

ESTUDIO DE LA LIBERACIÓN DE PLATA EN NANOMATERIALES MEDIANTE TÉCNICAS DE ESPECTROMETRÍA ATÓMICA

**Trabajo Fin de Grado (TFG)
GRADO EN QUÍMICA
Dpto. Química Analítica
Universidad de Zaragoza, Junio 2015**

**Autor: Elena Lorén Cuenca
Director: Eduardo Bolea Morales**

*Mi más sincero agradecimiento al Dr. Eduardo Bolea Morales, director de este trabajo,
por su apoyo y dedicación durante la realización del mismo.*

*A todos los miembros del grupo GEAS (Grupo de Espectroscopía Analítica y Sensores)
por su ayuda y sus consejos durante estos meses.*

*Y al instituto IUCA (Instituto Universitario de Investigación de Ciencias Ambientales de
Aragón) por permitirme formar parte de su investigación.*

RESUMEN: ESTUDIO DE LA LIBERACIÓN DE PLATA EN NANOMATERIALES MEDIANTE TÉCNICAS DE ESPECTROMETRÍA ATÓMICA

En el presente trabajo se han realizado ensayos de liberación de plata de dos materiales microparticulados (caolín y sepiolita), recubiertos de plata metálica en forma de nanopartículas, en agua ultrapura como medio lixivante. La determinación del contenido total de plata lixiviada se ha llevado a cabo mediante espectrometría de absorción atómica electrotrémica (ETAAS). Se han estudiado las condiciones experimentales que permiten la determinación de las posibles formas de plata liberada (plata iónica, nanopartículas de plata metálica y plata asociada a micropartículas de material en suspensión). Se trabaja en ausencia de modificador de matriz y las condiciones óptimas del programa de temperaturas corresponden a una temperatura de calcinación de 400°C y una temperatura de atomización de 2200°C. La determinación de plata total en los lixiviados se ha validado comparando los resultados frente a los obtenidos mediante ataque ácido. El comportamiento de liberación de plata de estos dos micromateriales se ha estudiado frente al tiempo. En el caso del caolín la cantidad de plata liberada se mantiene constante a lo largo del tiempo, mientras que en el caso de la sepiolita aumenta durante las primeras 4 horas de ensayo. También se ha determinado el porcentaje de plata en forma de plata iónica liberada haciendo uso de ultrafiltros de 3KDa.

ABSTRACT: STUDY OF SILVER RELEASE IN NANOMATERIALS BY ATOMIC SPECTROMETRY TECHNIQUES.

In this project, the silver released from two different microparticulated materials (kaolin and sepiolite) covered with metallic silver as nanoparticles has been studied. The ultrapure water is used as leaching medium. The total content of silver's determination released has been carried out by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). Experimental conditions that allow the determination of the different silver shapes (ionic silver, metallic silver nanoparticles and silver associated to microparticles in a suspension material) have been studied. Chemical modifiers have not been used, the optimum charring temperature is 400°C and the optimum atomization temperature is 2200°C. The total silver's determination in the leaching has been validated comparing the results against those obtained by acid attack. The silver released from the two micromaterials along time has been also studied. The silver released in the kaolin keeps constant along the time, while in the sepiolite the silver increases during the first four hours. Also, the percent of ionic silver has been determined with 3KDa ultrafilters.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1.-Instrumentación y aparatos

3.2.-Materiales

3.3.-Muestras

3.4.-Reactivos y disoluciones

3.5.-Procedimiento

-Preparación de lixiviados

-Estudio de liberación frente al tiempo

-Ensayos de ultrafiltración

-Ataque con ácido concentrado

-Medidas en ETAAS

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- Estudio de las condiciones de calcinación y atomización del programa de temperatura del horno de grafito para la determinación de plata.

4.2.- Estudio de la atomización de las distintas formas de plata presentes en los lixiviados en las condiciones seleccionadas. Cuantificación de la plata total.

4.3.- Estudio de liberación de plata frente al tiempo desde distintos micromateriales objeto de estudio mediante el análisis de lixiviados.

4.4.- Proporción de plata (I) presente en los lixiviados. Variación frente al tiempo.

5. CONCLUSIONES

6. BIBLIOGRAFÍA

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo de los últimos años se ha producido un aumento considerable de la presencia de nanomateriales en diversos productos, en concreto las nanopartículas de plata han sido muy utilizadas por sus propiedades antimicrobianas y antibacterianas. Un informe de la organización del consumidor de la Unión Europea en 2012¹ muestra que más de 116 productos en el mercado Europeo contienen AgNPs. El uso y posterior eliminación de estos productos provoca un aumento de la emisión de nanopartículas de plata en el medio ambiente, lo que puede poner en riesgo diversos ecosistemas naturales.

La determinación del contenido de plata mediante espectrometría de absorción atómica electrotrémica (ETAAS) puede encontrarse en varios trabajos descritos en la bibliografía. Por ejemplo, en muestras medioambientales relativamente complejas como agua de mar² o aguas potables³. En el caso de las muestras de agua del mar debido a la complejidad de la matriz, la plata no se volatilizaba por completo en la etapa de calcinación y por ello se usaron diferentes modificadores de matriz, los cuales permiten usar unas temperaturas de calcinación más altas sin perder Ag y permitiendo una volatilización completa de la matriz.

