



**Universidad**  
Zaragoza

## Trabajo Fin de Grado

Análisis de arcillas, modificadas con nanopartículas de cobre, por técnicas de espectrometría atómica

Analysis of clays, modified with copper nanoparticles, by atomic spectrometry techniques

Autor

Alberto Herrero Muñoz

Director

José María Mir Marín

FACULTAD DE CIENCIAS, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

2017

## ÍNDICE

|  |               |
|--|---------------|
| <b>Resumen / Summary</b>                                   | <b>pág.3</b>  |
| <b>1.- Introducción</b>                                    | <b>pág.5</b>  |
| - <b>Nanomateriales</b>                                    | <b>pág.5</b>  |
| - <b>Nanopartículas de cobre</b>                           | <b>pág.6</b>  |
| - <b>Arcillas</b>  | <b>pág.6</b>  |
| - <b>Sepiolita</b>   | <b>pág.7</b>  |
| - <b>Espectroscopía de absorción atómica de llama</b>      | <b>pág.8</b>  |
| - <b>Método analítico</b>                                  | <b>pág.9</b>  |
| - <b>Métodos de disolución</b>                             | <b>pág.10</b> |
| <b>2.- Objetivos</b>                                       | <b>pág.11</b> |
| <b>3.- Experimental</b>                                    | <b>pág.12</b> |
| - <b>Instrumentación, aparatos, materiales y reactivos</b> | <b>pág.12</b> |
| - <b>Parámetros instrumentales y analíticos</b>            | <b>pág.13</b> |
| - <b>Incertidumbre</b>                                     | <b>pág.15</b> |
| - <b>Influencia de efectos matriz</b>                      | <b>pág.17</b> |
| - <b>Disolución en agua vs disolución en ácido</b>         | <b>pág.20</b> |
| - <b>Disgregación</b>                                      | <b>pág.24</b> |
| - <b>Comparación de resultados</b>                         | <b>pág.25</b> |
| <b>4.- Conclusiones</b>                                    | <b>pág.28</b> |
| <b>5.- Bibliografía</b>                                    | <b>pág.29</b> |

## Resumen

Los nanomateriales actualmente son foco de muchas investigaciones, ya que poseen propiedades muy peculiares con aplicaciones variadas que no suelen suponer un coste económico elevado. A menudo se utilizan arcillas como soporte de nanopartículas metálicas. La estructura estable y rígida de las arcillas protege a las nanopartículas de la atmósfera y facilita su manipulación. En este trabajo determinaremos la concentración de cobre de dos muestras de sepiolita, un filosilicato, que han sido modificadas con nanopartículas de cobre de forma artificial.

La determinación del contenido de cobre será realizada mediante espectroscopía de absorción atómica de llama (FAAS). Elaboraremos un estudio de los diversos parámetros instrumentales y analíticos y compararemos los distintos métodos de calibración; calibración normal y adición estándar, usando una prueba de significación. También comentaremos las fuentes de incertidumbre en nuestro proceso analítico y explicaremos la forma de cuantificarlas.

Las muestras de sepiolita tienen una estructura interna de sílice ordenada y estable, por lo que su disolución no es un asunto trivial. Realizaremos un estudio comparativo de las disoluciones de muestra con agua, ataque con ácido nítrico y un tratamiento de disgregación en horno microondas usando una combinación de ácidos. Observaremos cómo evoluciona la capacidad de disolución en función del tiempo y compararemos los resultados con la concentración de cobre total, obtenida realizando el tratamiento de disgregación.

## Summary

Nanomaterials are currently the focus of many investigations, due to their peculiar properties with varied applications that don't entail high economic cost. Clay materials are often used to support metallic nanoparticles. The rigid and stable structure of clay is able to protect the nanoparticles from the atmosphere and eases their manipulation. In this project we will determine the copper concentration of two samples of sepiolite, a phyllosilicate, which have been modified with copper nanoparticles artificially.

The determination of copper content will be accomplished using flame atomic absorption spectroscopy (FAAS). We will make a study of the diverse instrumental and analytical parameters and compare the different calibration methods; normal calibration and standard addition, using a significance test. We will also discuss the uncertainty sources in our analytical process and explain how to quantify them.

The sepiolite samples have a silicate inner structure organized and stable, so its dissolution is not a trivial matter. We will elaborate a comparative study of our sample solutions with water, a nitric acid attack and a break-up treatment in microwave oven using a combination of acids. We will observe the evolution of the dissolving power dependent on time and compare its results to the total copper concentration, obtained via the break-up treatment.

# Análisis de arcillas modificadas con nanopartículas de cobre por técnicas de espectrometría atómica

## 1. Introducción

- Nanomateriales

En la Comunicación de la Comisión Europea se define como nanomaterial<sup>1</sup>:

“Un material natural, secundario o fabricado que contenga partículas, sueltas o formando un agregado o aglomerado y en el que el 50 % o más de las partículas en la granulometría numérica presente una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 nm y 100 nm. En casos específicos y cuando se justifique por preocupaciones de medio ambiente, salud, seguridad o competitividad, el umbral de la granulometría numérica del 50 % puede sustituirse por un umbral comprendido entre el 1 % y el 50 %”.

La Organización Internacional de Normalización, ISO, define nanoescala como el rango de tamaños entre 1 y 100 nanómetros y nanomaterial como cualquier material con al menos una dimensión dentro de la nanoescala (nano-objeto) o con una estructura interna o superficie dentro de la nanoescala (material nanoestructurado)<sup>2</sup>.

Las nanopartículas son partículas de un tamaño inferior a 100 nanómetros y, por tanto, tienen una superficie específica muy elevada. Las propiedades de los nanomateriales son diferentes de las del material no nanoparticulado de la misma composición. Las nanopartículas suelen tener propiedades ópticas peculiares (cambios de color, brillo metálico) y sus aplicaciones son muy variadas (medicina, electrónica, construcción). Las propiedades de las nanopartículas pueden ser alteradas con facilidad cambiando su tamaño, forma y entorno químico<sup>3</sup>.

Los nanomateriales preparados a partir de metales abundantes y baratos han atraído una atención considerable dado su potencial como alternativas viables a los catalizadores de metales nobles, más escasos y caros, usados en muchos procesos químicos comerciales convencionales. En nuestro caso nos interesan las nanopartículas de cobre (CuNPs), que en este contexto destacan ya que el cobre es abundante, barato y es relativamente fácil preparar nanomateriales basados en cobre de múltiples maneras<sup>4</sup>.

- Nanopartículas de cobre

En las nanopartículas de cobre destaca su alta actividad catalítica (debido a su gran superficie disponible), actividad fungicida y antibacterial. Son altamente inflamables y tóxicas para la vida acuática.

Respecto a sus aplicaciones, las nanopartículas de cobre ya se utilizaban en la antigüedad (siglo IX, Mesopotamia), para dar color a cerámicas y cristal<sup>5</sup>. En la actualidad sus aplicaciones son muy diversas:

- Actividad antibiótica, anti microbiana y fungicida al ser añadidas a plásticos, recubrimientos y textiles.
- Suplementos dietéticos
- Aleaciones y metales resistentes
- Protección electromagnética
- Disipadores de calor
- Catálisis de reacciones químicas
- Aditivo en sinterizado
- Tintas y pastas conductoras (impresión electrónica)
- Componentes electrónicos miniaturizados
- Aditivos de lubricantes nanometálicos

Las nanopartículas de cobre también pueden obtenerse en forma de óxido de cobre (CuO), cuyas propiedades biocidas y antimicrobianas recientemente han generado interés en su investigación debido a las posibles aplicaciones biomédicas. No obstante su potencial toxicidad, debida a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), en células animales es la principal desventaja a superar en este campo. Otras aplicaciones de las CuONPs son baterías, sensores de gases, fluidos termoconductores y energía solar<sup>6,7</sup>.

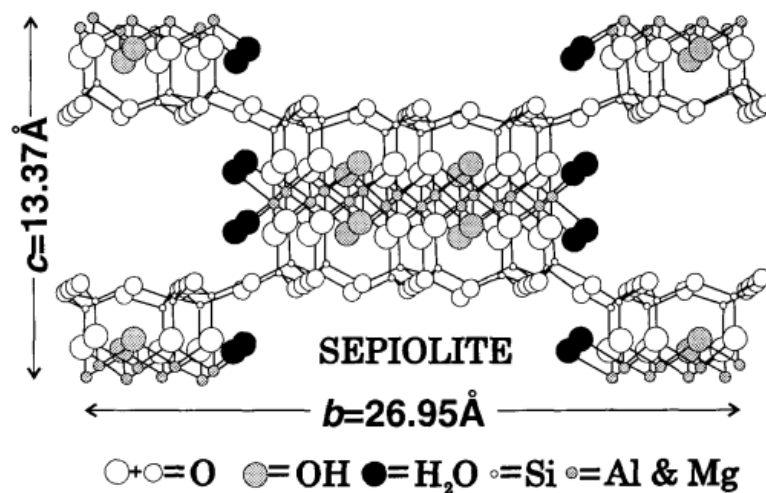
- Arcillas

Una arcilla es una roca sedimentaria (de grano fino), compuesta por agregados de silicatos de aluminio hidratados (minerales de arcilla) con trazas de óxidos metálicos y materia orgánica.

