

Disponibilidad de metales y nanopartículas en medios naturales

A. Altier^a

^a*Departamento de Química. Universidad de Lleida, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España*

Tutor: Jaume Puy

Co-tutor: Carlos Rey-Castro

Abstract

The availability of metals or metal nanoparticles to organisms and their toxic or nutritional properties are related to the uptake flux. This flux depends on the mass transport of the various metal species, on their interconversion kinetics and on the kinetics of the chemical reactions regulating the uptake [1, 2].

Diffusive Gradients in Thin films (DGT) is a passive sampler that measures a flux, that is, the rate of supply of material at a given time [3]. DGT devices consist of two layers, the diffusive gel, which defines a diffusion domain and the resin gel layer containing a binding agent (Chelex 100) that acts in most cases as a perfect sink for metal cations. Differing from what happens in voltammetric electrodes, metal complexes can diffuse and dissociate within the resin domain thus extending the reaction layer [3]. Additionally, depending on pH and ionic strength, the charged resin sites interact with charged metal species influencing the metal accumulation. Low ionic strength is expected to modify the kinetics of the metal binding to the resin sites or the dissociation rate of complexes when an exchange mechanism applies. Depending on the size and aggregation phenomena, nanoparticles can also contribute to the metal availability directly or by dissolution. Metal accumulations in presence of ligands are expected to evidence the influence of the size of the primary nanoparticle on the solubility.

It is the aim of the thesis the measurement of the availability of metals and nanoparticles using dynamic analytical techniques such as DGT or voltammetric electrodes and the development of a physicochemical framework for the interpretation of the results.

1. Introducción

La continua aparición de nuevos materiales basados en óxidos metálicos o nanopartículas metálicas de utilización en sectores industriales y en el ámbito doméstico ha aumentado su presencia en el medio ambiente. En un determinado intervalo de concentraciones muchos elementos metálicos juegan un papel clave en la bioquímica de los seres vivos por lo que su ausencia puede provocar síntomas de deficiencia, pero a altas concentraciones pueden llegar a ser tóxicos.

La especiación juega un papel fundamental en la determinación de la disponibilidad de los elementos por lo que es de gran importancia el conocimiento de las distintas formas químicas o físico-químicas de los metales. [4].

La biodisponibilidad de elementos metálicos, sus propiedades tóxicas o nutritivas y en general la circulación de elementos en los medios naturales, están determinadas por un conjunto de procesos físico-químicos de carácter dinámico. La biodisponibilidad está íntimamente relacionada con el flujo de internalización que depende del transporte de materia de las distintas especies metálicas, de su cinética de interconversión y de la cinética de las reacciones químicas que regulan la captación. Para poder estudiar estos procesos se ha usado técnicas analíticas dinámicas tales como técnicas voltamétricas o DGT (Diffusive Gradients in Thin films) [2]. En DGT los solutos difunden continuamente a través de una capa de difusión bien definida y se van acumulando progresivamente. Entre las ventajas de esta técnica está la posibilidad de realizar medidas *in situ* en distintos medios naturales o en disoluciones en el laboratorio, la preconcentración de las especies de interés de forma que se puede llegar a las concentraciones en que éstas están presentes en los medios naturales no polucionados y la posible determinación de un amplio espectro de iones metálicos, aniones, o especies orgánicas. Además, el uso de DGT se ha extendido al análisis de suelos y sedimentos.

La finalidad de este proyecto es la medida de los flujos de metales y nanopartículas disponibles a diferentes escalas de tiempo y espacio mediante esta técnica analítica dinámica y la elaboración de un marco teórico para la comprensión de los fenómenos que tienen lugar.

2. Materiales y métodos

2.1. Fundamentos de DGT (Diffusive Gradients in Thin films)

La técnica DGT fue desarrollada para medidas *in situ* de metales traza en medios acuáticos [2]. Utiliza una resina quelante dispersa en un gel en forma de disco para la acumulación de las especies de interés. Encima de este disco se coloca otro disco de gel que tiene como misión definir un espacio de difusión. Ambos discos se montan en un pistón de plástico que se recubre con un filtro que le separa de la solución. Los sensores que se introducen en la solución de estudio acumulan las especies de interés. Al poco tiempo se establece un régimen estacionario de acumulación por lo que la masa acumulada en un intervalo dado es una medida del flujo que recibe el sensor.

Debido a estas características, DGT tiene las ventajas de minimizar los cambios de especiación durante el muestreo y el almacenamiento [5]. Otros beneficios son que los dispositivos de muestreo se pueden usar fácilmente en distintos medios naturales (aguas, sólidos y sedimentos) o en disoluciones de laboratorio y es una técnica relativamente barata debido a que no es necesario el uso de equipos costosos.

Cuando se estudian cationes metálicos, DGT utiliza como resina quelante Chelex-100. Ésta está clasificada como una resina de intercambio catiónico débilmente ácida en virtud de sus grupos de ácido carboxílico, pero difiere de intercambiadores ordinarios debido a su alta selectividad para iones metálicos y su mayor fuerza de complejación. Chelex es el nombre comercial de la resina quelante formada por un copolímero de estireno-divinilbenceno, que contiene unidades iminodiacetato que actúan como grupos quelantes de iones metálicos polivalentes fabricado por Bio-Rad [6].

Los dispositivos DGT están compuestos por dos piezas de polietileno (ver figura 1). La pieza superior del pistón presenta una ventana de exposición de 2 cm de diámetro. Los sensores DGT están constituidos por dos partes esenciales: 1) un disco de resina que contiene Chelex-100, en el cual se dará la unión de los metales de interés, 2) un disco de difusión que permite fijar el rango de difusión antes de la unión, con un espesor de 0.8 mm y 0.4 mm respectivamente. Estos dos discos se colocan en el dispositivo de polietileno, donde sólo la capa de difusión estará expuesta al medio de muestreo a través de la ventana circular. En las primeras medidas se observó la obstrucción del gel de difusión con partículas del medio, por lo que además se utiliza un

filtro de celulosa de la marca Whatman® con una tamaño de poro de 0.45 µm y un espesor de 0.125 mm, para proteger la superficie de hidrogel del medio de muestreo.

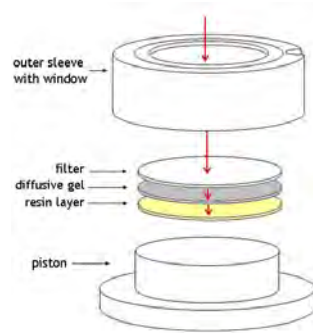


Figura 1. a) Fotografía de un dispositivo DGT, b) esquema 3D de un dispositivo DGT

El dispositivo DGT se expone durante un tiempo determinado en la solución de medida. Los metales difunden a través del filtro y del disco de difusión para finalmente acumularse en el disco de resina. De este modo se produce un gradiente de concentración en la capa de difusión que se mantiene siempre que la capa de resina no esté saturada. Una vez finalizada la exposición, el dispositivo se abre y los metales acumulados en la resina se eluyen con ácido nítrico (ácido recomendado para dispositivos con Chelex), seguido de la determinación utilizando una técnica analítica adecuada (como ICP-MS).

Se obtienen distintas concentraciones dependiendo de la eficiencia de la elución, f_e , que habrá que tenerla en cuenta para calcular el número de moles acumulados en el sensor, n :

$$n = \frac{c_e V_e + V_r}{f_e} \quad (2.1)$$

donde c_e es la concentración de analito eluido, V_e es el volumen de eluyente y V_r es el volumen del disco de resina.

El flujo, J , a través de la capa de difusión se describe a partir de la primera Ley de Fick [7]:

$$J = D \frac{dc}{dx} \quad (2.2)$$

donde D es el coeficiente de difusión, c es la concentración y x es la distancia (y dc/dx es el gradiente de concentración).

Como el tiempo de exposición del sensor es conocido, t , y el área de exposición a la disolución está delimitada por la ventana del dispositivo, A , siempre que el régimen transitorio sea despreciable con respecto a la acumulación en régimen de estado estacionario, el flujo, J se puede calcular simplemente como:

$$J = \frac{n}{A \cdot t} \quad (2.3)$$

En lugar de utilizar el flujo J como función respuesta, DGT define la concentración c_{DGT} como:

$$c_{DGT} = \frac{n \cdot \Delta g}{D \cdot A \cdot t} \quad (2.4)$$

donde Δg se ha utilizado para designar el espesor total de la capa de difusión, que comprende el gel de difusión, el filtro y la capa límite de difusión externa.

En principio, la ecuación 2.4 nos permite calcular la concentración a partir de la cantidad de soluto que se une a la resina. Si el sistema sólo contiene metal libre, esta concentración es la correspondiente al metal. Cuando el sistema contiene ligandos de distintas movibilidades que dan lugar a una especiación determinada, c_{DGT} indica la concentración efectiva de metal libre que daría lugar al mismo flujo que el medido en el sistema. Una de las cuestiones que se abordan en el trabajo es la determinación de las especies que contribuyen a c_{DGT} y la elaboración de un marco que permita una mayor comprensión de los fenómenos que tienen lugar en el sistema a estudio y que dan lugar a unas determinadas acumulaciones. Aunque la técnica DGT es simple, la detallada interpretación de los resultados obtenidos está asociada a un amplio rango de parámetros y preguntas que requieren una mayor investigación.

2.2. Medida de complejos en DGT

Los metales pesados se presentan en concentraciones traza en medios naturales no polucionados. Estos medios contienen concentraciones mucho más elevadas de ligandos inorgánicos u orgánicos simples o macromoleculares, por lo que la especiación de los metales está dominada por los complejos y los resultados de las acumulaciones en medidas DGT provienen mayoritariamente del transporte y disociación de los complejos.

Se suele considerar que las concentraciones en los medios naturales corresponden a los valores de equilibrio del sistema. Se considera además que todos los

complejos pueden difundir a través del gel de difusión, pero sólo los metales pueden enlazarse a la resina.

