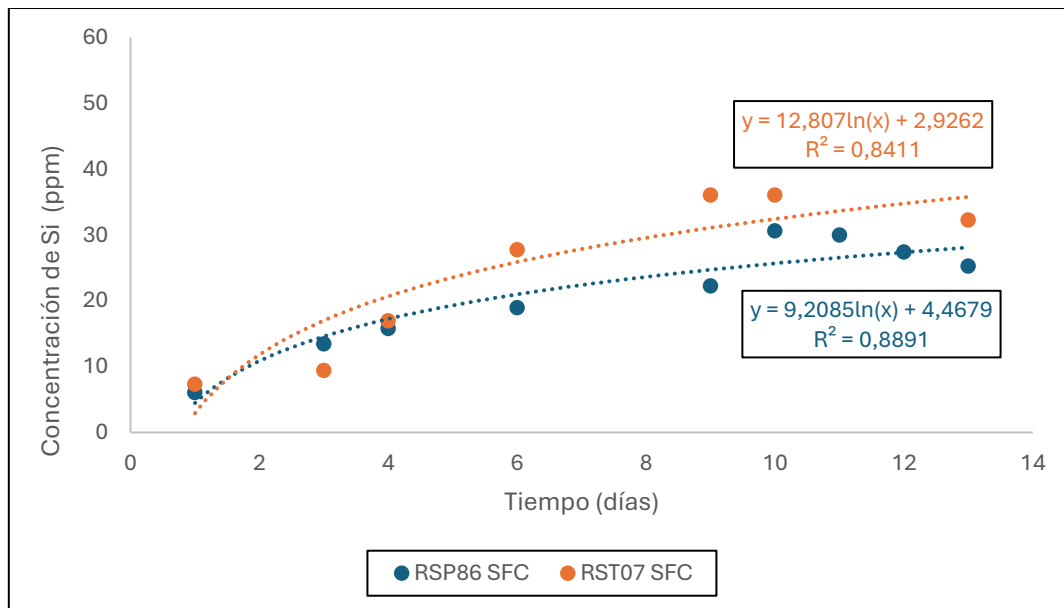


Figura 7. Distribución de la concentración según el tiempo de agitación para distintas muestras de sílice hidrófoba.

La comparación de los resultados obtenidos en las Figuras 6 y 7 pone de manifiesto las diferencias existentes entre las tres sílices hidrófobas. La solubilidad de la sílice hidrófoba comercial es superior a la de las sílices hidrófobas sintetizadas en IQE obteniendo una concentración de aproximadamente 120 mg/L de Si en la sílice hidrófoba comercial frente a los 25-35 mg/L de Si en las sílices hidrófobas tratadas con DMDCS. Este valor se justificaría por la presencia de un mayor número de grupos hidroxilo superficiales en la

superficie de la sílice hidrófoba comercial en comparación con las otras sílices desarrolladas en IQE.

Si se comparan los resultados obtenidos en las dos sílices modificadas con DMDCS, se observa una mayor solubilidad en el caso de la sílice denominada RST07 en comparación con la RSP86. Este efecto se justificaría por la presencia de un mayor número de grupos hidroxilo superficiales en la sílice RST07.

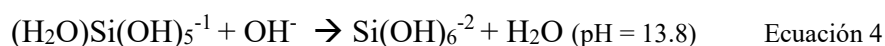
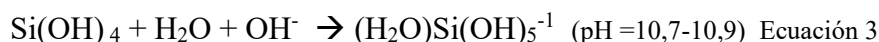
Desarrollo de nuevos métodos de digestión de muestra

Siguiendo las recomendaciones de la Agencia Europea de Salud y Trabajo y la tendencia europea de Química Verde, se propone un método alternativo de digestión de sílice precipitada, basado en una digestión alcalina con hidróxido de sodio, que solventa los problemas encontrados en el método de digestión tradicional con HF (ver Anexo B).^{12, 13}

La sílice se disuelve en medios con un pH superior a 10,9 por efecto simultáneo de hidratación y despolimerización.

En primer lugar se produce la hidratación de la superficie, lo que provoca el desprendimiento del átomo de silicio con sus correspondientes oxígenos que reaccionan con agua para dar lugar a ácido monosilícico, $\text{Si}(\text{OH})_4$ (Ecuación 2).

Por otro lado, la despolimerización es catalizada por iones hidroxilo, los cuales son quimisorbidos en la superficie de la molécula aumentando el número de coordinación del silicio de 4 a 5, lo que provoca una disminución de la energía de enlace con los oxígenos de la capa inferior, además de permitir la entrada de agua y el aumento del número de coordinación de 5 a 6 (Ecuación 3). Finalmente, se produce la sustitución del agua por un ion hidroxilo para dar lugar a iones silicato ($\text{Si}(\text{OH})_6^{-2}$) logrando tener el silicio en forma monomérica (Ecuación 4).¹



Las muestras que se emplean en la validación del método de digestión en medio básico se analizan mediante Fluorescencia de Rayos X (FRX) para determinar el contenido en

SiO₂ (ver Anexo A). Los resultados obtenidos en el análisis cuantitativo aparecen en la Tabla 4.

Tabla 4. Contenido de Si en muestras de validación de método mediante FRX

ANÁLISIS FRX	MUESTRA	
	IBERSIL®A-150	Hidrófoba comercial
	% Si	95,20

Con el objetivo de comparar ambos métodos de digestión, se pesan 0,25 g de cada muestra, hidrófila e hidrófoba, y se digieren en ambos medios. Para la digestión básica se emplean 2 g de hidróxido de sodio y 20 mL de agua desionizada y se lleva a ebullición hasta reducción del 50% de su volumen. Se enfría la muestra y se ajusta a pH=2 con H₂SO₄ concentrado, con el objetivo de evitar la polimerización.¹³

La digestión ácida se lleva a cabo de la misma manera que la descrita en el Anexo B, únicamente modificando el peso de muestra.

En un último paso, ambas muestras se enrasan a un volumen de 100 mL para realizar una dilución 1/20 de la disolución resultante. En la validación del método se incluye la alternativa de un ataque en placa calefactora o bloque digestor semiabierto. El bloque semiabierto permitiría el ataque de un mayor número de alícuotas en menor tiempo frente al ataque en placa calefactora. Las muestras se cuantifican mediante ICP-OES obteniéndose los resultados que aparecen en las Tablas 4 y 5.

Tabla 5. Valores de concentración experimentales y teóricos por distinta métodos de digestión

	Concentración de Si (ppm)					
	Digestión ácida		Digestión básica (placa calefactora)		Digestión básica (bloque digestor)	
	A-150	Hidrófoba comercial	A-150	Hidrófoba comercial	A-150	Hidrófoba comercial
Experimental	39,96	38,14	56,15	49,26	49,25	45,09
Teórico	62,22	59,43	64,42	56,17	60,38	59,08

Tabla 6. Porcentaje de silicio cuantificado dependiendo del método de digestión

	Técnica	Muestra	
		IBERSIL®A-150	Hidrófoba comercial
% Si	FRX	95,20	96,23
	Digestión ácida	64,22	64,18
	Digestión alcalina (placa calefactora)	87,16	87,70
	Digestión alcalina (bloque digestor)	81,57	76,32

A la vista de los resultados obtenidos la digestión alcalina mediante uso de placa calefactora proporciona los resultados más próximos a los obtenidos por FRX.

Para la optimización de los parámetros de digestión, se modificaron las condiciones de ataque y preparación de muestra con el objetivo de obtener valores comparables con los de la muestra analizada por FRX. El número de réplicas y resultados aparecen en las Tablas 2 a 5 del Anexo C.

Tabla 7. Porcentajes obtenidos mediante FRX y proceso de digestión optimizado.

% Si	TÉCNICA	MUESTRA	
		IBERSIL®A-150	Hidrófoba comercial
	FRX	95,20	96,23
	Digestión alcalina optimizada	95,13	97,25

A la vista de los resultados, las condiciones óptimas de digestión en las que se obtienen valores semejantes a los correspondientes mediante FRX son:

Calcinación de la muestra a 1000 ° C + 0,25 g muestra + 2 g NaOH (50%) + H₂SO₄ (pH=2)

Como herramienta para la validación del método se realizan análisis de varianza o test ANOVA. Se realizan tanto ANOVA de un factor, ANOVA de dos factores con una muestra por grupo y ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, obteniéndose para las condiciones óptimas de digestión los resultados descritos en las Tablas 6 a 13 del Anexo C y resumidos en la Tablas 8-12.

