



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TÉCNICAS DE MICROEXTRACCIÓN CON NANOMATERIALES
APLICADAS A LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES INORGÁNICAS
CON ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Juan José Marín Hernández

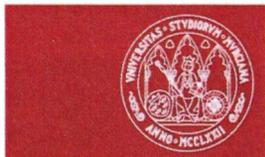
2019



TÉCNICAS DE MICROEXTRACCIÓN CON NANOMATERIALES APLICADAS A LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES INORGÁNICAS CON ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Memoria presentada para optar al Grado de Doctor en Química

Fdo: Juan José Marín Hernández

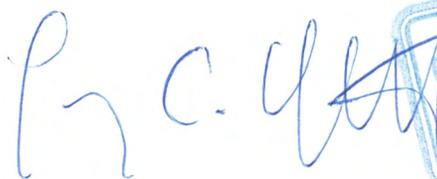


D. Joaquín Ángel Ortuño Sánchez-Pedreño, Catedrático de Universidad del Área de Química Analítica y director del Departamento de Química Analítica

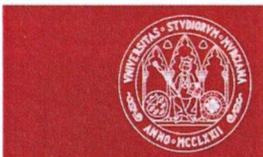
INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada “TÉCNICAS DE MICROEXTRACCIÓN CON NANOMATERIALES APLICADAS A LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES INORGÁNICAS CON ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA” ha sido realizada por D. Juan José Marín Hernández, bajo la inmediata dirección y supervisión de D. Manuel Hernández Córdoba y D. Ignacio Francisco López García y que el Departamento ha dado su conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado.

Murcia, 14 de mayo de 2019




Fdo.: Joaquín Ángel Ortuño Sánchez-Pedreño



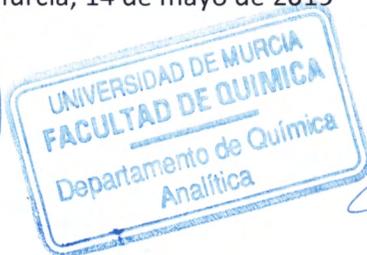
D. Manuel Hernández Córdoba y D. Ignacio Francisco López García, Catedráticos de Universidad del Área de Química Analítica en el Departamento de Química Analítica

AUTORIZAN:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “TÉCNICAS DE MICROEXTRACCIÓN CON NANOMATERIALES APLICADAS A LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES INORGÁNICAS CON ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA”, realizada por D. Juan José Marín Hernández bajo nuestra inmediata dirección y supervisión en el Departamento de Química Analítica, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

Murcia, 14 de mayo de 2019

Fdo.: Manuel Hernández Córdoba



Fdo.: Ignacio Francisco López García

Facultad de Química
Departamento de Química Analítica

Campus Universitario de Espinardo. 30100 Murcia
T. 868 88 7409 – F. 868 88 7682 – www.um.es/dp-quimica-analitica/

En primer lugar, quiero agradecer al Departamento de Química Analítica de la Universidad de Murcia el volver a acogerme tras varios años lejos del mismo, especialmente a mis directores de tesis, sin los cuales no hubiese sido posible la realización de la misma.

A D. Manuel Hernández Córdoba que no dudó en confiar en mí cuando le propuse regresar a la investigación para la realización de este trabajo, así como todos los consejos y apoyo que me dio y me sigue dando desde la finalización de mis estudios de licenciatura hace ya varios años.

A D. Ignacio López García por todo su esfuerzo y muchas horas de dedicación, compartiendo conmigo sus conocimientos, haciendo mucho más fácil y llevadero este trabajo. Ha sido todo un placer y un privilegio trabajar a su lado.

No me puedo olvidar de todas las personas que componen este departamento, comenzando por Dña. Pilar Viñas López-Peigrín que tampoco dudó en mi vuelta al laboratorio y con quien realicé mi primer trabajo de investigación. Junto a ella debo dar las gracias también a Dña. Natalia Campillo Seva, entre otras razones por ser un ejemplo de superación ante las dificultades más difíciles.

Debo mencionar al resto de profesores Joaquín, Marisol, Gali, Virginia y, especialmente, a Carmen con quien también llevé a cabo mi primer trabajo y quien siempre ha estado ahí para resolver cualquier duda, sin olvidarme de Miguel Ángel ni de Elena, que siempre han estado cuando los he necesitado.

Una gran sorpresa ha sido la amistad que ha surgido en estos años con María José, con quien he trabajado muchas horas en el laboratorio, Marta, Ainhoa, Natalia Arroyo, nueva profesora de departamento, María y Javi, con quienes espero seguir en contacto durante muchos años.

Debo mencionar a muchos de mis alumnos que en todo momento se han interesado por mis estudios de doctorado.

Personalmente debo mencionar a mis suegros Jesús y Encarnita por sus ánimos y esfuerzo para que pudiera disponer de más tiempo de dedicación a este trabajo.

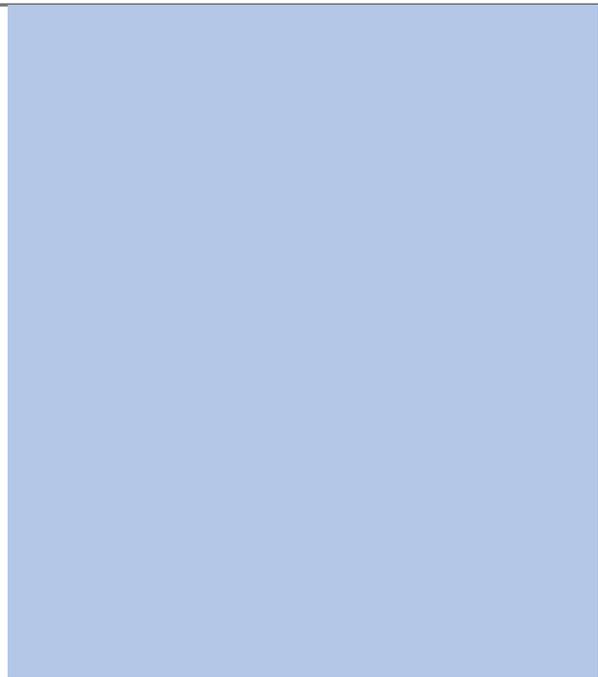
Debo mencionar a mi padre que no ha podido disfrutar de este trabajo, pero seguro que está orgulloso como siempre hizo, de cada paso que he ido dando en mi vida.

Finalmente, tengo que resaltar de forma especial a los pilares de mi vida, mi esposa y mi hijo, que se han ilusionado tanto como yo de mi vuelta a la universidad, haciendo un gran esfuerzo y mostrándome un gran apoyo en todo momento, sin los cuales no hubiese sido posible la finalización de este trabajo. En este departamento conocí a Raquel, por lo que ella conoce bien esta aventura y, en todo momento, me ha sabido escuchar y comprender. Una gran alegría me la he llevado del interés de mi pequeño Juanjo por la universidad y, especialmente, por el laboratorio, lo cual ha sido muy gratificante y me ha ayudado mucho a seguir adelante con este proyecto. Muchas gracias. Os quiero.

Dedico esta tesis doctoral a Raquel y Juanjo, que son todo para mí.

El trabajo de investigación realizado en esta Memoria ha sido subvencionado por los siguientes organismos:

- Fundación Séneca de la Región Autónoma de Murcia con cargo al proyecto 19888 de la convocatoria de Grupos de Excelencia de la Región de Murcia.
- Ministerio de Economía y Empresa de España, con cargo al proyecto CTQ2015-68049-R.
- Comisión Europea con cargo a los fondos FEDER/ERDF.



ÍNDICE



ÍNDICE

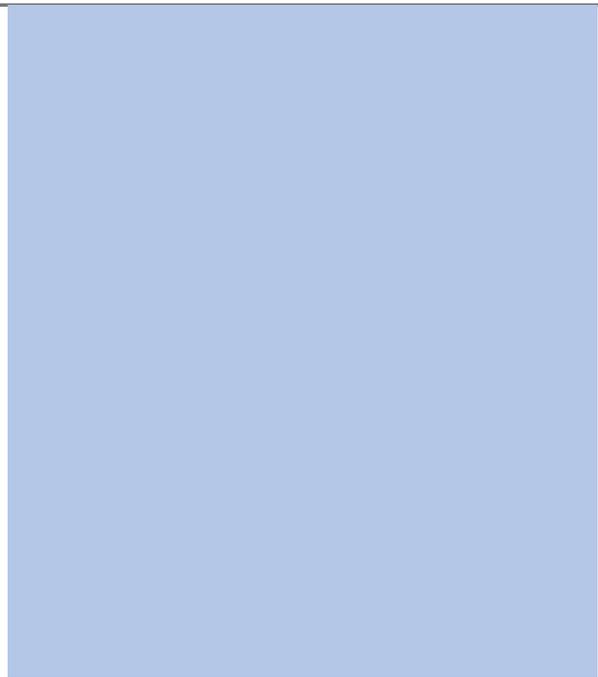
Objeto	1
CAPÍTULO I. Introducción	7
I.1. Introducción al uso de nanomateriales en Química Analítica	11
I.2. Clasificación de nanomateriales	14
I.2.1. Nanopartículas metálicas (MeNPs).....	14
I.2.2. Nanopartículas de óxidos mixtos metálicos (MONPs)	16
I.2.3. Nanopartículas magnéticas (MNPs).....	17
I.2.4. Nanomateriales de carbono.....	19
I.2.4.1. Fullerenos	21
I.2.4.2. Nanotubos de carbono (CNTs).....	21
I.2.4.3. Grafeno (G) y Óxido de grafeno (GO)	22
I.2.4.4. Celulosa microcristalina (MCC).....	23
I.2.5. Nanomateriales de silicio	24
I.2.6. Nanomateriales basados en polímeros.....	26
I.2.6.1. Polímeros orgánicos.....	26
I.2.6.2. Polímeros inorgánicos e híbridos.....	26
I.2.6.3. Polímeros impresos molecularmente (MIPs)	27
I.3. Aplicación de los nanomateriales en Química Analítica	28
I.3.1. Química Analítica Verde	28
I.3.2. Miniaturización	30
I.3.3. Empleo de nanomateriales en la determinación y especiación de metales....	31
I.4. Técnicas de Microextracción	32
I.4.1. Extracción en fase sólida (SPE).....	33
I.4.2. Microextracción en fase sólida (SPME).....	33
I.4.3. Extracción en fase sólida magnética (MSPE).....	35
I.4.4. Microextracción en fase sólida dispersiva (DSPME)	36
I.4.5. Extracción en punto de nube (CPE).....	37
I.5. Bibliografía	39
CAPÍTULO II. Empleo del óxido de grafeno en microextracción dispersiva	51
CAPÍTULO II.1. Determinación de Plomo y Cadmio	53
II.1.1. Introducción.....	55
II.1.2. Parte experimental	60
II.1.2.1. Instrumentación	60
II.1.2.2. Reactivos y muestras	61
II.1.2.3. Preparación de Ag@rGO	62
II.1.2.4. Procedimiento para la determinación de cadmio y plomo	63
II.1.3. Resultados y discusión	65
II.1.3.1. Selección del material adsorbente y efecto del pH.....	65
II.1.3.2. Efecto de la cantidad de Ag@rGO	68
II.1.3.3. Optimización de la separación por punto de nube	70
II.1.3.4. Programa de calentamiento en ETAAS.....	73
II.1.3.5. Calibración	75
II.1.3.6. Determinación y especiación de cadmio y plomo en muestras de agua ..	76
II.1.4. Conclusiones	76
II.1.5. Bibliografía	80

CAPÍTULO II.2. Determinación de Vanadio	85
II.2.1. Introducción	87
II.2.2. Parte experimental.....	89
II.2.2.1. Instrumentación.....	89
II.2.2.2. Reactivos y muestras	90
II.2.2.3. Procedimiento para la determinación de vanadio total.....	91
II.2.2.4. Procedimiento para la determinación de vanadio (IV).....	92
II.2.3. Resultados y discusión	92
II.2.3.1. Efecto del pH.....	92
II.2.3.2. Efecto de la cantidad de óxido de grafeno	97
II.2.3.3. Separación de la fase sólida tras la adsorción	98
II.2.3.4. Tratamiento de la fase condensada.....	100
II.2.3.5. Optimización del programa de calentamiento	101
II.2.3.6. Especiación de V(IV) y V(V)	103
II.2.3.7. Calibración	105
II.2.3.8. Determinación y especiación de vanadio en muestras de agua y cerveza	105
II.2.4. Conclusiones	106
II.2.5. Bibliografía	110
CAPÍTULO III. Empleo de celulosa microcristalina en microextracción dispersiva	121
III.1. Introducción	125
III.2. Parte experimental.....	130
III.2.1. Instrumentación	130
III.2.2. Reactivos y muestras	131
III.2.3. Procedimiento para la determinación de cromo (III).....	132
III.2.4. Procedimiento para la determinación de cromo total.....	133
III.3. Resultados y discusión	133
III.3.1. Efecto del pH	135
III.3.2. Efecto de la concentración de celulosa microcristalina	136
III.3.3. Efecto de la presencia de electrolitos en la capacidad de retención.....	138
III.3.4. Optimización del proceso de extracción en punto de nube	141
III.3.5. Retroextracción del cromo (III) retenido en la fase condensada y MCC.....	142
III.3.6. Especiación de cromo (III) y cromo (VI).....	143
III.3.7. Optimización del programa de calentamiento.....	144
III.3.8. Calibración.....	146
III.3.9. Determinación de cromo (III) y cromo (VI) en muestras de agua	147
III.4. Conclusiones	147
III.5. Bibliografía	151
CAPÍTULO IV. Empleo de ferrita en microextracción dispersiva	157
CAPÍTULO IV-1. Determinación de Plata	159
IV.1.1. Introducción	161
IV.1.1.1. La ferrita como material adsorbente en Química Analítica.....	161
IV.1.1.2. Empleo de Ag (I) y Ag (0) como agentes antimicrobianos	167
IV.1.2. Parte experimental.....	171
IV.1.2.1. Instrumentación.....	171
IV.1.2.2. Reactivos	173
IV.1.2.3. Muestras estudiadas.....	173

IV.1.2.4. Síntesis del material adsorbente	173
IV.1.2.5. Procedimiento propuesto	174
IV.1.2.6. Tratamiento de las muestras estudiadas.....	174
IV.1.3. Resultados y discusión	175
IV.1.3.1. Efecto del pH en la retención de Ag(I) y Ag(0).....	177
IV.1.3.2. Efecto de la masa de Fe ₃ O ₄ NPs en la retención de Ag(I) y Ag(0).....	179
IV.1.3.3. Estudio por microscopía de barrido electrónico de las Fe ₃ O ₄ NPs sintetizadas	180
IV.1.3.4. Especiación de Ag (I) y Ag (0).....	180
IV.1.3.5. Determinación de la plata retenida en las nanopartículas de ferrita..	181
IV.1.3.6. Efecto de la relación Ag(I)/Ag(0).....	190
IV.1.3.7. Efecto de otras especies en la determinación de Ag (I) y Ag (0)	190
IV.1.3.8. Optimización del programa de calentamiento	191
IV.1.3.9. Calibración	194
IV.1.3.10. Aplicación del procedimiento propuesto a muestras reales	195
IV.1.4. Conclusiones	197
IV.1.5. Bibliografía	201
CAPÍTULO IV-2. Determinación de Cromo	207
IV.2.1. Introducción	209
IV.2.2. Parte experimental	217
IV.2.2.1 Aparatos.....	217
IV.2.2.2 Reactivos.....	217
IV.2.2.3 Muestras y materiales de referencia.....	218
IV.2.2.4 Purificación de las disoluciones de Fe(III) y Fe(II)	219
IV.2.2.5 Síntesis del material adsorbente	219
IV.2.2.6 Procedimiento propuesto para la determinación de Cr(VI)	219
IV.2.2.7 Procedimiento propuesto para la determinación de Cr total	220
IV.2.3. Resultados y discusión	220
IV.2.3.1 Ensayos preliminares	220
IV.2.3.2 Efecto del pH en la retención de Cr(III) y Cr(VI).....	221
IV.2.3.2 Efecto de la cantidad de material adsorbente	224
IV.2.3.3 Estrategia para la especiación	225
IV.2.3.4 Desorción de las especies del cromo del material adsorbente	228
IV.2.3.5 Programa de calentamiento	231
IV.2.3.6 Calibración	232
IV.2.3.7 Aplicación del procedimiento propuesto a muestras reales	233
IV.2.4. Conclusiones	234
IV.2.5. Bibliografía	237
CAPÍTULO IV-3. Determinación de Arsénico	243
IV.3.1. Introducción	245
IV.3.2. Experimental	247
IV.3.2.1. Instrumentación	247
IV.3.2.2. Reactivos y muestras	248
IV.3.2.3. Síntesis de las nanopartículas de ferrita	250
IV.3.2.4. Determinación de arsénico total (As(III) + As(V) + MMA)	250
IV.3.2.5. Determinación de As(V) + MMA.....	250
IV.3.2.6. Determinación de As(III) + As(V).....	251
IV.3.2.7. Preparación de las infusiones de muestras de té.....	251
IV.3.2.8. Preparación de las muestras de agua	252
IV.3.3. Resultados y discusión	252

IV.3.3.1. Ensayos previos y selección del material adsorbente	252
IV.3.3.2. Efecto del pH.....	253
IV.3.3.3. Determinación de arsénico en la fase adsorbente	256
IV.3.3.4. Optimización del programa de calentamiento en ETAAS.....	257
IV.3.3.5. Composición del medio de suspensión.....	259
IV.3.3.6. Efecto del 2,3-dimercapto-1-propanol (BAL).....	260
IV.3.3.7. Efecto del tiosulfato como reductor	263
IV.3.3.8. Estrategia del análisis de especiación	264
IV.3.3.9. Calibración	267
IV.3.3.10. Determinación de As(III), As(V) y MMA en infusiones de plantas	268
IV.3.3.11. Determinación de As(III), As(V) y MMA en muestras de agua.....	269
IV.3.4. Conclusiones.....	270
IV.3.5. Bibliografía	275

CONCLUSIONES	283
--------------------	-----



OBJETO



El trabajo que se presenta en esta Memoria está enmarcado dentro de una línea de investigación del grupo “Métodos Instrumentales Aplicados” (AIM, <http://www.um.es/aim>) de la Universidad de Murcia que se ocupa del desarrollo y puesta a punto de procedimientos para el tratamiento y determinación de metales, generalmente tóxicos, en muestras diversas, preferentemente alimentos, bebidas y medioambientales. Se intenta aportar un enfoque nuevo a la etapa de tratamiento previo de la muestra disminuyendo al máximo su manipulación e incorporando elevados factores de enriquecimiento que aumentan la sensibilidad en la determinación.

En la determinación de especies metálicas hay dos técnicas analíticas que aportan excelentes niveles de sensibilidad: Espectrometría de Absorción Atómica con Calentamiento Electrotérmico (ETAAS) y Plasma de Acoplamiento Inductivo con Espectrometría de Masas (ICP-MS). Sin embargo, cuando el nivel de concentración es muy bajo o se precisa realizar la especiación, los niveles de sensibilidad son insuficientes. Para superar este escollo es preciso incorporar procedimientos de preconcentración. Nuestro trabajo se ha dirigido al estudio y propuesta de procedimientos de preconcentración que, empleando reactivos y/o materiales sencillos de obtener y de fácil manipulación, permitan alcanzar elevados factores de enriquecimiento.

La necesidad de determinar la presencia de las distintas formas de los iones metálicos (especiación) viene dada por la muy diferente toxicidad que presentan dentro del mismo elemento. Esto resulta particularmente interesante cuando se trata de muestras que participan en la cadena alimentaria. En ocasiones, la similitud de comportamiento químico de las distintas especies de un metal o metaloide hace que sea necesario recurrir a procedimientos de separación. En nuestro caso, y siempre que sea posible se recurrirá a procesos de separación no cromatográficos con el fin de conseguir mayor rapidez en esta etapa. La opción de separación cromatográfica ya se aborda en otra de las líneas de nuestro grupo de investigación, centrada especialmente en la determinación de especies orgánicas.

Es fácil imaginar que, si los niveles totales de la especie metálica son bajos, aún más lo son los de las distintas formas en las que se presenta. Por tanto, esta temática supone un reto muy importante que en esta Memoria se afronta con el empleo de materiales adsorbentes de tamaño nanométrico, sencillos en la obtención y asequibles, dispersos en la fase aceptora para conseguir rápidas separaciones y empleando ETAAS como sistema de medida final. En efecto, la técnica ETAAS presenta unas características de sensibilidad que la hacen muy competitiva al tiempo que perfectamente compatible con el empleo de microvolúmenes, es de relativo bajo costo de

adquisición y mantenimiento y está presente hoy en día en cualquier laboratorio de análisis de rutina.

Esta Memoria se ha estructurado en cuatro capítulos que concluyen con la propuesta de seis procedimientos analíticos para la preconcentración, especiación y determinación de varias especies inorgánicas en diversos materiales.

En el primer capítulo se presenta un estudio bibliográfico sobre las publicaciones más recientes de las distintas técnicas de microextracción derivando hacia el proceso de microextracción dispersiva con materiales sólidos, base de esta Memoria.

En el capítulo II se trata el empleo del óxido de grafeno y su producto de reducción incompleta, el óxido de grafeno reducido, como materiales adsorbentes adecuados para la retención de especies metálicas. Se optimizan las condiciones experimentales para la adsorción de Cd, Pb, V(IV) y V(V) en una pequeña cantidad de nanomaterial disperso en la fase dadora. Se estudian las condiciones para su recuperación en un microvolumen de fase aceptora y su determinación por ETAAS. También se aborda la separación del material adsorbente de la fase aceptora mediante el empleo de la formación de micelas con el uso de tensioactivos no iónicos. Los procedimientos propuestos se han aplicado a la determinación de estas especies en muestras de agua de distinta procedencia.

El empleo de celulosa nanométrica y/o microcristalina como material adsorbente en microextracción en fase sólida dispersa (DSPME) se aborda en el capítulo III de la Memoria. Este material se ha aplicado a la especiación de Cr(III) y Cr(VI) en muestra de agua alcanzando unos niveles de sensibilidad de ultratrazas.

El capítulo IV estudia el empleo de las partículas magnéticas originadas por los óxidos dobles de Fe(III) y Fe(II) en sistemas DSPME. En esta ocasión se propone un nuevo procedimiento para la formación de este material que permite aumentar su capacidad de adsorción. Estos óxidos metálicos se han mostrado adecuados para la adsorción de As(III), As(V), metilarsonato de sodio (MMA), Ag(I), Ag(0), Cr(III) y Cr(VI). Cuando se emplea este material la separación de la fase aceptora resulta muy sencilla con la simple aplicación del campo magnético generado por un imán de neodimio. Los procedimientos propuestos se han aplicado a una amplia variedad de matrices, fundamentalmente acuosas.

Entendemos que los procedimientos y desarrollos presentados son una buena muestra de la potencia del empleo de ETAAS como sistema de determinación acoplado a procedimientos sen-

cillos y rápidos de separación que permiten alcanzar rápidamente factores de enriquecimiento superiores a 100. El inconveniente de la determinación secuencial, propio de esta técnica, se compensa con la sencillez y asequibilidad de la metodología, lo que la hace, en su conjunto, competir favorablemente con otras técnicas más sofisticadas y de mayor costo y mantenimiento. Son muchas las situaciones y problemas analíticos que se le plantean al pequeño y mediano laboratorio en el campo del análisis de trazas de metales y metaloides. El Grupo AIM ha trabajado en los últimos años en la puesta a punto de procedimientos que permitan solventar estas demandas mediante ETAAS sin necesidad de recurrir a ICP-MS, técnica mucho más cara y fuera del alcance de muchos laboratorios de presupuesto reducido. Lo aquí resumido es tan solo parte de los esfuerzos realizados en este sentido.