2.2.1. Definición de labilidad

Si en el medio están presentes tanto el metal en su forma libre (M), como el complejo (ML), la pregunta es cómo y cuánto contribuye un complejo ML al proceso de acumulación de este metal en un sensor químico, un microorganismo o una alga. El proceso de acumulación consiste en el consumo de M en la interfase entre la solución y el microorganismo. En el caso de la medida DGT, este consumo tiene lugar en la interfase gel de difusión-gel de resina. Este consumo desarrolla un gradiente de concentración de metal en la capa de difusión que perturba todos los equilibrios presentes en la capa de difusión. La desaparición de M desplaza el resto de equilibrios hacia la formación de M por disociación.

Un complejo es lábil si la cinética de disociación de ML es tan rápida que la influencia cinética desaparece y la acumulación está sólo controlada por la difusión. El complejo se disocia hasta alcanzar instantáneamente el equilibrio con M en todos los puntos de la capa de difusión. Si la concentración de metal en la interfase resina/gel es nula, la concentración del complejo también debe serlo para que se cumpla la relación de equilibrio ($c_{ML}^r = 0$). En estas condiciones el flujo de M a través de ML es máximo puesto que el perfil de ML tiene la máxima pendiente. Se dice entonces que el complejo es lábil y en DGT este es el comportamiento para la mayoría de complejos inorgánicos (por ejemplo, carbonato, hidróxidos, cloruros), y para algunos complejos orgánicos. El flujo resultante se representa como J_{labil}

Por otro lado, el complejo es inerte cuando la velocidad de disociación del complejo es tan lenta que el complejo no se disocia apreciablemente a lo largo de la capa de difusión. No hay equilibrio entre el complejo y el metal a lo largo de la capa de difusión y llega a la capa de resina en su forma no disociada, $c_{ML}^r = c_{ML}^*$, donde c_{ML}^* significa la concentración inicial de la especie i en la disolución. Aún en este caso, existe un flujo responsable de la acumulación debido al metal libre presente en el sistema. Este flujo recibe el nombre de J_{libre} .

Hay complejos metálicos que presentan el comportamiento intermedio entre lábil e inerte, son llamados complejos parcialmente lábiles. Este es el caso de algunos complejos principalmente con ligandos orgánicos, con ácidos húmicos y fúlvicos [8].

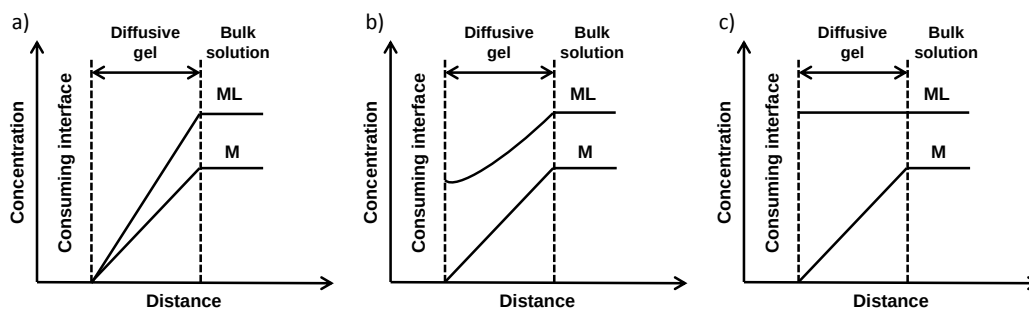


Figura 2. Representación esquemática del gradiente de concentración de M y ML en la capa de difusión, a) para un complejo lábil, b) para un complejo parcialmente lábil y c) para un complejo inerte.

2.2.2. Grado de labilidad

Con el propósito de cuantificar la contribución del complejo a la acumulación total de metal se define grado de labilidad, ξ , como la fracción entre la contribución actual del complejo al flujo ($J_M - J_{\text{libre}}$) con respecto a la contribución máxima que se podría dar ($J_{\text{lábil}} - J_{\text{libre}}$)

$$\xi = \frac{J_M - J_{\text{libre}}}{J_{\text{lábil}} - J_{\text{libre}}} \quad (2.5)$$

donde, J_M es el flujo de metal, J_{libre} es el transporte por difusión del metal libre presente en el sistema y $J_{\text{lábil}}$ es el flujo de metal que surge en el sistema si el complejo fuera lábil. Si el complejo es completamente lábil, el grado de labilidad sería igual a 1 y si el complejo es inerte, el grado de labilidad sería igual a 0. El valor del grado de labilidad para un complejo parcialmente lábil estará entre 0 y 1.

2.3. Procedimiento experimental

2.3.1. Montaje de los sensores DGT

Sobre la base del pistón de polietileno se coloca en primer lugar el gel de resina con las bolas de chelex-100 expuestas hacia arriba. El hecho de que se puedan distinguir ambas caras del disco es debido a que hay un asentamiento de la resina durante el proceso de fabricación. A continuación, se coloca el disco de difusión seguido por el filtro. Finalmente se cierra el pistón con cuidado de no generar ninguna burbuja de aire en el interior. Una vez que los sensores están terminados, se introducen durante 18h en una disolución de acondicionamiento, la cual presenta las mismas condiciones de pH y fuerza iónica que la disolución de medida, pero sin la presencia de metales.

2.3.2. Instrumentación

2.3.2.1. Cámara de exposición

Como cámara de exposición se utiliza un cubo cilíndrico de polietileno de 5L de capacidad. Se prepara 2L de disolución conteniendo los metales a unas concentraciones dadas de tal forma que durante el experimento el agotamiento de estas especies sea despreciable.

2.3.2.2. Agitación

La agitación es muy importante en los experimentos DGT. La reproducibilidad puede verse comprometida en gran medida si la agitación no es la misma para todos los sensores. Es por ello que para solventar este problema se utiliza una cámara de exposición cilíndrica con agitación homogénea central.

2.3.2.3. Control del pH

El pH de la disolución es monitorizado durante todo el experimento y se va ajustando con ácido nítrico o hidróxido sódico si fuera necesario. Mantener un pH constante durante todo el experimento es importante, ya que pequeñas variaciones en el pH pueden causar grandes cambios en la labilidad de los complejos.

2.3.2.4. Control de la temperatura

La temperatura es otro parámetro importante que debe ser controlado durante todo el experimento. El coeficiente de difusión y los parámetros cinéticos dependen de la temperatura. Para evitar cambios en estos parámetros, la temperatura se mantiene constante durante todo el experimento introduciendo la cámara de exposición en un baño termostatzado. Todos los experimentos se han llevado a cabo a 25 ± 1 °C.

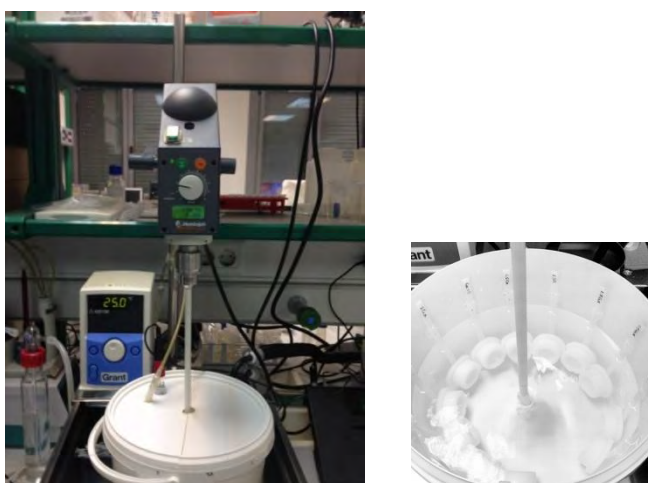


Figura 2. Fotografías del equipo usado para la toma de datos

2.3.3. Reactivos

Los experimentos DGT se han llevado a cabo preparando disoluciones de 2L con concentraciones de metales comprendidas entre 10^{-4} y 10^{-5} mol L⁻¹. Se han realizado experimentos con metales libres (Ca²⁺, Mg²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Li⁺ y Rb⁺) preparados a partir de las sales de nitrato o a partir de los cloruros con o sin ligandos como EDTA (ácido etildiaminotetraacético) o NTA (ácido nitrilotriacético). El pH de las disoluciones se han ajustado a valores de 6.5 ó 7.5 usando como buffer MOPS (ácido 3-(N-morfolino)-propanosulfónico, Sigma Aldrich). Las acumulaciones se llevaron a cabo en un rango de fuerzas iónicas comprendidas entre 0.4×10^{-3} a 0.5 mol L⁻¹ con NaNO₃ (Merck, Suprapur). Además, en todos los experimentos se ha utilizado agua ultrapura (Mili-Q plus 185 System, Millipore).

2.3.4. Método

Para acceder a información adicional de los fenómenos responsables de las acumulaciones, estos experimentos se han llevado a cabo con dispositivos DGT con dos discos de resina (2R). Se ha llamado disco front (F) el que se encuentra junto al disco de difusión, y disco back (B) al que se encuentra en el fondo del sensor.

Una vez montados los dispositivos DGT, se introducen dentro de la disolución de medida durante 24h. Transcurrido este período de tiempo, se sacan de la disolución de medida y se desmontan. Tanto las disoluciones como las acumulaciones de metales en los discos de resina, una vez eluidos por separado con HNO₃ al 20%, son analizados por ICP-MS. Las disoluciones preparadas para las calibraciones para ICP-MS han sido preparadas mediante dilución de disoluciones estándar de 1000mg/l (Merck).

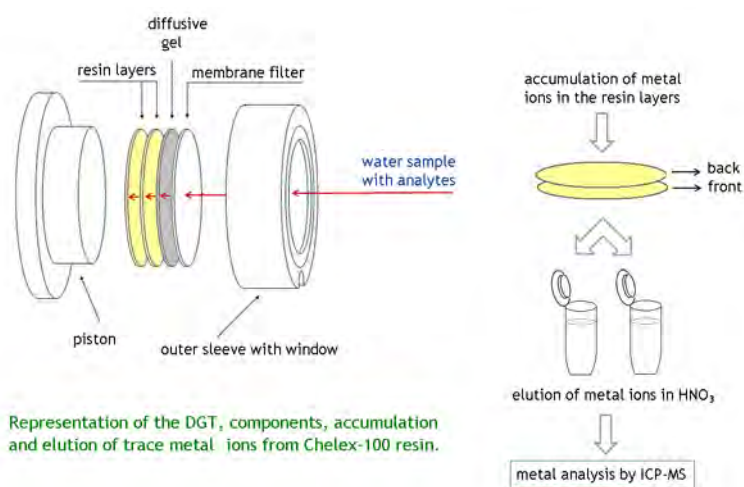


Figura 3. Representación del dispositivo DGT con doble capa de resina: componentes, acumulación y elución

3. Resultados

3.1. Efecto de la fuerza iónica sobre medidas de metal libre en DGT

3.1.1. Objetivo

Estudiar la variación de la constante cinética de asociación, k_a , de metales M^{2+} con la resina (R) respecto a la variación de la fuerza iónica. Ver si a baja fuerza iónica la acumulación de cationes que no se acumulan en régimen de “perfect sink” (concentración de metal nula en el dominio resina) consiguen llegar a este régimen que facilitaría la compresión de la respuesta medida.