Tabla 8. Análisis de varianza de un factor (hidrófoba comercial)

ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR (Hidrófoba comercial)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,98284667	2	0,49142333	0,34660352	0,71018567	3,35413083
Dentro de los grupos	38,28129	27	1,41782556			
Total	39,2641367	29				

Tabla 9. Análisis de varianza de un factor (hidrófila)

ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR (IBERSIL®A-150)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	15,61112	2	7,80556	13,1314377	0,00010392	3,35413083
Dentro de los grupos	16,04928	27	0,59441778			
Total	31,6604	29				

Tabla 10. Análisis de varianza de dos factores con una muestra por grupo (hidrófoba comercial)

ANÁLISIS DE VARIANZA DE 2 FACTORES CON UNA MUESTRA POR GRUPO (Hidrófoba comercial)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	10,412305	9	1,15692278	0,78687093	0,63656852	3,1788931
Columnas	0,032805	1	0,032805	0,02231203	0,88455364	5,11735503
Error	13,232545	9	1,47028278			
Total	23,677655	19				

Tabla 11. Análisis de varianza de dos factores con una muestra por grupo (hidrófila)

ANÁLISIS DE VARIANZA DE 2 FACTORES CON UNA MUESTRA POR GRUPO (IBERSIL®A-150)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	8,76422	9	0,97380222	4,32113873	0,02006343	3,1788931
Columnas	0,18818	1	0,18818	0,83502776	0,3846495	5,11735503
Error	2,02822	9	0,22535778			
Total	10,98062	19				

Tabla 12. Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

ANÁLISIS DE VARIANZA DE 2 FACTORES CON VARIAS MUESTRAS POR GRUPO

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	53,1476817	1	53,1476817	48,2716789	2,2173E-08	4,08474573
Columnas	16,1384683	9	1,79316315	1,62865045	0,14006081	2,12402926
Interacción	10,7456017	9	1,19395574	1,08441697	0,3953113	2,12402926
Dentro del grupo	44,0404667	40	1,10101167			
Total	124,072218	59				

Mediante el ANOVA de un factor se concluye que las muestras digeridas de sílice hidrófoba comercial son estadísticamente iguales obteniendo un F_{exp} menor que F_{crit} (Tabla 8), mientras que para la sílice hidrófila (IBERSIL®A-150) se obtiene un $F_{exp} > F_{crit}$ (Tabla 9). Esto quiere decir que las muestras hidrófobas que se digieren en medio básico son iguales mientras que las hidrófilas no lo son.

Siguiendo el mismo criterio, mediante ANOVA de dos factores con una muestra por grupo (Tabla 10 y 11) se concluye que las medidas de las muestras de sílice hidrófoba comercial y sílice hidrófila (IBERSIL®A-150) son estadísticamente iguales, es decir, el equipo mide adecuadamente. Además, se vuelven a obtener mismas conclusiones anteriormente con ANOVA de un factor, pero mejorando la aproximación para la sílice hidrófila (IBERSIL®A-150) obteniendo un valor de F_{exp} similar a F_{crit} .

Finalmente, mediante ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo (Tabla 12) se concluye que ambas sílices son diferentes, ya que $F_{exp} > F_{crit}$, y que tanto las medidas entre las muestras, como dentro de una misma, son estadísticamente iguales, debido a que $F_{exp} < F_{crit}$.

OECD 318

Para la cuantificación de silicio en las muestras tomadas durante el procedimiento, se lleva a cabo una digestión básica, cuyas condiciones de ataque se describen en el apartado anterior y se detallan en el Anexo C.

Se toma un 1g de muestra y se adicionan 0,1 gramos de NaOH (50%) y 30 mL de agua MilliQ. Se lleva a ebullición en placa calefactora hasta reducción de dos tercios de su volumen y se deja enfriar. Finalmente, la muestra se trasvasa a un tubo falcon y se enrasa con agua MilliQ hasta un volumen final de 25 mL para su cuantificación mediante ICP-OES.

La cuantificación se lleva a cabo por interpolación de las intensidades de señal de las muestras en la recta de calibrado de 0,5 a 100 ppm, la cual se prepara diariamente de manera previa a la medición de muestras y siguiendo el mismo procedimiento descrito en la guía OECD 105, presentando misma estructura e índice de regresión que la Figura 1.

El valor de la concentración de silicio en la muestra hidrófoba e hidrófila, expresados como porcentaje respecto a la concentración inicial, se representa en función del tiempo en las Figuras 5 y 6, respectivamente.

Los resultados ponen de manifiesto las diferencias existentes en los materiales empleados en función de la química superficial de ambas sílices. Se observa una estabilidad baja/intermedia de dispersión de la sílice hidrófoba en medio inorgánico en presencia de contenido salino. Por otro lado, la estabilidad de dispersión en ausencia de contenido salino se considera alta/intermedia. Cabe destacar la menor estabilidad de dispersión que se obtiene a pH 7, valor en el cual la sílice es más estable, en comparación con los resultados obtenidos a pH 4 y 9 donde daría comienzo el proceso de solubilización de la muestra.

Sin embargo, en el caso de la sílice hidrófila, la estabilidad de dispersión del material se considera baja/intermedia en elevado contenido salino, mientras que en ausencia y bajo contenido salino presenta alta/intermedia estabilidad de dispersión. En comparación con la sílice hidrófoba, los porcentajes de silicio respecto al inicial son ligeramente superiores señalando una mayor estabilidad de dispersión.

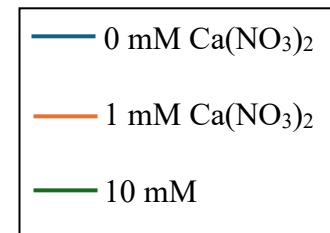
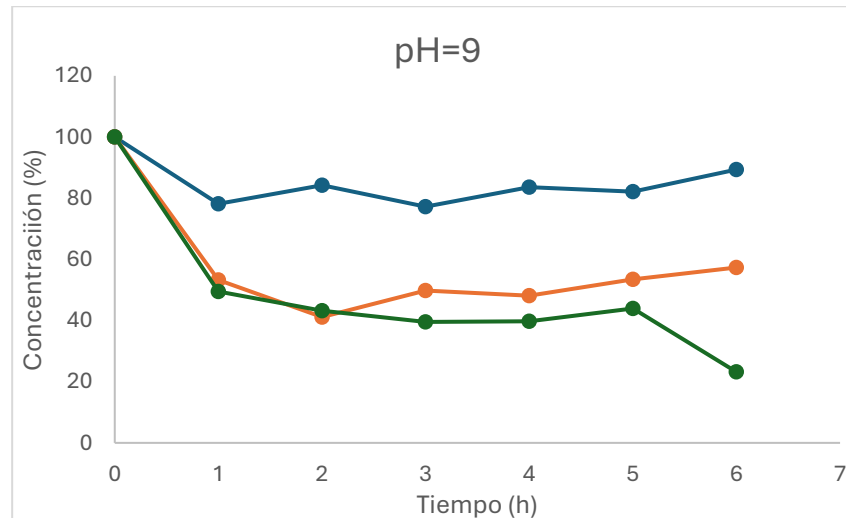
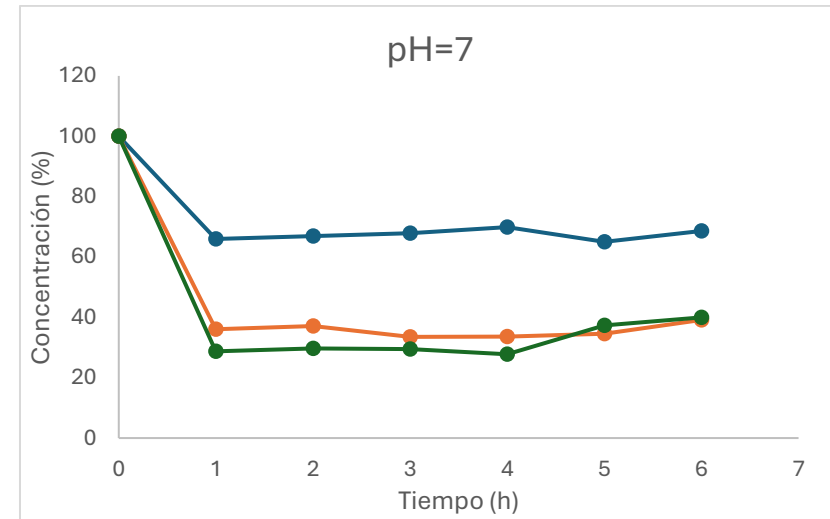
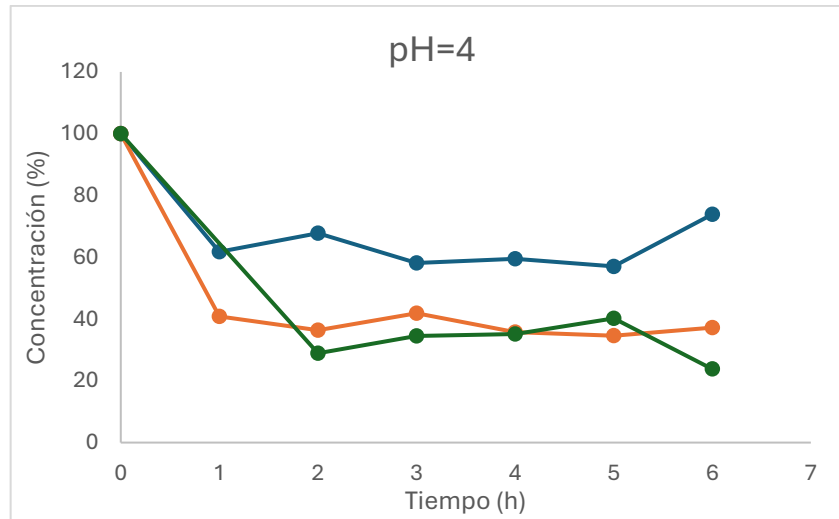