Panorámica de las técnicas de microextracción en Química Analítica con énfasis en las separaciones que emplean nanomateriales

CAPÍTULO I

I. INTRODUCCIÓN

Contenido

I.1. Introducción al uso de nanomateriales en Química Analítica	11
I.2. Clasificación de nanomateriales.....	14
I.2.1. Nanopartículas metálicas (MeNPs)	14
I.2.2. Nanopartículas de óxidos mixtos metálicos (MONPs)	16
I.2.3. Nanopartículas magnéticas (MNPs)	17
I.2.4. Nanomateriales de carbono.....	19
I.2.4.1. Fullerenos.....	21
I.2.4.2. Nanotubos de carbono (CNTs)	21
I.2.4.3. Grafeno (G) y Óxido de grafeno (GO).....	22
I.2.4.4. Celulosa microcristalina (MCC)	23
I.2.5. Nanomateriales de silicio	24
I.2.6. Nanomateriales basados en polímeros.....	26
I.2.6.1. Polímeros orgánicos	26
I.2.6.2. Polímeros inorgánicos e híbridos	26
I.2.6.3. Polímeros impresos molecularmente (MIPs).....	28
I.3. Aplicación de los nanomateriales en Química Analítica	28
I.3.1. Química Analítica Verde.....	28
I.3.2. Miniaturización	30
I.3.3. Empleo de nanomateriales en la determinación y especiación de metales.....	31
I.4. Técnicas de Microextracción.....	32
I.4.1. Extracción en fase sólida (SPE).....	33
I.4.2. Microextracción en fase sólida (SPME).....	33
I.4.3. Extracción en fase sólida magnética (MSPE).....	35
I.4.4. Microextracción en fase sólida dispersiva (DSPME)	36
I.4.5. Extracción en punto de nube (CPE).....	37
I.5. Bibliografía	40

I.1. Introducción al uso de nanomateriales en Química Analítica

La Química Analítica necesita una mejora continua a través de la optimización de los métodos analíticos debido a la exigencia de detectar y cuantificar cantidades cada vez más pequeñas de los diferentes analitos presentes en las distintas matrices a analizar. El objetivo general es determinar la concentración de un analito en una muestra. En muchas ocasiones los analitos están presentes en matrices complejas, en las que el análisis directo no es posible debido a la falta de selectividad por la presencia de interferentes y la falta de sensibilidad de los instrumentos disponibles. Por lo tanto, usualmente es necesario un paso de extracción previo, que involucre el aislamiento y enriquecimiento de los analitos.

A este desafío podemos responder desde distintos enfoques. Uno de ellos es el desarrollo de nuevos y más eficaces sistemas de transferencia de fases (extracción) que permitan no solo aumentar la concentración del analito, sino también, y simultáneamente, aislarlo de una matriz compleja. En esta memoria nos vamos a centrar en la transferencia desde fases líquidas a fases sólidas, preferentemente dispersas, para conseguir unos tiempos de transferencia muy cortos.

Para alcanzar estos objetivos necesitamos que el material sorbente se encuentre en un tamaño de partícula pequeño con el fin de que ofrezca una elevada superficie activa de intercambio. En los últimos años, el empleo de diversos tipos de nanomateriales ha centrado la atención de los investigadores como sorbentes en técnicas de extracción, evitando en gran medida el uso de reactivos y disolventes altamente tóxicos, lo que nos dirige hacia una “química verde” respetuosa con el Medio Ambiente.

La síntesis y caracterización de nanomateriales (NM), materiales con al menos una dimensión en el rango de 1 a 100 nm, se ha convertido en un área de investigación muy activa y productiva. La determinación de la estructura de los NM (tamaño, forma, topografía de la superficie, medios circundantes y su disposición en el espacio), así como el estudio de sus propiedades, está directamente relacionada con posibles aplicaciones útiles y prometedoras [1]. Asimismo, la aplicación de estos materiales en diferentes campos como medicina, industria, productos de la vida diaria, remediación, etc., muestra un desarrollo impresionante. Una de las áreas en las que han encontrado abundantes aplicaciones es la Química Analítica.

En el caso de la determinación de especies metálicas, temática que aborda esta memoria, si bien resulta importante conocer la concentración total de un elemento, no menos importante es, en el caso de que existan, conocer las concentraciones de las distintas formas químicas de ese elemento en la muestra, esto es, alcanzar su especiación. Resulta evidente que esta necesi-

dad deriva de la distinta reactividad química de las diferentes especies en disolución de los elementos. En efecto, para un mismo elemento, por ejemplo, es fácil encontrar formas químicas muy tóxicas y otras no perjudiciales para el ser humano. Si, además, la concentración total de los elementos es muy baja, resulta fácil comprender que existe una gran dificultad para cuantificar los contenidos de las distintas formas en las que se encuentra distribuido en la muestra.

Para llevar a cabo esta tarea se recurre al empleo de técnicas de separación (generalmente la cromatografía, en cualquiera de sus variantes) en combinación con técnicas ultrasensibles de detección de elementos como el plasma de acoplamiento inductivo con detección por espectrometría de masas (ICP-MS). Esta combinación conduce a buenos resultados en la mayoría de las situaciones, pero exige el empleo de instrumentación muy cara y de costoso mantenimiento, al tiempo que disponer de usuarios muy experimentados.

En los últimos años, muchos investigadores han trabajado en el desarrollo de procedimientos no cromatográficos para separaciones sencillas (involucrando unas pocas especies) del mismo elemento con excelentes resultados. La combinación de estas metodologías con una técnica atómica sencilla al tiempo que sensible y compatible con el empleo de microvolúmenes, como es el caso de la Espectroscopia de Absorción Atómica con calentamiento electrotérmico (ETAAS), puede ser una excelente alternativa. Un buen conocimiento sobre las propiedades de las diferentes especies ha permitido el desarrollo de técnicas de separación no cromatográficas que, unidas a ETAAS, proporcionan la posibilidad de la especiación de un gran número de metales. Además, estas estrategias no cromatográficas consumen menos tiempo, son más rentables y están al alcance de cualquier laboratorio presentando, también, límites de detección muy competitivos. Realmente, el análisis con especiación no cromatográfica resulta una alternativa muy interesante, sobre todo en muestras de agua y alimentos [2].

El término nanomaterial se refiere a materiales con tamaño de partícula comprendido entre uno y varios centenares de nanómetros. Las propiedades físicas y químicas de estos materiales son muy diferentes a las que tiene cuando se encuentran en los habituales tamaños. Presentan una gran área superficial específica y un mayor número de átomos en la superficie, lo que afecta al comportamiento termodinámico de la partícula. Los átomos de la superficie necesitan menos energía para moverse porque hay menos átomos en el interior de la partícula y requieren menos energía para vencer las fuerzas intramoleculares de atracción. La Figura I.1 muestra una escala de tamaños orientativa y un esquema del incremento superficial que se consigue con el empleo de material nanométrico.

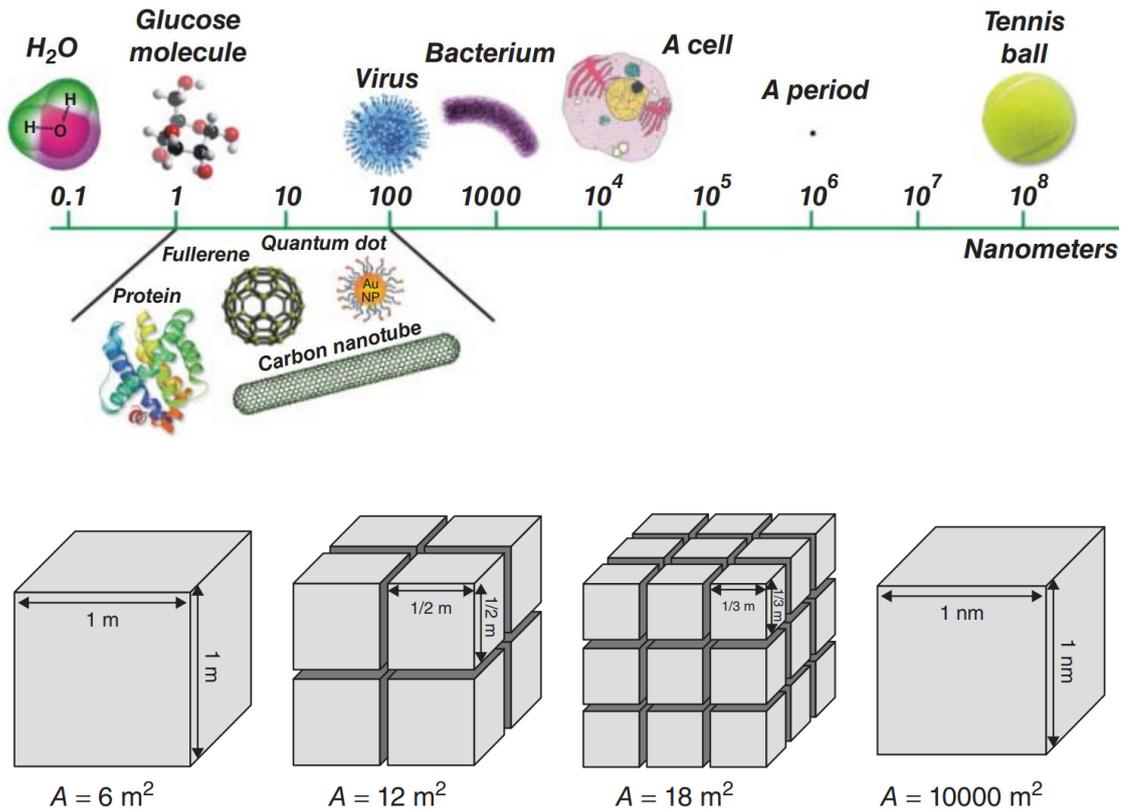


Figura I.1: Escala de tamaños y esquema que muestra el incremento de área superficial que se produce al reducir el tamaño de partícula. Tomado de [3].

Desde el punto de vista de la Química Analítica, los materiales nanoestructurados pueden proporcionar varias ventajas derivadas de la dimensión, topografía, composición química y propiedades físicas. Una de las aplicaciones más relevantes de los nanomateriales está en el campo del pretratamiento de la muestra para el análisis químico.

Los nanomateriales empleados como fases sólidas permiten el aislamiento y preconcentración de una gran variedad de analitos a través de una extracción en fase sólida que se puede llevar a cabo en diferentes formatos (columnas empaquetadas, sorbente disperso en líquidos o en membranas). En comparación con los sorbentes convencionales¹, los nanomateriales poseen una alta superficie específica, así como elevadas capacidad y velocidad de sorción, permitiendo también la retención selectiva de metales en sus diferentes estados de oxidación como es el caso de As, Se, Sb y Cr .

¹ Sobre la terminología. La interacción entre el material sólido y el analito contenido en la fase líquida puede ser de muy diferente naturaleza. Empleamos aquí un término genérico como sorbente que puede englobar los distintos casos.

Muchos investigadores han confirmado que los nanomateriales proporcionan una mayor eficiencia en la sorción de diversos compuestos en fases gaseosas o líquidas [4, 5]. Sin embargo, hay algunas limitaciones en la aplicación de nanomateriales, pues al presentar una mayor tensión superficial debido a su pequeño tamaño, sus partículas tienden a aglomerarse disminuyendo así su capacidad de interacción, pues disminuye el área disponible para ello. Además, en el caso de muestras con fuerza iónica elevada, como ocurre en la mayoría de muestras biológicas, la coagulación también puede ocurrir durante el procedimiento analítico, con la consiguiente pérdida en efectividad de las nanopartículas [6]. No obstante, como se verá más adelante, esta aglomeración puede ser útil una vez que los analitos han sido retenidos por las nanopartículas para su posterior recolección a través de la técnica apropiada.

1.2. Clasificación de nanomateriales

Los nanomateriales pueden ser clasificados, incluso definidos, según la dimensión o la composición de los mismos. Si nos centramos en la dimensión, llamaremos nanomaterial a cualquier material con al menos una dimensión en la nanoescala, es decir, con un tamaño de partícula entre 1 y 100 nm, aunque el límite de tamaño de 100 nm ha sido cuestionado y puede ser objeto de debate [7]. En base a esta definición, los nanomateriales se pueden dividir en:

- Cerodimensional:* Todas las dimensiones están en nanoescala y es el caso de las nanopartículas.
- Unidimensional:* En este caso, solo una dimensión no está en la nanoescala, como son los nanotubos, nanocables y nanobarras.
- Bidimensional:* Son dos dimensiones las que no están en la nanoescala (nanofilms, nanocapas y nanocubiertas).
- Tridimensionales:* También se conocen como estructuras de nanomateriales, que no tienen ninguna dimensión menor de 100 nm [8].

La Figura 1.2 muestra algunos ejemplos de estas estructuras. En base a estas definiciones, desarrollamos cada uno de estos casos a continuación.

1.2.1. Nanopartículas metálicas (MeNPs)

Debido a la estabilidad química, solo han ganado una gran importancia las nanopartículas de metales nobles como el oro (AuNPs), plata (AgNPs) y platino (PtNPs), siendo las nanopartículas de oro las más interesantes desde el punto de vista de bioanálisis. Las biomoléculas

que contienen grupos tiol o aminas pueden ser adsorbidas espontáneamente en estas nanopartículas de oro, generando monocapas bien organizadas [9, 10].

Este tipo de MeNPs puede emplearse también como recubrimientos de fibras para atrapar las distintas especies en que se pueden presentar algunos metales, pues existen diferentes mecanismos de retención factibles, como son la formación de amalgamas, descomposición catalítica y la sorción tras una funcionalización adecuada. De esta forma, se han desarrollado diferentes aplicaciones para la determinación de mercurio, pues las superficies de oro presentan una gran afinidad por dicho elemento [11].

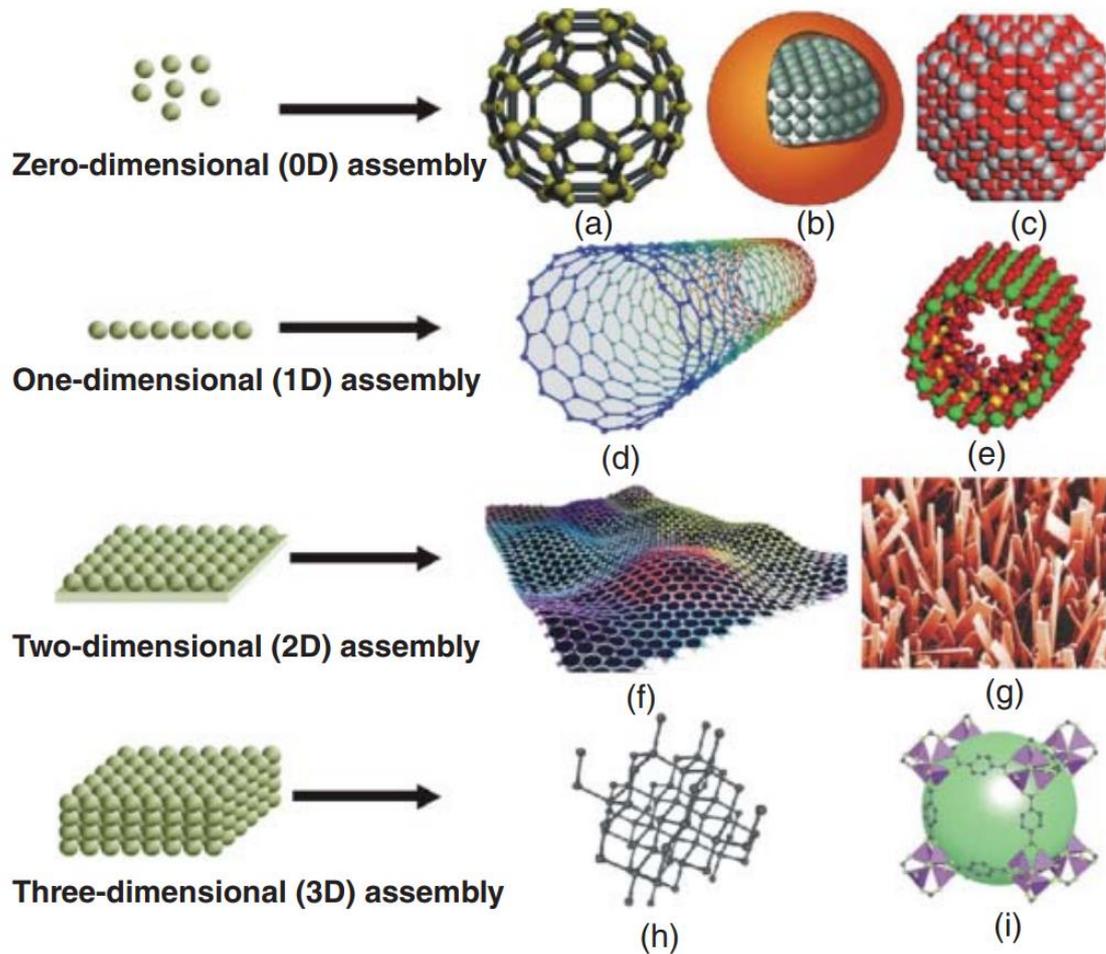


Figura I.2: Ejemplos típicos que muestran la variada dimensionalidad de los nanomateriales: (a) fullereno; (b) punto cuántico; (c) grupo metálico; (d) nanotubos de carbono; (e) nanotubos de óxido metálico; (f) grafeno; (g) nanocintas de óxido metálico; (h) nanodiamante; (i) estructuras orgánicas metálicas (MOF). Tomado de [3].

Las AgNPs y AuNPs han sido empleadas como una fase sólida para la preconcentración de Hg (II) de aguas naturales a través de la reducción a Hg(0) con NaHB₄, el cual queda adsorbido sobre dichas MeNPs. Las características del analito retenido permiten su fácil desorción térmica

como paso previo a su posterior determinación por el detector adecuado, consiguiéndose unos límites de detección mucho más bajos que los que pueden alcanzarse por la técnica habitual de vapor frío [12].

Las AgNPs en combinación con la extracción con punto de nube se han aplicado a la especiación no cromatográfica de Cr por ETAAS. Estos experimentos han sido llevados a cabo en presencia de EDTA permitiendo la determinación selectiva de Cr(VI), mientras que en ausencia del agente complejante de Cr(III), se midió el cromo total, obteniendo un límite de detección de $2 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ [13].

Otros metales como Fe y Zn, también forman estas MNPs para aplicaciones como transporte, catálisis, sensores ópticos o detección de biomoléculas [14]. La Figura I.3 muestra como el cambio de tamaño afecta a propiedades tan llamativas como el color de las suspensiones en que se encuentran.

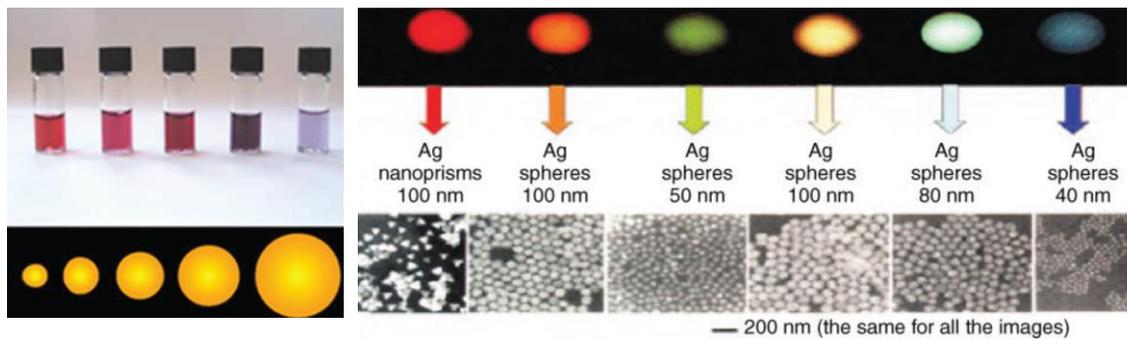


Figura I.3: Influencia del tamaño, forma y composición en la dispersión de la luz y por tanto el color resultante de las suspensiones de nanopartículas de oro (izquierda) y plata (derecha). Tomado de [15, 16]

I.2.2. Nanopartículas de óxidos mixtos metálicos (MONPs)

Dentro de esta categoría se encuentran diferentes nanopartículas inorgánicas con propiedades únicas, como una gran superficie de contacto, alta capacidad de adsorción y estabilidad ante un gran número de sustancias químicas. Pueden mencionarse, por ejemplo, Fe_3O_4 , TiO_2 [17], Al_2O_3 , ZrO_2 , MnO y CeO_2 [18], las cuales se pueden utilizar directamente, o bien funcionalizándolas con diferentes recubrimientos, aumentando así su selectividad. Además, estos nanomateriales se pueden tratar con hidróxidos dobles, materiales nanoestructurales inorgánicos bidimensionales sintéticos, teniendo gran importancia como intercambiadores iónicos [19, 20].

Los híbrido metal/óxido de metal se han usado como sorbentes para una preconcentración selectiva de analitos inorgánicos y orgánicos. Así, Wang et al. investigaron un nuevo material de nanotubos de TiO_2 tratado con Zr como sorbente en SPE, observando una fuerte adsorción para la preconcentración de bisfenol A a partir de muestras de agua [21].

Otra aplicación como material híbrido es el compuesto de SiO_2 , Al_2O_3 y TiO_2 [22]. El material híbrido fue procesado por sol-gel y utilizado como sorbente para el enriquecimiento en flujo continuo de cobre en agua y otras muestras. Costa et al. investigaron las características de adsorción en línea del sorbente híbrido $\text{Nb}_2\text{O}_5 / \text{Al}_2\text{O}_3 / \text{SiO}_2$ para niveles de trazas de Cd (II). La viabilidad del sorbente para el enriquecimiento de Cd (II) se evaluó mediante el análisis de muestras de agua, muestras de cigarrillos y materiales de referencia certificados [23].

La Figura I.4 muestra algunas imágenes capturadas por distintos investigadores relativas al aspecto morfológico de los productos obtenidos. En el caso de la obtención de ZnO por la metodología sol-gel se consiguen estructuras tridimensionales de tamaño nanométrico que tienen menor tendencia a la agregación que estructuras con baja dimensionalidad. En efecto, de las imágenes de SEM se puede ver que el producto ZnO consiste en numerosos agregados 3D de aspecto similar a las flores, con unidades que tienen diámetros en el rango de 2-3 μm . Además, cada unidad está formada por muchas nanohojas delgadas como “pétalos”, y estas nanohojas tienen un grosor de aproximadamente 30 nm. A partir de las imágenes TEM y SAED se obtiene más información sobre este producto [24].

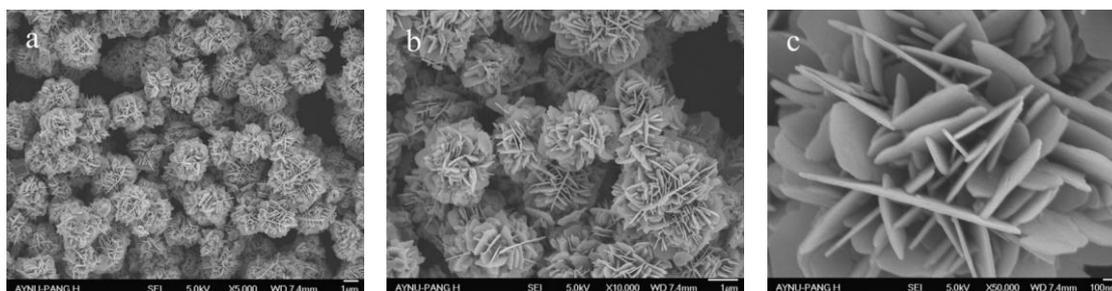


Figura I.4: Imágenes obtenidas con microscopía de barrido electrónico (SEM), microscopía de transmisión electrónica (TEM) y difracción electrónica de área seleccionada (SAED) de ZnO, fotografías a-c, respectivamente. Tomado de [24].