El estudio se va a llevar a cabo con metales que tienen una constante cinética de asociación con la resina suficientemente grande (Cd^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+}) como para que las condiciones de “perfect sink” sean una buena aproximación y con metales que no se enlacen tan fácilmente con la resina (Ca^{2+} y Mg^{2+}). Para éstos últimos deberá tenerse en cuenta si existe acumulación puramente electrostática y diferenciarla de la correspondiente al enlace específico con la resina.

3.1.2. Condiciones experimentales

Los sensores DGT fueron expuestos a una disolución de $2.5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Ca^{2+} , $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Mg , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} . Las acumulaciones se llevaron a cabo a distintos valores de fuerzas iónicas (0.4×10^{-3} , 0.001, 0.005, 0.01, 0.1 y 0.5 mol L^{-1}). Por cada fuerza iónica se expusieron tres sensores con dos discos de resina, front y back durante 24h. El pH se ajustó a un valor de 6.5 con 5mM de MOPS (ácido 3-(N-morfolino)-propanosulfónico, Sigma Aldrich).

3.1.3. Resultados

Una vez finalizada la elución de todas las resinas por separado en HNO_3 al 20% durante dos días, se procede a analizar las acumulaciones en ICP-MS.

En general, para todos los experimentos que se han llevado a cabo bajo estas condiciones experimentales, los resultados de la calibración para Ca^{2+} en ICP-MS no son buenos para puntos por debajo de 50ppb.

Se obtuvieron los siguientes resultados para Cd^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} :

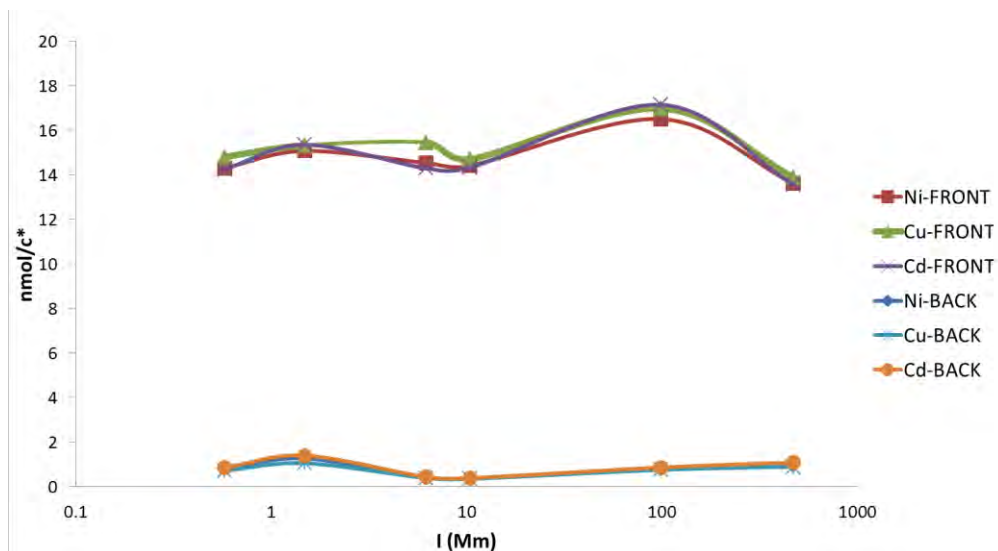


Figura 4. nmoles totales acumulados de Ni^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} normalizados con la concentración bulk, c^* , para las resinas front y back en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.4×10^{-3} y 0.5 mol L^{-1} .

Se obtuvieron los siguientes resultados para Mg^{2+} y Ca^{2+} respectivamente:

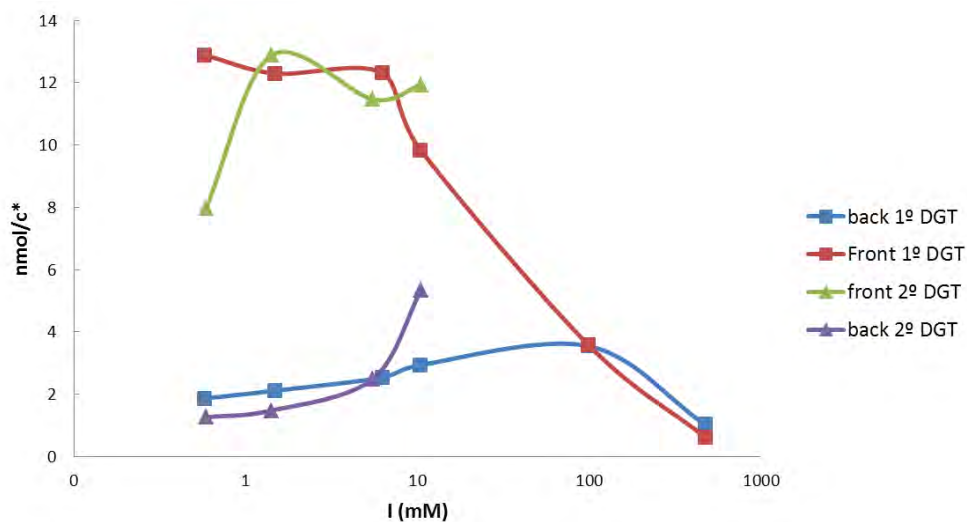


Figura 5. nmoles totales acumulados de Mg^{2+} normalizados con la concentración bulk, c^* , para las resinas front y back en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.4×10^{-3} y 0.5 mol L^{-1} .

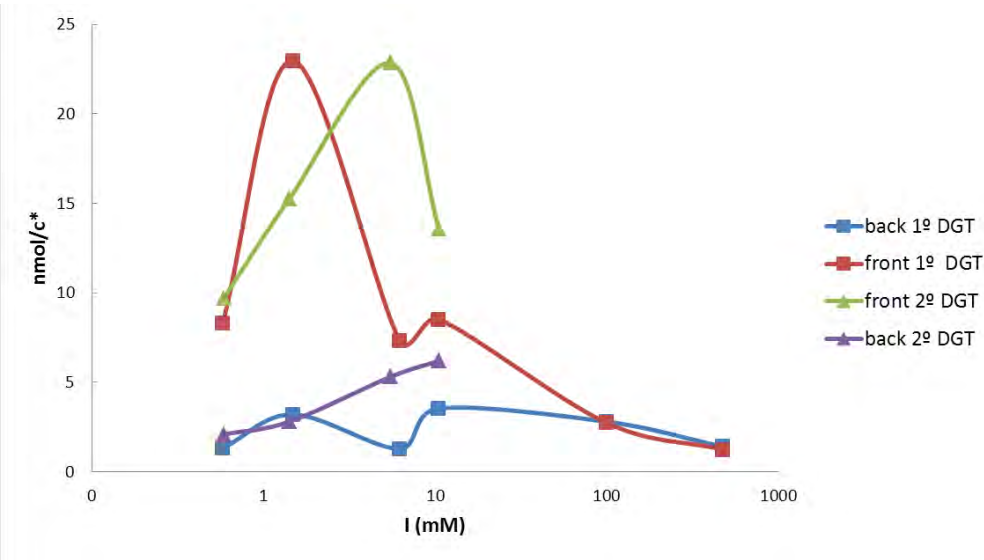


Figura 6. nmoles totales acumulados de Ca^{2+} normalizados con la concentración bulk, c^* , para las resinas front y back en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.4×10^{-3} y 0.5 mol L^{-1} .

Se obtuvieron los siguientes valores experimentales para concentraciones bulk ($\mu\text{mol/L}$):

1º Experimento:

I(mM)	Mg	Ca	Ni	Cu	Cd
0,57	13.701	70.825	10.629	7.893	10.234
1.48	12.612	20.006	9.119	8.223	8.795
6.21	13.916	93.484	9.959	4.882	9.368
10.40	11.486	53.950	9.212	7.874	9.441
98.80	12.055	72.652	8.872	7.293	8.769
470.30	12.376	63.655	8.619	7.050	8.796
Valor teórico	10.1	25.2	10.2	10.1	9.9

Tabla 1. Concentración bulk, c^* , en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.4×10^{-3} y 0.5 mol L^{-1} . En rojo, concentración bulk teórica calculada a partir de la cantidad que se adiciona inicialmente en la cámara de exposición.

2º Experimento:

<i>I</i> (mM)	Mg	Ca	Ni	Cu	Cd
0.58	18,365	44,288	11,618	8,317	11,882
1.41	13,353	40,510	10,483	4,390	10,231
5.47	14,936	29,278	9,849	2,070	8,915
10.50	13,137	47,076	9,679	1,037	7,900
Valor teórico	10.05	25.2	10.02	9.99	10.21

Tabla 2. Concentración bulk, c^* , en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.4×10^{-3} y 0.5 mol L^{-1} . En rojo, concentración bulk teórica calculada a partir de la cantidad que se adiciona inicialmente en la cámara de exposición.