La determinación de nanopartículas de plata mediante ETAAS ha sido descrita en la literatura. Así, en un estudio ¹ han utilizado ETAAS para la cuantificación de AgNPs en muestras ambientales de diferente complejidad: muestras de agua de río tratada y sin tratar y aguas residuales municipales. Para la separación de nanopartículas de plata iónica utilizaron EDTA.

En otro estudio⁴ llevado a cabo por F. Gagné y colaboradores, determinan Ag NPs mediante ETAAS en aguas residuales. Los ensayos se basan en la oxidación degradativa en presencia de peroxidasa y de peróxido de oxígeno. El equipo utiliza un corrector de fondo en base Zeeman para controlar las temperaturas de atomización y para el manejo de matrices complejas con altas interferencias de fondo.

En nuestro caso se va a estudiar la liberación de Ag desde diversos micromateriales que se utilizan como aditivos en alimentación animal como el caolín y la sepiolita y que han sido recubiertos con plata metálica en forma de nanopartículas. Su uso se plantea como alternativa a los antibióticos en producción animal. Para llevar a cabo estos estudios de liberación se pondrán en contacto estos materiales con un medio lixivante, para posteriormente determinar la plata liberada mediante espectrometría de absorción atómica electrotrémica (ETAAS). El estudio de liberación se realizará frente al tiempo.

Además mediante el uso de ultrafiltros se va a poder conocer la cantidad de las distintas formas de plata liberada (Ag(I) o AgNPs).

2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO

El presente trabajo se lleva a cabo dentro de la investigación realizada por el grupo GEAS (Grupo de Espectroscopía Analítica y Sensores), que se encuentra integrado en el IUCA (Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón).

El objetivo principal es el desarrollo de un procedimiento analítico para el estudio de la liberación de plata en distintos materiales que contienen Ag NPs frente al tiempo. Este objetivo general implica el desarrollo de los siguientes objetivos:

Llevar a cabo la optimización de las condiciones instrumentales de medida que permita determinar en su totalidad el contenido de plata liberada mediante espectrometría de absorción atómica electrotrémica (ETAAS).

Estudiar el efecto de las distintas formas de plata (Ag(I), Ag NPs) sobre los procesos de calcinación y atomización de las diferentes muestras estudiadas.

Determinar el porcentaje de plata iónica liberada respecto a la plata total mediante ensayos de ultrafiltración.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1.-Instrumentación y aparatos

- Espectrómetro de absorción atómica electrotérmica Perkin Elmer Model AAnalyst™ 300 equipado con atomizador electrotérmico HGA-800 y muestreador automático AS-72.
- Balanza analítica AND GH-200 con precisión de $\pm 0,1$ mg.
- Baño de ultrasonidos Ultrasons-P Selecta.
- Centrífuga de sobremesa Thermo scientific Heraeus Multifuge X1R
- Sistema de agitación rotatorio Heidolph.
- Sistema de generación de agua ultrapura MILLIPORE.
- Micropipetas Biohit (5-50 μ l, 50-200 μ l, 200-100 μ l)

3.2.-Materiales

- Vasos de precipitados
- Ultrafiltros Nanosep 3KDa Omega (Pall)
- Tubos falcón de 30 y de 50ml.

3.3.-Muestras:

Los caolines y sepiolitas son utilizados habitualmente como aditivos en alimentación animal, con el objetivo de conseguir un mayor rendimiento acortando ciclos productivos e incrementando la producción. A pesar de que los estudios sobre el efecto de nanopartículas de plata en alimentación animal son escasos, su uso ha demostrado la reducción de patógenos malignos sin afectar a poblaciones bacterianas benignas.

En el presente estudio los materiales usados son:

Micropartículas de caolín de composición igual o próxima a la del mineral caolinita ($2\text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) de tamaños entre 0,5 y 150 micras

.

Micropartículas de sepiolita, mineral absorbente perteneciente al grupo de los filosilicatos, ($\text{Mg}_4\text{Si}_6\text{O}_{15}(\text{OH})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) de elevada porosidad, con tamaños entre 0,7 y 300 micras.

Ambos materiales están recubiertos con plata metálica en forma de nanopartículas. El contenido total de plata es del 1% (m/m) de acuerdo a las especificaciones ofrecidas por el fabricante (Laboratorios Enosan, S.L.).

Por lo que se refiere a sus propiedades físico-químicas, ambas presentan una escasa actividad química debido a su baja capacidad de intercambio iónico, aunque la sepiolita presente mayor superficie específica debido a su porosidad

3.4.-Reactivos y disoluciones

- Ácido nítrico HNO_3 69,0-70,0% (m/m) (J.T.Baker)
- Agua Ultrapura (Millipore)
- Ag (I) 1000mg l^{-1} (Sigma- Aldrich, Suiza)
- Pd Merck $10,00 \pm 0,2 \text{ g l}^{-1}$ ($\text{Pd}(\text{NO}_3)_2/\text{HNO}_3$ 5%)
- Suspensión de nanopartículas de Ag, 20mg l^{-1} (nanoComposix, San Diego) (diámetro de las nanopartículas de 100 nm)

3.5.-Procedimiento

Ensayo de lixiviación de los materiales objeto de estudio

Para la preparación de las muestras se toman 500mg de la misma, diluyendo en 50ml de agua ultrapura y se deja agitando en un sistema de agitación rotatorio a una velocidad de 28rpm a temperatura ambiente, desde 10 minutos hasta 48 horas.