Figura 5. Evaluación del porcentaje de silicio en el sobrenadante a pH 4, 7 y 9 para muestra de RSP86 (hidrófoba)

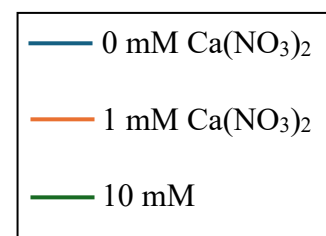
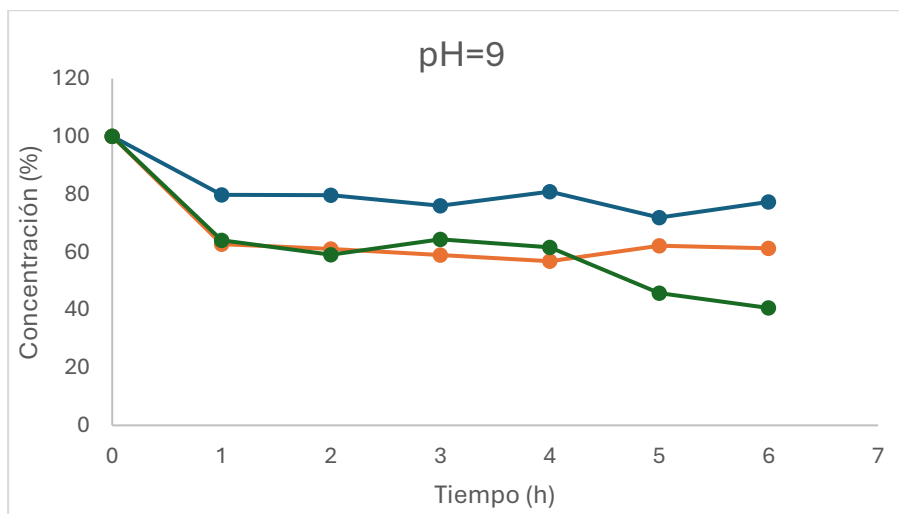
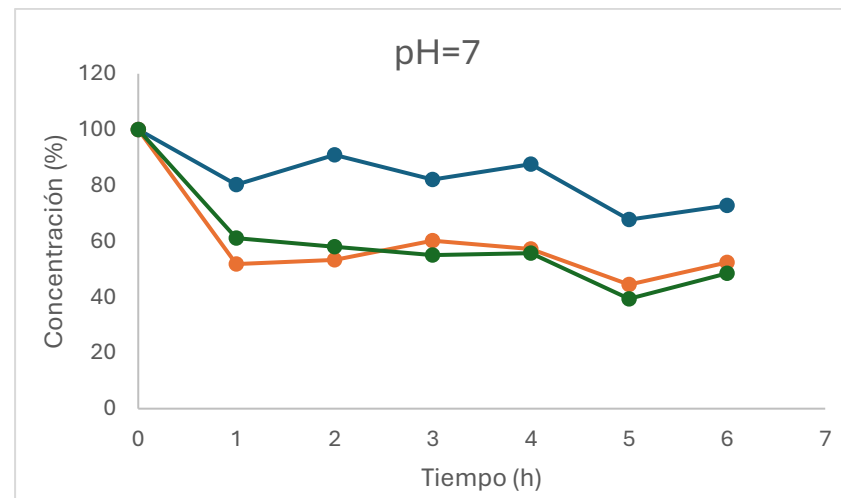
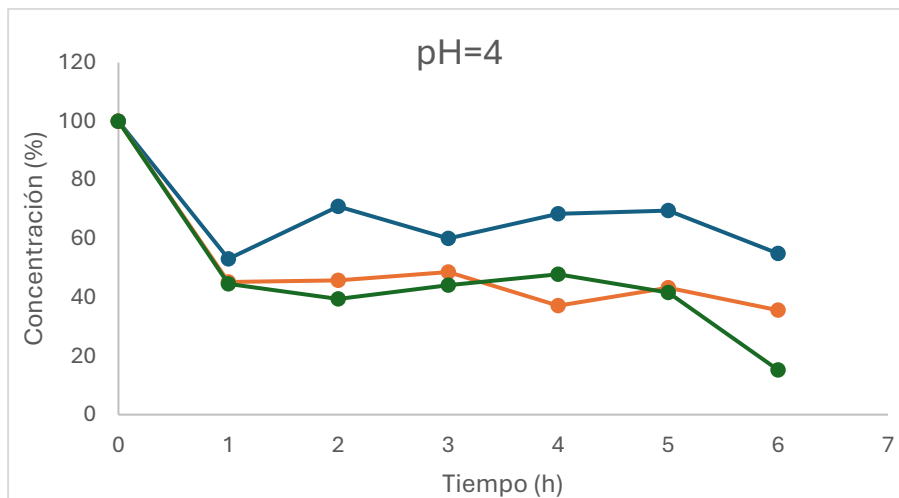


Figura 6. Evaluación del porcentaje de silicio en el sobrenadante a pH 4, 7 y 9 para muestra de IBERSIL®A-150 (hidrófila)

CONCLUSIONES

En líneas generales, los resultados obtenidos, a partir de las metodologías recomendadas en las guías OECD 105 y OECD 318 (determinación de solubilidad y evaluación de la estabilidad de dispersiones en medios ambientes simulados) en la caracterización de sílice precipitada amorfa de distinta naturaleza química superficial, se consideran satisfactorios y cubren los objetivos planteados al inicio del presente trabajo fin de máster. En su desarrollo, cabe destacar el diseño y validación de un método de digestión de muestra que sustituye el uso de ácidos peligrosos, como el ácido fluorhídrico, por reactivos y digestiones alcalinas finales más respetuosas con el medio ambiente, obteniendo resultados fiables y reproducibles.

A continuación, se desarrollan en detalle las conclusiones obtenidas en los distintos apartados experimentales.

- El desarrollo de la guía OECD 105 en la determinación de solubilidad de los materiales ha puesto de manifiesto la baja solubilidad de los mismos, obteniendo unos valores de acuerdo a los esperados. La **sílice hidrófila** (IBERSIL®A-150) se puede considerar como **muy poco soluble** al presentar una solubilidad igual a 0,13 g/L de SiO₂. Respecto a las sílices **hidrófobas**, la sílice comercial se puede considerar como **muy poco soluble** al presentar una solubilidad de 0,28 g/L de SiO₂, mientras que las sílices desarrolladas y tratadas por IQE (RSP86SFC y RST07SFC, respectivamente) se pueden considerar **insolubles** al presentar una solubilidad inferior a 0,1 g/L; 0,04 g/L y 0,06 g/L de SiO₂ respectivamente. Las **diferencias** encontradas en los resultados indican el efecto de la presencia y ausencia de recubrimiento orgánico en este tipo de material.
- En las distintas metodologías de ataque de muestra, la **digestión alcalina** empleando NaOH ha sido la que ha proporcionado mejores resultados en comparación con los obtenidos por Fluorescencia de Rayos X.
- Se han optimizado los parámetros de digestión alcalina, desarrollando un procedimiento a partir de sílice precipitada en polvo, donde previamente se debe

calcinar la muestra a 1000°C para la posterior digestión de 0,25 g de muestra con 2 g de NaOH y finalmente ajuste a pH=2 con H₂SO₄.