Los minerales de arcilla tienen una estructura laminar de tetraedros de SiO<sub>4</sub> unidos por sus vértices formando una red hexagonal. Aluminio y hierro pueden reemplazar al silicio en la estructura parcialmente. En ocasiones puede formarse una lámina paralela compuesta por octaedros coordinados generalmente por cationes de aluminio, magnesio y hierro; no obstante, infrecuentemente, se pueden encontrar átomos de cobre coordinando estos octaedros<sup>8</sup>.

- Sepiolita

Nuestra muestra a analizar en este trabajo es un mineral de arcilla llamado sepiolita. La sepiolita es un filosilicato de magnesio hidratado fibroso de fórmula química  $Mg_4Si_6O_{15}(OH)_2 \cdot 6H_2O$ <sup>9</sup>. Al igual que el resto de silicatos, presenta una capa continua de tetraedros de sílice expandida espacialmente en dos dimensiones, pero su capa octaédrica es discontinua ya que cada dos o tres cadenas dobles de capa tetraédrica se produce una inversión de los tetraedros en torno al enlace Silicio - Oxígeno - Silicio, dando lugar así a la existencia de huecos o canales de  $3.7 \times 10.6 \text{ \AA}$  que atraviesan la estructura. La capa octaédrica se estabiliza por coordinación de los oxígenos laterales con protones, agua zeolítica y, en menor medida, cationes intercambiables.



**Figura 1:** Estructura interna de una sepiolita

La sepiolita muestra un hábito fibroso, con fibras de longitud de entre  $100 \text{ \AA}$  y  $5 \mu\text{m}$  atravesadas de forma paralela por los canales. La presencia de microporos y canales es la causante de la elevada superficie específica de las sepiolitas estimada entre  $400$  y  $500 \text{ m}^2/\text{g}$ .

La sepiolita contiene 3 sitios activos de sorción; los átomos de oxígeno de la capa tetraédrica, las moléculas de agua coordinadas con iones magnesio externos y los grupos SiOH de los bordes de las capas. Dentro de los microporos y canales se encuentran moléculas de agua unidas débilmente a la estructura por puentes de hidrógeno, denominadas como agua zeolítica<sup>10, 11, 12</sup>.

El uso de arcillas como soporte de nanopartículas es algo habitual dentro del campo de los nanomateriales. La matriz silicatada proporciona una mayor resistencia a atmósfera oxidante, además de facilitar la manipulación del nanomaterial y reducir el riesgo para la salud por exposición al mismo. Un grupo de silicatos que es usado habitualmente como soporte de nanopartículas son las zeolitas, dada su elevada superficie específica y capacidad de intercambio iónico. No obstante las sepiolitas, que tienen una

capacidad de intercambio iónico menor, poseen la mayor superficie específica de todos los filosilicatos y por tanto puede ser un buen soporte.

En el caso de las nanopartículas de cobre, el uso de sepiolita como soporte aumenta considerablemente su eficiencia como biocida, ya que el cobre se dispersa homogéneamente en la amplia superficie específica de la matriz, evitando las aglomeraciones y maximizando su superficie de contacto<sup>13</sup>.

- Espectroscopía de absorción atómica de llama

La espectroscopía de absorción atómica es una técnica óptica analítica instrumental basada en la absorción de luz ultravioleta-visible por parte de átomos o iones elementales libres en estado gaseoso que han sido formados por un proceso denominado atomización. En la espectroscopía de absorción atómica de llama, la técnica empleada en este trabajo, la disolución de muestra se nebuliza ante un flujo mezcla de gases oxidante y combustible que es transportado a una llama, donde se produce la atomización. La llama debe de tener un flujo laminar y ser suficientemente energética como para atomizar rápidamente la muestra, pero no demasiado para evitar la ionización térmica.

La detección y cuantificación de la muestra se producen al emitir desde una lámpara luz a una longitud de onda específica a la que absorben los átomos del analito y estableciendo una relación entre la concentración de éste y la radiación absorbida.

La lámpara de cátodo hueco usada como fuente de radiación contiene en el cátodo el elemento analito con una pureza espectral elevada. Al hacer pasar una corriente eléctrica a través del analito éste se excita y emite radiación a la longitud de onda característica, evitando así la absorción por parte de otros elementos.

El sistema de detección está compuesto por un monocromador, que dispersa la luz que llega a él y deja pasar sólo la que tiene la longitud de onda de interés, y un detector, que generalmente es un tubo fotomultiplicador, genera una corriente eléctrica en función de la intensidad de la luz que llega hasta él. La señal eléctrica entonces es procesada por la parte electrónica del instrumento.

Los métodos de absorción atómica son muy específicos, ya que las líneas de absorción atómica son muy estrechas y las energías de transición electrónicas son únicas para cada elemento<sup>14, 15</sup>.



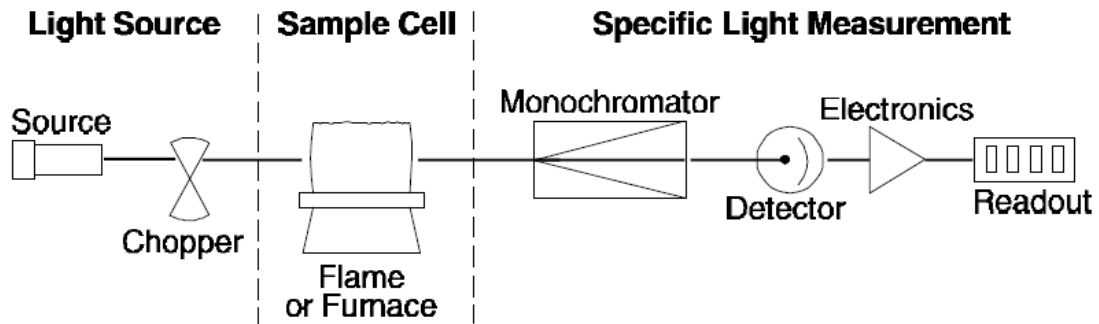


Figura 2: Esquema de las partes de un espectrómetro de absorción atómica

- Método analítico

El cobre es uno de los elementos más fáciles de determinar por absorción atómica de llama; puede ser atomizado con facilidad y prácticamente no tiene interferencias en llama de aire-acetileno, independientemente de la estequiometría de la llama y de la corriente de la lámpara.

El cobre tiene varias líneas de resonancia adecuadas para su determinación:

| Wavelength (nm) | Energy level (K) | Slit width (nm) | $\beta_0^*$ (mg/L) | $m_0^\S$ (pg) | Spectral interferences   |
|-----------------|------------------|-----------------|--------------------|---------------|--|
| 324.75          | 0-30784          | 0.7             | 0.03               | 4(8)          | Pd [6245]<br>Eu [1852, 4991, 5524]<br>Ni, Pd <sup>+</sup> [5973] |
| 327.40          | 0-30535          | 0.7             | 0.07               | 12(15)        | Ag, Rh <sup>+</sup> [5973]                                       |
| 216.51          | 0-46173          | 0.2             | 0.2                | (60)          | Fe, Pb, Pt <sup>+</sup> [5973]                                   |
| 222.57          | 0-44916          | 0.2             | 0.5                | (120)         |  |
| 249.22          | 0-40114          | 0.7             | 2.4                | (420)         |  |
| 202.44          | 0-49383          | 0.2             | 5.8                |               |  |
| 244.16          | 0-40944          | 0.7             | 10                 | (2200)        |  |

\* Characteristic concentration, air-acetylene flame, oxidizing

§ Characteristic mass, longitudinally-heated atomizer, platform atomization at 2300 °C, without (with) Zeeman-effect BC [1075]

+ Interference with deuterium BC possible

Figura 3: Líneas de resonancia del cobre.

Se puede ver que la línea correspondiente a la longitud de onda de 324,75 nanómetros es la que tiene una mayor sensibilidad (menor concentración característica) y, por tanto, es la línea más apropiada si la concentración de cobre es baja.

Las disoluciones de cobre deben de mantenerse a un pH inferior a 1,5, usando preferiblemente ácido nítrico. A pHs superiores se pueden dar pérdidas en la absorbancia por disminución de la concentración debida a la precipitación de hidróxido de cobre<sup>14</sup>.