Una vez transcurrido el periodo de tiempo se centrifugan a 20°C , durante 20 minutos para eliminar las micropartículas de tamaño superior a 1 micra. Hay que tener en cuenta que ambos materiales tienen densidades distintas, por lo que se usarán velocidades de centrifugación diferentes: 714 y 904 rpm para el caolín y la sepiolita respectivamente. Estas rpm corresponden a velocidades calculadas para separar micropartículas con tamaño de 1 micra.

Se tomarán 4-5 ml del sobrenadante, de estos se toman 500 μl que se diluirán 1:20 en HNO_3 al 1% (v/v). Estas disoluciones se conservan en nevera a 4°C en ausencia de luz hasta su análisis. Cuando se va a realizar el análisis se toman 1 ml de estas disoluciones conservadas en la nevera y se diluirán 1:50 en HNO_3 al 1% (v/v).

Ensayos de liberación de plata frente al tiempo

Para realizar el estudio frente al tiempo se preparan dos réplicas de cada muestra por cada periodo de tiempo: a los 10 minutos, 1 hora, 4 horas, 24 horas y 48 horas. Por lo que en total vamos a tener 10 muestras preparadas en el sistema de agitación rotatorio y se van a ir retirando a los distintos periodos de tiempo. Posteriormente cada una de ellas se centrifugarán y se llevaran a cabo las diluciones comentadas anteriormente.

Se va a realizar el mismo procedimiento tanto para el caolín como para la sepiolita.

Determinación de la fracción de Ag(I) mediante ensayos de ultrafiltración

Para calcular el %Ag(I) en cada uno de los lixiviados de las muestras, se van a realizar unos ultrafiltrados. Se usan unos ultrafiltros de 3KDa, que corresponden a un tamaño de poro inferior a los 5nm (el fabricante de estos ultrafiltros establece una equivalencia de 5nm de tamaño de poro para los ultrafiltros de 50KDa).

La preparación va a ser la misma que la de la muestra. De los 4-5ml de sobrenadante, se toman 500µl para centrifugarlos en el ultrafiltro a 20°C, durante 15 minutos, con una velocidad de 9000rpm. Después se hará una dilución 1:20 en HNO₃ al 1% (v/v). Estas disoluciones se conservan en nevera a 4°C en ausencia de luz. Cuando se vayan a analizar se diluirán 1:50 en HNO₃ al 1% (v/v).

Ataque con ácido concentrado

Para realizar el ataque con ácido nítrico concentrado se toman 500µl del sobrenadante, se le añadirá 1ml de HNO₃ concentrado, se agita durante 5 minutos después se añade agua ultrapura hasta los 50ml.

Medidas de absorbancia de ETAAS

Una vez preparadas las muestras se va a medir la absorbancia de todas ellas en el espectrómetro. Para ello se van a utilizar unos cubiletes de una capacidad aproximada a un 1ml, los cuales se van a llenar con cada una de las muestras y otro se llenará con el disolvente. El propio equipo se programa automáticamente para tomar 10µl de la muestra y 10µl de disolvente (en nuestro caso HNO₃ al 1%). En la medida de cada una de las muestras el equipo realizará tres réplicas, de las cuales obtendremos la media y la desviación estándar. Para realizar el cálculo de las concentraciones se va a interpolar a una recta de calibrado que se obtiene a partir de una disolución de Ag patrón (Ag(I)) de una concentración preferentemente conocida en torno a 9µg l⁻¹.

Para realizar la recta de calibrado se va a programar automáticamente el equipo para realizar 4 puntos, uno de ellos será el blanco en el cual se tomarán 20µl de HNO₃ al 1%, en otros se van a tomar respectivamente 6, 10 y 20 µl de muestra y las cantidades correspondientes de HNO₃ al 1% hasta un total de 20µl.

El procedimiento será el mismo para la medida de todas las muestras.

Las condiciones que se van a utilizar en el equipo para la medida de las muestras se ven reflejadas en la Tabla 1. Se van a mantener constantes para todas las muestras.

Tabla 1. Programa de temperaturas del horno de grafito y condiciones de las operaciones espectrométricas.

Etapas	Temperatura(°C)	Tiempo Rampa(s)	Tiempo (s)	Flujo de Argón
Secado	150	15	20	250
Calcinación	400	10	40	250
Atomización	2200	0	5	0
Limpieza	2500	1	3	250

La plata se midió con una longitud de onda de 381,1 nm. El ancho de banda espectral era de 0,7 nm y la corriente de la lámpara de cátodo hueco de 10mA. Se emplearon tubos de grafito pirolítico con plataformas L'vov. Se empleó una lámpara de deuterio como corrector de fondo.

4.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.-Estudio de las condiciones de calcinación y atomización del programa de temperaturas del horno de grafito.

Para poder determinar el contenido de plata en los lixiviados preparados a partir de 50mg de la muestra en 50 ml de agua ultrapura, centrifugados y posteriormente diluidos 1:1000 en HNO_3 al 1%, es necesario optimizar las condiciones del equipo para la determinación tanto de plata en forma de Ag(I) como Ag NPs , ya que los lixiviados del caolín y la sepiolita van a contener plata en estas dos formas.