- La **validación del método** de digestión se ha llevado a cabo mediante **análisis de varianza** (ANOVA) de los resultados confirmando la reproducibilidad de la digestión además de la reproducibilidad de medida del equipo.
- A partir de los resultados obtenidos en el desarrollo de la guía OECD 318, se concluye una estabilidad de dispersión **alta/intermedia** para **silice hidrófoba** (RSP86) en ausencia de contenido salino y **baja/intermedia** en presencia de contenido salino. La **silice hidrófila** (IBERSIL®A-150) presenta una estabilidad de dispersión **alta/intermedia** tanto en **ausencia** como en **baja concentración de contenido salino**, presentando únicamente una estabilidad **intermedia/baja** en presencia de **elevado contenido salino**.
Teniendo en cuenta los valores obtenidos y la elevada estabilidad de las dispersiones generadas, se puede concluir el bajo impacto ecotoxicológico que generarían los materiales en condiciones reales.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Iler. The chemistry of silica: solubility, polymerization, colloid and surface properties, and biochemistry / by R.K. Iler. 1979.
- (2) Sebastián, D. J. J. ESTUDIO DE SILICES PRECIPITADAS PARA LA MEJORA DE MEZCLAS DE CAUCHOS Universidad de Zaragoza: 2009. Tesis doctoral.
- (3) COMMISSION, E. COMMISSION RECOMMENDATION of 10 June 2022 on the definition of nanomaterial Official Journal of the European Union, 2022.
- (4) Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, d. l. e. e. d. t. *Nanogenotox : Facilitating the safety evaluation of manufactured nanomaterials by characterising their potential genotoxic hazard*. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES): 2013; p 60.
- (5) Hubert, R.; Vikram, K.; Kirsten, R.; Thomas, L.; Elzbieta, S. Guidance on the implementation of the Commission Recommendation 2022/C 229/01 on the definition of nanomaterial. Publications Office of the European Union: 2023; p 68.
- (6) OECD. *Test No. 105: Water Solubility*; 1995. DOI: <https://doi.org/10.1787/9789264069589-en>.

- (7) OECD. *Test No. 318: Dispersion Stability of Nanomaterials in Simulated Environmental Media*; 2017. DOI: doi:<https://doi.org/10.1787/9789264284142-en>.
- (8) Hu, Z. Sample digestion methods. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. Treatise on Geochemistry Sec. Ed.* 2014, 15, 87-109.
- (9) Europea, U. REGLAMENTO (CE) N o 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas. Diario Oficial de la Unión Europea, 2008; Vol. 51.
- (10) Agency, E. C. ECHA Strategic Plan 2019-2023. European Chemicals Agency: 2018; p 17.
- (11) Bernauer, U.; Bodin, L.; Chaudhry, Q.; Coenraads, P. J.; Dusinska, M.; Gaffet, E.; Panteri, E.; Rousselle, C.; Stepnik, M.; Wijnhoven, S.; et al. *Opinion on solubility of Synthetic Amorphous Silica (SAS) - SCCS/1606/19 - Final Opinion - Corrigendum of 6 December 2019*; 2020.
- (12) Yousefpour, N.; Björnberg, O.; Yao Mattisson, I.; Axelsson, O. Hydrofluoric Acid-Free Digestion of Organosilicon Nanoparticles for Bioanalysis by ICP-OES. *Micro* 2023, 3 (1), 264-273.
- (13) Bossert, D.; Urban, D. A.; Maceroni, M.; Ackermann-Hirschi, L.; Haeni, L.; Yajan, P.; Spuch-Calvar, M.; Rothen-Rutishauser, B.; Rodriguez-Lorenzo, L.; Petri-Fink, A.; et al. A hydrofluoric acid-free method to dissolve and quantify silica nanoparticles in aqueous and solid matrices. *Scientific Reports* 2019, 9. DOI: 10.1038/s41598-019-44128-z.
- (14) Herraiz LX. *Espectroscopía de Absorción Atómica*. Analíticas Europeas; 1987.

ANEXO A: Equipos e Instrumentación

- **Equipo ICP-OES (Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasmas de Acoplamiento Inductivo)**

El equipo empleado en la determinación de silicio mediante ICP-OES es un ICAP 7000 Series de Thermo Fisher Scientific conectado a un automuestreador ASX-280 de Cetac Technologies. El software de manejo y tratamiento de resultados es Thermo Scientific Qtegra™ Intelligent Scientific Data Solution™ (ISDS).

Las muestras se introducen en el espectrofotómetro mediante un sistema de aspiración automático y se nebulizan previamente para transformar el líquido en un aerosol. En un segundo paso, una fuente de plasma de alta temperatura (originado en la antorcha por argón sometido a colisiones utilizando una fuente de radiofrecuencia) vaporiza las moléculas de disolvente y lleva los solutos a un estado atómico, además de excitarlos a niveles de energía más altos. La luz emitida por los átomos se mide utilizando una longitud de onda de emisión específica, 251,611 nm en el caso del silicio. La antorcha puede operar en modo axial o radial dependiendo del tipo y naturaleza de los elementos a cuantificar y el tipo de matriz de muestra. Finalmente, el equipo utiliza un detector de carga acoplada (CCD) para la medición de la intensidad de la luz emitida.



Figura 5. ICP-OES, ICAP 7000

- Límite de detección

Se realizaron 10 medidas continuas (Tabla 17 y 18) del blanco alternadas con una concentración de Si de 5 ppm, preparada a partir del patrón de Si monovalente de 1000 ppm.

El límite de detección se calcula siguiendo el procedimiento encontrado en bibliografía de Espectroscopía de Absorción Atómica obteniéndose un valor de 0,096 ppm.¹⁴

Este valor no puede considerarse constante y depende principalmente de la incertidumbre de medida generada en el agua miliQ, ya que su concentración fluctúa diariamente. Por lo que el límite de detección del ICP-OES puede variar cada día de medida.

Los datos obtenidos fueron:

Tabla 17. Valores calculados

Medida	Intensidad de pico	desviación	desviación ²
1	40568,5	-434,2	188529,64
2	40433	-569,7	324558,09
3	40724	-278,7	77673,69
4	41050,5	47,8	2284,84
5	41639,5	636,8	405514,24
6	41509,5	506,8	256846,24
7	41479,5	476,8	227338,24
8	40846	-156,7	24554,89
9	40945,5	-57,2	3271,84
10	40831	-171,7	29480,89

Tabla 18. Intensidades (cps) de medidas

Resultados	
Agua	146
M1	40706
Agua	129
M2	40554
Agua	113
M3	40846
Agua	131
M4	41181
Agua	130
M5	41770
Agua	131
M6	41658
Agua	166
M7	41641
Agua	157
M8	41016
Agua	183
M9	41131
Agua	188
M10	41022
Agua	194

$$LD = 2 \times \frac{\text{concentración patrón de Si}}{\text{valor intensidad media}} \times \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n}}$$

$$LD = 2 \times \frac{5,0169}{41007,2} \times \sqrt{\frac{1540052,6}{10}} = 0,096 \text{ ppm}$$

- **Agitador orbital**

Agitador orbital modelo IKA™ 0002980000.

Se emplea para el desarrollo de la guía OECD 105 con el objetivo de mantener en agitación constante durante el tiempo determinado las disoluciones de estudio.



Figura 6. Agitador orbital

- **Ultrasonidos**

Ultrasonidos Ultrasons P Selecta, serie 0448356.

Tabla 19. Parámetros de uso de ultrasonidos

Parámetros	
Tiempo (s)	Potencia (W)
30	50

Se emplea en la homogenización de muestra como paso previo a la toma de muestra inicial en el desarrollo del procedimiento descrito en la guía OECD 318.

- **Sonotrodo**

La punta sónica empleada en la preparación de las dispersiones para el ensayo de la guía OECD318 es marca HIELSCHER y sus características se describen en la Tabla 20.

Tabla 20. Parámetros del sonotrodo utilizado

Tipo	Diámetro sonotrodo (mm)	Superficie sonotrodo (cm ²)	Amplitud sonotrodo (μm)
S24d14	14	1,54	18,4

Dependiendo del tipo de material a sonicar (sílice precipitada) y el medio de sonicación (agua de calidad analítica) se debe realizar una recta de calibrado (Figura 7) con el fin de establecer la potencia y energía en función de la amplitud.

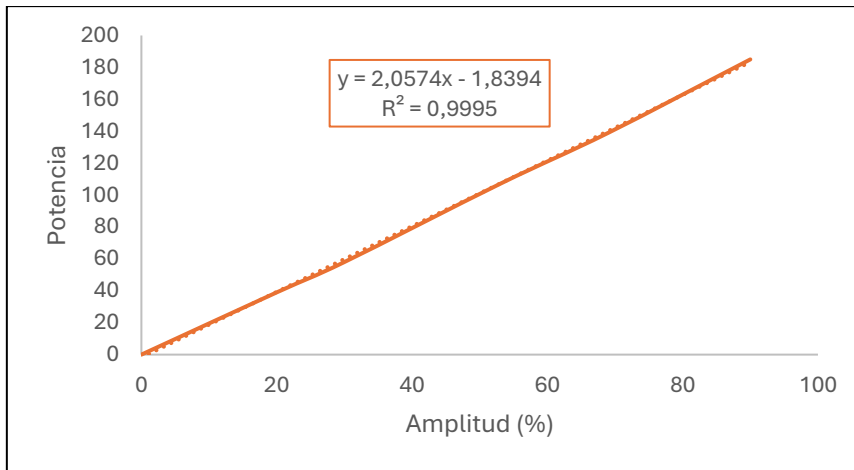


Figura 7. Calibración de sonicación dependiendo del material a sonicar.

Finalmente, los parámetros de sonicación seleccionados como óptimos se resumen en la Tabla 21.