3.1.4. Interpretación de los resultados

Por lo general, iones metálicos como Cd^{2+} , Ni^{2+} y Cu^{2+} se enlazan fuerte y rápidamente a la resina. Sus acumulaciones no dependen de la fuerza iónica lo que nos indica que la constante cinética no influye en la acumulación. Este comportamiento concuerda con el esperado en el régimen de “perfect sink”, en el que el enlace a la resina es tan rápido que todo el metal que es transportado se enlaza instantáneamente, la concentración de metal en la resina es cero y la acumulación depende sólo de la difusión. Estas hipótesis concuerdan también con el hecho de que las acumulaciones en el disco de resina back son despreciables para estos cationes. Con los datos de la figura se puede estimar que la acumulación máxima que se puede alcanzar bajo estas condiciones experimentales tiene un valor aproximado de 13 nmol/c^* . Diferencias entre los distintos metales podrían ser debidas a la diferencia entre coeficientes de difusión.

Por otro lado, nos interesa estudiar metales que no se enlacen tan fácilmente con la resina, como ocurre para el Ca^{2+} y Mg^{2+} . Para ambos metales, los valores de acumulación en la resina back son prácticamente constantes exceptuando algún caso.

La k_{aR} de Ca^{2+} y Mg^{2+} con la resina es pequeña, de tal forma que a medida que la fuerza iónica disminuye, la acumulación para estos dos metales dentro de la resina debe ir aumentando. A medida que la fuerza iónica disminuye, la atracción electrostática entre la resina R^- y el metal M^{2+} aumenta, la constante cinética de reacción entre ambos aumenta y en consecuencia, hay un aumento de la tasa de acumulación del metal en el dominio de resina. En ambos casos podemos observar que para las curvas front se cumple esta tendencia.

Los valores de Ca^{2+} a 0.4 mM de fuerza iónica se apartan de este comportamiento pero veremos que estos valores se obtienen a partir de medias anómalas de las concentraciones bulk.

Comparando los valores obtenidos para las concentraciones bulk respecto a los valores teóricos, podemos concluir que para Cd^{2+} , Cu^{2+} y Ni^{2+} se obtienen valores cercanos al teórico y constantes con la variación de la fuerza iónica. Para el Mg^{2+} se obtienen resultados un poco más distintos al valor teórico pero se mantienen constantes. En cambio para el Ca^{2+} no se pueden explicar los resultados, ya que se obtienen valores bastantes alejados del valor teórico y no siguen una tendencia que pueda dar alguna justificación a estos resultados. Estos valores anómalos son los responsables del comportamiento extraño de las acumulaciones.

3.2. Estudio del efecto de $c_{T,R}$ sobre k_d aparente de los complejos

3.2.1. Objetivo

En el proceso de fabricación de las resinas se produce una sedimentación del Chelex hacia una de las caras del disco. Con este experimento se quiere estudiar si la homogeneidad de la resina influencia la acumulación. Por otro lado, se ha visto que las cinéticas de disociación de complejos en la fase resina pueden verse favorecidas por un mecanismo donde la cinética es de segundo orden y en el que participan los grupos de la resina que a la vez que enlazan el metal, favorecen la disociación de éste del ligando. Este mecanismo indicaría que la concentración de resina puede también modificar la constante cinética de disociación catalizadas y esto se quiere analizar con este experimento. Además, en este experimento se va a estudiar el efecto electrostático.

3.2.2. Condiciones experimentales

El experimento fue realizado utilizando disco de resina con distintas concentraciones de Chelex, $0.5c_{T,R}$, $c_{T,R}$, $1.5c_{T,R}$ and $2c_{T,R}$, siendo $c_{T,R}$ la concentración estándar de los sensores comerciales. Los sensores DGT fueron expuestos a una disolución de $2.5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Ni^{2+} , $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Co^{2+} y Cd^{2+} , $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Rb^{+} , $8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NTA. Las acumulaciones se llevaron a cabo a distintos valores de fuerzas iónicas (0.01, 0.05 y 0.1 mol L^{-1}). Por cada fuerza iónica y por cada concentración de Chelex, se expusieron tres sensores con dos discos de resina (front y back) durante 24h. El pH se ajustó a un valor de 7.5 con 1mM de MOPS (ácido 3-(N-morfolino)-propanosulfónico, Sigma Aldrich).

3.2.3. Resultados

Se obtuvieron los siguientes resultados para la acumulación total:

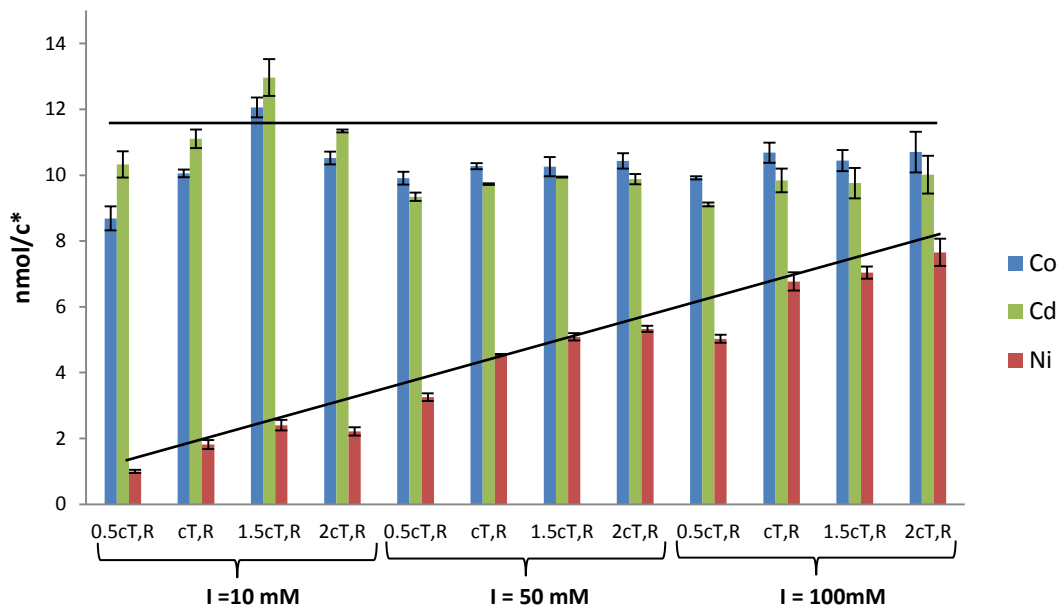


Figura 7. Acumulación total de metal para diferentes concentraciones de resinas en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.01 y 0.1 mol L⁻¹.

<i>I</i> (mM)	Sensor	$n_{Na}/c_{T,Na}^*$	$n_{Co}/c_{T,Co}^*$	$n_{Ni}/c_{T,Ni}^*$	$n_{Rb}/c_{T,Rb}^*$	$n_{Cd}/c_{T,Cd}^*$
10	0.5c _{T,R}	0.800	8.913	1.026	0.898	10.595
10	c _{T,R}	1.341	10.315	1.866	1.417	11.392
10	1.5 c _{T,R}	1.728	13.423	2.466	1.834	14.447
10	2 c _{T,R}	1.670	10.795	2.272	1.806	11.636
50	0.5c _{T,R}	0.437	10.167	3.338	0.421	9.585
50	c _{T,R}	0.556	10.543	4.676	0.549	9.983
50	1.5 c _{T,R}	0.620	10.528	5.220	0.602	10.201
50	2 c _{T,R}	0.648	10.708	5.467	0.633	10.133
100	0.5c _{T,R}	0.373	10.174	5.160	0.357	9.345
100	c _{T,R}	0.452	10.961	6.943	0.435	10.099
100	1.5 c _{T,R}	0.467	10.717	7.222	0.446	10.013
100	2 c _{T,R}	0.491	10.980	7.854	0.469	10.278

Tabla 3. Acumulación total de metal para diferentes concentraciones de resinas en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.01 y 0.1 mol L⁻¹.

Se obtuvieron los siguientes resultados para la acumulación total:

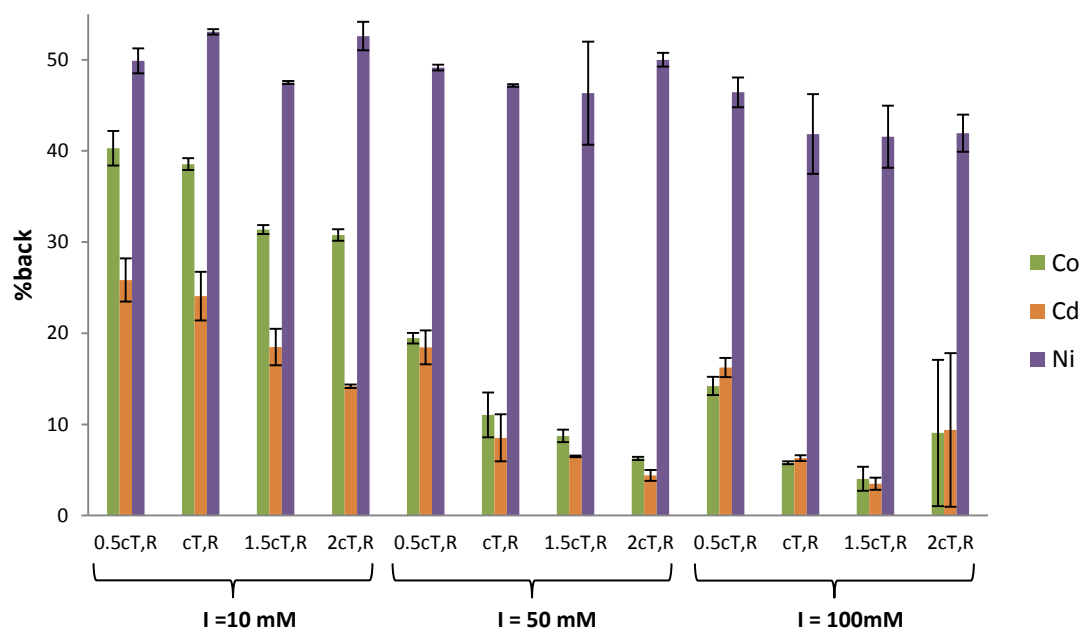


Figura 8. Resultados del porcentaje acumulado en la resina back para diferentes concentraciones de resinas en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.01 y 0.1 mol L⁻¹.