1.2.3. Nanopartículas magnéticas (MNPs)

Se trata de una clase de nanopartículas relativamente recientes, al menos en su aplicación en Química Analítica, que consisten en óxidos de elementos tales como el hierro, níquel, cobalto que, mediante la aplicación de un campo magnético externo, tienen la capacidad de ser

separadas del medio en que se encuentran, esto es, permiten obviar el engorroso proceso de separación por centrifugación. Sus propiedades magnéticas, que desaparecen tras la acción del campo magnético, las han convertido en unas de las más interesantes dentro de la extracción en fase sólida. Las nanopartículas de óxido de hierro (magnetita) han ganado una gran importancia debido a la facilidad en su síntesis, bajo coste y su biocompatibilidad [25-28].

Una de las principales características de los MNPs, que origina el nombre de esta categoría es su comportamiento magnético. La estructura de dominio del material ferromagnético, y por lo tanto el comportamiento magnético, se describe mediante dos parámetros principales: coercitividad y remanencia. La coercitividad depende en gran medida del tamaño de la partícula magnética. A escala nanométrica, la coercitividad disminuye hacia cero y la magnetización uniforme se produce como dominio único, lo que da como resultado materiales superparamagnéticos. Las NP superparamagnéticas tienen coercitividad nula y no tienen histéresis, es decir, se vuelven magnéticas en presencia de un campo magnético externo, pero vuelven a un estado no magnético cuando se elimina el campo magnético externo. Entonces no se observa ninguna magnetización remanente y las NPs pueden redispersarse uniformemente.

El magnetismo es una de las tendencias más atractivas hoy en día dentro de la Química Analítica, por lo que la optimización de muchos métodos analíticos se basa en los recientes avances en el desarrollo de nanomateriales magnéticos, para mejorar el rendimiento de las metodologías existentes. Las fuerzas magnéticas ofrecen grandes ventajas en aplicaciones analíticas ya que las interacciones magnéticas no están influenciadas por variables químicas como el pH, la concentración o la superficie. Además, permiten trabajar en microsistemas, lo que supone un considerable avance en las técnicas de separación [29, 30], pretratamiento de la muestra [31, 32] y desarrollo de sistemas de análisis totalmente miniaturizados [33, 34]. Debemos tener en consideración que el comportamiento a nanoescala es totalmente diferente del que muestran a nivel macroscópico [35].

Los nanomateriales como la magnetita (Fe_3O_4) o la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_4$) se han utilizado principalmente como fase sólida magnética (MSP) una vez que han sido funcionalizadas para evitar la agregación. Este recubrimiento permite la protección y estabilización de las MNPs sin alterar su recuperación con la aplicación de un campo magnético. Esto simplifica el proceso pues no necesitamos una etapa de filtración o centrifugación. Existen varios métodos de síntesis de las MNPs como, por ejemplo, la coprecipitación, descomposición térmica, sol-gel, etc. que comentaremos más adelante [36, 37].

La Figura I.5 esquematiza el mecanismo de separación general cuando se emplean partículas magnéticas. La retención de los analitos depende de los grupos funcionales que se encuentran en la superficie de las partículas. Se han descrito los siguientes tipos de interacciones: iónica, dipolo-dipolo, dipolo inducido por dipolo, enlaces de hidrógeno y fuerzas de dispersión [38].

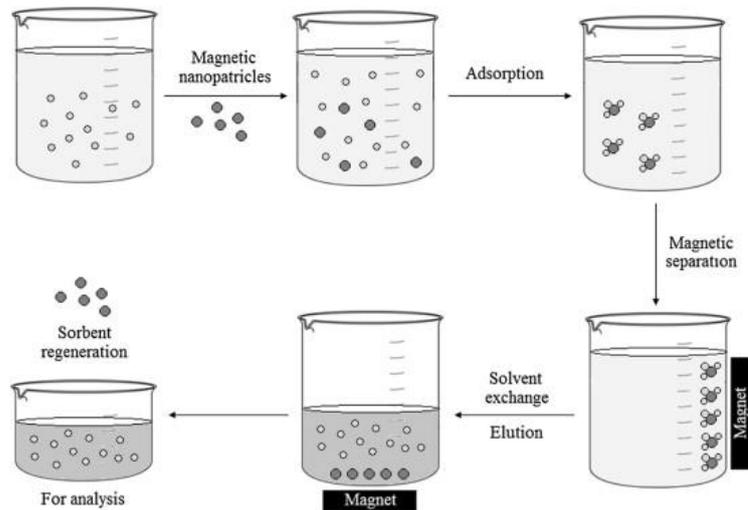


Figura I.5: Proceso de la extracción magnética en fase sólida. Tomado de [38].

La obtención del material magnético activo puede involucrar varias etapas para facilitar su manejo y mejorar su selectividad en la interacción con el analito. Así, la Figura I.6 muestra un ejemplo de un sistema de fase reversa (RP), en el que la superficie del adsorbente posee una naturaleza polar o no polar débil, las interacciones son en su mayoría hidrófobas y van der Waals. En un sistema de fase normal (NP), la superficie del lecho posee una naturaleza polar, lo que hace que los analitos polares y los que tienen fragmentos polares sufran sorción en la superficie del sólido. En este caso, el mecanismo de retención de los analitos se basa en enlaces de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo e interacciones π - π . Las interacciones más estables, como el enlace químico, no se utilizan en la práctica para la separación debido a su irreversibilidad. Para conseguir una superficie con polaridad ajustable es preciso recubrir las partículas. Generalmente, se recurre primero a añadir una capa de sílice y seguidamente se procede a la funcionalización de la misma.

I.2.4. Nanomateriales de carbono

Los alótropos de carbono más conocidos son el carbón, grafito y diamante. Junto con éstos se han desarrollado otros sintéticos como fullerenos (esférico), nanotubos (cilíndricos),

grafeno y puntos cuánticos. Y más recientemente se han desarrollado los nanodiamantes, nanoestrellas, nanoconos y nanobarras con propiedades prometedoras para su empleo como sensores o sorbentes. La principal ventaja de usar NM basados en carbono es la facilidad de preparación, funcionalización y operación con la muestra [39]. Algunos de ellos, como los nanotubos y el grafeno, se pueden sintetizar de forma ecológica utilizando materiales sostenibles o incluso desechos [15]. Algunos NM basados en carbono se han usado directamente, pero también se han realizado modificaciones de su estructura por oxidación o funcionalización con diferentes grupos. Los alótopos sintéticos desempeñan un papel importante en la nanociencia y la nanotecnología por sus peculiares propiedades. Además, los NM basados en carbono se utilizan actualmente para aplicaciones biomédicas debido a su menor toxicidad e impacto en la salud humana que los nanomateriales metálicos. Si bien algunos se usan directamente, en muchos casos se realizan modificaciones de su estructura por oxidación o funcionalización con diferentes grupos.

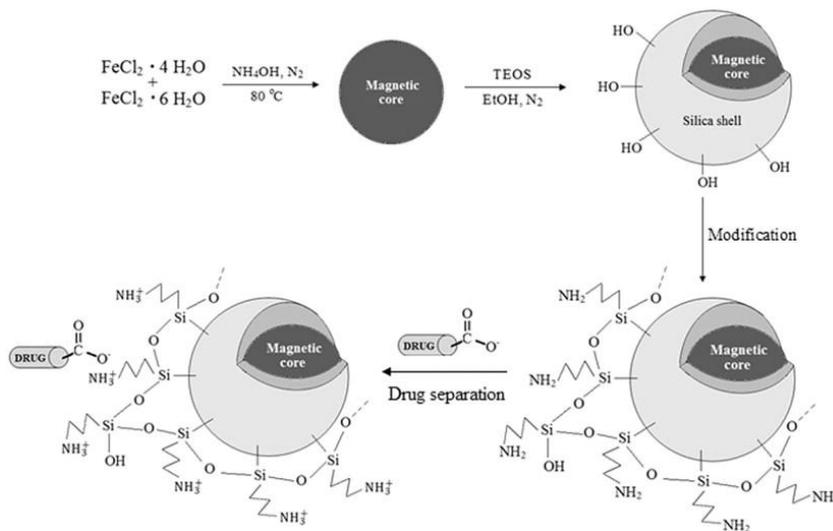


Figura I.6: Síntesis de partículas magnéticas recubiertas de sílice con funcionalización de grupos amino. Tomado de [38].

Los NM basados en carbono muestran excelentes propiedades de adsorción para las especies orgánicas e inorgánicas. Las interacciones con los analitos se producen a través de fuerzas no covalentes, como los enlaces de hidrógeno, interacciones π - π , fuerzas electrostáticas, fuerzas de van der Waals e interacciones hidrófobas [16].

La aplicación de los nanomateriales de carbono como nanosorbentes comenzó cuando fue descubierto el fullereno C-60 en 1985 [40]. Desde entonces las aplicaciones se han ampliado al uso de otros materiales como los nanotubos de carbono, óxido de grafeno y grafeno, así como

otros fullerenos [41-45]. A continuación, describimos algunos de estos nanomateriales y sus propiedades.

I.2.4.1. Fullerenos

Se trata de nanoestructuras poliédricas con anillos de 5 y 6 átomos de carbono (Figura I.7) en forma de esfera hueca, elipsoide o tubo [46]. La aplicación de estos nanomateriales es relativamente limitada debido a su gran insolubilidad en medios acuosos y orgánicos, elevado precio y difícil accesibilidad. En cambio, su poca tendencia a la agregación hace que se haya aplicado como sorbente en fase sólida [41, 47]. Además, los fullerenos tienen una estructura deficiente en electrones, lo que favorece sus interacciones con compuestos que poseen grupos dadores de electrones. Al principio los fullerenos se aplicaron como fases estacionarias cromatográficas en sensores electroquímicos y como materiales absorbentes en sistemas de flujo continuo. En una mini columna, se aplicaron por primera vez para la preconcentración de Pb en la preparación de la muestra [48].

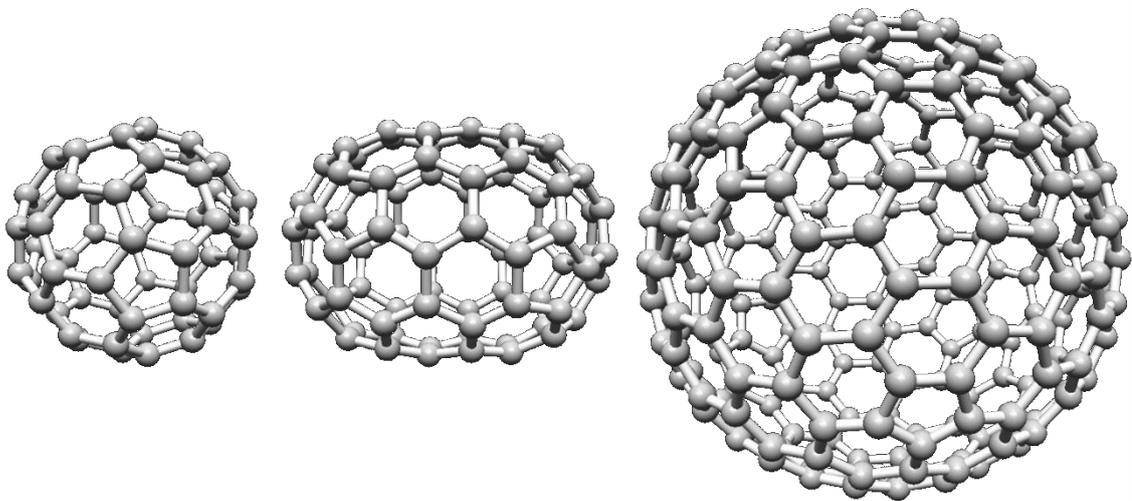


Figura I.7: Fullerenos de distinto tamaño conteniendo 60, 80 y 240 átomos de carbono.

I.2.4.2. Nanotubos de carbono (CNTs)

Los nanotubos de carbono son en esencia hojas de grafeno enrolladas con un diámetro entre unas pocas décimas a decenas de nm y una longitud que puede llegar a ser del orden de

cm (Figura I.8). Puede tratarse de una sola hoja en el caso de una sola pared, o de varias en el caso de paredes múltiples. Son importantes debido a su alta superficie de contacto, elevada capacidad para interacciones π - π , relativo bajo coste, fáciles de conseguir y muy fáciles de funcionalizar para aumentar su capacidad de retención, por lo que estamos hablando de los sorbentes más utilizados en los últimos años [46, 49-51].

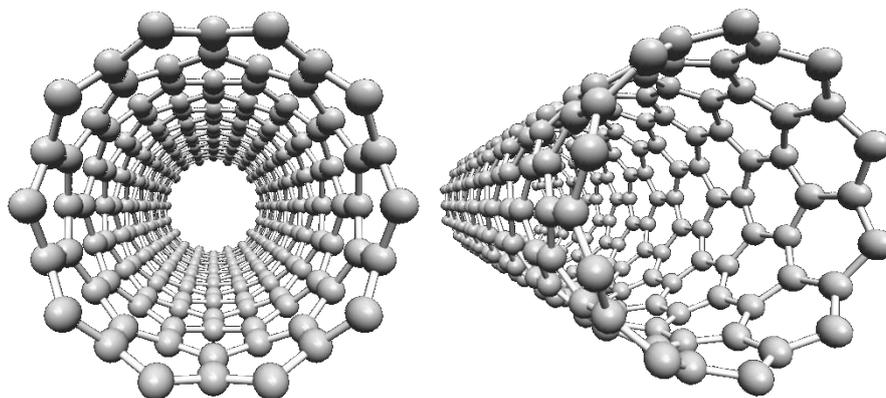


Figura I.8: Nanotubo de carbono con dos perspectivas.

Los CNTs de paredes múltiples muestran mejor rendimiento respecto a una pared simple, debido a la presencia de hojas concéntricas que dan como resultado una mayor interacción con los analitos. La adsorción más favorable con los iones metálicos ocurre cuando los principales grupos funcionales (carboxilo, hidroxilo) están ionizados negativamente para que los iones con carga positiva puedan adsorberse en su superficie con mayor facilidad. Por tanto, la retención de iones metálicos aumenta a mayor pH del medio [52]. Los iones metálicos también pueden quedar atrapados previa formación de quelatos metálicos, como por ejemplo con APDC, PAN, etc.

La separación de especies metálicas con distinto estado de oxidación puede llevarse a cabo mediante CNTs. Para el cromo, por ejemplo, se lleva a cabo la separación y preconcentración de una de sus especies y, posteriormente, se repite el proceso por reducción del Cr (VI) u oxidación de Cr (III) para conocer el contenido en cromo total [53]. También se ha llevado a cabo la especiación de vanadio en aguas por FI-SPE-ETAAS haciendo uso de CNTs [54].

1.2.4.3. Grafeno (G) y Óxido de grafeno (GO)

El GO se puede considerar una hoja de grafito que contiene diferentes grupos funcionales como carboxilo, hidroxilo, cetona y epoxi. Consiste en una o varias capas de átomos de C con

hibridación sp^2 dispuestos como en un panal de abejas. El grafeno puede ser obtenido libre de impurezas de metales ya que no es necesaria la presencia de catalizadores metálicos para su síntesis (Figura I.9). Su interés como sorbente alternativo es debido a su elevada superficie, su alta dispersibilidad en el agua y resistencia mecánica, así como la versatilidad para modificar su superficie. En cuanto al grafeno, puede considerarse como GO sometido a un proceso energético de reducción, caracterizándose por su baja dispersibilidad en el agua [55, 56].

El G tiene una superficie específica muy grande ($2630 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) y, además, ambas superficies de la hoja plana son accesibles para la sorción, en contraste con los CNTs y fullerenos [57, 58]. Hasta el momento, este nanomaterial no se ha aplicado mucho a la especiación de los elementos.

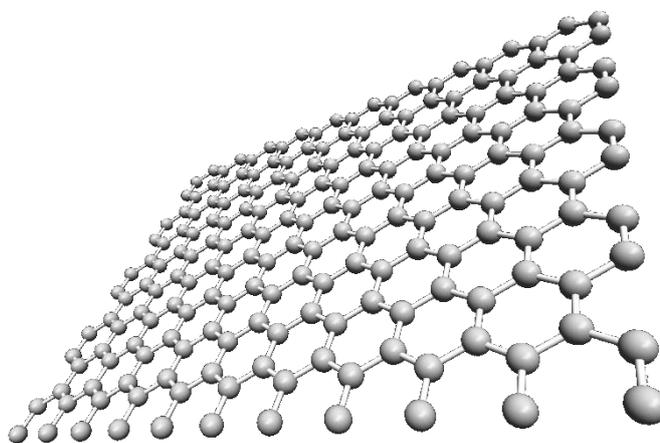


Figura I.9: Estructura tridimensional del grafeno.

A diferencia del G, el GO contiene bastantes puntos polares, lo que le confiere un carácter mucho más hidrófilo [5], característica que hay que tener en consideración a la hora de fijar uno u otro para la microextracción de las distintas especies. Es decir, el GO puede proporcionar varios puntos de funcionalización para mejorar la selectividad [59]. Las excepcionales propiedades del grafeno y óxido de grafeno los convierten en excelentes candidatos como sorbentes de SPE [60-65] y SPME [66-74].

I.2.4.4. Celulosa microcristalina (MCC)

El interés por introducir materiales de tamaño nanométrico por las propiedades que presentan, ha llevado a la búsqueda de fuentes de materia prima asequibles para la obtención de nanomateriales de fácil obtención, bajo costo y amplia aplicabilidad. Es el caso de la celulosa cristalina, la cual se presenta como un cristal con estructura de aguja. Una de las fuentes posibles

de celulosa es la paja de trigo, por lo que la celulosa es el polímero renovable más abundante del mundo (Figura 1.10). Se encuentra en las paredes celulares de las plantas, pero también puede ser sintetizado por algunas bacterias y animales. La Figura I.11 muestra la estructura de la cadena de celulosa.

Los cristales de celulosa se pueden conseguir por el tratamiento con H_2SO_4 del material vegetal original, provocando una hidrólisis ácida. Este tratamiento no solo va a producir una MCC aislada, sino también una superficie cargada negativamente como resultado de la esterificación de grupos hidroxilos por iones sulfato, lo que permite formar un sistema coloidal estable [75].



Figura I.10: Aspecto físico de la celulosa microcristalina.

Tanto su pequeño tamaño de partícula como esa carga superficial permiten el uso de MCC en técnicas de microextracción como DSPME para la determinación de varios elementos metálicos en sus diferentes estados de oxidación.

1.2.5. Nanomateriales de silicio

Estos nanomateriales, que incluyen las nanopartículas de sílice (nanopartículas inorgánicas de SiO_2), nanotubos, nanohilos y materiales de sílice nanoporosos (silanos sintetizados), son ampliamente utilizados para la preparación de nanosorbentes. Son fáciles de sintetizar, así como de modificar en su superficie con grupos funcionales, además de su bajo coste. Su forma esférica con capa de recubrimiento hace que tengan bastante importancia en procedimientos de extracción tanto en línea como en columna [39, 76, 77].

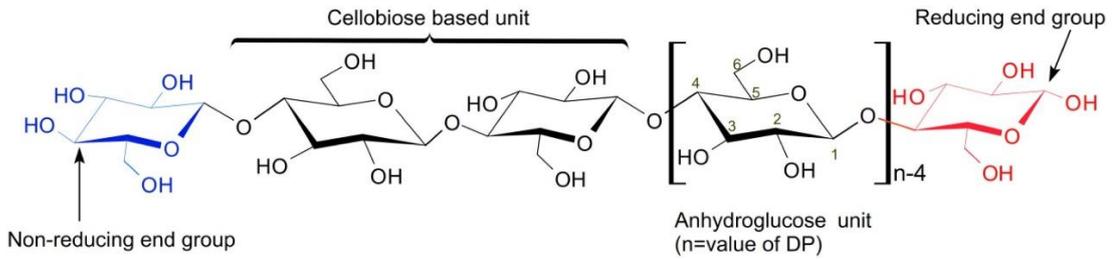


Figura I.11: Estructura de la celulosa. Tomado de [75].

Estos materiales silíceos también presentan gran superficie específica con excelente capacidad de adsorción, así como la posibilidad de modificación funcional a baja temperatura. La incorporación de grupos funcionales permite obtener sorbentes adecuados para su uso en SPE [79-83] o como recubrimientos en SPME [84, 85] para la extracción de analitos en varios tipos de muestras. La síntesis se consigue fundamentalmente por la hidrólisis y condensación de bien los silanos del tipo $(\text{Si}(\text{OX})_4)$, donde X normalmente es OEt o OMe, bien los organosilanos del tipo $[(\text{XO})_3\text{Si}]_4\text{-R}$, donde R es un grupo orgánico, en medio básico. Se forman silanolatos que condensan con otros 25 organosilanos para formar enlaces siloxanos (Si-O-Si) que crecen para formar oligómeros. La Figura I.12 muestra un esquema del proceso.

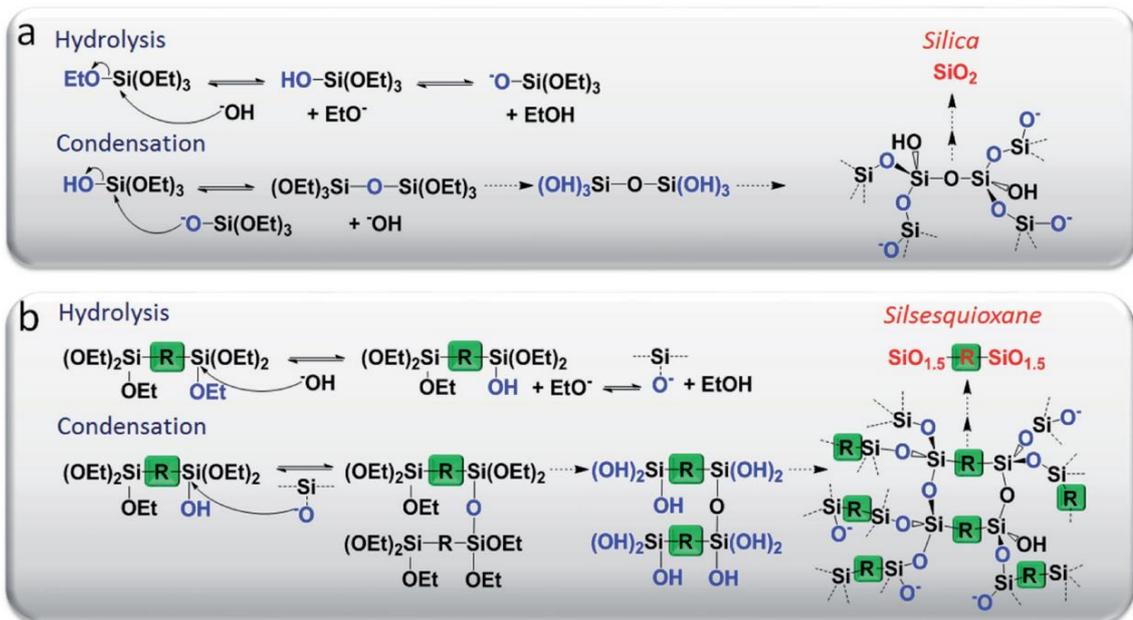


Figura I.12: Hidrólisis y condensación de silanos y organosilanos (a y b, respectivamente) que conduce a la obtención de silsesquioxanos. Tomado de [78].

1.2.6. Nanomateriales basados en polímeros

1.2.6.1. Polímeros orgánicos

Son considerados unos de los sorbentes de mayor interés y se pueden utilizar como matriz para introducir nanomateriales inorgánicos en ellos, dando lugar a nanomateriales compuestos (“nanocomposites”), incluyendo su utilidad como materiales de soporte para sintetizar e inmovilizar nanopartículas a fin de mejorar las propiedades químicas, térmicas, mecánicas y de adsorción de nanocompuestos. Una ventaja adicional para algunas aplicaciones es que presentan una gran biocompatibilidad. En los últimos años, las nanofibras y nanofilms de polímero conductivo han ganado protagonismo debido a sus aplicaciones en síntesis electroquímica [86, 87].