- Métodos de disolución

Uno de los temas más importantes en este trabajo es la disolución de la muestra. Las arcillas son materiales con estructuras muy variadas y que pueden responder de formas distintas a los métodos de disolución. Generalmente, para la determinación de metales en arcillas se recomienda emplear ácido clorhídrico o ácido nítrico a elevada temperatura<sup>15</sup>; pero estos tratamientos no son capaces de disolver en su totalidad las capas de sílice que componen la muestra<sup>16</sup>, por lo que para comprobar si hay presencia de cobre en las capas más inaccesibles deberemos realizar una disgregación total de la arcilla. De acuerdo a la bibliografía consultada<sup>10</sup> el óxido de cobre no se encuentra en cantidad apreciable en las sepiolitas, de modo que no cabría esperar encontrar cobre natural en nuestra muestra. De cualquier modo, si existiese óxido de cobre no nanoparticulado en nuestra muestra éste sería determinado también tras el tratamiento de disgregación.

|                                | SEPIOLITA          |          |                       |                       |
|--------------------------------|--------------------|----------|-----------------------|-----------------------|
|                                | Nevada<br>(EE.UU.) | Tanzania | Vicálvaro<br>(Madrid) | Valdemoro<br>(Madrid) |
| SiO <sub>2</sub>               | 61.00              | 19.00    | 62.00                 | 60.00                 |
| Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 3.90               | 0.66     | 1.12                  | 3.47                  |
| MgO                            | 20.10              | 18.20    | 24.70                 | 22.00                 |
| CaO                            | 1.50               | 23.00    | 0.33                  | 1.06                  |
| Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 1.00               | 0.52     | 0.34                  | 1.09                  |
| Na <sub>2</sub> O              | 0.90               | 0.58     | 0.15                  | 0.34                  |
| K <sub>2</sub> O               | 0.90               | 0.32     | 0.35                  | 1.00                  |
| PPC                            | 10.30              | 36.06    | 10.78                 | 10.89                 |

**Figura 4:** Proporción de óxidos en sepiolitas de distintos orígenes

## **2. Objetivos**

El objetivo principal es determinar cuantitativamente la concentración de cobre en dos muestras distintas de sepiolitas modificadas, denominadas como 674 y 675.

Para ello utilizaremos la técnica de espectroscopía de absorción atómica de llama; lo que requerirá una evaluación de los parámetros instrumentales, analíticos y del método de calibración.

Dado que las muestras a tratar son sólidas necesitaremos disolverlas para poder medirlas con esta técnica. Así, realizaremos un estudio de los distintos métodos de disolución para comprobar cual ofrece los mejores resultados con la mayor eficiencia; un tratamiento en frío con agua, un ataque con ácido nítrico en caliente y un tratamiento a alta temperatura en horno de microondas con ataque de varios ácidos distintos.

### 3. Experimental

- Instrumentación, aparatos, materiales y reactivos

Instrumentos:

- Espectrómetro de absorción atómica de llama Perkin Elmer Aanalyst 200 con lámpara de cátodo hueco de cobre de Perkin Elmer.
- Medidor de pH: pHmeter Basic 20 Crison
- Balanza analítica A&D GH-200

Aparatos:

- Placa calefactora
- Horno de microondas CEM Mars Xpress

Material:

- Matraces aforados de 25, 50 y 100 mL
- Pipetas de 1, 2 y 5 mL
- Pipeta graduada de 10 mL
- Vasos de precipitados
- Agitador magnético
- Tubos de teflón

Reactivos:

- Patrón primario de cobre de pureza del 99.833%
- Agua desionizada
- Ácido nítrico 69%
- Ácido clorhídrico 35%
- Ácido fluorhídrico 45%

- Parámetros instrumentales y analíticos

Antes de poder comenzar a medir muestras debemos establecer los parámetros instrumentales de nuestro espectrofotómetro:

- Longitud de onda: 324.8
- Anchura de rendija: 0.7
- Llama: Aire – Acetileno (proporción 10 / 2.5)

Estos parámetros son los predeterminados del instrumento y, lógicamente, los recomendados por el fabricante.

Ahora debemos preparar una serie de disoluciones patrón de cobre de concentración creciente para obtener la función de calibración a partir de la cual podremos obtener los parámetros analíticos: límite de detección, límite de cuantificación, sensibilidad y rango lineal.

- Preparación de disoluciones:

Las disoluciones de calibrado las preparamos a partir del patrón primario de cobre: Disolvemos alrededor de 0.1 gramos de patrón a alta temperatura con ácido nítrico, y enrasamos en un matraz de 100 mL. Obtenemos así una disolución madre de en torno a 1000 ppm. Tomamos 10 mL de ella y enrasamos en otro matraz de 100 mL. A partir de esta disolución de 100 ppm tomamos alícuotas de distintos volúmenes que llevaremos a matraces de 100 mL. Así tenemos una serie de disoluciones de calibrado cuyo rango de concentraciones cobre y supera el rango lineal indicado por el fabricante (0 – 5 ppm).

Realizamos las medidas (Anexo 1) y obtenemos la siguiente función de calibrado:

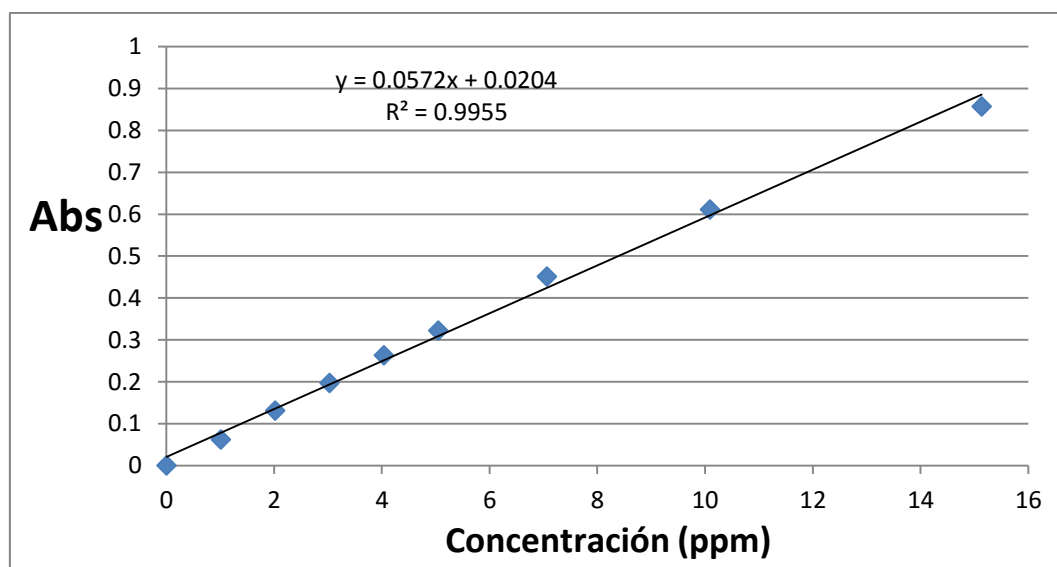


Figura 5: Recta de calibrado realizada para evaluar el rango lineal

Se puede apreciar como los puntos se ajustan fielmente a una recta, pero en los puntos finales la relación absorbancia/concentración pierde su linealidad, haciéndose menor. Existen varias razones que pueden explicar este hecho, como la luz parásita o el ensanchamiento de la línea espectral. Para evitar posibles errores debidos a este efecto debemos determinar el rango lineal y ceñir nuestras futuras medidas a las concentraciones comprendidas en el<sup>15</sup>.