Según la bibliografía, las condiciones que se suelen utilizar para la determinación de plata sin modificante de matriz son^{2, 5}: temperaturas de calcinación entre 600-900°C y 2200°C como temperatura de atomización. Con el uso de modificante de matriz las temperaturas de calcinación son 100°C superiores a las usadas sin modificante, mientras que las temperaturas de atomización varían de los 1800-2500°C muy similares los 2200°C obtenidos sin modificante.

A partir de aquí se va a desarrollar un estudio para la determinación de las condiciones óptimas en nuestras muestras.

En un primer momento se utilizó Pd como modificante de matriz tal y como se recomendaba en la bibliografía. Éste estabiliza el analito permitiendo el uso de una temperatura de calcinación más elevada, para así volatilizar más rápidamente la matriz para su eliminación en la etapa de calcinación.

Durante su uso como modificante de matriz, causó bastantes interferencias a la hora de realizar las medidas: valores de blancos muy elevados, falta de reproducibilidad de las medidas, aumento de la absorbancia con el uso, posiblemente debido a un efecto memoria.

Por todo lo comentado anteriormente y debido a que la matriz utilizada en este caso es el medio lixivante (agua ultrapura), se decidió trabajar sin modificante.

Por lo tanto se hicieron los estudios de las condiciones óptimas para la determinación de plata sin modificante de matriz. Estos estudios se hicieron con disoluciones de Ag(I) , estándares de Ag NPs y también con uno de los lixiviados de los materiales que se va a estudiar.

Atendiendo a los resultados que se muestran en la Figura 1, se puede ver que tanto la Ag(I) como las Ag NPs tienen un comportamiento similar. En la curva de la Ag NPs se puede ver que la temperatura de calcinación podría mantenerse hasta los 600°C sin variación en la sensibilidad, pero un aumento en la temperatura de calcinación supone un proceso de atomización de la Ag(I) durante esta etapa, ya que pueden producir la volatilización del analito, y por lo tanto se debe de evitar. Además las etapas de calcinación con temperaturas elevadas suelen utilizarse para matrices complejas, pero en este caso se va a trabajar con matrices sencillas (lixiviados), por lo que se puede trabajar a temperaturas más bajas. Por ello se considera que la temperatura de calcinación óptima es de 400°C, puesto que en los lixiviados puede haber Ag tanto en forma de Ag(I) como en forma de Ag NPs .

En cuanto a las curvas de atomización obtenidas, y que se muestran en la figura 2, tanto la Ag(I) como las AgNPs tienen el mismo comportamiento. La temperatura de atomización óptima para ambos estados de oxidación es a partir de 2200°C, temperatura en la que se alcanza una señal estable hasta los 2500°C. Para asegurarnos de que todo el analito se va a atomizar, se decide trabajar a 2200°C.

En ambas figuras nombradas anteriormente se puede ver el comportamiento de la plata en el lixiviado procedente de uno de los materiales que se va a utilizar para el estudio, en este caso la sepiolita.

Vista a las Figuras 1 y 2 se puede ver que el comportamiento de la plata en el medio lixivante de la sepiolita se asemeja sobre todo al comportamiento de la Ag(I), obteniéndose la misma temperatura de calcinación. Por lo tanto pueden usarse como condiciones óptimas, tanto la temperatura de calcinación de 400°C y como la temperatura de atomización de 2200°C.

En la Tabla 1 aparecen las rampas de temperaturas que se van a utilizar en el horno de grafito para el análisis de las muestras.