Existen nanopartículas orgánicas cuya naturaleza polimérica proporciona ciertas propiedades que permiten su uso fuera del ámbito analítico, como soporte de medicamentos para su posterior liberación de forma controlada [88]. Los nanotubos, nanocables y nanobarras de polímeros orgánicos tienen aplicaciones potenciales en dispositivos electrónicos, magnéticos, ópticos, optoelectrónicos y micromecánicos. Uno de los nanotubos poliméricos más prometedores es el de los nanotubos de polianilina (PANI), que muestran una buena conductividad y pueden usarse en telas conductoras. La fibra de poliglicidilmetacrilato (PGMA) se utiliza para fabricar tejidos inteligentes que se denominan “fibras inteligentes”, ya que pueden cambiar sus propiedades según las condiciones ambientales. Los textiles basados en fibra PGMA pueden cambiar entre propiedades contradictorias, tales como hidrofóbica e hidrofílica; conductor y no conductor; ácido y básico; o incluso cambiar de color.

1.2.6.2. Polímeros inorgánicos e híbridos

Estos incluyen los xerogeles, estructuras órgano metálicas y núcleos con recubrimiento que presentan importantes aplicaciones como nanosorbentes. Los xerogeles y aerogeles son eficientes sorbentes debido a su elevada área superficial, porosidad y volumen de su poro interno. Entre ellos, el xerogel de sílice ha despertado mucha atención [89]. Pero son los polisiloxanos los polímeros inorgánicos más importantes tanto en lo que se refiere a sus aplicaciones comerciales como las debidas a su empleo como recubrimiento en diferentes dispositivos de extracción. Sus aplicaciones se encuentran desde el ámbito de la medicina hasta el campo de la cosmética. Así, el polidimetilsiloxano o caucho de silicona es el material más utilizado en técnicas

de preparación de muestras [90]. Los materiales híbridos orgánico-inorgánicos, pueden ser obtenidos en forma de varillas por la formación de un fuerte enlace entre iones de un metal y compuestos enlazantes orgánicos. Este tipo de materiales tiene un área muy grande y la apertura de sus poros es muy variada, por lo que se han utilizado como sorbentes para la extracción de una amplia gama de analitos de iones pequeños provenientes de proteínas de elevada masa molecular [91-93]. La Figura I.13 muestra una estructura de azolato de cinc desarrollada sobre fibra de acero inoxidable utilizada en SPME con grandes ventajas respecto al PDMS [94].

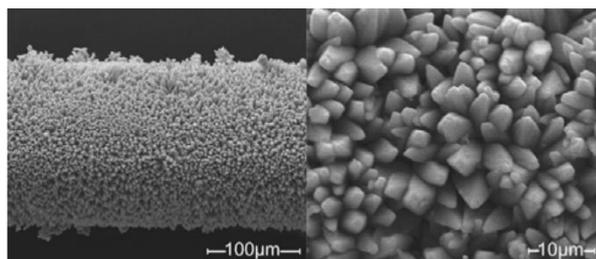


Figura I.14: Fotografía SEM del polímero metálico desarrollado como recubrimiento de fibras de acero inoxidable para la retención de compuestos orgánicos volátiles. Tomado de [94].

La Figura I.14 muestra un ejemplo de este tipo de partículas. Se trata de lo que se denominan estructuras ceolíticas con compuestos del tipo imidazol. Sobre microesferas de resina se fijan iones metálicos y compuestos de imidazol para conseguir estructuras muy esféricas adecuadas para procesos SPE. Así por ejemplo, el compuesto ZIF-67 se obtiene por tratamiento a 120 °C en autoclave de una mezcla de sales de Co(II) y 2-methyl imidazolio [95]. El producto obtenido es bastante esférico (Figura I.14a) pero si ahora este producto se sintetiza sobre microesferas de resina (Figura I.14b) se consigue un producto con las mismas características adsorbentes pero más adecuado para procesos SPE (Figura I.7.c) [96].

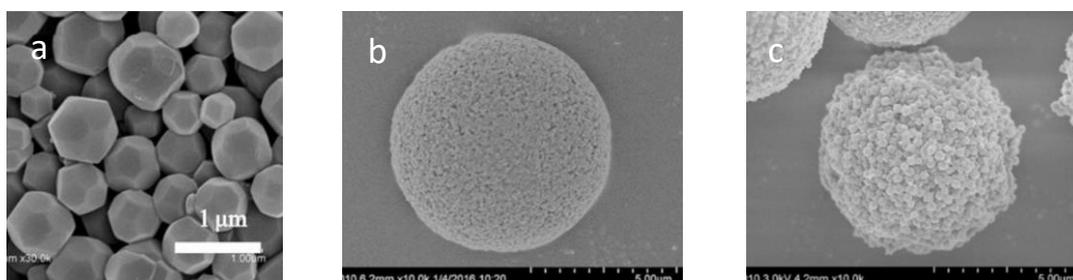


Figura I.14: Fotografía SEM de ZIF-67 (a) y el material compuesto que resulta de desarrollar ZIF-67 sobre microesferas de resina. La fotografía b es la imagen SEM de la microesfera de resina y la c corresponde a ZIF-67 sobre la microesfera de resina. Tomadas de [95] y [96], respectivamente.

1.2.6.3. Polímeros impresos molecularmente (MIPs)

Estos polímeros son sorbentes muy conocidos debido a su alta selectividad como receptores biomiméticos artificiales. Son polímeros sintéticos reticulados obtenidos por copolimerización de un monómero funcional y un agente de reticulación. Durante la polimerización aparecen cavidades que proporcionan una gran adsorción selectiva. El monómero funcional de partida incluye grupos funcionales especiales, siendo capaz de formar un complejo con la molécula plantilla mostrando interacciones tanto covalentes como no covalentes. Una aplicación muy importante de los polímeros impresos es la preconcentración y/o separación en la extracción en fase sólida de iones en presencia de otros iones o en matrices complejas [89, 97, 98].

Los MIPs también son utilizados en otras áreas como la medicina, análisis clínicos, monitores ambientales y sensores [99].

1.3. Aplicación de los nanomateriales en Química Analítica

Una vez descritos los diferentes tipos de nanomateriales que están a nuestra disposición, así como sus propiedades, se puede plantear su acoplamiento a los diferentes tipos de microextracción para la determinación y especiación de varios metales que es el objeto de esta Memoria. La Figura 1.15 muestra algunas técnicas en la que se emplean los nanomateriales como sorbentes.

En definitiva, se busca, no solo conseguir límites de detección y cuantificación suficientemente bajos, sino también la optimización de métodos analíticos que cumplan los requisitos necesarios para desarrollar una *Química Analítica Verde*, pues estos nanomateriales permiten la *miniaturización* de los nuevos sistemas analíticos para estos fines.

1.3.1. Química Analítica Verde

Los laboratorios analíticos tienen un papel esencial en el medio ambiente, ya que sin su trabajo no sería posible controlar los contaminantes presentes en el aire, el agua o el suelo. Sin embargo, el tratamiento de las muestras implica el uso de reactivos y disolventes orgánicos que, en muchas ocasiones, generan residuos altamente tóxicos. Por este motivo, a principios del siglo XXI, fue introducida la Química Analítica Verde (GAC) como una metodología con el objetivo de reducir e incluso eliminar, los efectos secundarios sobre los trabajadores del laboratorio analí-

tico y, por supuesto, del medio ambiente. La GAC plantea un gran desafío: alcanzar un compromiso entre el aumento de la calidad de los resultados analíticos y la conservación ambiental [100, 101].

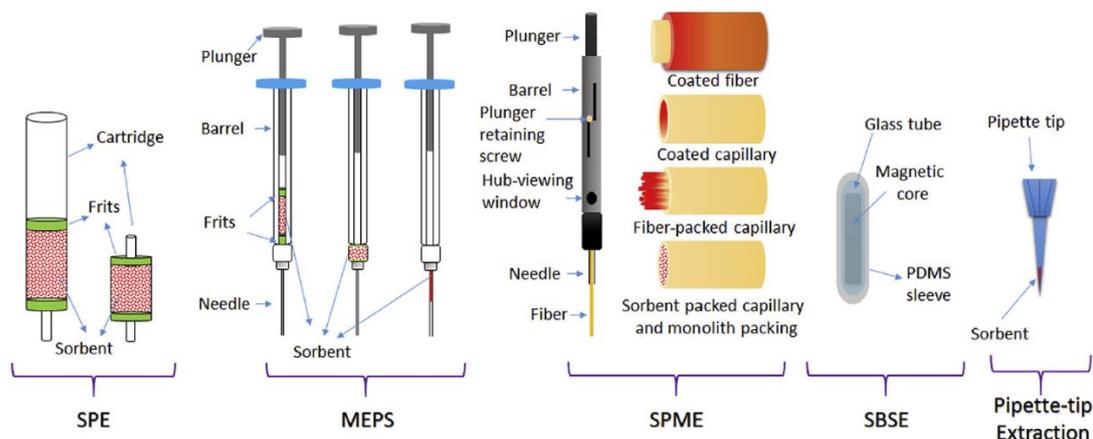


Figura I.15: Representación esquemática de algunos dispositivos que involucran el empleo de nanomateriales en procesos de extracción. MEPS y SBSE corresponden a microextracción con sorbente empaquetado y extracción en barra agitadora adsorbtiva, respectivamente. Tomado de [6].

Todo ello lo debe hacer considerando los 12 principios de la Química Verde [102, 103]:

1. **Prevención.** Se debe evitar la producción de un residuo para no tener la necesidad de su posterior tratamiento.
2. **Economía.** La nanotecnología permite la formación óptima de productos ya que se obtiene átomo por átomo, o molécula por molécula y sin generar excesos residuos.
3. **Generación de productos de toxicidad reducida.** Cuando se trata de síntesis, debemos obtener sustancias con poca o ninguna toxicidad.
4. **Generación de productos eficientes, pero no tóxicos.** Se deben diseñar productos eficaces para su uso, pero de toxicidad reducida.
5. **Reducción del uso de sustancias auxiliares.** Se debe evitar el uso de sustancias que no sean imprescindibles y, en caso de uso, deben ser los más inocuos posible (agua, líquidos iónicos).
6. **Disminución del consumo energético.** Las necesidades energéticas deben estudiarse según su impacto en el medio ambiente, así como su gasto económico.
7. **Uso de materias primas renovables.** Cuando sea posible, se debe hacer uso de materias primas renovables.
8. **Evitar la derivatización.** Hay que evitar la formación de derivados.
9. **Uso de catalizadores.** Hacer uso de catalizadores reutilizables en lugar de reactivos estequiométricos.

10. Generación de productos biodegradables. Los productos químicos obtenidos no deben persistir en el medio ambiente una vez finalizada su función.
11. Desarrollo de métodos analíticos para su monitorización en tiempo real. El objetivo de la Química Verde respecto a la Química Analítica es hacer uso de procedimientos cuyos residuos (si existen) sean benignos al medio ambiente, sin afectar en la obtención de resultados de forma rápida y eficaz.
12. Disminución de los accidentes químicos. Se deben seleccionar sustancias que minimicen el riesgo de accidentes químicos, así como explosiones o incendios.

Estos principios aplicados a la Química Analítica dan lugar a la guía de GAC, basada en seis principios básicos que aparecen resumidos en la Figura I16 [101].

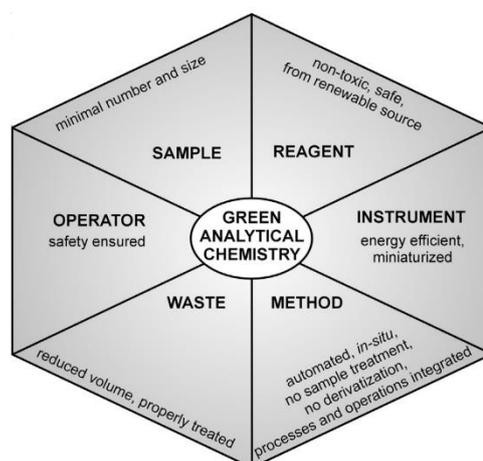


Figura I.16: Componentes importantes del proceso analítico en el campo de la Química Analítica Verde. Tomado de [101].

I.3.2. Miniaturización

En general, cualquier procedimiento analítico implica una serie de pasos entre los que cabe destacar la preparación de la muestra, pues es la etapa que, en general, más tiempo necesita dentro de los métodos analíticos. Esto es bastante evidente en el análisis ambiental donde podemos encontrar sofisticados sistemas de extracción para su posterior análisis instrumental, como por ejemplo la extracción líquido-líquido (LLE). Los diferentes pasos analíticos de estos

procedimientos se realizan haciendo uso de grandes volúmenes de disolventes, reactivos e, incluso, de muestra, de forma que se deben plantear nuevos sistemas que permitan un menor consumo de estos.

La miniaturización de un procedimiento se puede lograr simplemente reduciendo las dimensiones de los sistemas utilizados en el desarrollo de nuevas técnicas analíticas. El primer enfoque va dirigido a minimizar los volúmenes de disolventes consumidos en la extracción del analito en la muestra [104], lo cual puede conseguirse con la incorporación de los nanomateriales y el desarrollo de las técnicas que se describen más adelante.

1.3.3. Empleo de nanomateriales en la determinación y especiación de metales

Actualmente, la nanotecnología es una de las tendencias más importantes en la ciencia de los materiales. El diseño, síntesis, caracterización y las aplicaciones de los nanomateriales son aspectos esenciales en el campo emergente de esta nueva tecnología [105]. Un nanomaterial ideal para la separación selectiva de especies químicas debe ser de pequeño tamaño, presentar elevada relación superficie-volumen y una alta reactividad química [106].

La aplicación de los métodos analíticos a la determinación de trazas de elementos, así como la separación en la muestra, aumento en la concentración de los analitos, eliminación de interferentes y determinación de las distintas especies del mismo, ha incrementado su importancia en los últimos años, pues se necesita conocer la concentración de muchos elementos que pueden presentarse de forma natural, con diferentes propiedades y comportamiento [107-109].

Debido a las distintas toxicidad, movilidad y biodisponibilidad de las especies químicas, necesitamos conocer la concentración de cada una de ellas [110]. De hecho, la especiación toma gran importancia por esa diferencia de toxicidad entre las especies de un mismo elemento. Actualmente, los procedimientos analíticos para la especiación se dividen en dos grupos principales [106]:

- a. Separación cromatográfica: Separación en línea acoplada al detector.
- b. Separación no cromatográfica: Métodos de separación (SPE, LLE, CPE, MSPE, ...) previos a la determinación por alguna técnica instrumental.

Puesto que este trabajo se centra en la separación no cromatográfica y la determinación por Espectrometría de Absorción Atómica por Atomización Electrotérmica (ETAAS) de diferentes elementos y, en su caso, la especiación, se habla solo de la separación no cromatográfica. Estos

métodos son muy interesantes por su simplicidad, bajo coste, rapidez y flexibilidad, aprovechando las diferencias en las propiedades químicas y físicas de las distintas especies.

La base de los métodos no cromatográficos es la separación cuantitativa y selectiva de especies, comprendiendo numerosos métodos de extracción como LLE, SPE, SPME, MSPE, CPE, así como otras técnicas de derivatización como la reducción selectiva [2, 111-113].

I.4. Técnicas de Microextracción

En un exhaustivo estudio sobre la bibliografía relacionada con la aplicación de los nanomateriales como sorbentes desde 2011 [6], se demuestra el gran interés que han despertado tanto para la determinación de analitos como para la preparación y tratamiento previos de las muestras. Un buen número de grupos de investigación han utilizado la nanotecnología para mejorar la capacidad de extracción, selectividad, sensibilidad y la disminución del efecto matriz. Este repaso por la bibliografía nos muestra así, el gran interés por las técnicas de microextracción en fase sólida (MSPE) usando los diferentes tipos de nanomateriales existentes.

En base a la aplicación de nanosorbentes, se han propuesto métodos de análisis en línea y totalmente automatizados para muestras biológicas de forma rápida, rentable, sencilla, sensible y selectiva [6].

De todos los pasos a seguir en el método analítico, la preparación de la muestra es el paso más importante, especialmente en la detección de metales a niveles de traza [114-116]. Para aumentar la concentración de los mismos se hace uso de diferentes métodos de preparación de muestras, por ejemplo, extracción en fase sólida (SPE) y microextracción en fase sólida (SPME), entre otros [117]. Se emplean un gran número de nanomateriales con diversas composiciones químicas y morfologías, haciendo uso de las propiedades químicas intrínsecas de sus componentes y los efectos excepcionales de la forma o el tamaño. Además, la funcionalización de la superficie o la hibridación de diferentes nanomateriales facilitan el desarrollo de enfoques versátiles para el análisis eficiente de varios analitos. El avance en este campo pasa por el desarrollo de nuevos nanomateriales con mayor especificidad y selectividad debido a la complejidad de la muestra. Además, se debe exigir la compatibilidad de los nanomateriales con los métodos analíticos posteriores, el enfoque hacia la automatización en la preparación de la muestra y su acoplamiento en línea con el detector.

I.4.1. Extracción en fase sólida (SPE)

Tradicionalmente, la extracción líquido-líquido (LLE) se ha empleado durante mucho tiempo para la resolución de una diversidad de problemas analíticos, dando lugar a la publicación de numerosos trabajos y revisiones. Sin embargo, la SPE ha ganado importancia práctica para la preconcentración de analitos y eliminación de la matriz de la muestra, por su simplicidad y economía, tanto en el tiempo empleado como en la cantidad de reactivos utilizados [2-(4,7)].

En esta técnica, el sorbente convencional se encuentra dentro de cartuchos, cilindros de jeringas, microcolumnas o discos, los cuales se encuentran disponibles comercialmente, siendo los más convencionales compuestos derivados de sílice (C-18). Actualmente, los nanosorbentes utilizados más habitualmente para la extracción, preconcentración y limpieza de muestras biológicas son los MIPs [1-(145, 164, 164)], CNTs [1-(84, 152, 167)], G y RGO [1-(64, 86, 106)], GO [1-(147, 168, 169)], TiO₂ [1-(107)] y Al₂O₃ [1-(62,65)]. La Figura I.17 muestra un esquema de separación SPE.

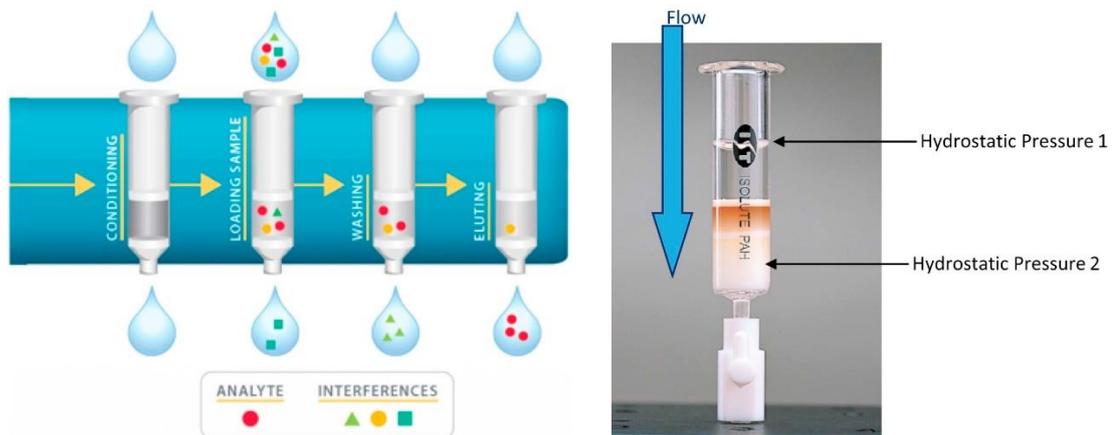


Figura I.17: Procedimiento típico de separación con SPE actuando bajo la presión de la gravedad. Tomado de [118].

I.4.2. Microextracción en fase sólida (SPME)

La SPME es una de las técnicas verdes de microextracción más cómodas y de amplio uso. Fue introducida en el campo analítico hace ya casi tres décadas (Pawliszyn y Arthur, 1990) para corregir las limitaciones en SPE y LLE, como son el tiempo de extracción y el uso de disolventes orgánicos [119].

En su forma más convencional e incluso comercial, se trata de un dispositivo consistente en una fibra de sílice fundida, sin o con un recubrimiento de una fina capa del material de extracción, fijada en el interior de la aguja de un dispositivo similar al de una jeringa. El proceso de trabajo con muestras líquidas o gaseosas puede llevarse a cabo sobre la misma disolución, o bien colocando la muestra en el espacio de cabeza [6]. Esta técnica tiene dos etapas fundamentales [120]:

- Adsorción de los analitos en la superficie del sorbente.
- Desorción de los analitos a altas temperaturas.

La Figura I.18 muestra estas dos etapas en el caso de la determinación con Cromatografía de gases.

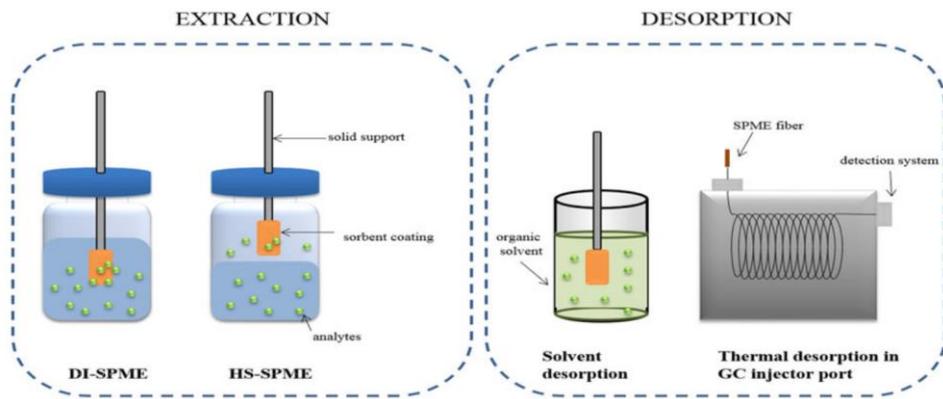


Figura I.18: Esquema típico de separaciones SPME. Dependiendo de la volatilidad del analito la adsorción se realiza sumergiendo el material adsorbente en la disolución o posicionándolo en la fase vapor en equilibrio (espacio de cabeza). Tomado de [121].

Las principales ventajas de SPME son las siguientes [120, 122]:

- Posibilidad de extracción simultánea de analitos, preconcentración y determinación de los mismos, acortando significativamente los tiempos de análisis.
- Aumento de la sensibilidad, consiguiendo la determinación a niveles de ultratrazo.
- Uso de poca cantidad de muestra.
- Simplicidad y alta velocidad de análisis.
- Bajo coste y eliminación de disolventes orgánicos tóxicos.
- Uso de pequeñas fibras que permiten al dispositivo descargar muestras *in situ*.
- Posibilidad de automatización.
- Posibilidad de conexión con otras técnicas instrumentales (GC, LC, HPLC, CE).

I.4.3. Extracción en fase sólida magnética (MSPE)

La separación magnética fue usada por primera vez en 1973 por Robinson et al. [123], pero es en los últimos años cuando las nanopartículas magnéticas (MNPs) se están usando como adsorbentes en Química Analítica.

MSPE implica la adición de MNPs a la solución de la muestra conteniendo los analitos de interés. Estos analitos se adsorben en la superficie de este material y, posteriormente, se separan por aplicación de un campo magnético externo [124]. La Figura I.19 muestra un esquema del proceso de separación. El núcleo magnético de estas MNPs puede estar cubierto con sílice u óxidos de alúmina usando la técnica sol-gel. Los grupos funcionales que interesen pueden ser inmovilizados por silanización [122].