Tabla 21. Parámetros de sonicación utilizados en la preparación de las dispersiones.

Parámetros de sonicación						
Amplitud (%)	Tiempo de sonicación (s)	Potencia (W)	Intensidad superficial (W/cm ²)	Energía (W*s)	E/m (W*s/ml)	E/m (Ws*g/ml)
23	222	45	29	10000	40	50



Figura 8. Sonotrodo HIELSCHER

- **Equipo para medida de distribución de tamaño de partícula mediante DLS (dispersión dinámica de luz)**

El equipo empleado para la determinación de distribución de tamaños de partícula en las dispersiones del ensayo OECD 318 es un Mastersizer 2000, marca Malvern.

La medida se realiza por vía húmeda y consiste en la generación de una dispersión mediante un agitador y ultrasonidos. Esta dispersión se pasa a través de unas lentes sobre las que se hace incidir un rayo láser que es dispersado por las partículas en función de su tamaño. La luz difractada es analizada y a través de un tratamiento matemático podemos obtener la distribución de tamaños de partícula.

Los resultados obtenidos en la preparación de las dispersiones stock se representan en las Figuras 9 y 10 y Tabla 22.

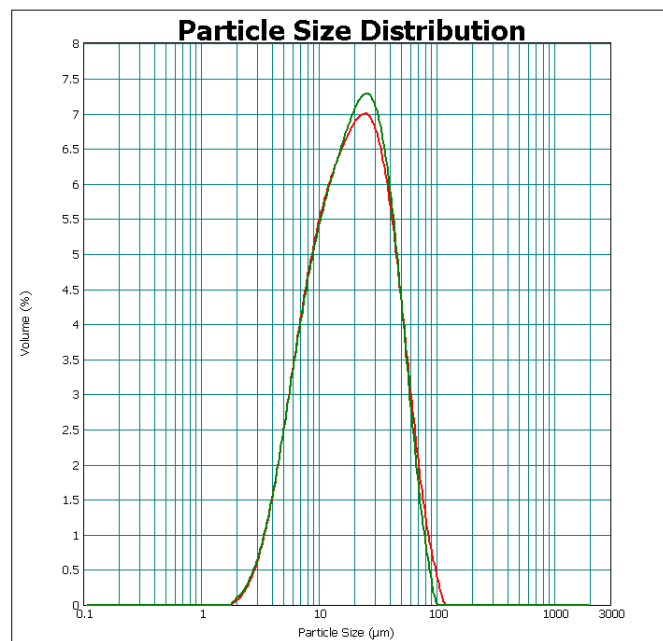


Figura 9. Distribución de tamaños de partícula para muestra de A-150 antes de sonicación (rojo) y posterior a la sonicación (verde)

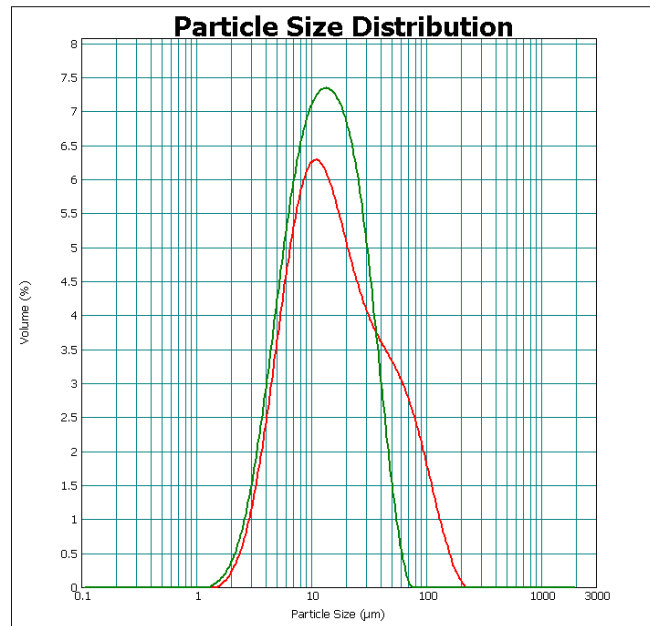


Figura 10. Distribución de tamaños de partícula para muestra de sílice hidrófoba antes de sonicación (rojo) y posterior a la sonicación (verde)

Tabla 22. Valores de distribución de tamaños antes y después del proceso de sonicación

Distribución de tamaño (µm)	IBERSIL®A-150		RSP86	
	Antes	Después	Antes	Después
D10	6,25	6,25	5,17	4,69
D50	19,04	19,04	15,37	12,82
D90	49,90	47,48	67,72	32,75



Figura 11. Mastersizer 2000 Malvern

- **Fluorescencia de Rayos X (FRX)**

La fluorescencia de rayos X es una técnica espectroscópica que utiliza como fuente de energía la radiación de rayos X.

La radiación incidente provoca la emisión de electrones de capas interiores del átomo, generando que los electrones de capas más externas ocupen los lugares vacantes, liberando el exceso energético, resultante de esta transición, en forma de fotones, radiación X fluorescente o secundaria, con una longitud de onda característica que depende del gradiente energético entre los orbitales electrónicos implicados, y una intensidad directamente relacionada con la concentración del elemento en la muestra.

Esta técnica permite cuantificar la composición química del producto además de permitir análisis semicuantitativos y una valoración de impurezas por encima de 100 ppm. Para una correcta cuantificación es necesaria la preparación de rectas de calibrado propias para cada metal sobre matrices equivalentes.

Estas medidas se realizan en el Servicio de Difracción de Rayos X y Análisis por Fluorescencia del Servicio General de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Zaragoza (SAI-UNIZAR).



Figura 12. Perladora

Las muestras se preparan en IQE utilizando una perladora (Figura 12). Se pesa un gramo del producto con 10 g borato de litio, se añaden 2 gotas de bromuro de litio (25% peso) y se calienta por encima de 1000°C, obteniendo finalmente la perla a analizar.

ANEXO B: Digestión convencional con ácido fluorhídrico

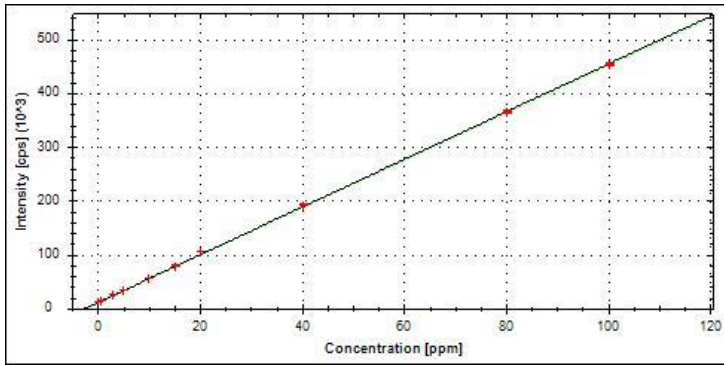
El silicio es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre después del oxígeno. Los métodos tradicionales de análisis de trazas metálicas en compuestos de matrices silíceas se basan en la digestión ácida asistida por microondas y combinando distintos ácidos, generalmente HNO_3 y HF , en varias etapas.

El HF es el ácido utilizado por excelencia para la rotura de enlaces Si-O , mezclándose casi siempre con otros ácidos oxidantes, como HNO_3 , para asegurar la disolución completa y producir estados de oxidación uniformemente altos en las soluciones finales¹.

Inicialmente, el método de digestión de alícuotas se lleva a cabo mediante la metodología tradicional, empleando un sistema de digestión de bloque semi-abierto y una mezcla de HF con agua para romper la matriz amorfa silícea de la muestra. Este tipo de metodología de digestión permite el procesamiento de un mayor número de muestras en menor tiempo como alternativa a las largas etapas que constituyen la digestión asistida por microondas.

La digestión se lleva cabo tomando 1 g de la disolución de medida de 50 g/L previamente agitada el tiempo correspondiente y filtrada mediante filtros de membrana de 0,45 y 0,2 μm . Sobre la muestra se adicionan 5 mL de HF y 15 mL de agua desionizada, todo ello en recipientes de polipropileno, para su digestión durante 7 horas a 90°C hasta alcanzar un volumen de la disolución de digestión de 5 mL aproximadamente para potenciar el ataque.