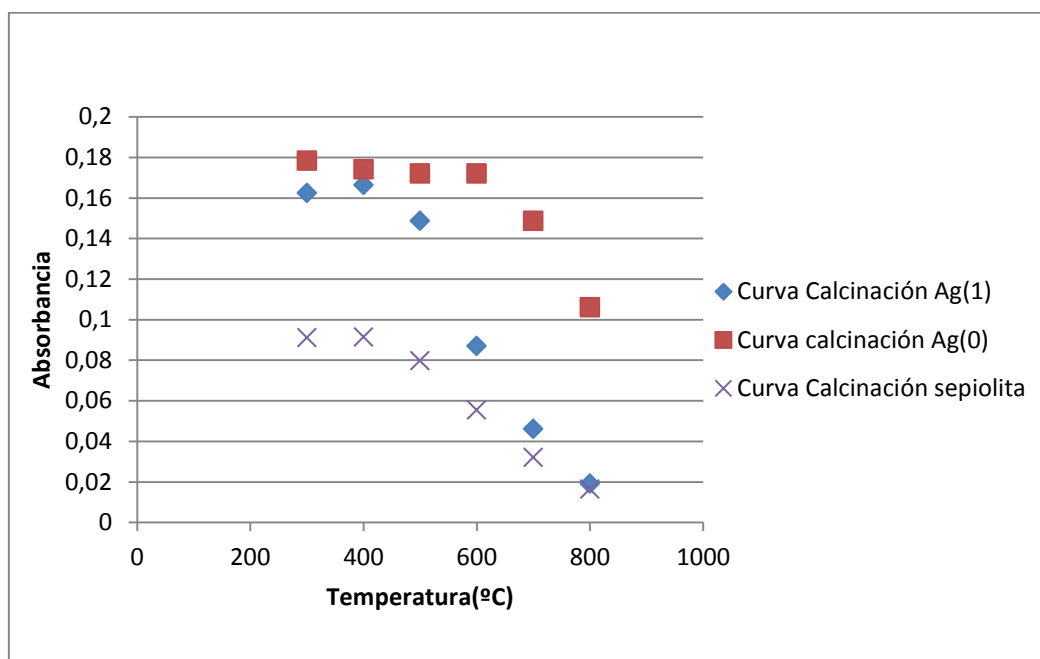


Figura 1: Curvas de calcinación. Disolución de Ag(I) de 9,16 µg/l (rombos), disolución de Ag NPs de 7,48µg/l(cuadrados) y lixiviado de sepiolita tras 24 horas (X). Temperatura de atomización 2200°C. Resto de condiciones recogidas en la Tabla 1.

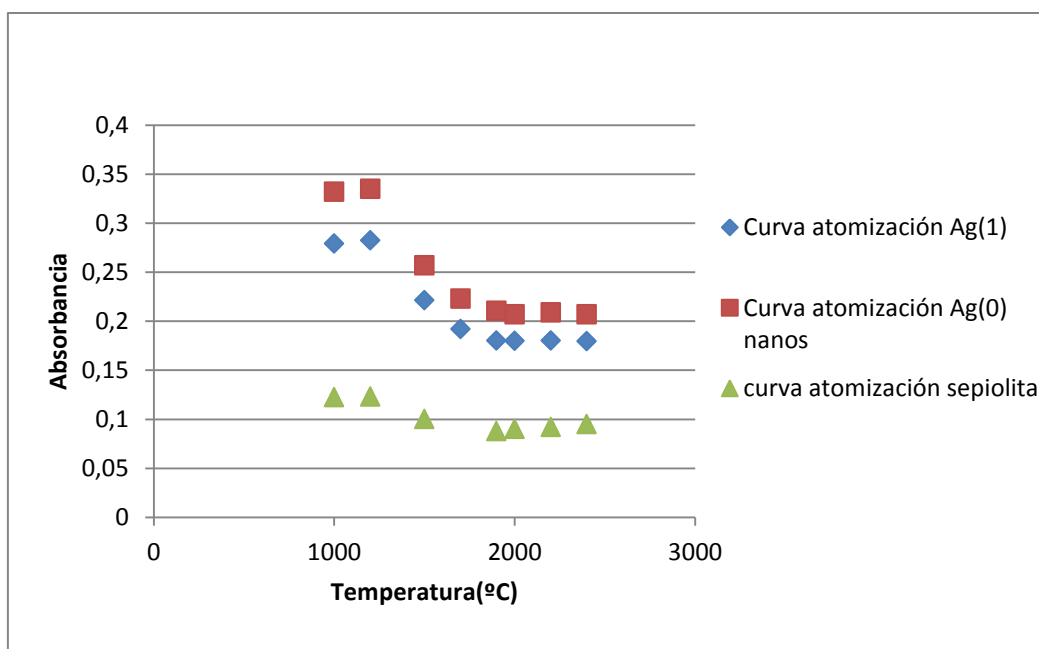


Figura 2: Curvas de atomización. Disolución de Ag(I) de 9,16µg/l (rombos), disolución de Ag NPs de 8,24µg/l (cuadrados) y lixiviado de sepiolita tras 24 horas(triángulos). Temperatura de calcinación 400°C. Resto de condiciones recogidas en la tabla 1.

4.2.- Atomización de las diferentes formas de plata presente en los lixiviados en las condiciones seleccionadas. Cuantificación de la plata total.

Para comprobar que la plata presente en los lixiviados, incluida la plata asociada a las micropartículas (diámetro inferior a 1 micra) de caolín o sepiolita que no han sido eliminados durante la centrifugación, se va a atomizar y cuantificar correctamente, se va a llevar a cabo un ataque con HNO_3 -concentrado, de forma que toda la plata presente en el lixiviado se encuentre como Ag^+ ; que posteriormente se diluirá para obtener un medio de HNO_3 al 1%.

Se va a comparar la señal correspondiente a la muestra sin atacar con la muestra atacada con ácido nítrico concentrado.

En la Tabla 2 se pueden ver los resultados obtenidos al realizar 5 réplicas en una muestra de caolín.

Se va a realizar un test de significación de las concentraciones obtenidas en las cinco réplicas para comprobar si hay diferencias significativas en el uso de un procedimiento u otro.

Tabla 2. Concentración de Ag en muestras de caolín en medio lixiviante durante 4 horas, atacadas con ácido o sin atacar. Resultado expresado como media \pm ts/raíz(N).