I (mM)	Sensor	%back _{Na}	%back _{Co}	%back _{Ni}	%back _{Rb}	%back _{Cd}
10	0.5c _{T,R}	49.788	40.297	49.886	49.152	25.830
10	c _{T,R}	52.346	38.543	53.063	52.584	24.054
10	1.5 c _{T,R}	46.913	31.376	47.507	46.997	18.483
10	2 c _{T,R}	52.411	30.774	52.593	51.987	14.187
50	0.5c _{T,R}	50.623	19.458	49.138	50.378	18.443
50	c _{T,R}	49.764	11.032	47.167	49.705	8.523
50	1.5 c _{T,R}	49.911	8.728	46.331	50.410	6.489
50	2 c _{T,R}	52.113	6.272	49.998	52.541	4.400
100	0.5c _{T,R}	49.646	14.210	46.423	50.246	16.243
100	c _{T,R}	49.555	5.779	41.853	49.936	6.289
100	1.5 c _{T,R}	49.461	4.027	41.555	49.416	3.485
100	2 c _{T,R}	50.471	9.053	41.944	50.893	9.381

Tabla 4. Resultados del porcentaje acumulado en la resina back para diferentes concentraciones de resinas en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.01 y 0.1 mol L⁻¹.

3.2.4. Interpretación de los resultados

Se observa que para Co²⁺ y Cd²⁺ las acumulaciones totales de metales son bastante independientes de la fuerza iónica y de la concentración total de resina en cada

disco $c_{T,R}$. Este comportamiento lo podemos justificar a partir de los altos valores de labilidad que presentan los complejos CoNTA y CdNTA a estos valores de fuerza iónica:

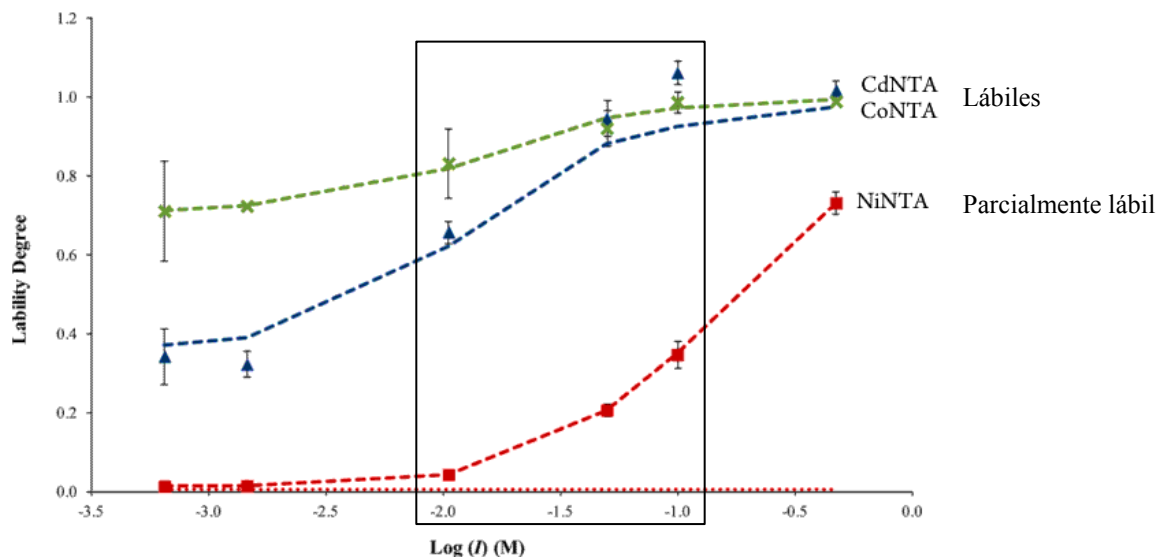


Figura 9. Grados de labilidad para los complejos CdNTA, CoNTA y NiNTA en un rango de valores de fuerza iónica comprendido entre 0.1×10^{-3} y 0.5 mol L^{-1} .

Los complejos de CoNTA y CdNTA son lábiles, mientras que el complejo NiNTA es parcialmente lábil. La distribución homogénea o no homogénea de la resina sólo afectará a los complejos parcialmente lábiles que son los que se disociarán dentro del gel de resina.

En el caso de Ni^{2+} , la acumulación total y el porcentaje back aumentan al aumentar la fuerza iónica. Esta variación se ha explicado por la presencia de una creciente acumulación electrostática de NiNTA en la resina al disminuir la fuerza iónica y por el aumento de la constante cinética de disociación de este complejo, puesto que esta disociación en la fase resina tiene lugar por un mecanismo de segundo orden con participación de los grupos de la resina.

En el presente experimento, se observa también un incremento de la masa acumulada al incrementar la densidad de Chelex en la resina, variación que también lleva asociada una disminución del porcentaje back.

Hay dos efectos que pueden explicar estas dependencias:

1. Una influencia de la variación de $c_{T,R}$ en la constante cinética de disociación del complejo k_d .
2. La distribución homogénea-no homogénea de la resina.

Estos efectos están fuertemente relacionados con la acumulación total de metal en los discos de resina. El objetivo es comprobar si están presentes en este sistema uno de ellos o ambos.

3.2.4.1. Primera interpretación: variación de k_d con $c_{T,R}$

El mecanismo de ligando asistido puede explicar el efecto que produce la variación de la concentración de resina en la constante de disociación en el dominio de resina. Si la concentración de resina aumenta, la disociación de los complejos en la resina será más rápida, si se trata de un proceso de segundo orden. Por esta razón, el grado labilidad se incrementará a medida que aumenta la concentración de resina.



$$k_{LA} [R^{2-}][MNTA^-] = k_d [MNTA^-] \quad (3.2)$$

$$k_d = k_{LA} \cdot [R^{2-}] \quad (3.3)$$

Bajo las condiciones de este mecanismo, la reacción de intercambio tiene lugar sólo en una etapa. Este mecanismo podría ser responsable de la disociación acelerada de NiNTA en presencia de mayor concentración de resina. De este modo, la constante cinética de disociación aumenta al aumentar la concentración de resina total ($c_{T,R} = R$) según la relación que existe en la ecuación 3.3, y por lo tanto aumenta la acumulación total.

Además, la acumulación total de metales disminuye cuando la fuerza iónica disminuye. Esta disminución sugiere que a medida que la fuerza iónica disminuye, el efecto de repulsión electrostática entre la resina R^- y los complejos $MNTA^-$, ambos cargados negativamente, aumenta. Consecuentemente hay una exclusión parcial del complejo en el dominio de resina reduciendo la tasa de acumulación. Este efecto es más pronunciado para el complejo NiNTA ya que es un complejo parcialmente lábil. Para los complejos de CoNTA y CdNTA no debería de haber variación, ya que a esta fuerza iónica son complejos lábiles, y por lo tanto no se ve efecto cinético, sino que todo está controlado por el transporte de materia. Otro fenómeno que justifica la disminución de

la acumulación al disminuir la fuerza iónica es la disminución de la constante de disociación del complejo dada en 3.2. Al tratarse de reactivos cargados negativamente, la constante de velocidad disminuye al disminuir la fuerza iónica por repulsión electrostática entre los reactivos.

Con respecto a la dependencia de la acumulación con la concentración de resina usada en el sensor, por el mismo razonamiento usado anteriormente, si la concentración de resina aumenta, la labilidad de los complejos parcialmente lábiles aumenta. El complejo se disocia más rápido enlazándose todo el metal en la resina front, y por lo tanto habrá una disminución la acumulación back.

El modelo de interacción electrostática entre las especies y la resina asume una diferencia de potencial Donnan en la interfase entre el gel de difusión y la resina. Habrá una concentración diferente de especies en el gel de resina (c_{ML}^{r-}) y en el gel de difusión (c_{ML}^{r+}). La relación entre estas concentraciones viene dada, en equilibrio, por el factor de Boltzmann:

$$\pi = \frac{c_{ML}^{r+}}{c_{ML}^{r-}} \quad (3.4)$$

Este valor depende de la densidad de carga en el dominio de resina, $-\frac{Q}{V_r}$, y de la fuerza iónica según la ecuación:

$$\ln \pi = \text{arcsinh} - \frac{Q}{2V_r I} \quad (3.5)$$

El sodio y el rubidio no presentan una unión específica con la resina. Al analizar los valores obtenidos para estos dos metales, se puede obtener el valor del factor electrosotático de Boltamann por medida experimental. Se desconocen los valores de carga Q y de la fuerza iónica. Para obtener un valor para el volumen de resina, V_r , asumimos " $\pi = 1$ " para la fuerza iónica $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. El valor obtenido fue $V_r = 1,55 \times 10^{-7} \text{ m}^3$. Con este volumen de resina fue posible encontrar la concentración de rubidio en el interior de los discos de resina, y a partir de éste un valor experimental para π .

Es importante tener en cuenta que si hay una distribución homogénea de Chelex, el volumen de resina será constante, pero la densidad de carga varía al aumentar su concentración. En este caso se obtendrán diferentes valores para el factor de Boltzmann. Pero si hay una distribución no homogénea de Chelex en los discos de resina, la

densidad de carga seguirá cambiando y el volumen ocupado también, por lo que se obtendrá valores constantes para el factor de Boltzmann.

I (mM)	Sensor	Na⁺	Rb⁺
10	0.5c _{T,R}	2.582	2.898
10	c _{T,R}	4.326	4.572
10	1.5 c _{T,R}	5.576	5.917
10	2 c _{T,R}	5.386	5.826
50	0.5c _{T,R}	1.411	1.357
50	c _{T,R}	1.794	1.770
50	1.5 c _{T,R}	2.000	1.942
50	2 c _{T,R}	2.091	2.041
100	0.5c _{T,R}	1.203	1.153
100	c _{T,R}	1.458	1.404
100	1.5 c _{T,R}	1.506	1.440
100	2 c _{T,R}	1.584	1.513

Tabla 5. Resultados experimentales para el factor de Boltzmann para el Na⁺ y Rb⁺ para distintos valores de fuerza iónica.

Se asumió diferentes valores de k_d en el gel de difusión y en el gel de la resina. Los valores en el gel difusiva ($k_{d,E}$) se encontraron con las ideas de Eigen. Inicialmente se calculó el valor de la constante cinética de asociación para el complejo:

$$k_{a,E} = K_{os}k_{-w} \quad (3.6)$$

La constante de velocidad para la pérdida de agua, k_{-w} , es característico del metal. La constante de estabilidad para el complejo de esfera externa, K_{os} , depende de los cargas de las especies reaccionantes y de la fuerza iónica.