De acuerdo a la bibliografía consultada<sup>17</sup> podemos emplear diferentes criterios de evaluación del rango lineal, pero nosotros emplearemos el de comparación de pendientes porque es con el que obtenemos el rango lineal más pequeño y, por tanto, de mayor fiabilidad. Consiste en comparar las pendientes obtenidas al hacer una recta con los tres primeros puntos con las obtenidas al realizar la recta con los tres últimos puntos. Cuando la diferencia entre las pendientes no supera el 10% podemos considerar que el último punto se encuentra dentro del rango lineal:

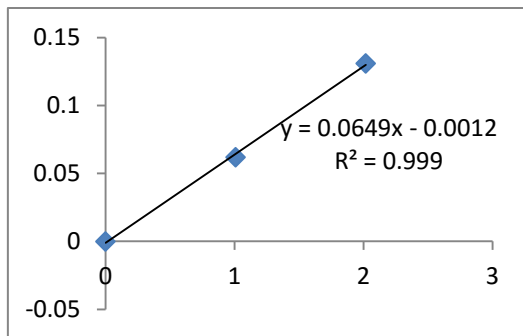


Figura 6: Pendiente formada por los 3 primeros puntos

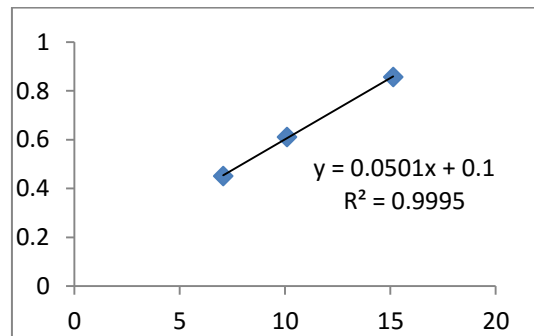


Figura 7: Pendiente formada por los 3 últimos puntos

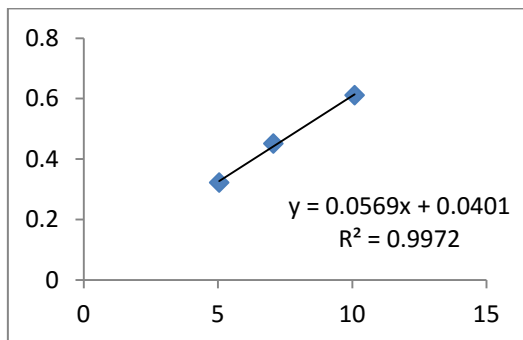


Figura 8: Pendiente eliminando el último punto

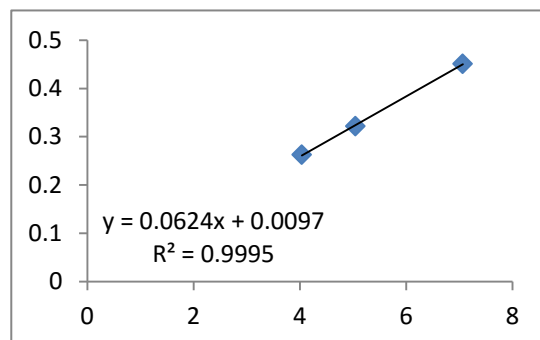


Figura 9: Pendiente eliminando los dos últimos puntos

$0.0649/0.0501 = 1.30 > 1.1 \rightarrow$  Eliminamos el punto correspondiente a 15 ppm

$0.0649/0.0569 = 1.14 > 1.1 \rightarrow$  Eliminamos el punto correspondiente a 10 ppm

$0.0649/0.0624 = 1.01 < 1.1 \rightarrow$  Aceptamos 7 ppm como perteneciente al rango lineal

Así, obtenemos que el rango lineal llega hasta 7 ppm como mínimo.

Tras realizar de forma análoga nuevas rectas de calibrado con una mayor resolución en la zona de concentraciones de interés llegamos a la conclusión de que el rango lineal es de 0 – 8 ppm.

A partir de la desviación estándar del blanco, que es 0.0004, obtenemos:

- Límite de detección =  $3 \cdot s_b = 0.0012$  ppm
- Límite de cuantificación =  $10 \cdot s_b = 0.0040$  ppm

También podemos cuantificar la sensibilidad del método expresándola como concentración característica, que se define como la concentración de analito capaz de absorber un 1% de la radiación incidente, lo que equivale a presentar una absorbancia de 0.0044. Nuestra recta de calibrado con los puntos que quedan fuera del rango lineal eliminados tiene la siguiente ecuación:

$$y = 0.0640x + 0.0006$$

Para un valor de y de 0.0044 obtenemos una concentración característica de 0.0594 mg/L.

| Parámetro                        | Valor      |
|----------------------------------|------------|
| Rango lineal                     | 0 - 8 ppm  |
| C. característica (sensibilidad) | 0.0594 ppm |
| Lím. Detección                   | 0.0012 ppm |
| Lím. Cuantificación              | 0.0040 ppm |

**Tabla 1:** Parámetros analíticos generales

- Incertidumbre

Cuando medimos la absorbancia de una disolución repetidas veces obtenemos valores ligeramente distintos entre sí, debido a las variables no controladas inherentes a todo proceso de medida. Cuantificamos esta fuente de incertidumbre calculando su desviación estándar:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

Donde  $\bar{x}$  es la media de los valores de absorbancia obtenidos,  $x_i$  cada valor individual y  $n$  el número de medidas tomadas.

Otra fuente de incertidumbre muy importante en este trabajo es la asociada a la interpolación en la recta de calibrado. Los puntos con los que hemos construido las rectas de calibrado no están exentos de errores aleatorios, por lo que el resultado que obtenemos al interpolar en la recta estará condicionado por las incertidumbres de dichos puntos. En la calibración normal el resultado se obtiene a partir de la interpolación de un solo valor de absorbancia, mientras que en adición estándar es una contribución de los valores de todos los puntos de la recta. Esta diferencia implica que la forma de calcular la incertidumbre sea distinta para ambos métodos:

El primer paso general es calcular la estimación de los errores en el eje  $y$ ,  $s_{y/x}$ :

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

Donde  $y_i - \hat{y}_i$  es la diferencia entre el valor de absorbancia medido experimentalmente y el obtenido por interpolación en la recta. Esta diferencia es denominada residual- $y$ .  $n$  es el número de puntos que tiene la recta.

En calibración normal calculamos la desviación estándar correspondiente a la concentración,  $s_{x_0}$  con la siguiente fórmula aproximada:

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

Donde  $b$  es la pendiente de la recta de calibrado,  $y_0$  es la absorbancia de la disolución de muestra,  $x_i$  los valores de concentración de los puntos de la recta y  $\bar{x}$  e  $\bar{y}$  las medias de los valores de concentración y absorbancia, respectivamente, de los puntos de la recta.

Para calcular la incertidumbre de la interpolación en adición estándar usamos un método algebraico que expresa la desviación estándar como una suma de las desviaciones estándar de la pendiente ( $b$ ) y la ordenada en el origen ( $m$ )<sup>18</sup>.

La desviación estándar de la pendiente viene dada por la siguiente fórmula:

$$s_b = \frac{s_{x/y}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

La desviación estándar de la ordenada se calcula con la siguiente fórmula:

$$s_m = s_{x/y} \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n * \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$



Según la ley de propagación de errores la desviación estándar de la concentración,  $s_c$ , será:

$$\left(\frac{s_c}{c_x}\right)^2 = \left(\frac{s_b}{b}\right)^2 + \left(\frac{s_m}{m}\right)^2 \rightarrow s_c = \sqrt{c_x^2 \left( \left(\frac{s_b}{b}\right)^2 + \left(\frac{s_m}{m}\right)^2 \right)}$$

Las desviaciones estándar de la medida y de interpolación son las más influyentes en este trabajo, pero también hay que tener en cuenta la incertidumbre debida al material de medida (pipeta, matraces) y a la balanza de pesada. Las desviaciones estándar aproximadas de estos materiales vienen indicadas por el fabricante.

Una vez han sido calculadas todas estas desviaciones estándar tenemos que sumarlas de acuerdo a la ley de propagación de errores, convirtiéndolas en desviaciones estándar relativas y sumando sus cuadrados:

$$DER_{total}^2 = DER_1^2 + DER_2^2 + DER_3^2 \dots$$

- Influencia de efectos matriz

El siguiente asunto a tratar es la existencia de efectos matriz en nuestra muestra. Para ello debemos comparar los dos métodos de calibración, calibración normal y adición estándar. Preparamos una nueva recta de calibración normal y dos de adición estándar; una para cada tipo de muestra.

- Preparación de disoluciones:

Pesamos alrededor de 0.045 gramos de cada arcilla y las disolvemos en ácido nítrico mientras calentamos. Enrasamos en matraces de 25 mL, y de esta disolución tomamos alícuotas de 4 mL que llevaremos a matraces de 100 mL a los cuales añadimos las alícuotas correspondientes de patrón de 100 ppm para preparar las disoluciones de nuestras rectas de adición estándar (Anexo 2).