	Procedimiento sin atacar		Procedimiento con ataque ácido	
Muestra	Concentración(mg/l)	Masa(mg)	Concentración(mg/l)	Masa (mg)
CPC1	5,78 \pm 0,65	0,289 \pm 0,033	5,93 \pm 0,23	0,297 \pm 0,012
CPC2	5,96 \pm 0,40	0,298 \pm 0,020	6,05 \pm 0,11	0,303 \pm 0,005
CPC3	6,18 \pm 0,70	0,309 \pm 0,035	6,02 \pm 0,30	0,301 \pm 0,015
CPC4	5,21 \pm 0,35	0,261 \pm 0,017	5,48 \pm 0,36	0,274 \pm 0,018
CPC5	5,86 \pm 0,63	0,293 \pm 0,031	5,59 \pm 0,11	0,279 \pm 0,006
Media	5,80	0,29	5,51	0,291
Desviación estándar	0,361	0,018	0,261	0,013

Primero se va a realizar un test F para comparar si existen diferencias significativas en las desviaciones estándar:

$$F \text{ calculado} = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{0,361^2}{0,261^2} = 1,91$$

F tabulado = 5,05

F calculado < F tabulado, por lo tanto no existen diferencias significativas de las desviaciones estándar de cada uno de los procedimientos, es decir no hay evidencias de diferencias en el error aleatorio.

Una vez realizado el test F, se va a realizar un test t para averiguar si existen diferencias entre los dos procedimientos. El valor de t tabulado va a ser para dos colas, ya que en este caso estamos comparando si hay diferencias entre dos medias, en el caso de que se estuviera estudiando si una de ellas es mayor o que una de ellas fuera menor sería un contraste unilateral por lo que se utilizaría el test tabulado para una cola. Las fórmulas utilizadas para la realización de este test t se recogen a continuación (ecuaciones 1 y 2):

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{sp \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}}$$

(Eq.1)

$$\text{donde } sp = \sqrt{\frac{(N_1-1)s_1^2 + (N_2-1)s_2^2}{N_1 + N_2 - 2}} \quad (\text{Eq.2})$$

Realizando los cálculos correspondientes se obtiene:

t calculado =0,090

t tabulado=2,776

t calculado < t tabulado, por lo que no van a existir diferencias significativas entre las concentraciones de Ag determinadas y obtenidas por ambos procedimientos.

Por lo tanto se concluye que el uso HNO₃ al 1% permite llevar a cabo la determinación de la plata total en los lixiviados, independientemente de la forma en que se encuentre.

El mismo estudio se realizó con el otro material, utilizando en este caso dos réplicas. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 3. En esta ocasión se obtuvieron valores ligeramente superiores con el procedimiento mediante ataque ácido, pero no puede establecerse una diferencia significativa entre ellos.

Tabla 3. Concentraciones y masas de dos réplicas de una muestra de sepiolita en medio lixivante durante 4 horas atacadas y sin atacar con ácido nítrico concentrado. Resultado expresado como media \pm ts/raíz(N).

	Procedimiento sin atacar		Procedimiento con ataque ácido	
Muestra	Concentración(mg/l)	Masa (mg)	Concentración(mg/l)	Masa(mg)
Sepiolita1	4,96 \pm 0,42	0,248 \pm 0,021	6,17 \pm 0,76	0,308 \pm 0,038
Sepiolita2	4,91 \pm 0,60	0,245 \pm 0,030	5,52 \pm 0,38	0,276 \pm 0,019
Media	4,93	0,247	5,85	0,292
Desviación estándar	0,035	0,002	0,460	0,023

4.3.- Estudio de liberación de plata frente al tiempo desde los dos materiales objeto de estudio

Se va a realizar un estudio de la liberación de plata frente al tiempo en el medio lixivante con ambos materiales, con el fin de establecer su comportamiento en cuanto a su capacidad de liberar plata, ya que éste está relacionado con su capacidad biocida y antimicrobiana. Los resultados obtenidos para el caolín se muestran en la Tabla 4.

En la figura 3 se han representado los valores de la concentración frente al tiempo de forma que sea más sencillo evaluar los resultados. En esta figura puede verse que el caolín se comporta prácticamente igual desde los 10 minutos hasta las 48 horas, liberando desde los primeros minutos una cantidad de plata que se mantiene constante a lo largo del tiempo.

Tabla 4. Concentraciones y masas de una muestra de caolín en un medio lixiviante durante diferentes periodos de tiempo. Resultado expresado como media \pm ts/raíz(N).

Tiempo	Concentración(mg/l)1	Concentración(mg/l)2	Masa(mg)1	Masa(mg)2
10 min	4,39 \pm 0	4,68 \pm 0,20	0,22 \pm 0	0,234 \pm 0,010
1h	4,66 \pm 0,29	5,25 \pm 0,20	0,233 \pm 0,014	0,262 \pm 0,010
4h	4,25 \pm 0,77	4,97 \pm 0,27	0,213 \pm 0,039	0,257 \pm 0,010
24h	5,15 \pm 0,21	5,74 \pm 0,30	0,257 \pm 0,010	0,287 \pm 0,010
48 h	4,72 \pm 0,72	5,17 \pm 0,98	0,236 \pm 0,036	0,259 \pm 0,049