Conociendo k_a y K tenemos:

$$k_{d,E} = \frac{k_{a,E}}{K} \quad (3.7)$$

donde K fue obtenido en Visual MINTEQ:

I (M)	K(m³mol⁻¹)	k_{a,E} (m³mol⁻¹s⁻¹)	k_{d,E}(s⁻¹)
0.01	1.78×10 ⁹	14769	8.29×10 ⁻⁶
0.05	5.78×10 ⁸	4955	8.57×10 ⁻⁶
0.10	3.17×10 ⁸	2646	8.34×10 ⁻⁶

Tabla 6. Valores de las constantes cinéticas encontrados bajo las ideas de Eigen.

Los valores de la constante cinética de disociación dentro de la resina k_d se obtuvieron mediante el ajuste de la acumulación total, con una expresión analítica para la acumulación total de metal en los discos de resina. Esta expresión funciona en condiciones de exceso de ligando.

Se realizó una simulación en Fortran para comprobar los valores de estas constantes cinéticas mediante la obtención de valores de acumulación total y %back. Para la simulación se ha trabajado con los valores efectivos.

Resina	π (a partir de Rb)	% back	n_M (moles)	k_{dR} (calculado a partir de n_M)	%back (Calculado usando k_{dR} en Mathematica)	n_M (Calculado en Fortran)	% back (Calculado en Fortran)
0.5 $c_{T,R}$	2.90	49.89	2.72×10^{-8}	1.23×10^{-4}	48.72	2.66×10^{-8}	48.88
$c_{T,R}$	4.57	53.06	4.73×10^{-8}	3.90×10^{-4}	46.85	4.67×10^{-8}	46.89
1.5 $c_{T,R}$	5.92	47.51	6.53×10^{-8}	8.35×10^{-4}	43.83	6.48×10^{-8}	43.84
2 $c_{T,R}$	5.83	52.59	6.01×10^{-8}	7.25×10^{-4}	44.55	5.96×10^{-8}	44.56

Tabla 7. k_d obtenido a partir de la acumulación total para $I = 0.01 \text{ mol L}^{-1}$, donde n_M es acumulación total.

Resina	π (a partir de Rb)	% back	n_M (moles)	k_{dR} (calculado a partir de n_M)	%back (Calculado usando k_{dR} en Mathematica)	n_M (Calculado en Fortran)	% back (Calculado en Fortran)
0.5 $c_{T,R}$	1.36	49.14	8.45×10^{-8}	2.26×10^{-4}	48.12	8.36×10^{-8}	48.11
$c_{T,R}$	1.77	47.17	1.18×10^{-7}	4.92×10^{-4}	46.20	1.18×10^{-7}	46.17
1.5 $c_{T,R}$	1.94	46.33	1.32×10^{-7}	6.62×10^{-4}	45.03	1.32×10^{-7}	44.99
2 $c_{T,R}$	2.04	50.00	1.44×10^{-7}	8.24×10^{-4}	43.96	1.44×10^{-7}	43.91

Tabla 8. k_d obtenido a partir de la acumulación total para $I = 0.05 \text{ mol L}^{-1}$, donde n_M es acumulación total.

Resina	π (a partir de Rb)	% back	n_M (moles)	k_{dR} (calculado a partir de n_M)	%back (Calculado usando k_{dR} en Mathematica)	n_M (Calculado en Fortran)	% back (Calculado en Fortran)
0.5 $c_{T,R}$	1.15	46.42	1.24×10^{-7}	3.53×10^{-4}	47.27	1.24×10^{-7}	47.17
$c_{T,R}$	1.40	41.85	1.67×10^{-7}	7.55×10^{-4}	44.45	1.68×10^{-7}	44.37
1.5 $c_{T,R}$	1.44	41.56	1.76×10^{-7}	8.74×10^{-4}	43.68	1.78×10^{-7}	43.59
2 $c_{T,R}$	1.51	41.94	1.88×10^{-7}	1.08×10^{-3}	42.38	1.89×10^{-7}	42.00

Tabla 9. k_d obtenido a partir de la acumulación total para $I = 0.1 \text{ mol L}^{-1}$, donde n_M es acumulación total.

Para ver el efecto de la $c_{T,R}$ en k_d , se asumió una distribución homogénea de Chelex en el disco de resina. Como podemos ver en la ecuación 3.3 un cambio en el $c_{T,R}$ cambiará el valor de k_d en la misma proporción. En este caso, cada tipo de disco de resina tiene una concentración distinta. El factor de Boltzmann cambia como se muestra en la ecuación 3.5.

3.2.4.2. Segunda interpretación: efecto de la distribución no homogénea de la resina

Otra explicación puede ser debido a la distribución no homogénea de la resina. Cabe esperar que a mayor concentración de resina, mayor sea la homogeneidad del disco y por lo tanto mayor grado de labilidad del complejo, ya que el complejo se disocia en un volumen de resina mayor.

Se considera la resina $2c_{T,R}$ homogénea. Para estudiar el efecto de la distribución no homogénea de la resina en la acumulación total, utilizamos simulaciones en Fortran para obtener la acumulación total, con un valor constante de π (factor de Boltzman), de densidad de carga y una constante cinética de disociación equivalente a la acumulación para $2c_{T,R}$. Para los otros discos de resina se asume que tienen la misma densidad, pero con Chelex ocupando 3/4, 1/2 y 1/4 del volumen de disco.

Porción de disco con Chelex	Acumulación total (mol)	Discrepancia comparado con el valor experimental
$\frac{1}{4} c_{T,R}$	2.06×10^{-8}	24.13%
$\frac{1}{2} c_{T,R}$	3.68×10^{-8}	22.20%
$\frac{3}{4} c_{T,R}$	4.98×10^{-8}	23.69%
$\frac{1}{4} c_{T,R}$	5.96×10^{-8}	0.88%

Tabla 10. Acumulación total de Ni^{2+} para las diferentes concentraciones de Chelex a una $I = 0.01 \text{ mol L}^{-1}$.

Porción de disco con Chelex	Acumulación total (mol)	Discrepancia comparado con el valor experimental
$\frac{1}{4} c_{T,R}$	8.64×10^{-8}	2.32%
$\frac{1}{2} c_{T,R}$	1.22×10^{-7}	3.09%
$\frac{3}{4} c_{T,R}$	1.38×10^{-7}	4.38%
$\frac{1}{4} c_{T,R}$	1.44×10^{-7}	0.32%

Tabla 11. Acumulación total de Ni^{2+} para las diferentes concentraciones de Chelex a una $I = 0.05 \text{ mol L}^{-1}$.

Porción de disco con Chelex	Acumulación total (mol)	Discrepancia comparado con el valor experimental
$\frac{1}{4} c_{T,R}$	8.64×10^{-8}	30.19%
$\frac{1}{2} c_{T,R}$	1.38×10^{-7}	17.00%
$\frac{3}{4} c_{T,R}$	1.70×10^{-7}	3.28%
$\frac{1}{4} c_{T,R}$	1.89×10^{-7}	0.27%

Tabla 12. Acumulación total de Ni^{2+} para las diferentes concentraciones de Chelex a una $I = 0.10 \text{ mol L}^{-1}$.

3.3. Caracterización de nanomateriales¹

3.3.1. Introducción

Debido a las interesantes propiedades físico-químicas que presentan los nanomateriales (actividad catalítica específica, elevada relación área/volumen, etc.), en los últimos años ha habido un enorme interés en la incorporación de productos basados en este tipo de materiales en el mercado. Consecuentemente, se espera que aumenten las emisiones industriales de nanopartículas a corto/medio plazo [9], por lo que existe una creciente preocupación sobre el impacto de estos materiales en el medio ambiente y, particularmente, en los organismos vivos, incluidos los seres humanos [10].

Uno de los principales objetivos en el estudio del impacto ambiental de los nanomateriales es averiguar cómo estas partículas interactúan con otros componentes presentes en aguas naturales, en particular, con los iones metálicos, la materia orgánica disuelta, y los microorganismos. En concreto, las nanopartículas pueden influir notablemente en el transporte y la disponibilidad de metales pesados, pudiendo facilitar la movilidad no deseada de sustancias químicas tóxicas. Por ejemplo, la formación de nuevas entidades a través de la adsorción de metales pesados sobre la superficie de las nanopartículas modificaría la disponibilidad de aquellos en el medio natural, pudiendo ser almacenados, transportados y entregados en una especie de efecto “caballo de troya”

¹ Este estudio se ha llevado a cabo en colaboración con el proyecto Europeo NANoREG (“A common European approach to the regulatory testing of nanomaterials”, FP7-NMP4-LA-2013-310584, 2013-2016).

[11]. Por otra parte, los mecanismos de toxicidad de ciertos nanomateriales metálicos (como los basados en Ag, ZnO, CuO, etc.) se han relacionado en la literatura reciente, con los procesos de disolución y consiguiente liberación de iones metálicos en los medios de cultivo y/o medios intracelulares [12].

Esto indica que la evaluación de riesgos y el desarrollo proactivo de nanomateriales “seguros” debe tener en cuenta las propiedades de adsorción y solubilización de los nanomateriales (tanto en sus aspectos dinámicos como de equilibrio), más allá de un mero control de propiedades físicas tales como el tamaño, la forma y grado de aglomeración.

3.3.2. Objetivo

Estudiar la dispersabilidad de distintos nanomateriales (distribución de tamaños de partícula en suspensión acuosa) para posteriormente seleccionar los que presenten las características más óptimas para llevar a cabo experimentos de DGT y poder estudiar la solubilidad y la adsorción e internalización de metales traza en nanopartículas.

3.3.3. Condiciones experimentales

Este estudio se ha llevado a cabo con diferentes nanomateriales de SiO₂, TiO₂, ZnO, CeO₂, BaO₂, y Ag, distribuidos por The Joint Research Centre (JRC), Ispra (Italia) en el marco del proyecto europeo NANoREG (www.nanoreg.eu).