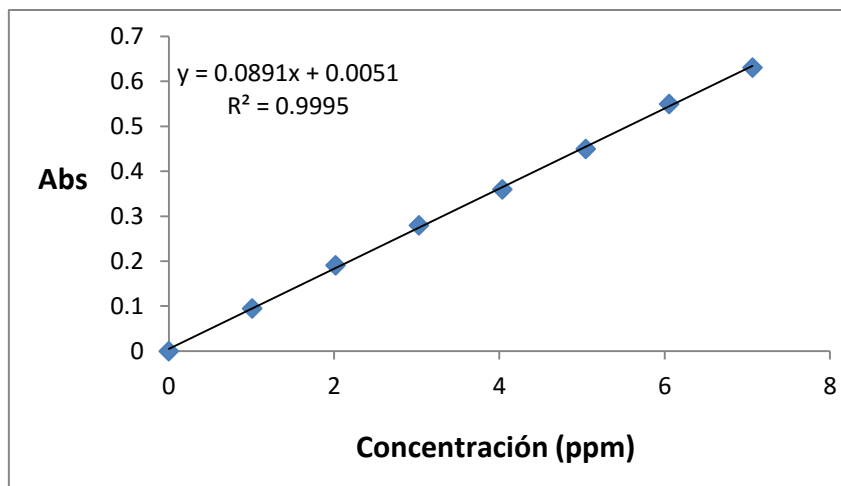


Figura 10: Recta de calibración normal

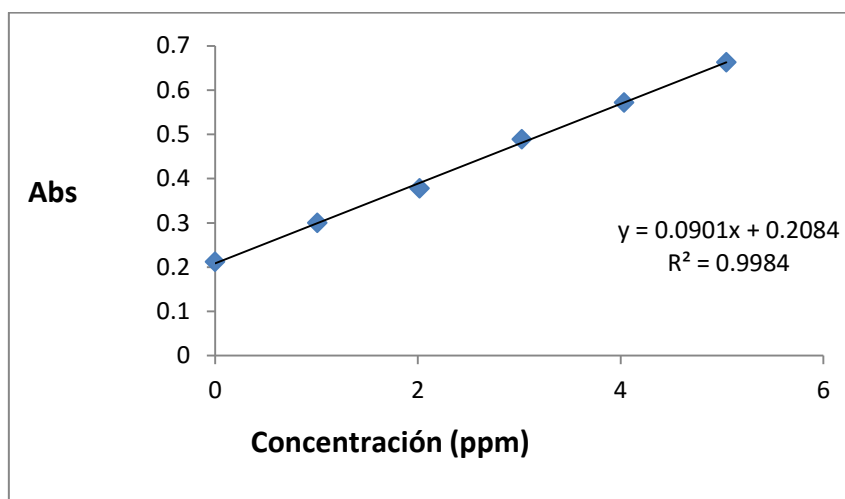


Figura 11: Recta de adición estándar muestra 675

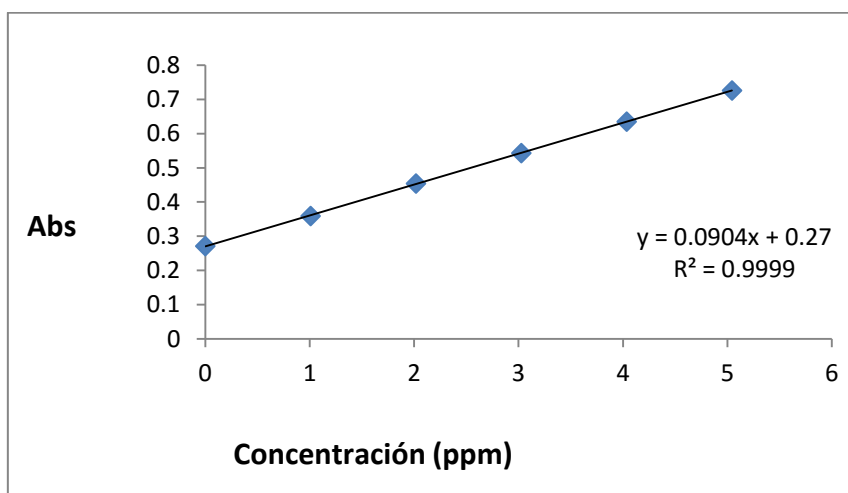


Figura 12: Recta de adición estándar muestra 674

Con estas rectas de calibrado podemos obtener la concentración de las disoluciones de muestra medidas. Estas concentraciones tendrán una incertidumbre asociada, que es una combinación de los distintos fenómenos capaces de generar errores en el proceso.

Expresamos nuestros resultados como media  $\pm$  desviación estándar:

| Muestra | Calibración  | Concentración (ppm) |
|---------|--------------|---------------------|
| 675     | Normal       | 2.34 $\pm$ 0.0829   |
|         | Ad. Estándar | 2.32 $\pm$ 0.0897   |
| 674     | Normal       | 2.98 $\pm$ 0.0910   |
|         | Ad. Estándar | 2.99 $\pm$ 0.0613   |

**Tabla 2:** Concentraciones de las disoluciones de medida según el método de calibración empleado

Aunque parece que se obtienen los mismos resultados en los dos tipos de calibración, vamos a realizar un test t de significación para verificar que no hay diferencias significativas entre los dos métodos:

Establecemos como hipótesis nula que con los dos métodos proporcionan el mismo resultado:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

A partir de las medias ( $\bar{x}_i$ ), desviaciones estándar ( $s_i$ ) y número de réplicas ( $n_i$ ) de cada método obtenemos el parámetro estadístico experimental t:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Donde s es:

$$s = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

Los grados de libertad de t son:  $n_1 + n_2 - 2 = 10 + 10 - 2 = 18$

Así obtenemos para las dos muestras:

$$675: t_{exp} = 0.0442$$

$$674: t_{exp} = 0.0171$$

Tomando un intervalo de confianza del 95% y 18 grados de libertad, tenemos el estadístico  $t$  teórico:  $t_{teórico} = 2.1$

Dado que los valores de  $t$  experimentales son menores que el valor absoluto del  $t$  teórico podemos aceptar la hipótesis nula y establecer que para ambas muestras no hay diferencias significativas entre los dos métodos de calibración<sup>17</sup>.

De ahora en adelante usaremos principalmente el método de calibración normal, simplemente porque requiere una cantidad de muestra menor para realizar las medidas y una sola recta de calibrado sirve para las dos muestras.

- Disolución en agua vs disolución en ácido

En lo respectivo al análisis de cobre en muestras de arcilla, el método de disolución más recomendado generalmente es la disolución con ácido nítrico calentando a una temperatura elevada<sup>15</sup>.

En la sepiolita, el ataque con ácido provoca la disolución de los cationes de coordinación de la capa de sílice octaédrica, concretamente Mg, Fe y Al. Cuando tratamos nuestra muestra con ácido clorhídrico vemos como la disolución se torna de color amarillo. Esto se debe a la presencia de  $FeCl_3$ , evidencia de que nuestra muestra contiene Fe(III) y el ácido consigue disolverlo.

La disolución de los cationes de coordinación conlleva la pérdida de las capas octaédricas de la sepiolita. La sílice que componía dicha capa no puede ser disuelta por el ácido, por lo que pasa a formar nuevas capas tetraédricas de estructura amorfa. Esta remodelación estructural implica un aumento en la superficie específica de la arcilla, gracias a la formación de nuevos mesoporos o incremento del tamaño de los ya existentes. Las nuevas capas tetraédricas amorfas junto a las capas tetraédricas nativas actúan como una barrera de difusión, dificultando el paso a través de ella tanto de protones como de cationes de coordinación y consecuentemente la velocidad de la reacción se va reduciendo progresivamente conforme avanza el ataque ácido<sup>19</sup>,<sup>20</sup>. Conociendo este hecho, planteamos realizar un estudio del avance de la reacción con respecto al tiempo.

Por otro lado vamos a intentar disolver nuestra sepiolita con agua a temperatura ambiente. El agua no debería ser capaz de disolver los cationes de coordinación de forma significativa, mucho menos la red de sílice; sin embargo sí que puede liberar grupos OH<sup>-</sup> pertenecientes a los grupos silanol al filo de la estructura mediante una reacción de hidrólisis, que en consecuencia aumenta el pH del medio, y producir cambios en las moléculas de agua unidas a los cationes Mg de coordinación (aguas de coordinación) y en las aguas zeolíticas<sup>21</sup>. En general podríamos decir que el tratamiento con agua genera cambios a nivel superficial.

- Preparación de disoluciones:

Preparamos nuestras disoluciones pesando alrededor de 0.06 gramos de muestra y realizando el tratamiento de disolución correspondiente. Enrasamos en matraces de 25 mL. Estas disoluciones se dejan en reposo un número determinado de días, entonces se preparan las disoluciones de medida de la siguiente forma:

- Tratadas con ácido: Alícuota de 4 mL en matraz de 100 mL
- Muestra 675 tratada con agua: Alícuota de 10 mL en matraz de 50 mL
- Muestra 674 tratada con agua: Los 25 mL en matraz de 50 mL

La razón por la que hemos preparado las disoluciones de medida de distintas maneras es para que la concentración se encuentre en un punto del rango lineal lo más intermedio posible y reducir errores tanto en la medida como en la interpolación en la recta de calibrado.