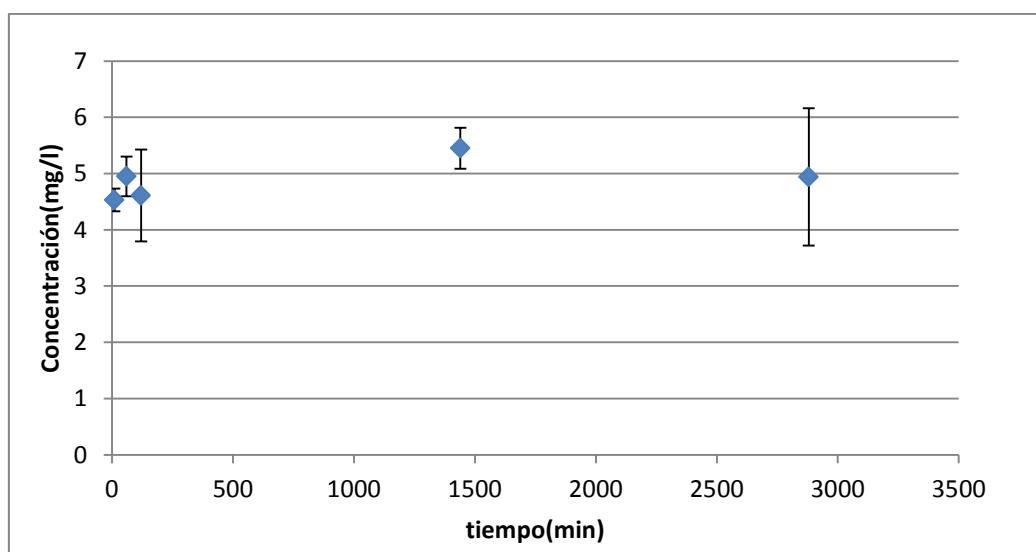


Figura 3. Representación de las concentraciones de caolín frente a los diferentes tiempos en los que han permanecido en el medio lixiviante.

También se va a realizar el estudio de la sepiolita frente al tiempo. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.

En la Figura 4 se puede ver una pequeña variación de la concentración hasta el tiempo de 4 horas, y a partir de las 4 horas la concentración de Ag liberada al medio se mantiene prácticamente constante. Por lo que se puede concluir que si se quiere conocer la cantidad de Ag liberada por la sepiolita en un medio lixiviante se podría tomar cualquier tiempo a partir de las 4 horas.

Tabla 5. Concentraciones y masas de una muestra de sepiolita en un medio lixiviante durante diferentes periodos de tiempo. Resultado expresado como media \pm ts/raíz(N).

Tiempo	Concentración(mg/l)A	Concentración(mg/l)B	Masa(mg)A	Masa(mg)B
10 min	3,27 \pm 0,60	3,33 \pm 0,546	0,163 \pm 0,029	0,167 \pm 0,056
1h	4,14 \pm 0,23	(anómalo)	0,207 \pm 0,012	(anómalo)
4h	4,59 \pm 0,59	4,85 \pm 0,22	0,230 \pm 0,029	0,243 \pm 0,011
24h	4,30 \pm 0,090	5,22 \pm 0,35	0,215 \pm 0,004	0,262 \pm 0,017
48 h	5,31 \pm 0,90	5,69 \pm 0,13	0,265 \pm 0,045	0,284 \pm 0,007

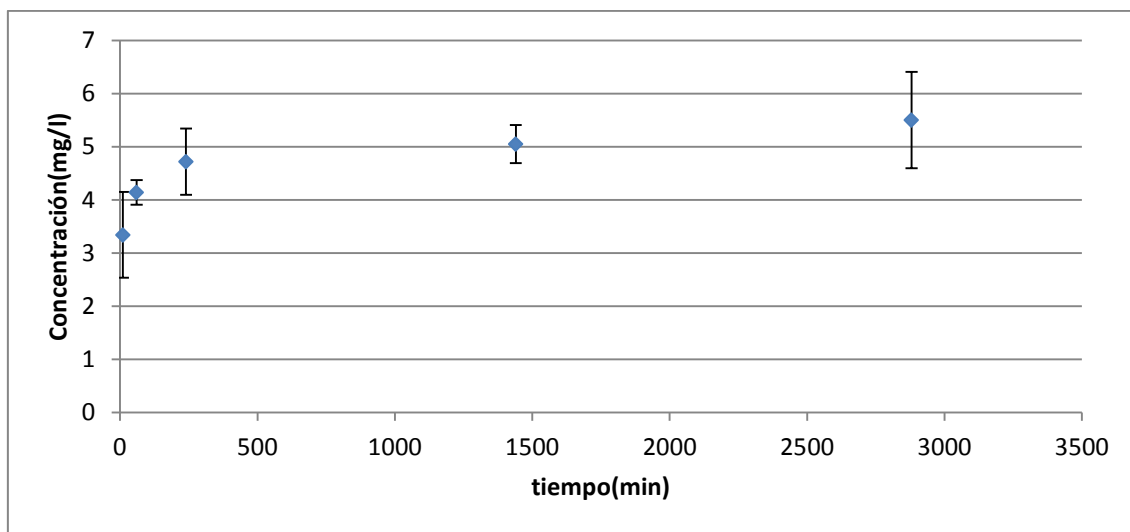


Figura 4. Representación de las concentraciones de la sepiolita frente a los diferentes tiempos en los que han permanecido en el medio lixivante.

4.4.- Proporción de plata (I) presente en los lixiviados. Variación frente al tiempo.

Anteriormente se ha obtenido la cantidad de Ag total liberada, pero se quiere calcular el porcentaje de Ag(I). Para ello se van a realizar unos ultrafiltrados para que las AgNPs y las micropartículas del material (caolín o sepiolita) queden retenidas y así se pueda determinar la cantidad de Ag(I) que ha pasado a través de ellos. El estudio se va a realizar con dos réplicas a los 10 minutos y a las 24 horas.