Los experimentos se realizaron siguiendo el protocolo de dispersión NANoREG-ECOTOX, diseñado específicamente para ensayos de Ecotoxicología. Este protocolo consiste en preparar dispersiones con una concentración de 2.56 g/L de nanomaterial. Para ello se pesan 25.6 mg de nanomaterial en un vial de vidrio de 30 mL. Con el vial inclinado 45° se adiciona lentamente 1 mL de agua ultrapura (Mili-Q plus 185 System, Millipore) filtrada con un filtro de celulosa de tamaño de poro de 0.1 µm. Se agita suavemente durante unos minutos y se adicionan los 9 mL de agua restantes. Se mantiene durante 5 minutos en hielo. Transcurrido este período de tiempo se lleva a cabo una dispersión mecánica con un generador de ultrasonidos Branson 250S 20kHz equipado con una sonda de 13 mm y operando al 5% de amplitud durante 16 minutos. Una vez finalizada la sonicación se pipetea 1 mL de dispersión y se introduce dentro de una cubeta transparente de poliestireno (Sarstedt®, 10x10x45 mm). Tras un tiempo de equilibrado de 10 minutos, se realizan las medidas de las distribuciones de tamaño hidrodinámico de los agregados presentes en las dispersiones mediante Dynamic Light

Scattering (DLS) con un equipo Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd , Bedford, MA).

3.3.4. Resultados

A continuación se exponen los resultados obtenidos para la distribución de diámetros hidrodinámicos de cada material (promedios de 3 réplicas independientes):

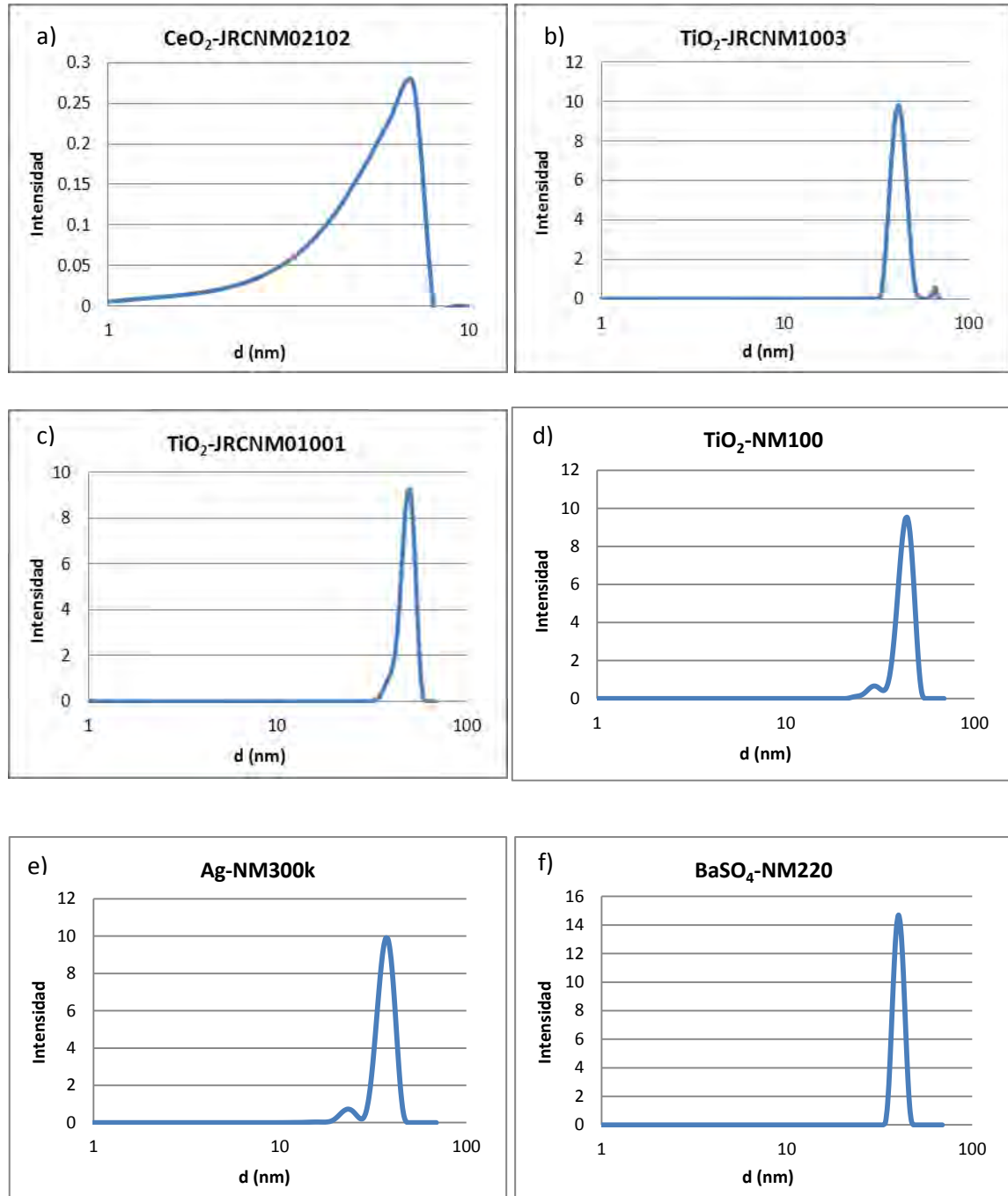


Figura 10. Promedios de la distribución de tamaños hidrodinámicos en las dispersiones de nanopartículas: a) $\text{CeO}_2\text{-JRCNM02102}$, b) $\text{TiO}_2\text{-JRCNM1003}$, c) $\text{TiO}_2\text{-JRCNM01001}$, d) $\text{TiO}_2\text{-NM100}$, e) Ag-NM300k , f) $\text{BaSO}_4\text{-NM220}$.

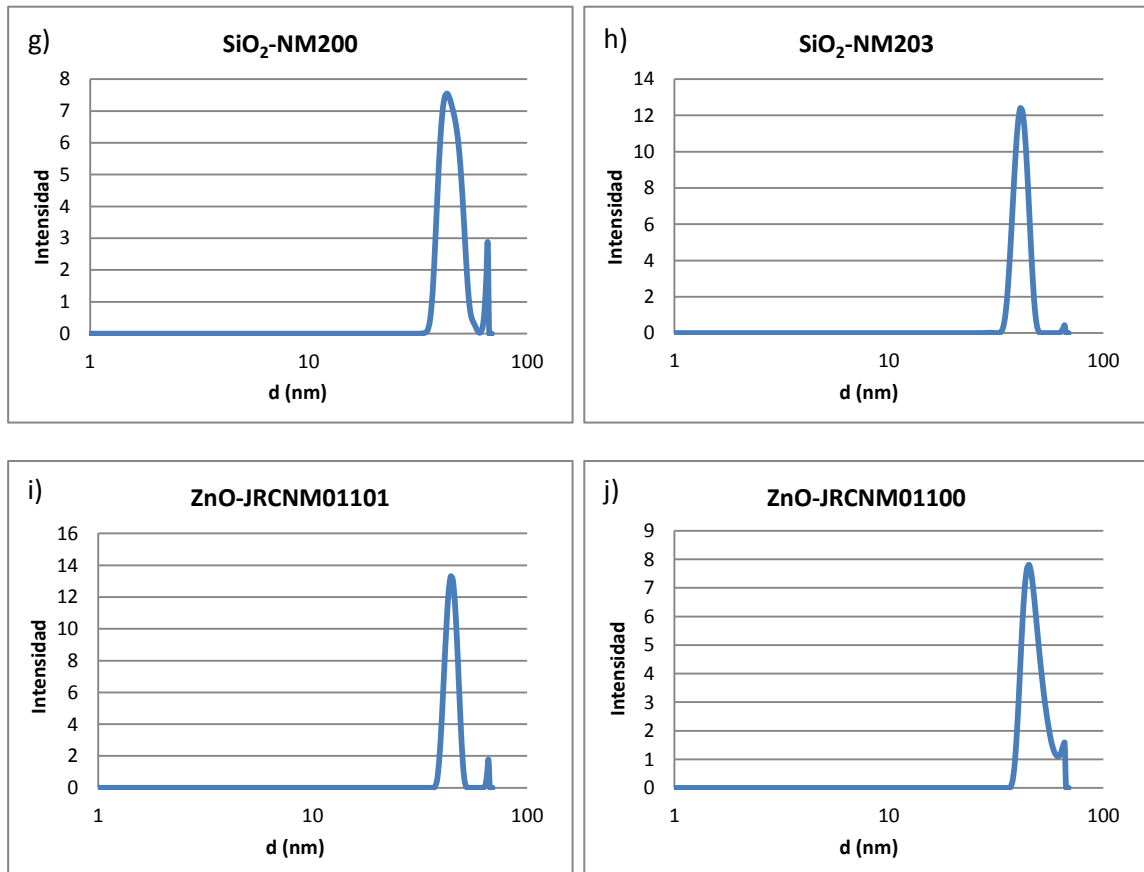


Figura 11. Promedios de la distribución de tamaños hidrodinámicos en las dispersiones de nanopartículas: g) $\text{SiO}_2\text{-NM200}$, h) $\text{SiO}_2\text{-NM203}$, i) ZnO-JRCNM01101 , j) ZnO-JRCNM01100 .