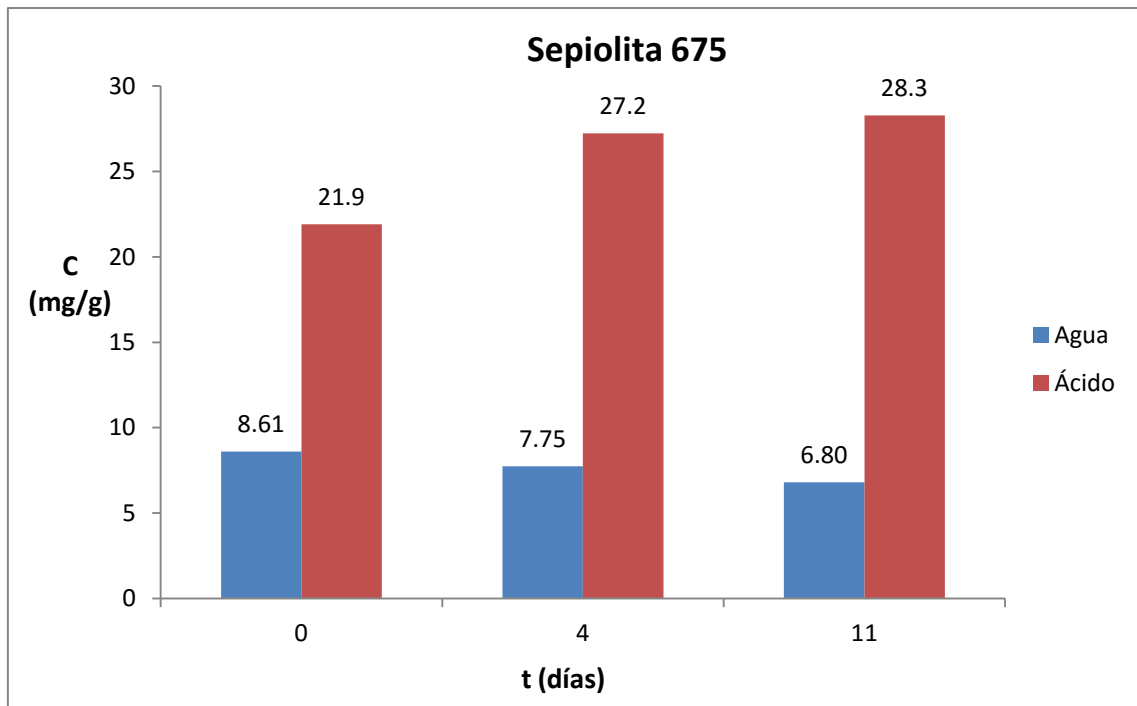
Obtenemos los siguientes resultados en nuestro estudio en función del tiempo (Anexo 3):

| Agua    | t (días) | 0             | 4            | 11            |
|---------|----------|---------------|--------------|---------------|
| Muestra | Sep. 675 | 8.61 ± 0.240  | 7.75 ± 0.266 | 6.80 ± 0.170  |
|         | Sep. 674 | 1.94 ± 0.0924 | 1.93 ± 0.110 | 1.94 ± 0.0683 |

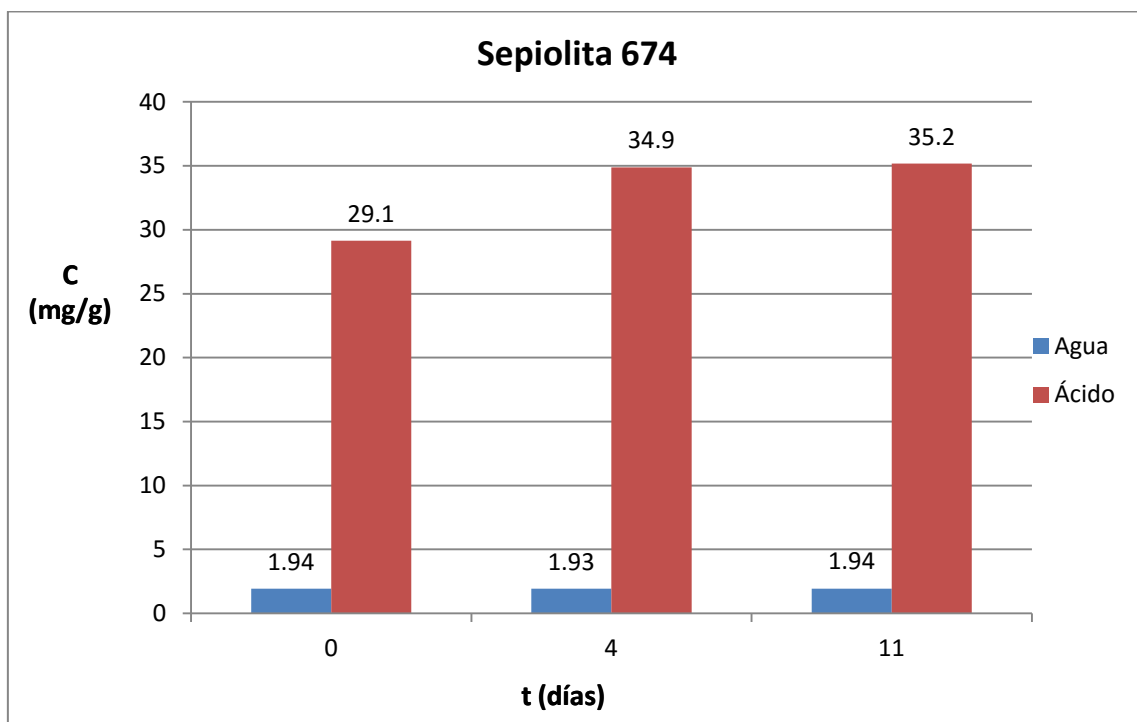
**Tabla 3:** Concentración de Cu disuelta en agua en función del tiempo. Resultados expresados como mg(Cu)/g(arcilla) ± desviación estándar

| Ácido   | t (días) | 0           | 4           | 11           |
|---------|----------|-------------|-------------|--------------|
| Muestra | Sep. 675 | 21.9 ± 2.50 | 27.2 ± 2.91 | 28.3 ± 0.861 |
|         | Sep. 674 | 29.1 ± 2.80 | 34.9 ± 2.84 | 35.2 ± 0.791 |

**Tabla 4:** Concentración de Cu disuelta en ácido en función del tiempo. Resultados expresados como mg(Cu)/g(arcilla) ± desviación estándar



**Figura 13:** Comparación del Cu disuelto en la muestra 675 usando tratamiento con agua y con ácido



**Figura 14:** Comparación del Cu disuelto en la muestra 674 usando tratamiento con agua y con ácido

Como era de esperar el tratamiento con ácido nítrico solubiliza una cantidad de cobre superior a la obtenida usando sólo agua. Se puede apreciar con claridad también que el paso del tiempo es un factor a tener en cuenta a la hora de disolver con ácido, debido a la barrera de difusión mencionada anteriormente. No obstante hay que tener

en cuenta que, de acuerdo a la bibliografía consultada<sup>19</sup>, la cinética de la disolución de la sepiolita en ácido es dependiente tanto de la temperatura como de la concentración de ácido.

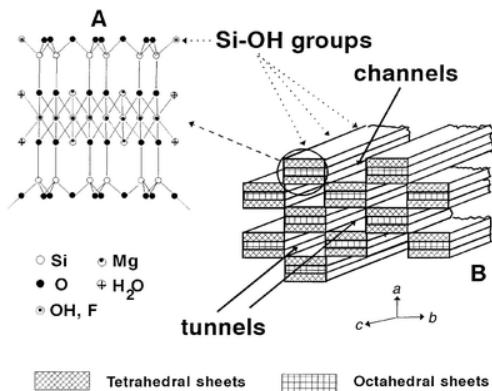
Con respecto a la capacidad de disolución de cationes Mg octaédricos, la influencia de la temperatura en la constante cinética puede ser calculada con la ecuación de Arrhenius:  $k = Ae^{-Ea/RT}$ . La velocidad de disolución incrementa de forma lineal al aumentar la concentración de ácido usada, es decir, la reacción es de primer orden con respecto a la concentración de ácido. Sabiendo esto, podemos asumir que es bastante posible que realizando un tratamiento térmico intenso y prolongado usando un ácido nítrico de concentración más elevada se podría reducir drásticamente el tiempo que le cuesta a la reacción alcanzar su máxima eficacia.

Por otro lado, con el paso del tiempo la concentración de cobre se va reduciendo en la sepiolita 675 disuelta en agua. La explicación más lógica de este hecho es que la disolución se encuentra a un pH en el que el cobre tiende a precipitar en forma de CuOH, originando así la pérdida de cobre disuelto. Al disolver 0.05 gramos de sepiolita 675 en 25 mL de agua desionizada a un pH de 5.83 observamos que el pH asciende rápidamente a 6.76, indicándonos que se está produciendo la liberación de grupos OH<sup>-</sup> mencionada previamente.