Los resultados del estudio de caolín para la determinación del % Ag(I) se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Concentraciones y masas de las muestras de caolín total y en los ultrafiltros junto con el % de Ag(I). Resultado expresado como media \pm ts/raíz(N).

	Total		ULTRAFILTRADOS		
tiempo	Concentración(mg/l)	Masa(mg)	Concentración(mg/l)	Masa(mg)	%Ag(I)
10min1	4,39 \pm 0,01	0,22 \pm 0,01	3,33 \pm 0,55	0,167 \pm 0,027	75,9
10min2	4,68 \pm 0,20	0,234 \pm 0,010	3,47 \pm 0,29	0,174 \pm 0,014	74,1
24 h 1	5,15 \pm 0,21	0,257 \pm 0,010	3,69 \pm 0,27	0,184 \pm 0,014	71,7
24 h 2	5,74 \pm 0,30	0,287 \pm 0,010	3,78 \pm 0,077	0,189 \pm 0,004	65,8

El % de Ag obtenido en el caso del caolín (media \pm s):

A los 10 minutos: **75,0 \pm 1 %**

A las 24 horas: **69 \pm 4 %**

Por lo que la cantidad de AgNPs liberada no va a variar a lo largo del tiempo, (alrededor del 30% de la plata total liberada como máximo), ni se producen aparentemente procesos oxidativos con el tiempo.

Los resultados del cálculo del %Ag(I) a los 10 minutos y a las 24 horas para la sepiolita, realizados de la misma manera que en el caso del caolín se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Concentraciones y masas de las muestras de sepiolita total y en los ultrafiltros junto con el % de Ag(I). Resultado expresado como media \pm ts/raíz(N).

	Total		ULTRAFILTRADOS		
Tiempo	Concentración(mg/l)	Masa(mg)	Concentración(mg/l)	Masa(mg)	%Ag(I)
10min1	3,84 \pm 0,47	0,192 \pm 0,023	2,83 \pm 0,21	0,142 \pm 0,010	73,7
10 min2	4,13 \pm 0,51	0,207 \pm 0,025	3,16 \pm 0,31	0,158 \pm 0,016	76,5
24 h 1	4,30 \pm 0,089	0,215 \pm 0,004	2,71 \pm 0,37	0,135 \pm 0,019	62,9
24 h 2	4,99 \pm 0,27	0,249 \pm 0,013	3,53 \pm 0,18	0,176 \pm 0,008	70,5

El % de Ag obtenido en el caso de la sepiolita (media \pm s):

A los 10 minutos: **75 \pm 2%**

A las 24 horas: **67 \pm 5%**

Por lo que la cantidad de Ag NPs liberada no va a variar a lo largo del tiempo.

CONCLUSIONES

Se han estudiado las condiciones óptimas para la determinación de Ag total mediante ETAAS, en disoluciones de Ag(I), suspensiones de Ag NPs y lixiviados de los micromateriales objeto de estudio, en las que puede haber distintas formas de plata. Se ha trabajado sin modificante de matriz. Las condiciones correspondientes a trabajar a una temperatura de calcinación de 400°C y una temperatura de atomización de 2200°C, permiten llevar a cabo la determinación de la plata independientemente de su forma, siempre en el caso de matrices sencillas.

El procedimiento utilizado para llevar a cabo la lixiviación y posterior dilución de las muestras con uso de HNO₃ al 1% permite la determinación del contenido total de Ag mediante ETAAS. Los resultados obtenidos han sido validados frente a la determinación de plata total en los lixiviados utilizando ataque ácido.

Se han observado diferencias en el comportamiento de liberación de plata frente al tiempo para los dos materiales estudiados. Mientras que la cantidad de plata liberada por el caolín en el medio lixivante se mantiene constante desde el inicio del ensayo (a partir de los 10 minutos), en el caso de la sepiolita hay un incremento significativo durante las primeras 4 horas, tiempo a partir del cual no hay diferencias significativas en la cantidad liberada.

Respecto a las formas de plata liberadas, en ambos materiales se ha observado el mismo comportamiento. En torno a un 70% (hay una ligera variación frente al tiempo) corresponde a Ag(I), siendo el 30% restante AgNPs o plata asociada a partículas del material que queda en suspensión. Se requieren más estudios para establecer la naturaleza de esta fracción y explicar el comportamiento observado.

BIBLIOGRAFÍA

1. G. Hartmann, C. Hutterer, M. Schuster, *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, 28, 567-572.
2. P. B-Barrera, J. M-Piñeiro, A. M-Piñeiro, A. B-Barrera. *Talanta*. **1996**, 43,35-44.
3. J.C. Latino, D.C. Sears, F. Portala, I. L. Shuttler, *Atomic Spectroscopy*. **1995**, 16, 121-126.
4. F. Gagné, P. Turcotte, C. Gagnon, *Anal Bioanal Chem.* **2012**, 404, 2067–2072
5. I. L. García, N. Campillo, I. A. Jerez, M. H. Córdoba. *Spectrochimica Acta Part B*. **2003**, 58, 1715-1721.