Finalizado el proceso, se enfría la muestra digerida y se lleva a un volumen final de 25 mL en matraz aforado para su posterior cuantificación mediante ICP-OES. La determinación de silicio se realizó a una longitud de onda de 251,61 nm mediante integración de las señales en una recta de calibrado de 0,5 a 100 ppm (mg/L), representada en la Figura 1, obteniéndose los resultados que se muestran en la Figura 2:



$$f(x) = 4427,362 x + 11285,946$$

$$R^2 = 1$$

Figura 1. Recta de calibrado de 0,5 a 100 ppm (mg/L)

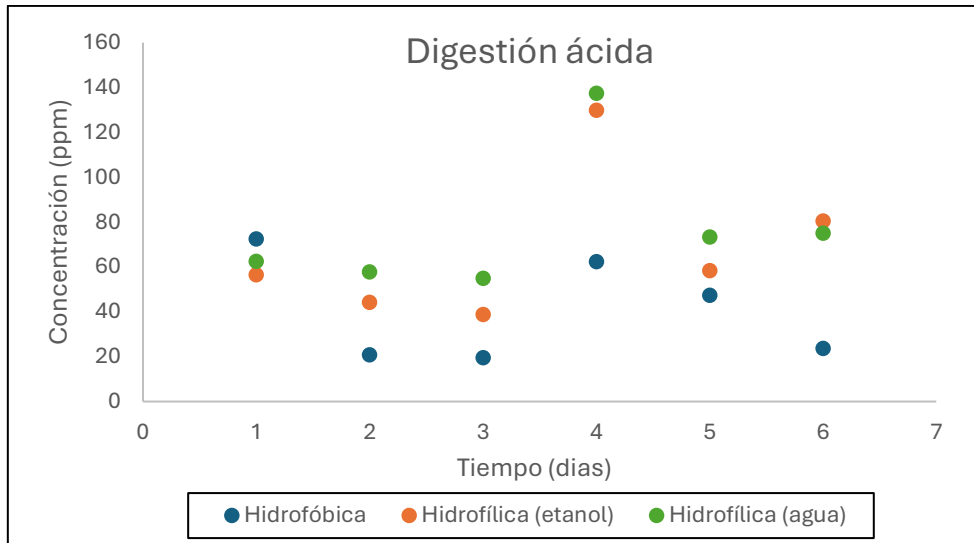


Figura 2. Concentración respecto a distintos tiempos de agitación de muestras digeridas por método ácido.

Los resultados obtenidos fueron aleatorios, alejándose de la tendencia esperada donde la concentración aumenta progresivamente con el tiempo de agitación hasta alcanzar la saturación de la disolución. Además, tal y como se menciona en distintas referencias bibliográficas², existen varios inconvenientes a la hora de emplear HF en la digestión de muestras diluidas para la cuantificación de Si mediante ICP-OES que podrían justificar los valores obtenidos.

En primer lugar, las intensidades del agua (blanco de recta) registradas en el equipo se consideran elevadas en comparación con las obtenidas habitualmente en ausencia de HF. A pesar de disponer de un circuito teflonado para la introducción de muestra en el equipo y de programar varias muestras limpieza entre muestras, el exceso de HF podría estar reaccionando con las únicas partes de vidrio del circuito que no pueden sustituirse por materiales teflonados, generando un aumento de concentración de silicio en el blanco.

Tabla 1. Valores de blancos de recta con y sin HF.

Intensidad blancos de recta con HF (10 ³ cps)	Intensidad blancos de recta sin HF (10 ³ cps)
9980	215
11274	321
13625	203
11704	197
7236	240
9338	289
11422	376

Por otro lado, los valores negativos de concentración de silicio, así como los muy próximos a cero, obtenidos en las muestras y representados en la Figura 3, podrían deberse a la formación de especies volátiles en el proceso de digestión en bloque semiabierto. La baja concentración de silicio en las muestras diluidas, unida a la generación y pérdida de tetrafluoruro de silicio (SiF₄), justificarían los resultados.

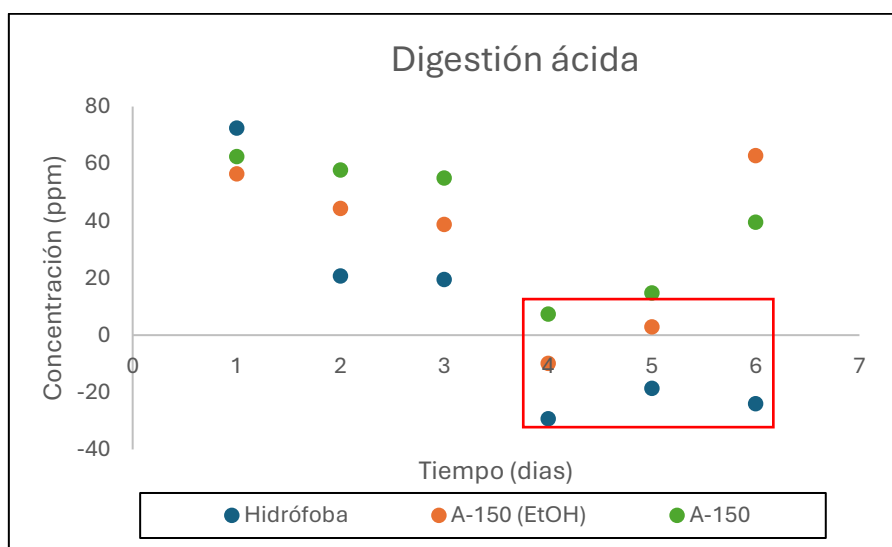


Figura 3. Valores negativos de concentración de silicio de muestras digeridas por método ácido.

Bibliografía

- (1) Hu, Z. Sample digestion methods. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. Treatise on Geochemistry Sec. Ed.* **2014**, *15*, 87-109.
- (2) Yousefpour, N.; Björnberg, O.; Yao Mattisson, I.; Axelsson, O. Hydrofluoric Acid-Free Digestion of Organosilicon Nanoparticles for Bioanalysis by ICP-OES. *Micro* **2023**, *3* (1), 264-273.

ANEXO C: Digestión alcalina

En las Tablas 2-5, se recogen los datos experimentales de las distintas condiciones de ataque y preparación de muestra del proceso de optimización del método de digestión.

Tabla 2. Porcentaje de Si en muestra digerida con 2 g de NaOH.

	% Si					
	IBERSIL®A-150			Hidrófoba		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
0,25 g muestra + 2 g NaOH	87,15	88,60	88,59	91,58	88,49	87,48
	87,57	88,95	87,92	89,32	89,06	87,66
	88,29	89,25	89,95	88,47	90,38	86,43
	88,06	89,99	88,99	88,43	88,18	88,59
	86,07	89,52	90,40	90,30	87,90	88,86
	86,08	89,44	90,16	90,01	88,26	89,52
	87,83	88,92	89,39	89,88	88,74	87,53
	86,71	87,25	89,64	89,58	88,29	88,91
	87,02	87,57	87,83	87,72	88,80	88,61
	87,28	88,92	89,56	89,00	87,05	87,67

Tabla 3. Porcentaje de Si en muestra digerida con 2 g de NaOH y previa calcinación a 800°C.

	% Si					
	IBERSIL®A-150			Hidrófoba		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
0,25 g muestra + 2 g NaOH +calentamiento 800 ° C	92,07	93,53	92,87	92,96	93,09	96,49
	92,52	93,90	92,16	93,51	93,95	95,41
	93,28	94,22	94,29	93,61	93,89	94,31
	93,04	95,00	93,29	93,62	92,43	95,85
	90,93	94,50	94,77	93,52	90,47	95,85
	90,95	94,42	94,52	93,07	90,98	96,16
	92,79	93,87	93,71	91,73	92,02	95,38
	91,61	92,10	93,97	90,96	91,89	93,16
	91,93	92,44	92,08	90,49	91,97	94,32
	92,22	93,87	93,89	91,48	91,13	95,16

Tabla 4. Porcentaje de Si en muestra digerida con 5 g de NaOH y previa calcinación a 800°C.

	% Si
	IBERSIL®A-150
0,25 g muestra + 5 g NaOH +calentamiento 800 ° C	90,65
	89,73
	91,08
	90,69
	90,31
	89,67
	89,56
	89,28
	89,81
	90,98

Tabla 5. Porcentaje de Si en muestra digerida con 2 g de NaOH y previa calcinación a 1000°C.

	% Si					
	IBERSIL®A-150			Hidrófoba		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
0,25 g muestra + 2 g NaOH +calcinación 1000 ° C + ajuste pH=2 con H ₂ SO ₄	95,69	95,20	95,55	98,16	98,29	98,57
	96,77	96,94	96,19	98,75	99,20	97,46
	97,75	93,71	95,39	98,85	99,14	96,33
	96,99	94,07	94,37	98,86	97,60	97,91
	96,67	94,67	94,86	98,76	95,53	97,91
	95,60	94,88	94,26	98,28	96,07	98,23
	96,97	94,61	94,38	96,87	97,17	97,43
	95,37	94,74	95,04	96,05	97,03	95,16
	96,59	95,11	95,39	95,56	97,11	96,35
	97,14	95,43	95,87	96,60	96,23	97,21

A la vista de los resultados, las condiciones óptimas de ataque en las que se obtienen valores semejantes a los obtenidos mediante FRX se encuentran en la Tabla 5.