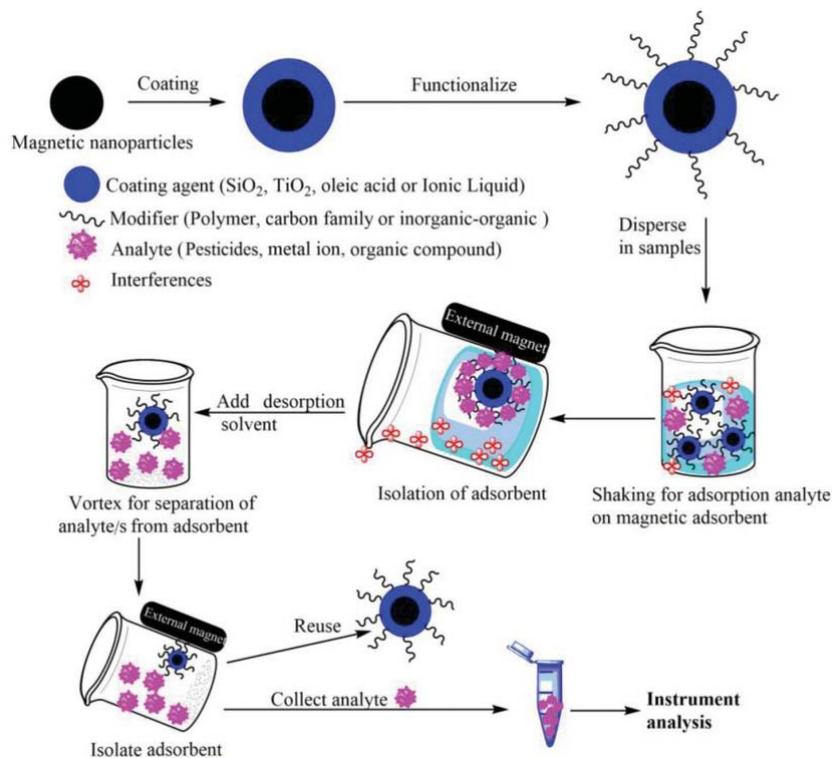


Figura I.19: Esquema de separación de un procedimiento utilizando partículas magnéticas con desorción en un microvolumen. Tomado de [125].

El mecanismo de separación del analito una vez retenido depende del tipo de sorbente y de la interacción de sus moléculas con los grupos funcionales inmovilizados en la superficie del núcleo magnético, tal como ocurre en SPE. Los tipos de interacciones que se han descrito en

este proceso son enlaces de hidrógeno, iónicas, dipolo-dipolo, dipolo inducido y fuerzas de dispersión [124, 126].

El uso de MNPs es una conveniente alternativa a los sorbentes utilizados en SPE convencionales, pues permiten una rápida y sencilla forma de separación de los analitos, a la vez que presentan una gran eficiencia. Debido a su pequeño tamaño de partícula, aumenta el área de superficie específica y su capacidad de sorción, razones suficientes para su uso en estas técnicas de MSPE.

Esta metodología de extracción es de las más adecuadas para la especiación de diversos metales, como As, Cr, Se, Te o Hg, entre otros, haciendo uso de MNPs de Fe_3O_4 , pero recubiertas de diferentes materiales según el analito [106].

1.4.4. Microextracción en fase sólida dispersiva (DSPME)

La DSPME fue planteada como un procedimiento para aumentar la selectividad de los procesos analíticos en 2003. Se trata de una técnica de preparación de la muestra donde se añade el sorbente sólido en muy poca cantidad (en el rango de μg) y queda dispersado en la disolución a analizar [127], de forma que el analito de interés queda retenido en dicho material. Los sorbentes utilizados deben cumplir las propiedades habituales (gran superficie, absorción rápida y cuantitativa, ...) pero, además, debe caracterizarse por su elevada dispersibilidad en muestras líquidas [128]. Los nanomateriales que cumplen estos requisitos son las nanopartículas basadas en compuesto de carbono (CNTs, G, GO, fullereno), pero también nanopartículas inorgánicas como MNPs.

Las ventajas que presenta la DSPME son la simplicidad de la técnica, bajo consumo de disolventes orgánicos, gran recuperación, elevada velocidad de extracción y capacidad de adaptación a diferentes equipos de detección. Además, se ha aplicado con éxito al análisis de varios grupos de compuestos como productos farmacéuticos, estrógenos, drogas y compuestos fenólicos en distintos tipos de matriz, tales como fluidos biológicos o alimentos [129-132]. La Figura 1.20 muestra el esquema de separación y determinación por GC de nicotina en muestras de agua [133].

Como inconveniente encontramos la dificultad de recolección de las NPs, ya que en muchas ocasiones la centrifugación no nos permite que el material sólido remanente quede depositado en su totalidad en el fondo del tubo de ensayo. Para favorecer esta etapa cabe la posibilidad de la adición de sales que favorecen la aglomeración de NPs, aumentando el tamaño de

las partículas sólidas. En todo caso, esta técnica se puede acoplar a la extracción CPE que se describe a continuación, la cual permite la formación de micelas que atrapan las NPs y, ahora sí, por centrifugación quedan totalmente recolectadas para su posterior medida en la técnica instrumental más favorable.

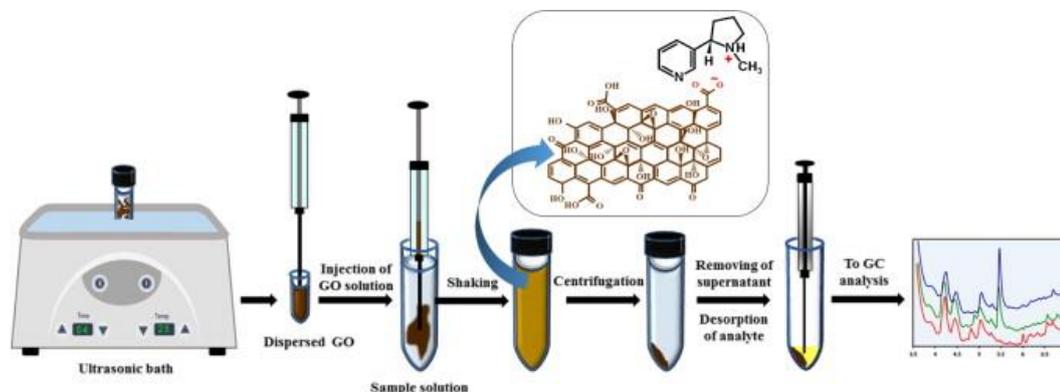


Figura I.20: Esquema de separación de un procedimiento DSPME utilizando óxido de grafeno para la separación de nicotina en aguas y detección por GC. Tomado de [133].

I.4.5. Extracción en punto de nube (CPE)

La técnica CPE fue mencionada y desarrollada por primera vez por Watanabe y Tanake, [134] junto a Hinze et al. [135]. Una disolución acuosa a la que se le añade una pequeña cantidad de agente surfactante puede sufrir un proceso coacervativo por medio de la temperatura, adición de sales, etc., dando lugar a la aparición de dos fases. Estas fases consisten en una primera acuosa (conteniendo poca cantidad de tensioactivo) y otra fase de poco volumen con el propio tensioactivo (conteniendo muy poca cantidad de agua). El analito de la disolución inicial puede ser extraído por la fase rica en surfactante y separado por centrifugación puesto que el coacervado es muy denso [134, 136, 137]. En base a este fenómeno, se desarrolla la técnica CPE, añadiendo a la muestra un agente surfactante en una concentración superior a la concentración micelar crítica y, una vez superada la temperatura específica del punto de nube, el surfactante forma micelas en las cuales quedan encapsuladas las sustancias no polares [138-140]. La Figura I.21 muestra un esquema de separación por punto de nube donde el absorbente, óxido de grafeno, retiene V(V) y se separa del medio mediante su atrapamiento en las micelas de Triton X-114.

Se trata de una técnica que se adapta perfectamente a los principios mencionados por la GAC, ya que puede presumir de las siguientes propiedades:

- Utiliza pequeños volúmenes de surfactantes no nocivos, en lugar de disolventes orgánicos.
- Reduce el tiempo de exposición a los reactivos empleados.
- Bajos costes y mínimo tiempo de extracción.

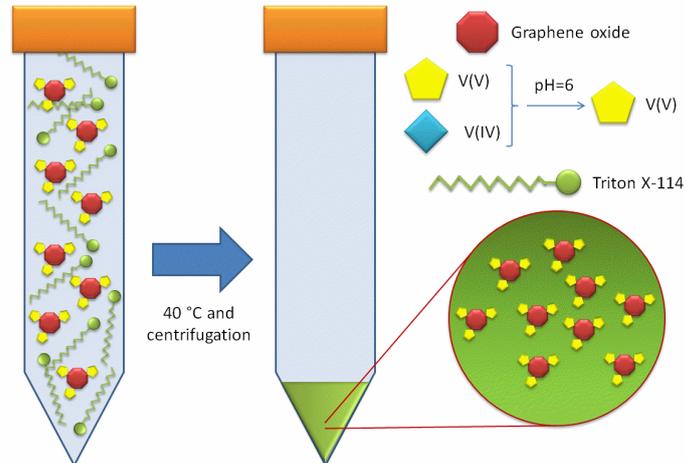


Figura I.21: Esquema de la separación y preconcentración de V(V) con óxido de grafeno y su colección en micelas de Triton X-114. Tomado de [141].

No obstante, presenta una limitación que puede aumentar el tiempo de extracción. Se trata de la necesidad de introducir un paso de centrifugación en la mayoría de los casos para la separación de fases [136]. Por otro lado, para que se forma el coacervado es necesario un aumento de la temperatura, diferente para cada agente surfactante (temperatura específica de punto de nube), por lo que es necesario una etapa de enfriamiento para aumentar la viscosidad y facilitar dicha separación. Esta técnica se suele utilizar en combinación con alguna otra técnica de microextracción [142].

En general, en CPE se usan agentes surfactantes no iónicos para la formación de las micelas, como es el caso del Triton X-114 [143], el cual forma el punto de nube a partir de una temperatura relativamente baja ($T_c = 20\text{ °C}$). Otro ejemplo es el Triton X-100 ($T_c = 64\text{ °C}$) [136]. Estos detergentes no iónicos contienen grupos de polioxietileno capaces de desplazar y reemplazar grupos hidrófilos con muy poca cantidad de surfactante. Esta serie de Triton X forman micelas muy pequeñas cuando se dispersan en agua por encima de su concentración micelar crítica a 0 °C . Sin embargo, a temperaturas más altas, el tamaño de las micelas aumenta enturbando la disolución (punto de nube) [144, 145].

I.5. Bibliografía

- [1] I. de la Calle, V. Romero-Rivas, Chapter 9 - The Role of Nanomaterials in Analytical Chemistry: Trace Metal Analysis, in: S. Mohan Bhagyaraj, O.S. Oluwafemi, N. Kalarikkal, S. Thomas (Eds.), *Applications of Nanomaterials*, Woodhead Publishing 2018, pp. 251-301. doi: 10.1016/B978-0-08-101971-9.00010-7.
- [2] M.A. Vieira, P. Grinberg, C.R.R. Bobeda, M.N.M. Reyes, R.C. Campos, *Non-chromatographic atomic spectrometric methods in speciation analysis: A review*, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 2009, 64, 459-476. doi: 10.1016/j.sab.2009.04.010.
- [3] N. Kumar, S. Kumbhat, *Essentials in Nanoscience and Nanotechnology*, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2016. doi: 10.1002/9781119096122.
- [4] I. Ali, *New Generation Adsorbents for Water Treatment*, *Chemical Reviews*, 2012, 112, 5073-5091. doi: 10.1021/cr300133d.
- [5] B.-T. Zhang, X. Zheng, H.-F. Li, J.-M. Lin, *Application of carbon-based nanomaterials in sample preparation: A review*, *Analytica Chimica Acta*, 2013, 784, 1-17. doi: 10.1016/j.aca.2013.03.054.
- [6] M. Ahmadi, H. Elmongy, T. Madrakian, M. Abdel-Rehim, *Nanomaterials as sorbents for sample preparation in bioanalysis: A review*, *Analytica Chimica Acta*, 2017, 958, 1-21. doi: 10.1016/j.aca.2016.11.062.
- [7] W.G. Kreyling, M. Semmler-Behnke, Q. Chaudhry, *A complementary definition of nanomaterial*, *Nano Today*, 2010, 5, 165-168. doi: 10.1016/j.nantod.2010.03.004.
- [8] M.F. Ashby, P.J. Ferreira, D.L. Schodek, Chapter 6 - Nanomaterials: Classes and Fundamentals, in: M.F. Ashby, P.J. Ferreira, D.L. Schodek (Eds.), *Nanomaterials, Nanotechnologies and Design*, Butterworth-Heinemann, Boston, 2009, pp. 177-197. doi: 10.1016/B978-0-7506-8149-0.00008-8.
- [9] T. Pradeep, Anshup, *Noble metal nanoparticles for water purification: A critical review*, *Thin Solid Films*, 2009, 517, 6441-6478. doi: 10.1016/j.tsf.2009.03.195.
- [10] C.M. Niemeyer, *Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: Biotechnology meets materials science*, *Angewandte Chemie-International Edition*, 2001, 40, 4128-4158. doi: 10.1002/1522-3773(20011119)40:22<4128::aid-anie4128>3.0.co;2-s.
- [11] C. Bendicho, C. Bendicho-Lavilla, I. Lavilla, *Nanoparticle-assisted chemical speciation of trace elements*, *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2016, 77, 109-121. doi: 10.1016/j.trac.2015.12.015.
- [12] N. Panichev, M.M. Kalumba, K.L. Mandiwana, *Solid phase extraction of trace amount of mercury from natural waters on silver and gold nanoparticles*, *Analytica Chimica Acta*, 2014, 813, 56-62. doi: 10.1016/j.aca.2014.01.011.
- [13] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Non-chromatographic speciation of chromium at sub-ppb levels using cloud point extraction in the presence of*

- unmodified silver nanoparticles*, *Talanta*, 2015, 132, 23-28. doi: 10.1016/j.talanta.2014.08.036.
- [14] A. López-Serrano, R.M. Olivas, J.S. Landaluze, C. Camara, *Nanoparticles: a global vision. Characterization, separation, and quantification methods. Potential environmental and health impact*, *Analytical Methods*, 2014, 6, 38-56. doi: 10.1039/C3AY40517F.
- [15] J. Deng, Y. You, V. Sahajwalla, R.K. Joshi, *Transforming waste into carbon-based nanomaterials*, *Carbon*, 2016, 96, 105-115. doi: 10.1016/j.carbon.2015.09.033.
- [16] S. Zhang, Z. Du, G. Li, *Graphene-supported zinc oxide solid-phase microextraction coating with enhanced selectivity and sensitivity for the determination of sulfur volatiles in Allium species*, *Journal of Chromatography A*, 2012, 1260, 1-8. doi: 10.1016/j.chroma.2012.08.045.
- [17] H.D. Jang, S.K. Kim, S.J. Kim, *Effect of particle size and phase composition of titanium dioxide nanoparticles on the photocatalytic properties*, *Journal of Nanoparticle Research*, 2001, 3, 141-147. doi: 10.1023/a:1017948330363.
- [18] M. Auffan, J. Rose, T. Orsiere, M. De Meo, A. Thill, O. Zeyons, O. Proux, A. Masion, P. Chaurand, O. Spalla, A. Botta, M.R. Wiesner, J.-Y. Bottero, *CeO₂ nanoparticles induce DNA damage towards human dermal fibroblasts in vitro*, *Nanotoxicology*, 2009, 3, 161-175. doi: 10.1080/17435390902788086.
- [19] M. Khajeh, S. Laurent, K. Dastafkan, *Nanoadsorbents: Classification, Preparation, and Applications (with Emphasis on Aqueous Media)*, *Chemical Reviews*, 2013, 113, 7728-7768. doi: 10.1021/cr400086v.
- [20] P.L. Kole, G. Venkatesh, J. Kotecha, R. Sheshala, *Recent advances in sample preparation techniques for effective bioanalytical methods*, *Biomedical Chromatography*, 2010, 25, 199-217. doi: 10.1002/bmc.1560.
- [21] X. Wang, Q. Zhou, M. Zhai, *Using Zr doped TiO₂ nanotubes for the pre-concentration and sensitive determination of bisphenol A prior to fluorescence spectrometry in water samples*, *Analytical Methods*, 2012, 4, 394-398. doi: 10.1039/c1ay05458a.
- [22] G.F. Lima, M.O. Ohara, D.N. Clausen, D.R. Nascimento, E.S. Ribeiro, M.G. Segatelli, M.A. Bezerra, C.R.T. Tarley, *Flow injection on-line minicolumn preconcentration and determination of trace copper ions using an alumina/titanium oxide grafted silica matrix and FAAS*, *Microchimica Acta*, 2012, 178, 61-70. doi: 10.1007/s00604-012-0807-4.
- [23] L.M. Costa, E.S. Ribeiro, M.G. Segatelli, D.R. do Nascimento, F.M. de Oliveira, C.R. Teixeira Tarley, *Adsorption studies of Cd(II) onto Al₂O₃/Nb₂O₅ mixed oxide dispersed on silica matrix and its on-line preconcentration and determination by flame atomic absorption spectrometry*, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 2011, 66, 329-337. doi: 10.1016/j.sab.2011.02.005.
- [24] X. Zhao, F. Lou, M. Li, X. Lou, Z. Li, J. Zhou, *Sol-gel-based hydrothermal method for the synthesis of 3D flower-like ZnO microstructures composed of nanosheets for photocatalytic applications*, *Ceramics International*, 2014, 40, 5507-5514. doi: 10.1016/j.ceramint.2013.10.140.

- [25] L.H. Reddy, J.L. Arias, J. Nicolas, P. Couvreur, *Magnetic Nanoparticles: Design and Characterization, Toxicity and Biocompatibility, Pharmaceutical and Biomedical Applications*, Chemical Reviews, 2012, 112, 5818-5878. doi: 10.1021/cr300068p.
- [26] R. Kaur, A. Hasan, N. Iqbal, S. Alam, M.K. Saini, S.K. Raza, *Synthesis and surface engineering of magnetic nanoparticles for environmental cleanup and pesticide residue analysis: A review*, Journal of Separation Science, 2014, 37, 1805-1825. doi: 10.1002/jssc.201400256.
- [27] J.S. Beveridge, J.R. Stephens, M.E. Williams, *The Use of Magnetic Nanoparticles in Analytical Chemistry*, Annual Review of Analytical Chemistry, 2011, 4, 251-273. doi: 10.1146/annurev-anchem-061010-114041.
- [28] T.A.P. Rocha-Santos, *Sensors and biosensors based on magnetic nanoparticles*, Trac-Trends in Analytical Chemistry, 2014, 62, 28-36. doi: 10.1016/j.trac.2014.06.016.
- [29] E. Barrado, J.A. Rodriguez, *High-performance liquid magneto-chromatography*, Journal of chromatography. A, 2006, 1128, 189-93. doi: 10.1016/j.chroma.2006.06.054.
- [30] E. Barrado, J.A. Rodriguez, Y. Castrillejo, *Determination of primary amino acids in wines by high performance liquid magneto-chromatography*, Talanta, 2009, 78, 672-675. doi: 10.1016/j.talanta.2008.12.023.
- [31] X. Zhang, H. Niu, Y. Pan, Y. Shi, Y. Cai, *Chitosan-Coated Octadecyl-Functionalized Magnetite Nanoparticles: Preparation and Application in Extraction of Trace Pollutants from Environmental Water Samples*, Analytical Chemistry, 2010, 82, 2363-2371. doi: 10.1021/ac902589t.
- [32] X. Zhao, Y. Cai, T. Wang, Y. Shi, G. Jiang, *Preparation of alkanethiolate-functionalized core/shell Fe₃O₄@Au nanoparticles and its interaction with several typical target molecules*, Analytical chemistry, 2008, 80, 9091-6. doi: 10.1021/ac801581m.
- [33] C.Y. Wen, C.P. Yeh, C.H. Tsai, L.M. Fu, *Rapid magnetic microfluidic mixer utilizing AC electromagnetic field*, Electrophoresis, 2009, 30, 4179-86. doi: 10.1002/elps.200900400.
- [34] J.C.T. Eijkel, C. Dalton, C.J. Hayden, J.P.H. Burt, A. Manz, *A circular ac magnetohydrodynamic micropump for chromatographic applications*, Sensors and Actuators B: Chemical, 2003, 92, 215-221. doi: 10.1016/S0925-4005(03)00267-3.
- [35] R.D. Ambashta, M. Sillanpaa, *Water purification using magnetic assistance: a review*, Journal of hazardous materials, 2010, 180, 38-49. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.04.105.
- [36] L. Chen, T. Wang, J. Tong, *Application of derivatized magnetic materials to the separation and the preconcentration of pollutants in water samples*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2011, 30, 1095-1108. doi: 10.1016/j.trac.2011.02.013.
- [37] Q. Liu, Q. Zhou, G. Jiang, *Nanomaterials for analysis and monitoring of emerging chemical pollutants*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2014, 58, 10-22. doi: 10.1016/j.trac.2014.02.014.
- [38] M. Wierucka, M. Biziuk, *Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2014, 59, 50-58. doi: 10.1016/j.trac.2014.04.007.

- [39] L. Xu, X. Qi, X. Li, Y. Bai, H. Liu, *Recent advances in applications of nanomaterials for sample preparation*, *Talanta*, 2016, 146, 714-726. doi: 10.1016/j.talanta.2015.06.036.
- [40] H.W. Kroto, J.R. Heath, S.C. O'Brien, R.F. Curl, R.E. Smalley, *C60: Buckminsterfullerene*, *Nature*, 1985, 318, 162. doi: 10.1038/318162a0.
- [41] Y. Wen, L. Chen, J. Li, D. Liu, L. Chen, *Recent advances in solid-phase sorbents for sample preparation prior to chromatographic analysis*, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2014, 59, 26-41. doi: 10.1016/j.trac.2014.03.011.
- [42] B. Arash, Q. Wang, *A review on the application of nonlocal elastic models in modeling of carbon nanotubes and graphenes*, *Computational Materials Science*, 2012, 51, 303-313. doi: 10.1016/j.commatsci.2011.07.040.
- [43] B. Pérez-López, A. Merkoçi, *Carbon nanotubes and graphene in analytical sciences*, *Microchimica Acta*, 2012, 179, 1-16. doi: 10.1007/s00604-012-0871-9.
- [44] Q. Liu, J. Shi, T. Wang, F. Guo, L. Liu, G. Jiang, *Hemimicelles/admicelles supported on magnetic graphene sheets for enhanced magnetic solid-phase extraction*, *Journal of Chromatography A*, 2012, 1257, 1-8. doi: 10.1016/j.chroma.2012.08.028.
- [45] R. Sitko, B. Zawisza, E. Malicka, *Modification of carbon nanotubes for preconcentration, separation and determination of trace-metal ions*, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2012, 37, 22-31. doi: 10.1016/j.trac.2012.03.016.
- [46] R. Lucena, B.M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Potential of nanoparticles in sample preparation*, *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218, 620-637. doi: 10.1016/j.chroma.2010.10.069.
- [47] J.R. Baena, S. Cárdenas, M. Gallego, M. Valcárcel, *Speciation of Inorganic Lead and Ionic Alkyllead Compounds by GC/MS in Prescreened Rainwaters*, *Analytical Chemistry*, 2000, 72, 1510-1517. doi: 10.1021/ac9911903.
- [48] M. Gallego, Y. Petit de Pena, M. Valcárcel, *Fullerenes as Sorbent Materials for Metal Preconcentration*, *Analytical Chemistry*, 1994, 66, 4074-4078. doi: 10.1021/ac00094a033.
- [49] S. Tang, H. Zhang, H.K. Lee, *Advances in Sample Extraction*, *Analytical Chemistry*, 2016, 88, 228-249. doi: 10.1021/acs.analchem.5b04040.
- [50] G. Alberti, V. Amendola, M. Pesavento, R. Biesuz, *Beyond the synthesis of novel solid phases: Review on modelling of sorption phenomena*, *Coordination Chemistry Reviews*, 2012, 256, 28-45. doi: 10.1016/j.ccr.2011.08.022.
- [51] M. Valcárcel, S. Cárdenas, B.M. Simonet, Y. Moliner-Martínez, R. Lucena, *Carbon nanostructures as sorbent materials in analytical processes*, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2008, 27, 34-43. doi: 10.1016/j.trac.2007.10.012.
- [52] K. Pyrzynska, *Carbon nanostructures for separation, preconcentration and speciation of metal ions*, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2010, 29, 718-727. doi: 10.1016/j.trac.2010.03.013.