En la muestra 674 la concentración de cobre disuelto en agua es bastante inferior, a pesar de que en la disolución con nítrico se obtienen valores mayores de concentración que en la otra muestra. No se produce ningún cambio de pH en la disolución y la concentración de cobre se mantiene constante respecto al tiempo.

Las distintas capas de sílice de la estructura de la sepiolita están unidas entre sí mediante la secuencia de enlaces: Silicio – Oxígeno – Silicio. Cuando una capa no tiene otra capa adyacente con un átomo de silicio al que unirse, el átomo de oxígeno se encuentra unido a un hidrógeno formando el grupo llamado silanol<sup>22</sup>.

Hemos comentado ya que la sepiolita 675 al ser disuelta en agua libera grupos hidroxilo pertenecientes a dichos grupos silanol, mientras que este fenómeno no ocurre de forma apreciable en la 674. Basándonos en estos hechos podemos razonar que la sepiolita 675 tiene una estructura con capas menos interconectadas entre sí que la 674, lo que permite una mayor accesibilidad por parte del agua a sus centros de sorción superficiales de nanopartículas de cobre.



**Figura 15:** Disposición de las capas de sílice.

- Disgregación

Como ya se ha comentado previamente, la disolución con ácido nítrico no consigue disolver completamente las capas de sílice de la arcilla, dejándonos con la incertidumbre de la posible existencia de más cobre en la muestra. Tenemos que disolver la muestra por completo para despejar la duda. Para ello vamos a realizar un tratamiento que combina la acción de varios ácidos distintos con calentamiento a alta temperatura en un horno de microondas<sup>23</sup>. Uno de los ácidos usados es el ácido fluorhídrico, característico en este tipo de tratamientos dada su capacidad de ataque a fases silicatadas para formar tetrafluoruro de silicio. Los otros dos ácidos usados son nítrico y clorhídrico, ácidos fuertes que actúan como catalizadores en el ataque del fluorhídrico<sup>24</sup>.

- Preparación de disoluciones:

Pesamos unos 0.05 gramos de muestra y añadimos 3.5 ml de ácido clorhídrico, 0.75 ml de ácido nítrico y 1.5 ml de ácido fluorhídrico en un tubo de teflón. Sometemos la mezcla a un tratamiento térmico en horno de microondas a 1600 W y 800 psi. Comienza con una rampa de temperatura de 10 minutos hasta alcanzar los 190°C y se mantiene a esa temperatura otros 10 minutos. Tras 15 minutos de enfriamiento añadimos ácido bórico para eliminar el exceso de ácido fluorhídrico y poder trasvasar la disolución a un matraz de vidrio de 100 mL en el que enrasamos con agua destilada.

La combinación de los 3 ácidos junto al tratamiento térmico intenso es capaz de disolver por completo la estructura de sílice. No se puede apreciar visualmente ninguna cantidad de sólido en nuestra disolución.

Para este caso vamos a preparar también rectas de calibración por adición estándar, ya que no sabemos si este método de disolución puede tener efectos matriz. Preparamos las disoluciones de medida tomando una alícuota de 10 mL de la disolución de muestra y enrasando en matraz de 50 mL.

Los resultados obtenidos para ambas muestras por los dos métodos son (Anexo 4):

|                             | <b>675 normal</b> | <b>675 ad. est.</b> | <b>674 normal</b> | <b>674 ad. est.</b> |
|-----------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|---------------------|
| <b>Concentracion (mg/g)</b> | 28.5 ± 1.19       | 30.0 ± 0.458        | 34.4 ± 1.21       | 34.0 ± 0.984        |

**Tabla 5:** Concentraciones de Cu obtenidas por el tratamiento de disgregación. Resultados expresados como mg(Cu)/g(arcilla) ± desviación estándar



Realizamos un test t para comprobar que los resultados de adición estándar y calibración normal no difieren significativamente:

$$675: t_{exp} = 0.744$$

$$674: t_{exp} = 0.162$$

Ambos  $t$  experimentales son inferiores al  $t$  teórico ( $t_{teórico} = 2.1$ ) por lo que no hay efectos matriz en este método de disolución.

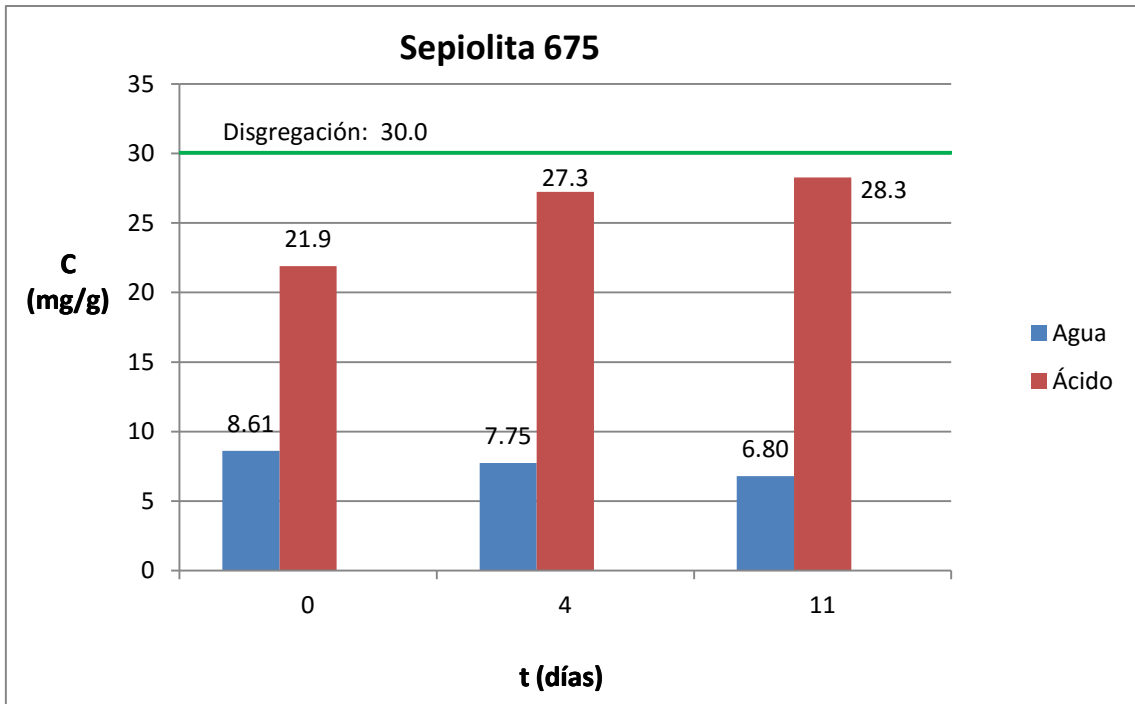
- Comparación de resultados

Ahora vamos a realizar otro test t para comparar los resultados del método de disgregación con los obtenidos mediante tratamiento con ácido nítrico pasados 11 días. Usaremos los resultados de disgregación obtenidos por adición estándar ya que son más precisos (las desviaciones estándar son menores):