Análisis de varianza (ANOVA)

Como herramienta para la validación del método se realizan análisis de varianza o test ANOVA. Este análisis se basa en la comprobación estadística de si dos o más grupos son estadísticamente iguales o distintos entre sí mediante un test F. El test F consiste en la verificación de la hipótesis inicial (que suele aceptar que los grupos son estadísticamente

iguales) mediante la comparación de nuestro test F con un valor crítico. Sí el test F es mayor que el valor crítico se rechaza la hipótesis inicial y viceversa.

Se realizan tanto ANOVA de un factor, ANOVA de dos factores con una muestra por grupo y ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo:

- Mediante el ANOVA de un factor se busca comprobar si los promedios de las muestras digeridas son estadísticamente iguales.
- Mediante el ANOVA de dos factores con una muestra por grupo se busca comprobar si los promedios de las medidas son estadísticamente igual, además de comprobar si los promedios entre muestras son estadísticamente iguales.
- Mediante el ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo se busca comprobar estadísticamente la interacción del promedio de las muestras y del promedio de las medidas, además de si cada promedio tanto el de las muestras como el de las medidas son estadísticamente iguales.

El estudio se realiza para las diferentes condiciones de digestión básica planteada, obteniéndose los resultados de las Tablas 6-13 para las condiciones óptimas.

Tabla 6. Porcentaje de Si en muestra de IBERSIL®A-150.

IBERSIL®A-150		
Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
95,69	95,20	95,55
96,77	96,94	96,19
97,75	93,71	95,39
96,99	94,07	94,37
96,67	94,67	94,86
95,60	94,88	94,26
96,97	94,61	94,38
95,37	94,74	95,04
96,59	95,11	95,39
97,14	95,43	95,87

Tabla 7. Análisis de varianza de un factor para muestra de IBERSIL®A-150.

Análisis de varianza de un factor (IBERSIL®A-150)

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Muestra 1	10	965,54	96,554	0,58409333
Muestra 2	10	949,36	94,936	0,75907111
Muestra 3	10	951,3	95,13	0,44008889

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	15,61112	2	7,80556	13,1314377	0,00010392	3,35413083
Dentro de los grupos	16,04928	27	0,59441778			
Total	31,6604	29				

Tabla 8. Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo para muestra de IBERSIL®A-150.

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo (IBERSIL®A-150)

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
95,69	2	190,75	95,375	0,06125
96,77	2	193,13	96,565	0,28125
97,75	2	189,1	94,55	1,4112
96,99	2	188,44	94,22	0,045
96,67	2	189,53	94,765	0,01805
95,6	2	189,14	94,57	0,1922
96,97	2	188,99	94,495	0,02645
95,37	2	189,78	94,89	0,045
96,59	2	190,5	95,25	0,0392
97,14	2	191,3	95,65	0,0968
Muestra 2	10	949,36	94,936	0,75907111
Muestra 3	10	951,3	95,13	0,44008889

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F
Filas	8,76422	9	0,97380222	4,32113873
Columnas	0,18818	1	0,18818	0,83502776
Error	2,02822	9	0,22535778	
Total	10,98062	19		

Tabla 9. Porcentaje de Si en las muestras de sílice hidrófoba comercial

RSP86		
Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
98,16	98,29	98,57
98,75	99,20	97,46
98,85	99,14	96,33
98,86	97,60	97,91
98,76	95,53	97,91
98,28	96,07	98,23
96,87	97,17	97,43
96,05	97,03	95,16
95,56	97,11	96,35
96,60	96,23	97,21

Tabla 10. Análisis de varianza de un factor para la muestra hidrófoba comercial.

Análisis de varianza de un factor (hidrófoba comercial)

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Muestra 1	10	976,74	97,674	1,62627111
Muestra 2	10	973,37	97,337	1,55206778
Muestra 3	10	972,56	97,256	1,07513778

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,98284667	2	0,49142333	0,34660352	0,71018567	3,35413083
Dentro de los grupos	38,28129	27	1,41782556			
Total	39,2641367	29				

Tabla 11. Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo para la muestra hidrófoba comercial

Análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo (hidrófoba comercial)

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
98,16	2	196,86	98,43	0,0392
98,75	2	196,66	98,33	1,5138
98,85	2	195,47	97,735	3,94805
98,86	2	195,51	97,755	0,04805
98,76	2	193,44	96,72	2,8322
98,28	2	194,3	97,15	2,3328
96,87	2	194,6	97,3	0,0338
96,05	2	192,19	96,095	1,74845
95,56	2	193,46	96,73	0,2888
96,6	2	193,44	96,72	0,4802
Muestra 2	10	973,37	97,337	1,55206778
Muestra 3	10	972,56	97,256	1,07513778

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F
Filas	10,412305	9	1,15692278	0,78687093
Columnas	0,032805	1	0,032805	0,02231203
Error	13,232545	9	1,47028278	
Total	23,677655	19		

Tabla 12. Porcentajes de Si para análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo.

IBERSIL®A-150	Muestra 1	95,69	96,77	97,75	96,99	96,67	95,6	96,97	95,37	96,59	97,14
	Muestra 2	95,2	96,94	93,71	94,07	94,67	94,88	94,61	94,74	95,11	95,43
	Muestra 3	95,55	96,19	95,39	94,37	94,86	94,26	94,38	95,04	95,39	95,87
Hidrófoba comercial	Muestra 1	98,16	98,75	98,85	98,86	98,76	98,28	96,87	96,05	95,56	96,6
	Muestra 2	98,29	99,2	99,14	97,6	95,53	96,07	97,17	97,03	97,11	96,23
	Muestra 3	98,57	97,46	96,33	97,91	97,91	98,23	97,43	95,16	96,35	97,21

Tabla 13. Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

RESUMEN											Total
<i>Muestra 1</i>											
Cuenta	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	30
Suma	286,44	289,9	286,85	285,43	286,2	284,74	285,96	285,15	287,09	288,44	2866,2
Promedio	95,48	96,633333	95,616666	95,143333	95,4	94,913333	95,32	95,05	95,696666	96,146666	95,54
Varianza	0,0637	0,1546333	4,1189333	2,5801333	1,2187	0,4497333	2,0551	0,0993	0,6181333	0,7884333	1,0917379
<i>Muestra 1</i>											
Cuenta	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	30
Suma	295,02	295,41	294,32	294,37	292,2	292,58	291,47	288,24	289,02	290,04	2922,67
Promedio	98,34	98,47	98,106666	98,123333	97,4	97,526666	97,156666	96,08	96,34	96,68	97,422333
Varianza	0,0439	0,8157	2,3884333	0,4310333	2,8033	1,5920333	0,0785333	0,8749	0,6007	0,2449	1,3539357
<i>Total</i>											
Cuenta	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
Suma	581,46	585,31	581,17	579,8	578,4	577,32	577,43	573,39	576,11	578,48	
Promedio	96,91	97,551666	96,861666	96,633333	96,4	96,22	96,238333	95,565	96,018333	96,413333	
Varianza	2,49692	1,4001366	4,4629766	3,8685866	2,8088	2,86556	1,8654566	0,70795	0,6116966	0,4986666	

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	53,1476817	1	53,1476817	48,2716789	2,2173E-08	4,08474573
Columnas	16,1384683	9	1,79316315	1,62865045	0,14006081	2,12402926
Interacción Dentro del grupo	10,7456017	9	1,19395574	1,08441697	0,3953113	2,12402926
	44,0404667	40	1,10101167			
Total	124,072218	59				

ANEXO D: Guía OECD 105

Objetivo

Las guías de trabajo OECD son una colección de aproximadamente 150 métodos de ensayo acordados internacionalmente y utilizados por gobiernos, las industrias y laboratorios independientes para identificar y caracterizar los peligros potenciales de las sustancias químicas. Son un conjunto de herramientas para profesionales, utilizadas principalmente en pruebas regulatorias de seguridad y posterior notificación química de productos químicos, registro y evaluación químicos. También se pueden utilizar para la selección y clasificación de sustancias químicas candidatas durante el desarrollo de nuevas sustancias químicas y productos y en la investigación de toxicología.

Dentro del primer grupo de guías dedicadas a la caracterización de propiedades fisicoquímicas, se encuentra la guía OECD 105 dedicada a la determinación de la solubilidad de una sustancia expresada como la concentración másica de saturación de la sustancia en agua a una temperatura determinada.

En función del valor obtenido, las sustancias se pueden clasificar como muy solubles, totalmente solubles, solubles, moderadamente solubles, ligeramente solubles, muy poco solubles o insolubles.

Según la recomendación de la guía, se calculará la concentración del material a distintos tiempos de agitación hasta alcanzar la saturación de la disolución mediante cuantificación de silicio por análisis ICP-OES.

En una primera etapa, se determina la solubilidad de una sílice precipitada amorfa hidrofílica, IBERSIL®A-150 y de una sílice hidrófoba comercial. Las condiciones del análisis son las descritas en la guía.