- [53] V. Gómez, M.P. Callao, *Chromium determination and speciation since 2000*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2006, 25, 1006-1015. doi: 10.1016/j.trac.2006.06.010.
- [54] R.A. Gil, S.N. Goyanes, G. Polla, P. Smichowski, R.A. Olsina, L.D. Martínez, *Application of multi-walled carbon nanotubes as substrate for the on-line preconcentration, speciation and determination of vanadium by ETAAS*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2007, 22, 1290-1295. doi: 10.1039/B700846E.
- [55] R. Sitko, B. Zawisza, E. Malicka, *Graphene as a new sorbent in analytical chemistry*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2013, 51, 33-43. doi: 10.1016/j.trac.2013.05.011.
- [56] D.R. Dreyer, S. Park, C.W. Bielawski, R.S. Ruoff, *The chemistry of graphene oxide*, Chemical Society Reviews, 2010, 39, 228-240. doi: 10.1039/B917103G.
- [57] Q. Liu, J. Shi, G. Jiang, *Application of graphene in analytical sample preparation*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2012, 37, 1-11. doi: 10.1016/j.trac.2012.03.011.
- [58] M.D. Stoller, S. Park, Y. Zhu, J. An, R.S. Ruoff, *Graphene-Based Ultracapacitors*, Nano Letters, 2008, 8, 3498-3502. doi: 10.1021/nl802558y.
- [59] S. Park, R.S. Ruoff, *Chemical methods for the production of graphenes*, Nature Nanotechnology, 2009, 4, 217. doi: 10.1038/nnano.2009.58.
- [60] X. Wu, H. Zhang, L. Meng, X. Liu, Y. Ma, *Graphene for Cleanup in Trace Analysis of Pyrethroid Insecticides in Cucumber and Spinach*, Chromatographia, 2012, 75, 1177-1183. doi: 10.1007/s10337-012-2299-0.
- [61] T. Yang, L.-h. Liu, J.-w. Liu, M.-L. Chen, J.-H. Wang, *Cyanobacterium metallothionein decorated graphene oxide nanosheets for highly selective adsorption of ultra-trace cadmium*, Journal of Materials Chemistry, 2012, 22, 21909-21916. doi: 10.1039/C2JM34712A.
- [62] Q. Chang, S. Song, Y. Wang, J. Li, J. Ma, *Application of graphene as a sorbent for preconcentration and determination of trace amounts of chromium(III) in water samples by flame atomic absorption spectrometry*, Analytical Methods, 2012, 4, 1110-1116. doi: 10.1039/C2AY05650J.
- [63] Y.-B. Luo, J.-S. Cheng, Q. Ma, Y.-Q. Feng, J.-H. Li, *Graphene-polymer composite: extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples by stir rod sorptive extraction*, Analytical Methods, 2011, 3, 92-98. doi: 10.1039/C0AY00624F.
- [64] K.-J. Huang, Q.-S. Jing, C.-Y. Wei, Y.-Y. Wu, *Spectrofluorimetric determination of glutathione in human plasma by solid-phase extraction using graphene as adsorbent*, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2011, 79, 1860-1865. doi: 10.1016/j.saa.2011.05.076.
- [65] Y. Wang, S. Gao, X. Zang, J. Li, J. Ma, *Graphene-based solid-phase extraction combined with flame atomic absorption spectrometry for a sensitive determination of trace amounts of lead in environmental water and vegetable samples*, Analytica Chimica Acta, 2012, 716, 112-118. doi: 10.1016/j.aca.2011.12.007.

- [66] J. Chen, J. Zou, J. Zeng, X. Song, J. Ji, Y. Wang, J. Ha, X. Chen, *Preparation and evaluation of graphene-coated solid-phase microextraction fiber*, *Analytica Chimica Acta*, 2010, 678, 44-49. doi: 10.1016/j.aca.2010.08.008.
- [67] V.K. Ponnusamy, J.-F. Jen, *A novel graphene nanosheets coated stainless steel fiber for microwave assisted headspace solid phase microextraction of organochlorine pesticides in aqueous samples followed by gas chromatography with electron capture detection*, *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218, 6861-6868. doi: 10.1016/j.chroma.2011.08.019.
- [68] Q. Wu, C. Feng, G. Zhao, C. Wang, Z. Wang, *Graphene-coated fiber for solid-phase microextraction of triazine herbicides in water samples*, *Journal of Separation Science*, 2012, 35, 193-199. doi: 10.1002/jssc.201100740.
- [69] L. Xu, J. Feng, J. Li, X. Liu, S. Jiang, *Graphene oxide bonded fused-silica fiber for solid-phase microextraction-gas chromatography of polycyclic aromatic hydrocarbons in water*, *Journal of Separation Science*, 2012, 35, 93-100. doi: 10.1002/jssc.201100612.
- [70] L. Xu, J. Feng, X. Liang, J. Li, S. Jiang, *C18 functionalized graphene oxide as a novel coating for solid-phase microextraction*, *Journal of Separation Science*, 2012, 35, 1531-1537. doi: 10.1002/jssc.201200124.
- [71] H. Zhang, H.K. Lee, *Plunger-in-needle solid-phase microextraction with graphene-based sol-gel coating as sorbent for determination of polybrominated diphenyl ethers*, *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218, 4509-4516. doi: 10.1016/j.chroma.2011.05.016.
- [72] H. Zhang, H.K. Lee, *Simultaneous determination of ultraviolet filters in aqueous samples by plunger-in-needle solid-phase microextraction with graphene-based sol-gel coating as sorbent coupled with gas chromatography-mass spectrometry*, *Analytica Chimica Acta*, 2012, 742, 67-73. doi: 10.1016/j.aca.2012.03.016.
- [73] S. Zhang, Z. Du, G. Li, *Layer-by-Layer Fabrication of Chemical-Bonded Graphene Coating for Solid-Phase Microextraction*, *Analytical Chemistry*, 2011, 83, 7531-7541. doi: 10.1021/ac201864f.
- [74] G. Zhao, S. Song, C. Wang, Q. Wu, Z. Wang, *Solid-phase microextraction with a novel graphene-coated fiber coupled with high-performance liquid chromatography for the determination of some carbamates in water samples*, *Analytical Methods*, 2011, 3, 2929-2935. doi: 10.1039/C1AY05358B.
- [75] D. Trache, M.H. Hussin, C.T. Hui Chuin, S. Sabar, M.R.N. Fazita, O.F.A. Taiwo, T.M. Hassan, M.K.M. Haafiz, *Microcrystalline cellulose: Isolation, characterization and bio-composites application—A review*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93, 789-804. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.09.056.
- [76] F. Peng, Y. Su, Y. Zhong, C. Fan, S.-T. Lee, Y. He, *Silicon Nanomaterials Platform for Bioimaging, Biosensing, and Cancer Therapy*, *Accounts of Chemical Research*, 2014, 47, 612-623. doi: 10.1021/ar400221g.
- [77] A. Namera, A. Nakamoto, T. Saito, S. Miyazaki, *Monolith as a new sample preparation material: Recent devices and applications*, *Journal of Separation Science*, 2011, 34, 901-924. doi: 10.1002/jssc.201000795.

- [78] J.G. Croissant, Y. Fatieiev, A. Almalik, N.M. Khashab, *Mesoporous Silica and Organosilica Nanoparticles: Physical Chemistry, Biosafety, Delivery Strategies, and Biomedical Applications*, Advanced Healthcare Materials, 2018, 7. doi: 10.1002/adhm.201700831.
- [79] Q. He, X. Chang, X. Huang, Z. Hu, *Determination of trace elements in food samples by ICP-AES after preconcentration with p-toluenesulfonylamide immobilized on silica gel and nanometer SiO₂*, Microchimica Acta, 2008, 160, 147-152. doi: 10.1007/s00604-007-0823-y.
- [80] L. Zhang, Y. Zhai, X. Chang, Q. He, X. Huang, Z. Hu, *Determination of trace metals in natural samples by ICP-OES after preconcentration on modified silica gel and on modified silica nanoparticles*, Microchimica Acta, 2009, 165, 319-327. doi: 10.1007/s00604-009-0137-3.
- [81] L.-Y. Yuan, Y.-L. Liu, W.-Q. Shi, Y.-L. Lv, J.-H. Lan, Y.-L. Zhao, Z.-F. Chai, *High performance of phosphonate-functionalized mesoporous silica for U(VI) sorption from aqueous solution*, Dalton Transactions, 2011, 40, 7446-7453. doi: 10.1039/C1DT10085H.
- [82] S.-X. Deng, X.-L. Zhang, J.-G. Wang, H.-J. Zhou, P.-C. Sun, T.-H. Chen, *Multi-amine-functionalized cubic F₆m mesoporous silica by an anionic surfactant templating route*, RSC Advances, 2012, 2, 956-962. doi: 10.1039/C1RA00363A.
- [83] B.-L. Su, X.-C. Ma, F. Xu, L.-H. Chen, Z.-Y. Fu, N. Moniotte, S.B. Maamar, R. Lamartine, F. Vocanson, *SBA-15 mesoporous silica coated with macrocyclic calix[4]arene derivatives: Solid extraction phases for heavy transition metal ions*, Journal of Colloid and Interface Science, 2011, 360, 86-92. doi: 10.1016/j.jcis.2011.03.084.
- [84] H. Bagheri, A. Roostaie, *Aniline-silica nanocomposite as a novel solid phase microextraction fiber coating*, Journal of Chromatography A, 2012, 1238, 22-29. doi: 10.1016/j.chroma.2012.03.027.
- [85] T. Li, J. Xu, J.-H. Wu, Y.-Q. Feng, *Liquid-phase deposition of silica nanoparticles into a capillary for in-tube solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography*, Journal of Chromatography A, 2009, 1216, 2989-2995. doi: 10.1016/j.chroma.2009.01.076.
- [86] H. Bagheri, M. Saraji, *Conductive polymers as new media for solid-phase extraction: Isolation of chlorophenols from water sample*, Journal of Chromatography A, 2003, 986, 111-119. doi: 10.1016/S0021-9673(02)01972-6.
- [87] H. Bagheri, Z. Ayazi, M. Naderi, *Conductive polymer-based microextraction methods: A review*, Analytica Chimica Acta, 2013, 767, 1-13. doi: 10.1016/j.aca.2012.12.013.
- [88] C. Roney, P. Kulkarni, V. Arora, P. Antich, F. Bonte, A. Wu, N.N. Mallikarjuana, S. Manohar, H.F. Liang, A.R. Kulkarni, H.W. Sung, M. Sairam, T.M. Aminabhavi, *Targeted nanoparticles for drug delivery through the blood-brain barrier for Alzheimer's disease*, Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society, 2005, 108, 193-214. doi: 10.1016/j.jconrel.2005.07.024.
- [89] M.M. Moein, D. Jabbar, A. Colmsjö, M. Abdel-Rehim, *A needle extraction utilizing a molecularly imprinted-sol-gel xerogel for on-line microextraction of the lung cancer biomarker bilirubin from plasma and urine samples*, Journal of Chromatography A, 2014, 1366, 15-23. doi: 10.1016/j.chroma.2014.09.012.

- [90] S. Srivastava, R. Gadhave, *Recent Developments in Inorganic Polymers: A Review with Focus on Si-Al based inorganic polymers*, *Oriental Journal of Chemistry*, 2015, 31, 2475-2480. doi: 10.13005/ojc/310483.
- [91] K. Czarnobaj, *Preparation and Characterization of Silica Xerogels as Carriers for Drugs*, *Drug Delivery*, 2008, 15, 485-492. doi: 10.1080/10717540802321495.
- [92] J.-R. Li, J. Sculley, H.-C. Zhou, *Metal–Organic Frameworks for Separations*, *Chemical Reviews*, 2012, 112, 869-932. doi: 10.1021/cr200190s.
- [93] D. Banerjee, A.J. Cairns, J. Liu, R.K. Motkuri, S.K. Nune, C.A. Fernandez, R. Krishna, D.M. Strachan, P.K. Thallapally, *Potential of Metal–Organic Frameworks for Separation of Xenon and Krypton*, *Accounts of Chemical Research*, 2015, 48, 211-219. doi: 10.1021/ar5003126.
- [94] C.-T. He, J.-Y. Tian, S.-Y. Liu, G. Ouyang, J.-P. Zhang, X.-M. Chen, *A porous coordination framework for highly sensitive and selective solid-phase microextraction of non-polar volatile organic compounds*, *Chemical Science*, 2013, 4, 351-356. doi: 10.1039/C2SC21181E.
- [95] X. Guo, T. Xing, Y. Lou, J. Chen, *Controlling ZIF-67 crystals formation through various cobalt sources in aqueous solution*, *Journal of Solid State Chemistry*, 2016, 235, 107-112. doi: 10.1016/j.jssc.2015.12.021.
- [96] J. Dai, C. Li, S. Xiao, J. Liu, J. He, J. Li, L. Wang, J. Lei, *Fabrication of novel ZIF-67 Composite Microspheres for Effective Adsorption and Solid-phase Extraction of Dyes from Water*, *ChemistrySelect*, 2018, 3, 5833-5842. doi: 10.1002/slct.201800778.
- [97] L. Chen, S. Xu, J. Li, *Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications*, *Chemical Society Reviews*, 2011, 40, 2922-2942. doi: 10.1039/C0CS00084A.
- [98] K. Haupt, *Molecularly imprinted polymers: The next generation*, *Analytical Chemistry*, 2003, 75, 376A-383A. doi: 10.1021/ac031385h.
- [99] R. Schirhagl, U. Latif, D. Podlipna, H. Blumenstock, F.L. Dickert, *Natural and biomimetic materials for the detection of insulin*, *Analytical chemistry*, 2012, 84, 3908-13. doi: 10.1021/ac201687b.
- [100] S. Armenta, S. Garrigues, M. de la Guardia, *Green Analytical Chemistry*, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2008, 27, 497-511. doi: 10.1016/j.trac.2008.05.003.
- [101] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik, *The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices*, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2013, 50, 78-84. doi: 10.1016/j.trac.2013.04.010.
- [102] M.A. Albrecht, C.W. Evans, C.L. Raston, *Green chemistry and the health implications of nanoparticles*, *Green Chemistry*, 2006, 8, 417-432. doi: 10.1039/B517131H.
- [103] P.T. Anastas, M.M. Kirchhoff, *Origins, current status, and future challenges of green chemistry*, *Acc Chem Res*, 2002, 35, 686-94. doi: 10.1021/ar010065m.

- [104] L. Ramos, J.J. Ramos, U.A. Brinkman, *Miniaturization in sample treatment for environmental analysis*, Analytical and bioanalytical chemistry, 2005, 381, 119-40. doi: 10.1007/s00216-004-2906-5.
- [105] J. Tian, J. Xu, F. Zhu, T. Lu, C. Su, G. Ouyang, *Application of nanomaterials in sample preparation*, Journal of Chromatography A, 2013, 1300, 2-16. doi: 10.1016/j.chroma.2013.04.010.
- [106] I. Karadjova, I. Dakova, T. Yordanova, P. Vasileva, *Nanomaterials for elemental speciation*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2016, 31, 1949-1973. doi: 10.1039/C6JA00168H.
- [107] J. Chun, S.W. Seo, G.Y. Jung, J. Lee, *Easy access to efficient magnetically recyclable separation of histidine-tagged proteins using superparamagnetic nickel ferrite nanoparticle clusters*, Journal of Materials Chemistry, 2011, 21, 6713-6717. doi: 10.1039/C0JM04089D.
- [108] T. Vo-Dinh, F. Yan, M.B. Wabuyele, *Surface-enhanced Raman scattering for medical diagnostics and biological imaging*, 2005, 36, 640-647. doi: 10.1002/jrs.1348.
- [109] P.P. Pompa, L. Martiradonna, A.D. Torre, F.D. Sala, L. Manna, M. De Vittorio, F. Calabi, R. Cingolani, R. Rinaldi, *Metal-enhanced fluorescence of colloidal nanocrystals with nanoscale control*, Nature Nanotechnology, 2006, 1, 126. doi: 10.1038/nnano.2006.93.
- [110] D.M. Templeton, F. Ariese, R. Cornelis, L.G. Danielsson, H. Muntau, H.P. Van Leeuwen, R. Lobinski, *Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000)*, Pure Appl. Chem., 2000, 72, 1453-1470. doi: 10.1351/pac200072081453.
- [111] A. González, M.L. Cervera, S. Armenta, M. de la Guardia, *A review of non-chromatographic methods for speciation analysis*, Analytica Chimica Acta, 2009, 636, 129-157. doi: 10.1016/j.aca.2009.01.065.
- [112] D. Das, U. Gupta, A.K. Das, *Recent developments in solid phase extraction in elemental speciation of environmental samples with special reference to aqueous solutions*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2012, 38, 163-171. doi: 10.1016/j.trac.2011.01.020.
- [113] A. González, S. Armenta, M.L. Cervera, M. de la Guardia, *Non-chromatographic speciation*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2010, 29, 260-268. doi: 10.1016/j.trac.2009.12.006.
- [114] L.M. Ravelo-Pérez, A.V. Herrera-Herrera, J. Hernández-Borges, M.Á. Rodríguez-Delgado, *Carbon nanotubes: Solid-phase extraction*, Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 2618-2641. doi: 10.1016/j.chroma.2009.10.083.
- [115] G. Ouyang, D. Vuckovic, J. Pawliszyn, *Nondestructive sampling of living systems using in vivo solid-phase microextraction*, Chem Rev, 2011, 111, 2784-814. doi: 10.1021/cr100203t.
- [116] S. Risticvic, H. Lord, T. Górecki, C.L. Arthur, J. Pawliszyn, *Protocol for solid-phase microextraction method development*, Nature Protocols, 2010, 5, 122. doi: 10.1038/nprot.2009.179.

- [117] A. Azzouz, S.K. Kailasa, S.S. Lee, A. J. Rascón, E. Ballesteros, M. Zhang, K.-H. Kim, *Review of nanomaterials as sorbents in solid-phase extraction for environmental samples*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2018, 108, 347-369. doi: 10.1016/j.trac.2018.08.009.
- [118] A. Andrade-Eiroa, M. Canle, V. Leroy-Cancellieri, V. Cerdà, *Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I)*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016, 80, 641-654. doi: 10.1016/j.trac.2015.08.015.
- [119] E.A. Souza Silva, S. Risticevic, J. Pawliszyn, *Recent trends in SPME concerning sorbent materials, configurations and in vivo applications*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2013, 43, 24-36. doi: 10.1016/j.trac.2012.10.006.
- [120] C. Duan, Z. Shen, D. Wu, Y. Guan, *Recent developments in solid-phase microextraction for on-site sampling and sample preparation*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2011, 30, 1568-1574. doi: 10.1016/j.trac.2011.08.005.
- [121] M. Sajid, M. Khaled Nazal, M. Rutkowska, N. Szczepanska, J. Namiesnik, J. Plotka-Wasyłka, *Solid Phase Microextraction: Apparatus, Sorbent Materials, and Application*, Critical reviews in analytical chemistry, 2018, 10.1080/10408347.2018.1517035 1-18. doi: 10.1080/10408347.2018.1517035.
- [122] A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, M. de la Guardia, J. Namieśnik, *Recent developments and future trends in solid phase microextraction techniques towards green analytical chemistry*, Journal of Chromatography A, 2013, 1321, 1-13. doi: 10.1016/j.chroma.2013.10.030.
- [123] P.J. Robinson, P. Dunnill, M.D. Lilly, *The properties of magnetic supports in relation to immobilized enzyme reactors*, 1973, 15, 603-606. doi: 10.1002/bit.260150318.
- [124] G. Giakissikli, A.N. Anthemidis, *Magnetic materials as sorbents for metal/metalloid preconcentration and/or separation. A review*, Analytica Chimica Acta, 2013, 789, 1-16. doi: 10.1016/j.aca.2013.04.021.
- [125] W.A.W. Ibrahim, H.R. Nodeh, H.Y. Aboul-Enein, M.M. Sanagi, *Magnetic Solid-Phase Extraction Based on Modified Ferum Oxides for Enrichment, Preconcentration, and Isolation of Pesticides and Selected Pollutants*, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2015, 45, 270-287. doi: 10.1080/10408347.2014.938148.
- [126] J. Plotka-Wasyłka, N. Szczepańska, M. de la Guardia, J. Namieśnik, *Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016, 77, 23-43. doi: 10.1016/j.trac.2015.10.010.
- [127] W.-H. Tsai, T.-C. Huang, J.-J. Huang, Y.-H. Hsue, H.-Y. Chuang, *Dispersive solid-phase microextraction method for sample extraction in the analysis of four tetracyclines in water and milk samples by high-performance liquid chromatography with diode-array detection*, Journal of Chromatography A, 2009, 1216, 2263-2269. doi: 10.1016/j.chroma.2009.01.034.
- [128] K. Kocot, B. Zawisza, E. Marguí, I. Queralt, M. Hidalgo, R. Sitko, *Dispersive micro solid-phase extraction using multiwalled carbon nanotubes combined with portable total-reflection X-ray fluorescence spectrometry for the determination of trace amounts of Pb and Cd in water samples*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2013, 28, 736-742. doi: 10.1039/C3JA50047K.

- [129] A.A. Asgharinezhad, H. Ebrahimzadeh, F. Mirbabaei, N. Mollazadeh, N. Shekari, *Dispersive micro-solid-phase extraction of benzodiazepines from biological fluids based on polyaniline/magnetic nanoparticles composite*, *Analytica Chimica Acta*, 2014, 844, 80-89. doi: 10.1016/j.aca.2014.06.007.
- [130] A.A. Asgharinezhad, N. Mollazadeh, H. Ebrahimzadeh, F. Mirbabaei, N. Shekari, *Magnetic nanoparticles based dispersive micro-solid-phase extraction as a novel technique for coextraction of acidic and basic drugs from biological fluids and waste water*, *Journal of Chromatography A*, 2014, 1338, 1-8. doi: 10.1016/j.chroma.2014.02.027.
- [131] E.M. Reyes-Gallardo, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Magnetic nanoparticles-nylon 6 composite for the dispersive micro solid phase extraction of selected polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples*, *Journal of Chromatography A*, 2014, 1345, 43-49. doi: 10.1016/j.chroma.2014.04.033.
- [132] B. Socas-Rodríguez, J. Hernández-Borges, P. Salazar, M. Martín, M.Á. Rodríguez-Delgado, *Core-shell polydopamine magnetic nanoparticles as sorbent in micro-dispersive solid-phase extraction for the determination of estrogenic compounds in water samples prior to high-performance liquid chromatography-mass spectrometry analysis*, *Journal of Chromatography A*, 2015, 1397, 1-10. doi: 10.1016/j.chroma.2015.04.010.
- [133] S. Mahpishanian, H. Sereshti, *Graphene oxide-based dispersive micro-solid phase extraction for separation and preconcentration of nicotine from biological and environmental water samples followed by gas chromatography-flame ionization detection*, *Talanta*, 2014, 130, 71-77. doi: 10.1016/j.talanta.2014.06.004.
- [134] H. Watanabe, H. Tanaka, *A non-ionic surfactant as a new solvent for liquid-liquid extraction of zinc(II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol*, *Talanta*, 1978, 25, 585-589. doi: 10.1016/0039-9140(78)80151-9.
- [135] T. Saitoh, W.L. Hinze, *Concentration of Hydrophobic Organic Compounds and Extraction of Protein Using Alkylammoniosulfate Zwitterionic Surfactant Mediated Phase Separations (Cloud Point Extractions)*, *Analytical Chemistry*, 1991, 63, 2520-2525. doi: 10.1021/ac00021a023.
- [136] W.L. Hinze, E. Pramauro, *A Critical Review of Surfactant-Mediated Phase Separations (Cloud-Point Extractions): Theory and Applications*, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1993, 24, 133-177. doi: 10.1080/10408349308048821.
- [137] F.H. Quina, W.L. Hinze, *Surfactant-Mediated Cloud Point Extractions: An Environmentally Benign Alternative Separation Approach*, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 1999, 38, 4150-4168. doi: 10.1021/ie980389n.
- [138] I. Hagarová, *Separation and quantification of metallic nanoparticles using cloud point extraction and spectrometric methods: a brief review of latest applications*, *Analytical Methods*, 2017, 9, 3594-3601. doi: 10.1039/C7AY00953D.
- [139] J.B. Chao, J.F. Liu, S.J. Yu, Y.D. Feng, Z.Q. Tan, R. Liu, Y.G. Yin, *Speciation analysis of silver nanoparticles and silver ions in antibacterial products and environmental waters via cloud point extraction-based separation*, *Analytical chemistry*, 2011, 83, 6875-82. doi: 10.1021/ac201086a.