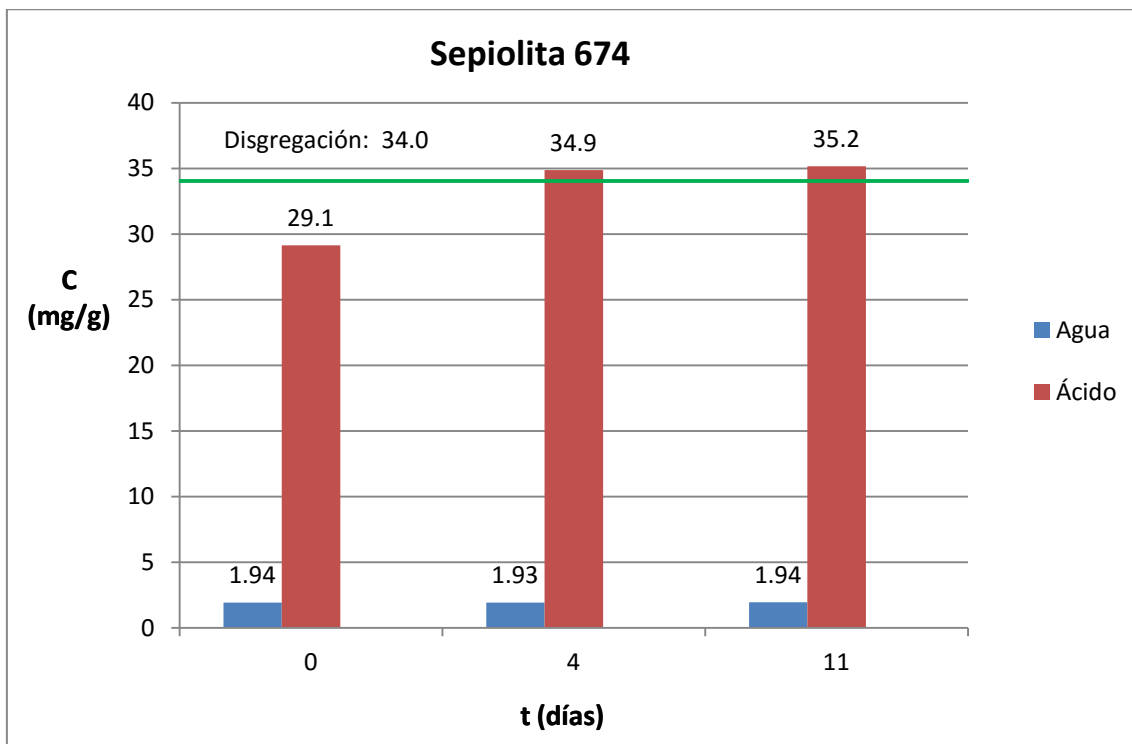
| Muestra              | 675   |       | 674   |       |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| Disolución           | Ácido | Total | Ácido | Total |
| Concentración (mg/g) | 28.3  | 30.0  | 35.2  | 34.0  |
| Desviación           | 0.861 | 0.458 | 0.791 | 0.984 |
| t experimental       | 1.10  |       | 0.601 |       |
| t teórico            | 2.1   |       |       |       |

**Tabla 6:** Comparación de los dos tratamientos

Como se puede apreciar en la tabla 6, la disolución total y la disolución con nítrico de la sepiolita no difieren significativamente en sus resultados. Esto significa que las capas de sílice que no son disueltas por el ácido nítrico no contienen ningún sitio de sorción de nanopartículas de cobre ni hay óxido de cobre natural sustituyendo a la sílice en la estructura. En el caso de la muestra 674 hemos obtenido mayores concentraciones de cobre con el tratamiento con ácido nítrico, lo cual no parece lógico en absoluto, pero, dado que hemos establecido con la prueba de significación que los resultados de ambos tratamientos no difieren entre sí, podemos achacar estos valores a errores aleatorios.



**Figura 16:** Comparación del Cu disuelto en la muestra 675 mediante disgregación total con respecto a los tratamientos con agua y con nítrico en función del tiempo



**Figura 17:** Comparación del Cu disuelto en la muestra 674 mediante disgregación con respecto a los tratamientos con agua y con nítrico en función del tiempo

Como hemos establecido que los resultados obtenidos por el método de disgregación son los más representativos de la concentración de cobre real, podemos presentar los resultados finales de la determinación cuantitativa de cobre en las muestras:

- **Sepiolita 675:**  $30.0 \pm 0.458$  mg Cu/g arcilla
- **Sepiolita 674:**  $34.0 \pm 0.984$  mg Cu/g arcilla

Donde toda la concentración de cobre determinada corresponde a las nanopartículas insertadas artificialmente, ya que no se han detectado diferencias significativas entre los tratamientos con ácido nítrico y de disgregación, por lo que descartamos la presencia de cobre natural sustituyendo a átomos de silicio en la estructura interna de sílice.

#### 4. Conclusiones

- La técnica de espectroscopía de absorción atómica de llama es un método fiable, sensible y preciso para la determinación de cobre en muestras de sepiolita.
- Tanto adición estándar como calibración normal son estrategias válidas para la elaboración de la función de calibrado, ya que se ha comprobado con un test t de significación que los resultados que se obtienen no difieren significativamente entre sí.
- La disolución de la muestra sólida puede realizarse mediante ataque con ácido nítrico a temperatura elevada, pero en las condiciones a las que se ha realizado en este trabajo se requiere el paso de varios días para que la disolución del cobre sea completa.
- Se ha comprobado que mediante el tratamiento de disgregación de la muestra no se obtienen resultados que difieran significativamente de los obtenidos con el tratamiento con ácido nítrico tras pasar un tiempo.
- Aunque el ataque con agua no es eficaz para disolver las muestras, los resultados que proporciona son representativos de la capacidad de sorción de nanopartículas de cobre de la superficie de las capas de sílice de la estructura y de la presencia de grupos silanol al filo de dichas capas.
- Las muestras de sepiolita no tienen cobre formando parte de la estructura de sílice y, por tanto, todo el cobre determinado corresponde a las nanopartículas de cobre insertadas artificialmente.
- El método de disgregación proporciona los resultados más representativos de la concentración total de cobre en las muestras, por lo que consideramos que las concentraciones de cobre en las sepiolitas son las siguientes:
  - **Sepiolita 675:**  $30.0 \pm 0.458$  mg Cu/g arcilla
  - **Sepiolita 674:**  $34.0 \pm 0.984$  mg Cu/g arcilla

## Bibliografía

1. Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo, al Consejo y al Comité Económico y Social Europeo. Segunda revisión de la normativa sobre los materiales.
2. ISO/TS 80004-1: 2015. Nanotechnologies – Vocabulary – Core terms
3. “*Copper (Cu) Nanoparticles – Properties – Applications*”. AZoNano (2013) Web. Noviembre 2016. <http://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3271>.
4. “*Cu and Cu-Based Nanoparticles: Synthesis and Applications in Catalysis*”. Manoj B. Gawande et al. (2016) 3723
5. “*Biotechnology Fundamentals*” Firdos Alam Khan. CRC press, 2ª Edición (2012) 328
6. “*Methods of Synthesis, Properties and Biomedical Applications of CuO Nanoparticles*” M. E. Grigore, E. R. Biscu, A. M. Holban, M. C. Gestal, A. M. Grumezescu (2016)
7. “*Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of Copper Oxide Nanoparticles*” Maqsood Ahamed, Hisham A. Alhadlaq, M. A. Majeed Khan, Ponmurugan Karuppiah, Naif A. Al-Dhabi (2014)
8. “*Clay Mineral*” Encyclopedia Britannica; H. Kodama, R. E. Grim (1998) Web. Noviembre 2016. <https://www.britannica.com/science/clay-mineral>.
9. “*Sepiolite*” Encyclopedia Britannica (1998) Web. Noviembre 2016. <https://www.britannica.com/science/sepiolite>.
10. “*Inventario nacional de arcillas especiales*” J.M. Baltuille Martín, J. Rey de la Rosa, J. Vega Rodera, J.M. Zapardiel Palenzuela (2000) 1-26
11. “*Properties and applications of palygorskite-sepiolite clays*” E. Galán (1996)
12. “*Developments on Palygorskite-Sepiolite research*” E. Galán, A. Singer. Elsevier, 1ª edición (2011) 1-55
13. “*Antibacterial activity of copper monodispersed nanoparticles into sepiolite*” A. Esteban-Cubillo, C. Pecharrroma, E. Aguilar, J. Santare, J. S. Moya (2006)
14. “*Atomic Absorption Spectrometry*” B. Welz, M. Sperling. Willey-VCH, 3ª edición (1999)
15. “*Analytical methods for atomic absorption spectroscopy*” Perkin Elmer (1996)
16. “*The action of some aqueous solutions on clays of the montmorillonite group*” P. G. Nutting. (1943) 219-222
17. “*Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*” J. N. Miller, J. C. Miller. Prentice Hall, 6ª edición (2010)

18. *"Estimates of Precision in a Standard Additions Analysis"* G. R. Bruce, P. S. Gill (1999)
19. *"Dissolution kinetics of sepiolite from Eskisehir (Turkey) in hydrochloric and nitric acids"* H. Cetisli, T. Gedikbey (1989)
20. *"Structural and textural modifications of palygorskite and sepiolite under acid treatment"* M. Myriam, M. Suárez, J. M. Martín-Pozas (1998)
21. *"Stability of sepiolite in neutral and alkaline media at room temperature"* S. Martinez-Ramirez, F. Puertas, M. T. Blanco-Varela (1995)
22. *"Structural hydroxyls in sepiolites"* J. L. Ahlrichs, C. Serna, J. M. Serratosa (1974)
23. *"Rapid on-line sample dissolution assisted by focused microwave radiation for silicate analysis employing flame atomic absorption spectrometry: iron determination"* M. C. B. Quaresma, R. J. Cassella, M. de la Guardia, R. E. Santelli (2003)
24. *"Dissolution Kinetics: Catalysis by Strong Acids"* W. E. Kline, H. S. Fogler (1980)