Metodología

Al tratarse de un gran número de muestras y tener un espacio limitado el agitador, se realiza una planificación de preparación y medición de muestra similar a la Tabla 14.

Muestra	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves
A-150 (1)							Agitar	Cuantificar
A-150 (2)						Agitar	Agitar	Cuantificar
A-150 (3)					Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar
A-150 (4)	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar			
A-150 (5)	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar		
A-150 (6)	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar	
A-150+etanol (1)							Agitar	Cuantificar
A-150+etanol (2)						Agitar	Agitar	Cuantificar
A-150+etanol (3)					Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar
A-150+etanol (4)	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar			
A-150+etanol (5)	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar		
A-150+etanol (6)	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar	
Hidrófoba (1)							Agitar	Cuantificar
Hidrófoba (2)						Agitar	Agitar	Cuantificar
Hidrófoba (3)					Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar
Hidrófoba (4)	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar			
Hidrófoba (5)	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar		
Hidrófoba (6)	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Agitar	Cuantificar	

Tabla 14. Planificación de procedimiento

	Preparación de muestra e inicio de agitación
	Mantener en agitación
	Cuantificación mediante ICP-OES

Ampliación

Una vez optimizado el proceso de digestión de muestras y desarrollado en el Anexo B, se cuantifica de nuevo el silicio, obteniéndose los resultados mostrados en la Figura 4.

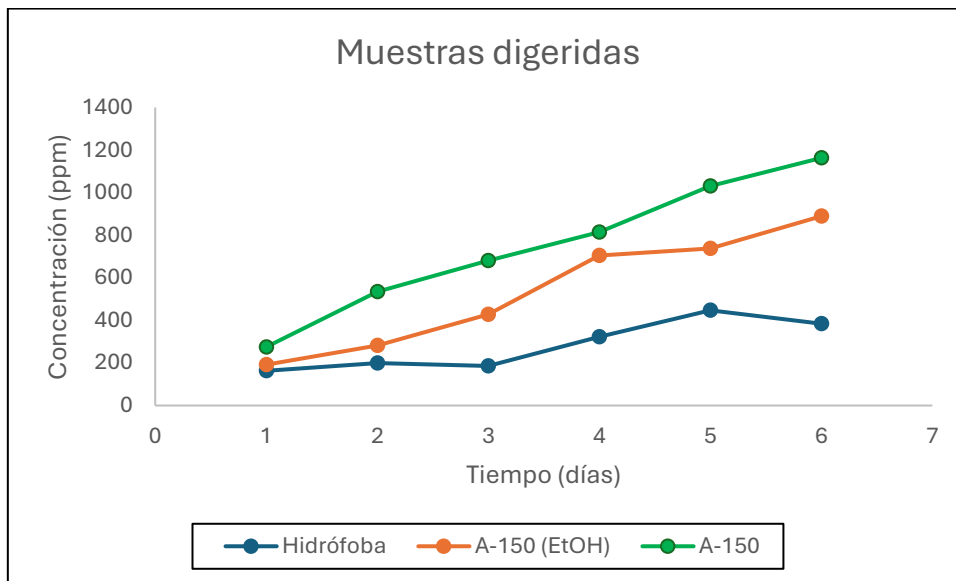


Figura 4. Distribución de la concentración según el tiempo de agitación para muestras hidrofílicas sin etanol (verde) y con etanol (naranja) e hidrófoba (azul) tras digestión básica.

Si se comparan los resultados obtenidos en las muestras hidrófobas e hidrófilas, representados en la Gráfica 3, las sílices hidrófilas presentan mayor solubilidad debido a la presencia de mayor número de grupos hidroxilo en su superficie. Sin la digestión de la muestra, estos resultados no son visibles debido a la polimerización de la muestra.

ANEXO E: Guía OCDE 318

Dentro del conjunto de Directrices de la OECD para el ensayo de productos químicos, las incluidas en la Sección 3 cubren el destino y comportamiento ambiental de los productos químicos.

La guía de trabajo 318 describe un procedimiento de prueba para obtener información sobre la estabilidad de dispersión. El procedimiento de ensayo implica una dispersión del nanomaterial con la ayuda de una etapa de sonicación y la determinación de la concentración de masa del nanomaterial en un conjunto de viales de prueba mientras las partículas experimentan homoaglomeración y sedimentación en entornos de diferente hidroquímica. El propósito de esta guía es evaluar la capacidad de un nanomaterial para alcanzar una dispersión coloidal y conservar esta dispersión bajo condiciones ambientalmente relevantes, propiedad exigida por el JRC de la Comisión Europea para la identificación y medida de los nanomateriales, en medios ambientales simulados.

Mediante el desarrollo de esta guía, se pretende diferenciar el efecto de la solubilidad, evaluado en la OCDE 105, frente a la estabilidad de las dispersiones en distintos medios acuáticos. Esto se consigue mediante la variación de distintos parámetros para simular diferentes condiciones ambientales. Los parámetros controlados son: pH, iones solubles, materia orgánica y concentración de partículas.

- El **pH** provoca variaciones en la carga superficial de las partículas mediante transporte de cargas que pueden protonar o desprotonar la superficie, además de provocar cambios de polaridad de la superficie.

Importante influencia en dispersiones electrostáticas donde por variación de pH se puede alcanzar el Punto de Carga Cero (PZC) disminuyendo la repulsión electrostática debido a valor nulo de la carga de la doble capa eléctrica, favoreciendo así la aglomeración y sedimentación.

- El método establece que el $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ es el **electrolito** más representativo para utilizar en este estudio, debido a que el ion calcio divalente (Ca^{2+}) presenta mayor efecto de agregación de las partículas en comparación con los demás cationes monovalentes y trivalentes presentes en las aguas (Mg^{2+}) y por la constante presencia de nitratos en aguas.

Concretamente se utilizan para el estudio concentraciones de 0mM ó 1mM ó 10 mM de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

- La **concentración de partículas** influirá en el número de colisiones por unidad de tiempo que existirán en la disolución y que determinarán el ritmo al que procede la aglomeración y la transferencia de fase. Se define por la guía un rango de concentración de partículas de entre 0,5 y 5×10^{12} partículas por litro.

Concretamente, la estabilidad se evalúa mediante el análisis del contenido en silicio en el sobrenadante de disoluciones simulando las diferentes condiciones ambientales hasta un tiempo establecido, clasificando la estabilidad de la dispersión según la concentración final en:

- **Baja estabilidad de dispersión:** Sí la concentración final obtenida en el sobrenadante es menor o igual a un 10% de la concentración inicial.
- **Baja/Intermedia estabilidad de dispersión:** Sí la concentración final obtenida en el sobrenadante se encuentra entre el 10% y 50% de la concentración inicial.
- **Alta/Intermedia estabilidad de dispersión:** Sí la concentración final obtenida en el sobrenadante se encuentra entre el 50% y 90% de la concentración inicial
- **Alta estabilidad de dispersión:** Si la concentración final obtenida en el sobrenadante es igual o superior al 90% de la concentración inicial.

Resultados

En las Tablas 15 y 16 aparecen los valores obtenidos de concentración de silicio, expresados en porcentaje respecto a la concentración inicial.

% Si								
pH=4			pH=7			pH=9		
Ca(NO ₃) ₂			Ca(NO ₃) ₂			Ca(NO ₃) ₂		
0 mM	1 mM	10 mM	0 mM	1 mM	10 mM	0 mM	1 mM	10 mM
100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
53,11	45,22	44,52	80,25	51,81	61,11	79,76	62,68	64,08
70,95	45,79	39,48	90,96	53,27	58,04	79,60	61,06	59,05
60,09	48,59	44,11	82,07	60,15	55,04	75,97	58,90	64,37
68,45	37,16	47,85	87,62	57,25	55,70	80,91	56,78	61,61
69,54	43,30	41,57	67,73	44,45	39,36	71,90	62,19	45,77
54,95	35,59	15,24	72,83	52,42	48,44	77,30	61,26	40,61

Tabla 15. Valores de concentración (%) para muestra de A-150

% Si								
pH=4			pH=7			pH=9		
Ca(NO ₃) ₂			Ca(NO ₃) ₂			Ca(NO ₃) ₂		
0 mM	1 mM	10 mM	0 mM	1 mM	10 mM	0 mM	1 mM	10 mM
100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
61,79	40,80		65,95	36,03	28,74	78,14	53,26	49,45
67,74	36,35	28,87	66,96	37,15	29,66	84,19	41,15	43,24
58,16	41,92	34,51	67,91	33,53	29,50	77,23	49,80	39,51
59,48	35,79	35,13	69,94	33,63	27,77	83,63	48,12	39,80
57,05	34,60	40,23	65,02	34,54	37,35	82,09	53,51	43,94
73,95	37,19	23,80	68,64	39,11	39,93	89,36	57,37	23,18

Tabla 16. Valores de concentración (%) para la muestra RSP86.