- [140] G. Hartmann, C. Hutterer, M. Schuster, *Ultra-trace determination of silver nanoparticles in water samples using cloud point extraction and ETAAS*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2013, 28, 567-572. doi: 10.1039/C3JA30365A.
- [141] I. López-García, J. Jose Marín-Hernández, M. Hernández-Córdoba, *Graphite furnace atomic absorption spectrometric determination of vanadium after cloud point extraction in the presence of graphene oxide*, Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy, 2018, 143, 42-47. doi: 10.1016/j.sab.2018.02.013.
- [142] D.L. Giokas, Q. Zhu, Q. Pan, A. Chisvert, *Cloud point–dispersive μ -solid phase extraction of hydrophobic organic compounds onto highly hydrophobic core–shell Fe₂O₃@C magnetic nanoparticles*, Journal of Chromatography A, 2012, 1251, 33-39. doi: 10.1016/j.chroma.2012.06.054.
- [143] S. Dadfarnia, F. Shakerian, A.M.H. Shabani, *Suspended nanoparticles in surfactant media as a microextraction technique for simultaneous separation and preconcentration of cobalt, nickel and copper ions for electrothermal atomic absorption spectrometry determination*, Talanta, 2013, 106, 150-154. doi: 10.1016/j.talanta.2012.12.004.
- [144] J.G. Pryde, *Triton X-114: a detergent that has come in from the cold*, Trends in Biochemical Sciences, 1986, 11, 160-163. doi: 10.1016/0968-0004(86)90132-5.
- [145] T. Gu, P.A. Galera-Gómez, *Clouding of Triton X-114: The effect of added electrolytes on the cloud point of Triton X-114 in the presence of ionic surfactants*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 1995, 104, 307-312. doi: 10.1016/0927-7757(95)03217-1.

Empleo de óxido de grafeno como material adsorbente para la especiación y determinación de plomo, cadmio y vanadio utilizando ETAAS como sistema de detección

CAPÍTULO II

II.1. MICROEXTRACCIÓN DISPERSIVA EN FASE SÓLIDA DE CADMIO Y PLOMO USANDO Ag@rGO Y DETERMINACIÓN POR ETAAS

Contenido

II.1.1. Introducción	55
II.1.2. Parte experimental.....	60
II.1.2.1. Instrumentación.....	60
II.1.2.2. Reactivos y muestras	61
II.1.2.3. Preparación de Ag@rGO.....	62
II.1.2.4. Procedimiento para la determinación de cadmio y plomo	63
II.1.3. Resultados y discusión	65
II.1.3.1. Selección del material adsorbente y efecto del pH	65
II.1.3.2. Efecto de la cantidad de Ag@rGO	68
II.1.3.3. Optimización de la separación por punto de nube	70
II.1.3.4. Programa de calentamiento en ETAAS.....	73
II.1.3.5. Calibración	75
II.1.3.6. Determinación y especiación de cadmio y plomo en muestras de agua	76
II.1.4. Conclusiones	76
II.1.5. Bibliografía	80

II.1.1. Introducción

El grafeno consiste en una fina lámina monoatómica (0,35 nm) de carbón ordenado en una estructura hexagonal a modo de panal de abeja. Sus principales características son su elevada conductividad eléctrica (10^8 A cm^{-1}) y térmica ($5000 \text{ °C m}^{-1} \text{ K}^{-1}$), gran área superficial específica, excelente movilidad de carga ($3700 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$) y transmitancia del 97 % a la luz visible, lo que lo hace un excelente candidato para una gran cantidad de aplicaciones eléctricas [1].

Por otra parte, el óxido de grafeno (GO) y óxido de grafeno reducido (rGO) son materiales de interés no solo por sus aplicaciones fotónicas y eléctricas, sino también porque son los precursores del grafeno. La calidad del grafeno obtenido depende mucho del nivel de reducción del óxido de grafeno, lo que a su vez depende mucho del tipo de tratamiento. Desde que se propusieron los primeros procedimientos para la obtención de grafeno [2] se ha desarrollado un enorme interés en conseguir procedimientos de fabricación económicos a gran escala. Los métodos químicos son los más empleados porque parten de materiales asequibles y el equipamiento que se requiere para el proceso es sencillo [3]. En todos los casos, se trata de la oxidación de grafito para su posterior reducción a grafeno [4]. Tras ello, deben superarse las fuerzas de atracción de Van der Waals entre los planos basales de grafito, lo que se puede conseguir por exfoliación térmica o bien intercalando compuestos que aumenten la distancia entre planos [5]. Alternativamente, se puede recurrir a la exfoliación por ultrasonificación [6].

El óxido de grafito, que resulta de la oxidación del grafito, es muy similar al óxido de grafeno. Tiene una estructura en capas similar al grafito, pero el plano de los átomos de carbono en el óxido de grafito contiene grupos funcionales con átomos de oxígeno que no solo expanden la distancia entre capas, sino que también las dota de carácter hidrofílico. Por otra parte, mientras que en el grafeno los átomos de carbono presentan una estructura sp^2 , en el GO se encuentran, además, algunas estructuras sp^3 , en las que aparecen grupos funcionales unidos del tipo carboxil, carbonil, éster, etc. Esta funcionalización provoca la ruptura de los enlaces π deslocalizados aumentando su localización. Como resultado, estas capas oxidadas pueden ser exfoliadas en agua con ayuda de un tratamiento moderado con ultrasonidos. Si las hojas exfoliadas contienen una o unas pocas capas de átomos de carbono (como en el grafeno), estas hojas se llaman óxido de grafeno (GO). La propiedad más atractiva de GO es que puede ser parcialmente reducido a hojas de grafeno eliminando los grupos que contienen oxígeno y recuperando así su estructura conjugada. Las hojas de óxido de grafeno reducido (rGO) pueden considerarse, por tanto, como un derivado químico del grafeno. La Figura II.1.1 muestra las

estructuras químicas de estas sustancias. La quimera de obtener capas individuales de átomos de carbono a partir de grafito por exfoliación completa aún es un sueño.

Hoy en día, además de mediante la reducción de GO, el grafeno puede ser producido por la exfoliación micro-mecánica de grafito pirolítico altamente ordenado, crecimiento epitaxial o deposición de vapor químico (CVD) [4]. Estos tres métodos pueden producir grafeno con una estructura relativamente perfecta y excelentes propiedades.

Encontrar un reductor adecuado es una importante tarea que comenzó con el empleo de H_2S [7]. De todos los reductores propuestos, los más utilizados han sido hidracina [8], borohidruro sódico [9] y la mezcla de sodio e hidróxido de amonio [10]. La hidracina presenta como inconveniente los residuos que deja, ya que al ser perjudiciales para los seres vivos se imposibilita el empleo del grafeno obtenido para un buen número de aplicaciones. Por éste y otros motivos se han estudiado reductores amigables con el medioambiente y se han conseguido importantes avances [11].

También se ha estudiado el empleo de reducciones no químicas como las reducciones solvotérmicas, hidrotérmicas, electroquímicas, fotoquímicas, pero no se consigue el producto de la calidad que presenta el resultado de la reducción química. La Figura II.1.2 muestra un esquema de los diferentes reductores que se han propuesto. Para evitar la presencia de residuos que inhabiliten las aplicaciones biomédicas y de tratamiento de agua, se han estudiado recientemente lo que podríamos denominar reductores “verdes”.

Dentro de este grupo de reductores podemos incluir ácidos orgánicos, extractos de plantas, microorganismos, azúcares, antioxidantes naturales, aminoácidos y proteínas, etc. Todos estos compuestos son no tóxicos y amigables con el medio ambiente. De todos ellos, los mejores resultados se obtienen con el empleo de ácido ascórbico [12] pero no se consiguen eliminar completamente todos los grupos funcionales con oxígeno en el GO y se requieren reactivos especiales para estabilizar las suspensiones de rGO.

Se ha estimado que, aunque depende del método de preparación, la fórmula estructural del GO queda en el intervalo de $C_8O_2H_3$ a $C_8O_4H_5$, lo que corresponde a una relación carbono: oxígeno (C/O) de 4:1 a 2:1 [13]. Cuando se recurre a la reducción por vía química del GO con hidracina se consigue una relación (C/O) de 12,5, similar a la encontrada con el empleo de ácido ascórbico [14] y menor a la que se ha encontrado con el empleo de ioduro de hidrógeno (HI) con el que se ha alcanzado una relación (C/O) de 15 [15]. La combinación de la reducción por vía química junto con un tratamiento térmico permite alcanzar relaciones (C/O) de hasta 246 [16].

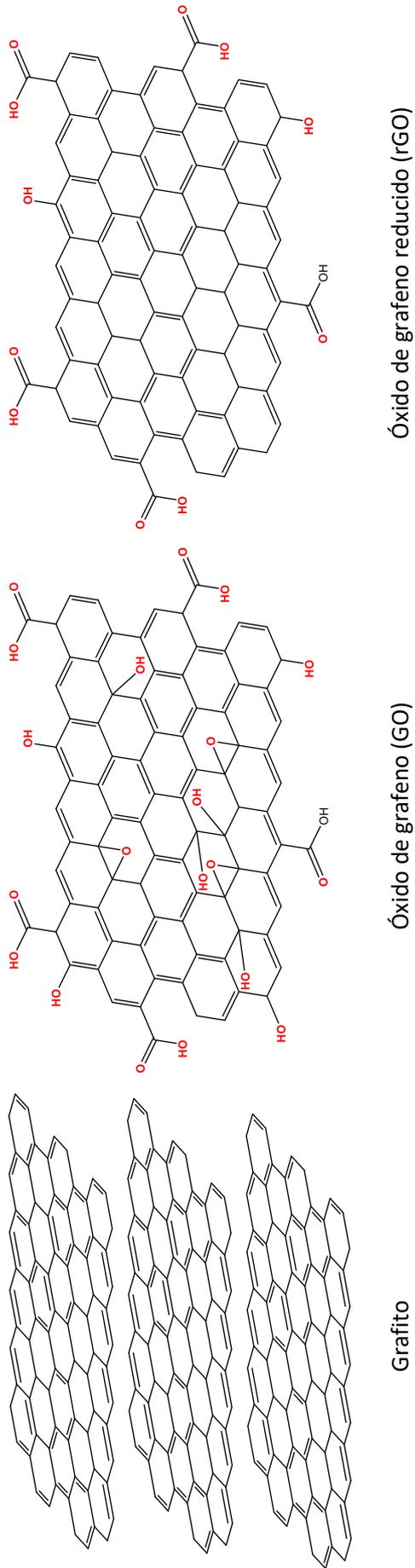


Figura II.1.1: La oxidación de grafito conduce a GO con baja interacción entre capas. La reducción de GO conduce a la formación de rGO con muy baja funcionalidad en el interior del plano de carbono. Adaptado de [1-3]

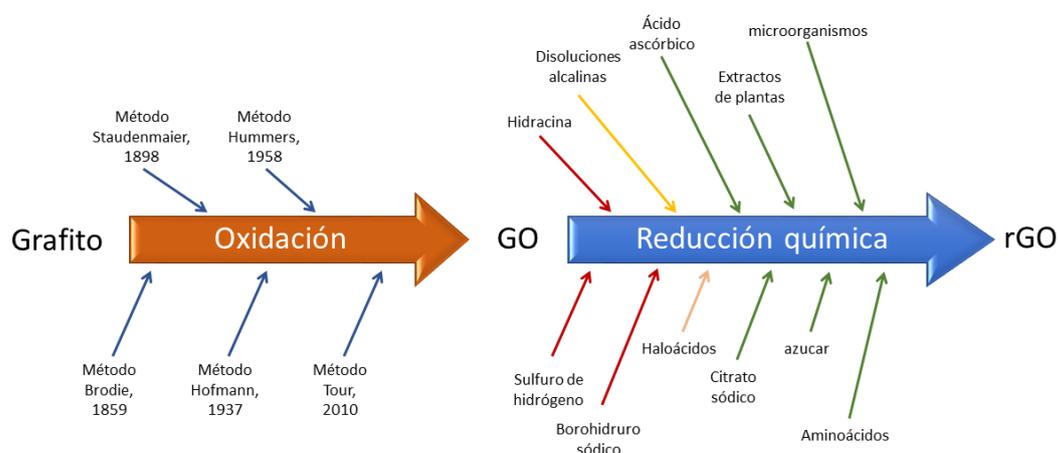


Figura II.1.2: Representación esquemática de gran parte de los métodos de oxidación de grafito para dar óxido de grafito y su reducción química con el empleo de distintos reductores. Adaptado de [11].

Sin embargo, estos procesos de eliminación de grupos funcionales generan defectos en la estructura planar del grafeno que disminuyen su conductividad eléctrica. La investigación futura sobre la reducción de GO debería centrarse principalmente en dos temas: (1) una comprensión mucho más profunda del mecanismo de reducción y (2) cómo controlar la oxidación del grafito y la reducción de GO.

El empleo del grafeno y óxido de grafito en las técnicas de preparación de muestras modernas está muy extendido debido a sus excelentes resultados [17, 18] y su gran capacidad para interactuar con iones metálicos al nivel de traza y compuestos orgánicos [19]. Se han utilizado tanto en determinación “*on-line*” como “*off-line*” empleando técnicas muy diversas como SPE (extracción en fase sólida), MEPS (microextracción con adsorbente empaquetado), SBSE (extracción en fase sólida con barra agitadora), MSPE (microextracción en fase sólida magnética) y SPME (microextracción en fase sólida) [20-23].

Si nos centramos en su empleo para la adsorción de iones metálicos podemos decir que el grafeno se ha utilizado generalmente para la retención de aniones metálicos, mientras que el GO se ha utilizado más para la separación de cationes. No obstante, si el GO se modifica adecuadamente con distintos materiales se puede utilizar tanto para cationes como aniones. Tanto el grafeno como el GO resultan más adecuados que los nanotubos de carbono para

adsorción de metales porque en el caso de aquellos no se utilizan metales como catalizadores en su síntesis y, además, el plano interno no es accesible para la adsorción en los nanotubos [24]. A ello hay que añadir que G y GO poseen más grupos con átomos de oxígeno lo que aumenta la afinidad por los iones metálicos.

Sin embargo, el rGO se ha utilizado en mucha menor extensión a pesar de mostrar mayor selectividad en la adsorción de compuestos orgánicos [22]. Así mientras que en el rGO se pueden retener compuestos con anillos aromáticos debido a la presencia de fuertes interacciones π - π , en el caso del GO la presencia de abundantes grupos funcionales favorece la formación de enlaces por puente de hidrógeno y la interacción electrostática con compuestos orgánicos conteniendo grupos funcionales con átomos de oxígeno o nitrógeno [22]. En el caso de iones metálicos, el rGO se ha utilizado con soporte magnético para la eliminación de arsénico, mercurio, níquel, plomo y paladio mediante la formación de materiales compuestos entre rGO y óxidos magnéticos, polímeros, quitosan y distintos grupos funcionales [22]. Desde el punto de vista de la determinación de iones metálicos por extracción en fase sólida, se ha propuesto su empleo en la determinación de plomo [25] y cromo [26]. No obstante, hay que señalar que algunos autores indican de forma equivocada el empleo de grafeno cuando lo obtienen a partir de la reducción de GO con sulfato de hidracina, ya que en estas condiciones lo que están utilizando es en realidad rGO.

El rGO es un buen candidato para utilizarse como adsorbente en SPE debido a sus propiedades de interacción electrostática π , área superficial específica alta, estabilidad química y fuerte resistencia mecánica. Sin embargo, las láminas de óxido de grafeno reducido tienden a empaquetarse y formar aglomerados irreversibles debido a la fuerte interacción π y las interacciones de Van der Waals entre ellas, lo que resulta en una disminución drástica en el área de la superficie [27]. Para evitar este inconveniente se ha recurrido a la funcionalización del rGO. En efecto, la funcionalización del rGO recubriendo la superficie con metales u óxidos metálicos aumenta la dispersabilidad del material evitando la formación de aglomerados [28], lo que facilita el manejo para todo tipo de aplicaciones sin perder las ventajas derivadas de la gran superficie activa.

Se ha propuesto la incorporación de plata sobre óxido de grafeno reducido para disminuir su resistencia eléctrica tanto a partir de la reducción con reactivos químicos del GO [29-31], como mediante tratamiento térmico [29, 30, 32]. El material así preparado se ha aplicado a la purificación de agua [28, 33] puesto que es capaz de retener Hg (II) y también como agente bactericida [29] o en la fotodegradación de contaminantes [34]. Desde el punto de vista

analítico se ha propuesto con fines tan diversos como el de catalizador en la determinación de glucosa y ácido ascórbico [35], detección de biomoléculas como el ADN [36] y pesticidas [37].

Esta acción beneficiosa de las nanopartículas de plata, AgNPs, retenidas sobre rGO es congruente con alguna de las investigaciones realizadas por el grupo AIM de la Universidad de Murcia en cuya línea de trabajo se encuentra esta Memoria. Así, ya ha sido descrito que las AgNPs pueden emplearse directamente [38-40] o soportadas sobre partículas magnéticas de ferrita para la retención de iones metálicos [41, 42] como una base para procedimientos de sensibilidad extrema para la determinación de trazas de metales mediante la medida final con ETAAS.

En este capítulo estudiamos el empleo de nanopartículas de rGO recubiertas de plata para la adsorción de cadmio y plomo. Como veremos en los resultados experimentales, el gran desarrollo superficial del material disperso consigue una retención cuantitativa y muy rápida, lo que permite una efectiva concentración de los analitos mencionados para su determinación final por ETAAS. La mayor dificultad a vencer es la derivada de las propias características favorables del rGO, pues el muy bajo tamaño de partícula del material disperso y sus características hidrofílicas parciales dificultan el aislamiento del material sólido. Para solventar este tipo de problemas con materiales similares algunos autores han propuesto emplear líquidos iónicos con afinidad por el GO [43-45] o en combinación con materiales magnéticos [27, 46, 47], pero en nuestra opinión resulta más adecuado el empleo de sistemas supramoleculares como la metodología de extracción en punto de nube, en donde las nanopartículas quedan confinadas dentro de las micelas [48, 49]. Así, en este capítulo proponemos el empleo de nanopartículas de rGO recubiertas de plata para la adsorción de plomo y cadmio. La recuperación del material adsorbente se realiza por aplicación de la metodología de punto de nube utilizando Triton X-114. En estas condiciones el adsorbente queda retenido dentro de las micelas. Tras la centrifugación, la fase condensada se calienta suavemente para disminuir su viscosidad y unos microlitros de la misma se llevan al atomizador electrotérmico para la determinación de cadmio y plomo. En lo que nosotros sabemos, este adsorbente únicamente se ha propuesto para la determinación de mercurio [50] y colorantes aniónicos [51].

II.1.2. Parte experimental

II.1.2.1. Instrumentación

Todas las medidas se han llevado a cabo con un espectrómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 800 (Waltham, MA), equipado con un atomizador de horno de grafito

con calentamiento transversal, un dispositivo corrector de fondo mediante efecto Zeeman y un automuestreador (modelo AS-800). Los tubos equipados con plataforma fueron de grafito pirolítico y se obtuvieron del mismo fabricante. Como gas inerte se ha empleado argón con una velocidad de flujo de 250 mL min⁻¹. Como fuentes de radiación se han utilizado lámparas de cátodo hueco de cadmio y plomo (Perkin-Elmer). Los parámetros instrumentales utilizados se resumen en la Tabla II.1.1. Para el tratamiento en ultrasonidos se utilizó un baño de ultrasonidos de 50 W (ATU, Valencia; España). Se utilizó una centrífuga Hettich modelo EBA 200 (Tuttlingen, Alemania) equipada con un soporte para tubos cónicos de 15 mL, capaz de trabajar hasta 6000 rpm (3641 g). El estudio del tamaño de partícula se realizó con un Malvern Zetasizer nano zsp (England). En la preparación de Ag@rGO se utilizó una centrífuga refrigerada Sigma 3-18K Sartorius (Göttingen, Germany).

Tabla II.1.1: Parámetros instrumentales y programa de calentamiento.

Parámetros	Cadmio	Plomo	
Corriente de lámpara, mA	4	14	
Longitud de onda, nm	228,8	283,3	
Ancho de banda espectral, nm	0,7		
Tipo de atomizador	Plataforma		
Volumen de muestra inyectada, µL	20		
Temperatura de inyección, °C	50		
Modificador químico	Nitrato de paladio (500 mg L ⁻¹ de Pd), 20 µL		
Volumen de muestra, mL	10		

Programa de calentamiento de horno			
Etapas	Temperatura, °C	Rampa, s	Mantenido, s
1: Secado	110	1	15
2: Secado	400	15	30
3: Calcinación	1000 ^a /1100 ^b	10	30
4: Enfriamiento	200	1	15
4: Atomización ^c	1700 ^a /2200 ^b	0	4
5: Limpieza	2550	1	3

Secuencia para la determinación de cadmio y plomo:
 Paso A: Inyectar 20 µL de modificador químico y ejecutar las etapas 1 y 2.
 Paso B: Inyectar la muestra o estándar y ejecutar todo el programa.

^a Cd; ^b Pb; ^c Etapa de lectura. Flujo de gas detenido.

II.1.2.2. Reactivos y muestras

Las disoluciones se prepararon con agua desionizada (resistividad 18 MΩ cm) purificada con un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). El material de vidrio y de plástico

(polipropileno) se lavó con una disolución al 1 % (v/v) de ácido nítrico y se aclaró con agua desionizada antes de su uso.

Las disoluciones estándar de cadmio (II) y plomo (II) de 1000 mg mL⁻¹ fueron preparadas a partir de Cd(NO₃)₂·4H₂O y Pb(NO₃)₂ (Aldrich, St. Louis, MO 63103, USA), en agua ultrapura, a partir de las cuales se obtuvieron disoluciones estándar de trabajo. Disoluciones más diluidas se prepararon antes del análisis mediante la dilución adecuada de las disoluciones anteriores. Los reactivos Triton X-114, tetrahidrobórato de sodio (NaBH₄), citrato sódico y nitrato de plata (AgNO₃) fueron obtenidos de Sigma-Aldrich y usados sin purificación adicional. El óxido de grafeno fue obtenido de Timesnano (Chengdu Organic Chemicals Co. Ltd., Chinese Academy of Sciences). Se preparó una suspensión de 2 mg mL⁻¹ manteniendo en ultrasonidos durante 30 minutos. El resto de los productos químicos utilizados se obtuvieron de Merck o Sigma.