Los resultados obtenidos para el tamaño medio (Z-average) y el índice de polidispersidad (PDI) de cada material se presentan en las siguientes gráficas:

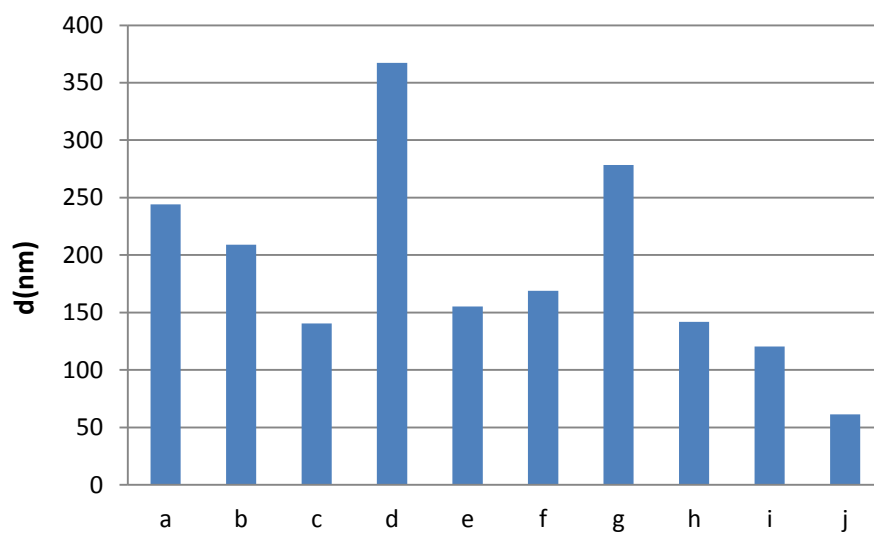


Figura 12. Z-average para las dispersiones: a) ZnO- JRCNM01101, b) ZnO-JRCNM01100, c) TiO₂-JRCNM01003, d) TiO₂-JRCNM01001, e) TiO₂-NM100, f) CeO₂- JRCNM02102, g) SiO₂-NM200, h) SiO₂-NM203 i) BaSO₄-NM-220, j) Ag-NM 300K.

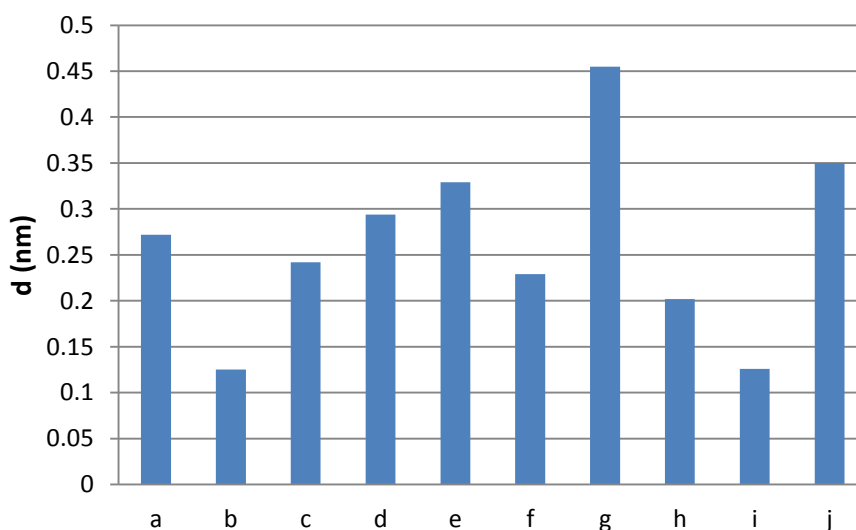


Figura 13. Índice de polidispersidad (PDI): a) ZnO- JRCNM01101, b) ZnO-JRCNM01100, c) TiO₂-JRCNM01003, d) TiO₂-JRCNM01001, e) TiO₂-NM100, f) CeO₂- JRCNM02102, g) SiO₂-NM200, h) SiO₂-NM203 i) BaSO₄-NM-220, j) Ag-NM 300K.

Exceptuando el caso de los materiales NM200 (SiO₂), y JRCNM01001 (TiO₂), en general se han obtenido dispersiones con tamaños e índices de polidispersidad relativamente bajos, y una buena estabilidad en agua. Este estudio forma parte de un ejercicio interlaboratorio para comprobar la fiabilidad y reproducibilidad de las distribuciones de tamaño determinadas mediante el protocolo NANoREG-ECOTOX. La siguiente etapa consistirá en el análisis de la bibliografía existente sobre solubilidad y capacidad de adsorción de metales traza de nanomateriales, para identificar las muestras más adecuadas para diseñar experimentos de análisis mediante DGT.

4. Conclusiones

4.1 DGT

Con los distintos experimentos realizados se ha podido profundizar en el estudio de los efectos cinéticos y electrostáticos presentes en esta técnica.

1. Según los experimentos llevados a cabo para metal libre, se podría concluir que el Mg^{2+} tiene limitaciones cinéticas para su acumulación con Chelex a fuerza iónica superior a 0.01M. A medida que disminuye la fuerza iónica hay una mayor acumulación total de metal, llegando a alcanzarse un comportamiento “perfect sink” de la resina a valores de fuerza iónica menores de 6 mM.

I (mM)	Mg^{2+}	Ni^{2+}	Cu^{2+}	Cd^{2+}
0.577	14.556	15.079	15.473	15.046
1.48	15.150	16.635	16.675	17.047
6.21	15.443	15.434	16.236	15.279
10.40	12.787	14.793	15.072	14.726
98.80	6.910	16.555	17.055	17.252
470.30	1.657	14.603	14.789	14.649

Tabla 13. Acumulación total de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Cd^{2+} para para valores de fuerza iónica comprendida entre 0.557×10^{-3} y 0.5 mol L^{-1} .

2. En los experimentos llevados a cabo para complejos cargados negativamente (MNTA) y en el caso particular del NiNTA parcialmente lábil, se han propuestos dos efectos que podrían explicar los resultados obtenidos:
 - La influencia de la variación de $c_{\text{T,R}}$ en la constante cinética de disociación del complejo k_d según el mecanismo de ligando asistido, que dice que a mayor $c_{\text{T,R}}$, la constante de disociación del complejo aumenta y por lo tanto hay una mayor acumulación total y un menor %back.
 - La distribución de los puntos de unión en la capa de resina. De este estudio se concluye que para los complejos muy lábiles o inertes (CoNTA y CdNTA), la distribución de los puntos de unión en la capa de resina no muestra influencia sobre los perfiles de concentración, en la acumulación total de metal y sobre el grado de labilidad complejos. En

cambio, para los complejos parcialmente lábiles (NiNTA), si existe una influencia de la homogeneidad, aumentando con la concentración total de resina cT,R, dando lugar a una mayor acumulación total y a un menor %back.

4.2 Nanomateriales

Con los experimentos realizados hasta ahora se puede concluir que:

3. En general, se obtiene una buena reproducibilidad en los resultados obtenidos siguiendo el protocolo NANoREG-ECOTOX.
4. Para todos los nanomateriales se obtuvieron valores medios de la distribución de tamaños por encima del tamaño nominal de las partículas primarias a excepción de la plata, por lo que se concluye que hay un cierto grado de agregación/aglomeración en los materiales sólidos de partida, que no es posible revertir por completo mediante el tratamiento de dispersión mediante ultrasonidos.

5. Futuras propuestas de trabajo

5.1 DGT

- ✓ Se quiere profundizar en el estudio de los procesos que tienen lugar en la acumulación de metales con limitaciones cinéticas en DGT. Este estudio debe incluir el efecto electrostático de acumulación territorial al disminuir la fuerza iónica y el efecto cinético de incremento de la constante de enlace. El objetivo es el reconocimiento experimental de la presencia de estos factores y el disponer de un marco teórico que permita interpretar cuantitativamente las acumulaciones.
- ✓ Para evitar los procesos de ajuste simultáneo de un alto número de parámetros, se pretenden diseñar experimentos que permitan determinar de forma individual parámetros del sistema. Por ejemplo, se plantea si los factores electrostáticos de preacumulación pueden medirse analizando las acumulaciones de cationes que no se enlacen específicamente a la resina o que este enlace sea despreciable. Se ensaya con Na^+ y con Rb^+ .
- ✓ Se pretende estudiar si el mecanismo de disociación asistida es de aplicación general a todos los complejos o si se restringe sólo a algunos de ellos.

- ✓ Es de interés también determinar la influencia de la fuerza iónica en las constantes cinéticas de reacciones en las que participen los sitios de resina. En estas reacciones debe tenerse en cuenta el tamaño coloidal de las partículas de chelex.
- ✓ El desarrollo de nuevos modelos teóricos para estudiar la influencia de los dos principales efectos que tienen lugar en esta técnica: el efecto electrostático y el efecto cinético.
- ✓ Una vez se tengan los conceptos básicos, la siguiente etapa será el estudio de complejos con mayor interés que son los que se dan con la materia orgánica natural. El estudio de los efectos electrostáticos y cinéticos que puedan darse entre los complejos negativamente cargados entre metales y Ácidos Húmicos o Fúlvicos y la resina a la baja fuerza iónica de las aguas naturales.

5.2 Nanomateriales

- ✓ Se desea estudiar la disponibilidad de nanopartículas metálicas y las especies metálicas disueltas asociadas a las mismas en medios naturales. Para ello se llevará a cabo el estudio del efecto de los procesos de solubilidad (para nanopartículas de ZnO[13] y Ag), transporte, agregación, sedimentación y estabilidad en experimentos DGT.

5. Bibliografía

- [1] J. Buffle *et al.*, Environ. Sci. Technol. 43, 7170-7174, 2009.
- [2] H. Zhang, W. Davison, Anal. Chem., 67, 3391-3400, 1995.
- [3] M. Jiménez-Piedrahita, A. Altier, J. Cecilia, C. Rey-Castro, J. Galceran, J. Puy, Anal. Chim. Acta, in press, 2015.
- [4] Hermann Van Leeuwen *et al.*, Environ. Sci. Technol. 39, 8545-8556, 2005.
- [5] J. R. Lead *et al.*, Aquat. Geochem, 3, 213-232, 1997.
- [6] *Chelating Resin Instruction Manual*. Bio-Rad Laboratories, 1993.
- [7] A. Fick, Phil. Mag. J. Sci., 10, 30-39, 1855.

- [8] E. R. Unsworth *et al.*, Environ. Sci. Technol. 39, 624-630, 2005.
- [9] R. Mihail, J. Nanopart. Res., 13, 427-445, 2011.
- [10] D. Goveia *et al.*, Langmuir, 27, 7877-7883, 2011.
- [11] V. H. Grassian, J. Phys. Chem. C, 112, 18303-18313, 2008.
- [12] Q Mu *et al.*, Chem. Res. Toxicol., 27, 558-567, 2014.
- [13] Sara Cruz-González, Tesis doctoral, Universidad de Lleida, 2015.