Se compraron dos muestras de agua embotellada en un supermercado y el agua de grifo se recolectó del suministro principal de la Universidad de Murcia. La muestra de agua de mar se obtuvo en la orilla de una playa de la costa murciana. Todas las muestras se filtraron y se mantuvieron en un recipiente de plástico a 4 °C hasta que se analizaron (menos de 48 horas).

Además, se utilizaron siete materiales de referencia certificados de agua, NIST 1640a (oligoelementos en agua natural), SPS-SW2 Batch 125 (material de referencia para la medida de elementos en aguas superficiales), ERM-CA011b (agua potable), TMRain-04 (agua de lluvia), TM-23.4 (agua fortificada con elementos traza) y TM-25.4 (agua fortificada a bajo nivel) cuyo certificado indica el contenido total de cadmio y plomo y que fueron obtenidas del National Institute of Standards and Technology, National Research Council Canada, Spectrapure Standards, European Reference Materials y Environment Canada (TM materials), respectivamente.

II.1.2.3. Preparación de Ag@rGO

Para la preparación de este material compuesto se han seguido, en parte, las recomendaciones publicadas previamente por otros autores que emplean borohidruro [51] o citrato [52]. En el primer caso, se preparó una suspensión de óxido de grafeno a partir del producto sólido comercial dispersando 20 mg en 100 mL de agua con ayuda de ultrasonidos durante una hora. A continuación, se añadieron 70 mg de nitrato de plata y se agitó durante 15 minutos para conseguir la completa disolución de la sal. Seguidamente se añadieron gota a gota y con agitación continua, 10 mL de NaBH₄ 0,1 mol L⁻¹ y se mantuvo en agitación durante 3 horas.

La suspensión se calentó en un reactor de teflón a 120 °C durante 3 horas. Una vez fría se centrifugó a 12000 rpm (14976 g) desechando el sobrenadante y lavando tres veces con agua destilada. Finalmente, el residuo sólido se suspendió en 10 mL de forma que la concentración final resultó de 2 mg mL⁻¹ de material.

Para la preparación de Ag@rGO obtenido con citrato se dispersaron 100 mg de GO en 50 mL de agua y se sometió a ultrasonidos durante 30 minutos. Seguidamente se añadieron lentamente (30 minutos) y con agitación 15 mL de disolución de AgNO₃ 0,1 mol L⁻¹. La suspensión se introdujo en un baño de ultrasonidos y se añadieron 6 mL de citrato sódico 0,1 mol L⁻¹. La suspensión se mantuvo en el baño de ultrasonidos durante una hora. Se centrifugó a 12000 rpm desechando el sobrenadante y lavando tres veces con agua destilada. Finalmente, el residuo sólido se suspendió en 50 mL de forma que, al igual que en el caso anterior, la concentración final resultó de 2 mg mL⁻¹ de material.

El rGO utilizado con fines comparativos se obtuvo también por ambos procedimientos, pero en ausencia de plata.

II.1.2.4. Procedimiento para la determinación de cadmio y plomo

Sobre una alícuota de 10 mL de muestra colocada en un tubo de centrifuga, se adicionaron 100 µL de disolución reguladora hidrogenocarbonato-carbonato 0,1 mol L⁻¹ (pH= 8) y 50 µL de la suspensión de 2 mg mL⁻¹ de Ag@rGO en agua. La mezcla se agitó durante 10 segundos y, posteriormente, se dejó reposar durante 15 minutos. A continuación, se disolvieron 60 mg de KBr en el tubo que contiene la muestra y se calentó a 40 °C en un baño de agua durante 10 minutos. Seguidamente, se incorporaron 150 µL de una solución de Triton X-114 15% (m/V). La disolución se enturbió indicando la formación de micelas. La mezcla se centrifugó a 5000 rpm (2400 g) durante 10 minutos, el sobrenadante fue desechado y el coacervado fue homogeneizado por agitación con vórtex durante unos segundos. Tras calentar a 50 °C el coacervado para disminuir la viscosidad, se tomó una alícuota de 20 µL y se introdujo en el atomizador electrotérmico. El programa de calentamiento resumido en la Tabla II.1.1 fue aplicado y se obtuvo la señal correspondiente para cadmio y plomo. A menos que se indique lo contrario, las medidas se realizaron siempre por duplicado. En la Figura II.1.3 podemos observar el aspecto de la disolución de la muestra en cada uno de los pasos de la microextracción.

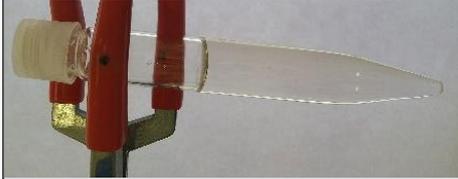
(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	Descripción
								<p>(a) Muestra acuosa.</p> <p>(b) Muestra acuosa + Ag@rGO.</p> <p>(c) Muestra acuosa + Ag@rGO + KBr sin calentar.</p> <p>(d) Muestra acuosa + Ag@rGO + KBr caliente.</p> <p>(e) Muestra acuosa + Ag@rGO + KBr caliente + Triton X-114 sin centrifugar.</p> <p>(f) Muestra acuosa + Ag@rGO + KBr caliente + Triton X-114 tras centrifugar.</p> <p>(g) Eliminación del líquido sobrenadante tras la centrifugación.</p> <p>(h) Coacervado que contiene el analito retenido en Ag@rGO preparado para su introducción en el atomizador.</p>

Figura II.1.3: Imágenes de las etapas del proceso de microextracción de Cd y Pb.

II.1.3. Resultados y discusión

II.1.3.1. Selección del material adsorbente y efecto del pH

El GO contiene grupos carboxilo, epóxido e hidroxilo en su plano basal y extremos que pueden coordinarse con Ag(I) para formar complejos estables GO-Ag_n⁺ [53]. Para la deposición de plata metálica sobre la superficie del GO se ha recurrido a la reducción de Ag (I) en presencia de una suspensión de GO con ayuda de reductores como el citrato sódico [52] y el borohidruro sódico [51]. En ambos casos, además de la reducción del ion plata, se produce una parcial reducción del GO hasta obtener óxido de grafeno reducido (rGO) [9, 13]. La idea por nuestra parte es desarrollar un material capaz de retener cuantitativamente iones metálicos como plomo y cadmio sin el empleo de agentes quelatantes. Las primeras experiencias se encaminaron a seleccionar el nanomaterial que muestra la mayor adsorción de estos iones metálicos. En este sentido se ensayó con GO, rGO, Ag@rGO{1} (sintetizado con citrato) y Ag@rGO[54] (sintetizado con borohidruro).

Se prepararon suspensiones de 2 mg mL⁻¹ de estos materiales de las que se tomaron 100 µL que se añadieron a disoluciones de cadmio y plomo de 5 y 100 µg L⁻¹, respectivamente, a distintos valores de pH. Se midió la señal debida al analito antes y después del proceso de adsorción. Para separar el material adsorbente se recurrió a centrifugar a 5000 rpm durante 10 minutos y a microfiltrar por 0,5 µm la disolución resultante. Los valores de retención obtenidos aparecen en las Figuras II.1.4 y II.1.5.

Como puede apreciarse, tanto cadmio como plomo presentan las mayores retenciones a valores de pH próximos a 8 y utilizando Ag@rGO. En ambos casos la retención es cuantitativa cuando el nanomaterial se sintetizó con citrato como reductor. El potencial zeta y la densidad de carga superficial de GO y rGO dependen del pH y se hacen tanto más negativos al aumentar éste [55]. Sin embargo, durante el proceso de reducción, la desaparición de los grupos funcionales del GO conlleva un aumento de potencial zeta [55-58] de forma que la superficie empieza a estar cargada negativamente por encima de pH= 4. Las Figuras II.1.6 y II.1.7 muestran las zonas de pH donde son predominantes las distintas formas de cadmio y plomo. Como puede apreciarse, la mayor retención para el plomo se obtuvo cuando los iones se encuentran en la forma M(OH)⁺ [55-58]. Para el caso del cadmio, la concordancia no es tan buena, si bien hay que señalar que los valores de las constantes de equilibrio empleados en el cálculo están afectados de una incertidumbre que repercute grandemente en los diagramas mostrados.

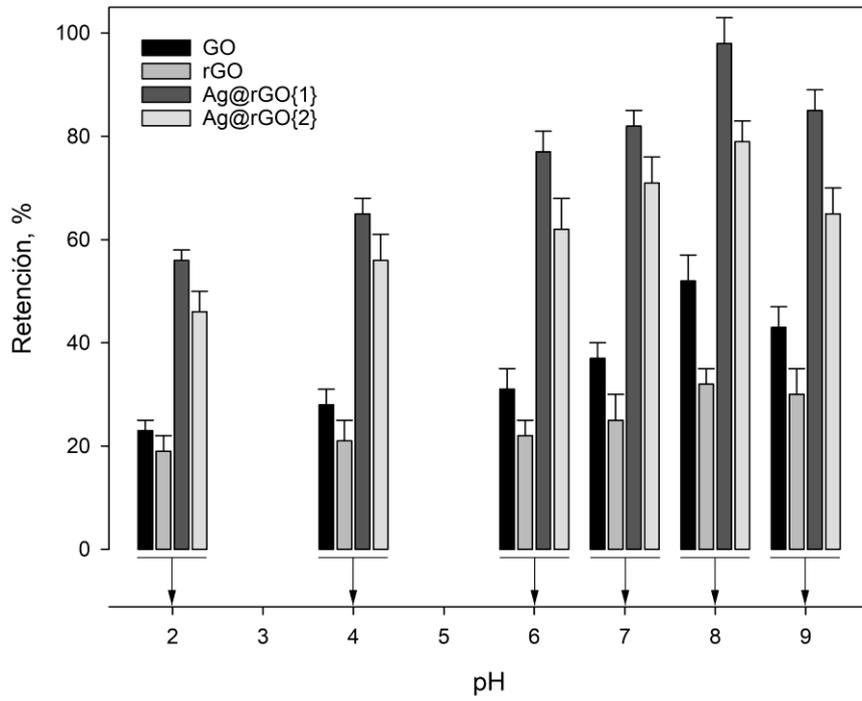


Figura II.1.4: Efecto del pH y el tipo de adsorbente en la retención de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd (II).

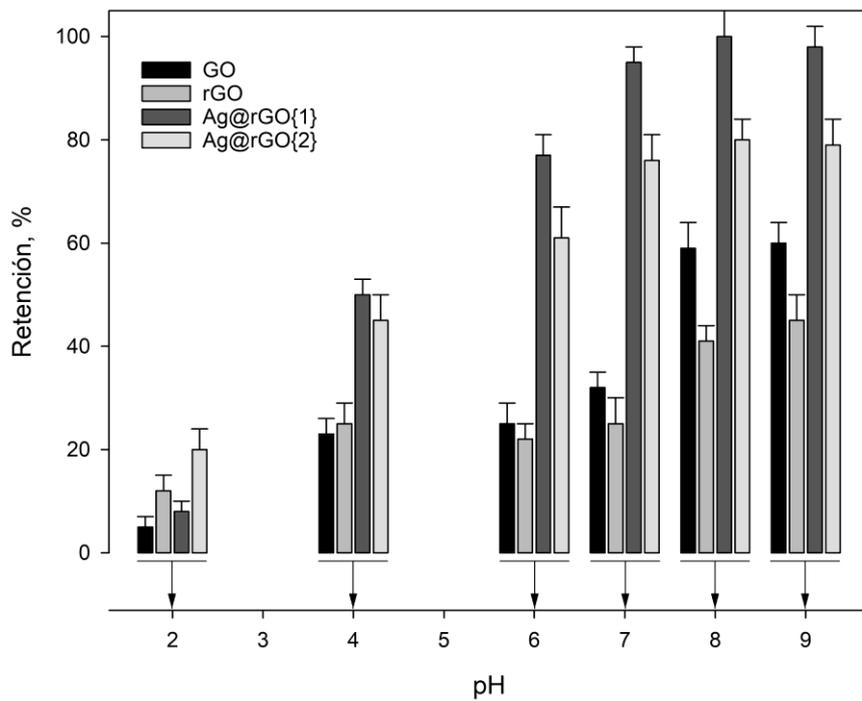


Figura II.1.5: Efecto del pH y el tipo de adsorbente en la retención de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II)

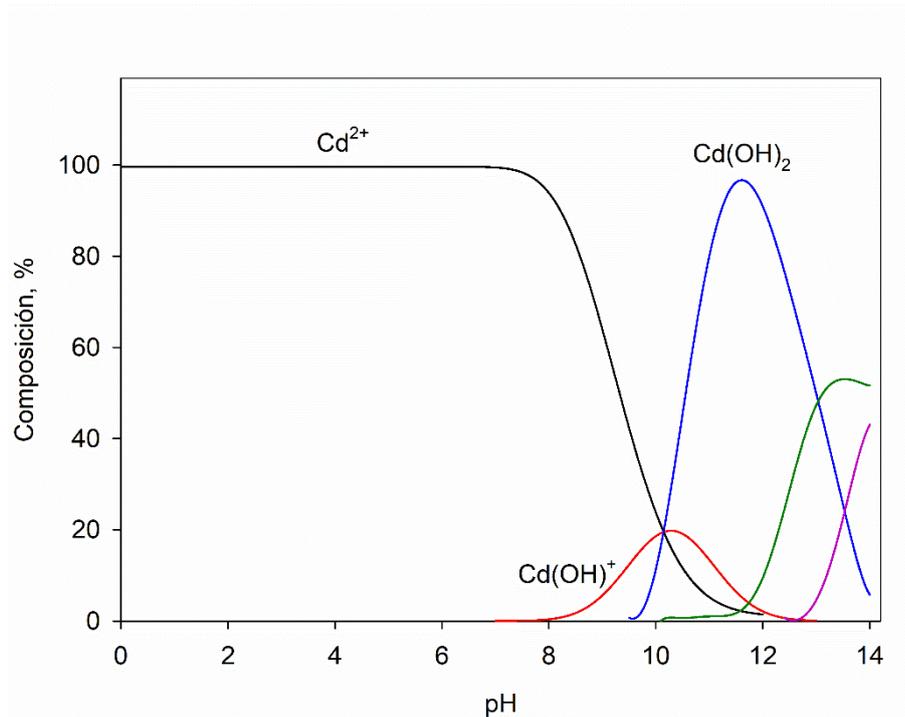


Figura II.1.6: Diagramas de predominancia de las formas de cadmio en disolución acuosa (adaptado de [59]).

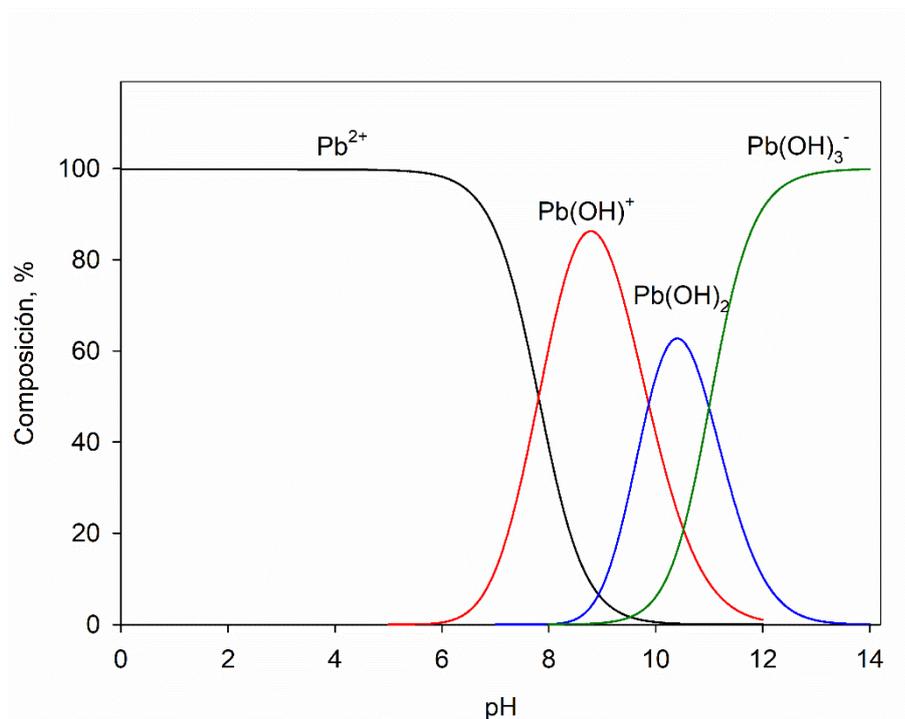


Figura II.1.7: Diagramas de predominancia de las formas de plomo en disolución acuosa (adaptado de [60]).

A valores de pH menores que 6, donde se encuentran con dos cargas positivas, la retención en GO y rGO es muy baja, resultando superior en presencia de plata reducida.

A la vista de estos resultados se ha seleccionado como pH óptimo de trabajo el de 8 que se puede conseguir con la adición de 100 μL de reguladora carbonato-hidrógeno carbonato 0,1 mol L^{-1} a 10 mL de muestra.

II.2.3.2. Efecto de la cantidad de Ag@rGO

Desde el punto de vista analítico, para que un material adsorbente sea adecuado es necesario que la cinética del proceso de retención sea muy rápida o prácticamente instantánea; además su separación de la fase dadora debe ser sencilla de forma que el procedimiento completo de determinación no se alargue innecesariamente.

Se estudió la cantidad de material adsorbente Ag@rGO que es necesario añadir a 10 mL de disolución acuosa ajustada a pH= 8 conteniendo Cd (II) o Pb (II). Para ello se añadieron distintos volúmenes de suspensión de material preparada a 2 mg mL^{-1} de concentración. Los ensayos se realizaron cuantificando el contenido del metal en fase acuosa antes y después del proceso de retención. Hay que hacer notar que para poder realizar estos experimentos se trabajó con concentraciones muy superiores a las habituales en el procedimiento de preconcentración, donde lo que se mide es el contenido en la fase aceptora.

Como el material no se deposita completamente en el fondo del tubo cuando se realiza una centrifugación durante 15 minutos a 5000 rpm (es preciso centrifugar a 12000 rpm) se recurrió además a filtrar el sobrenadante con filtro de membrana de 0,22 μm antes de la determinación por ETAAS. De esta manera nos aseguramos la ausencia de material adsorbente en suspensión en la fase dadora. En efecto, como se aprecia en la Figura II.1.8, el tamaño de partícula del material adsorbente presenta una fracción importante por debajo de 0,1 μm , lo que dificulta su sedimentación por centrifugación.

La Figura II.1.9 muestra los porcentajes de retención de cadmio y plomo contenidos en una disolución acuosa de 5 y 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de concentración, curvas a y b, respectivamente, frente a la cantidad añadida de Ag@rGO. Como puede apreciarse, 0,1 mg de material (50 μL de suspensión de 2 mg mL^{-1}) es suficiente para garantizar una retención cuantitativa de ambos elementos. Cantidades superiores no son adecuadas porque cuando se trabaja con el procedimiento propuesto, la inyección en el atomizador de una elevada cantidad de Ag@rGO conduce a un ensayo en blanco innecesariamente elevado debido a la presencia contaminante de ultratrazas de estos elementos en el GO durante su preparación.

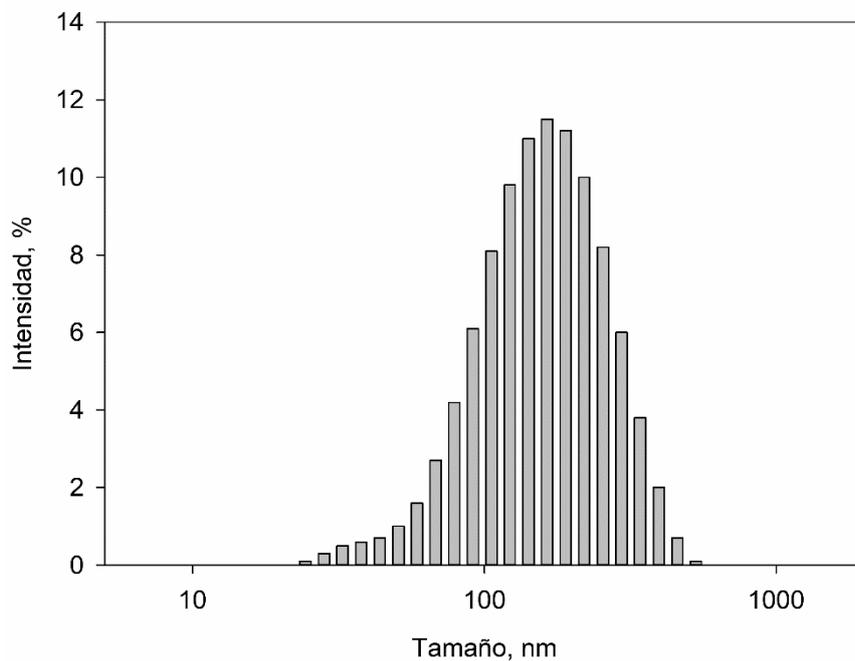


Figura II.1.8: Estudio del tamaño de partícula de una suspensión de Ag@rGO de 0,1 mg mL⁻¹.

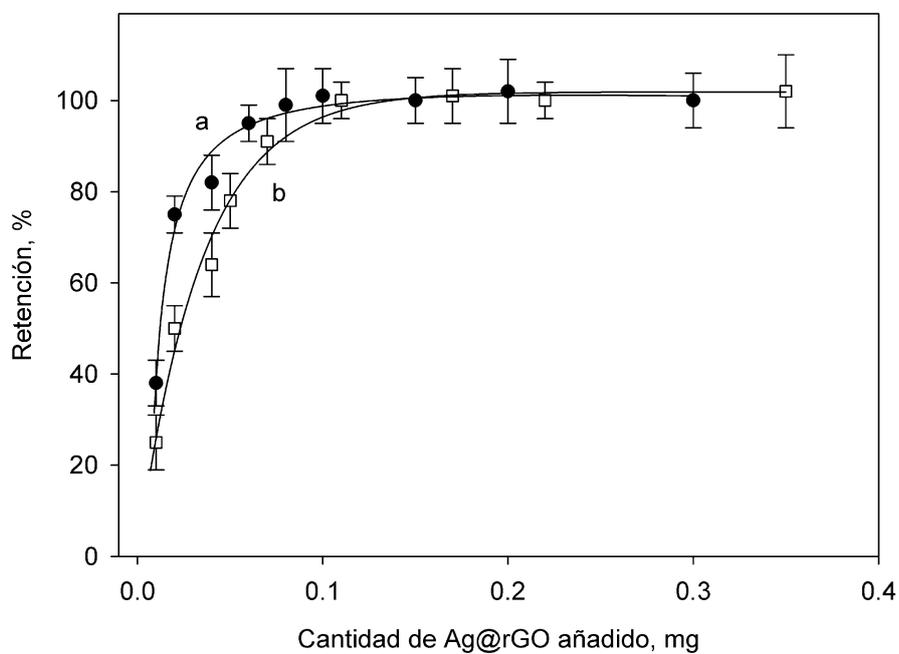


Figura II.1.9: Efecto de la cantidad de nanomaterial añadido a 10 mL de una disolución acuosa ajustada a pH=8 conteniendo 5 y 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cadmio y plomo, curvas a y b, respectivamente.

II.1.3.3. Optimización de la separación por punto de nube

Como ya hemos comentado, la presencia en el GO de grupos funcionales conteniendo oxígeno (epoxi, hidroxilo y carboxílicos) en los planos basales y los extremos es la responsable de la polaridad y carácter hidrofílico, lo que conduce a la formación de suspensiones coloidales muy bien dispersas en disolución acuosa. En consecuencia, resulta difícil recuperar de forma completa las minúsculas hojas de GO de la disolución por centrifugación [61], ni siquiera por filtración a través de filtros de membrana de 0,22 μm [62] ya que la separación es incompleta y consume mucho tiempo. Alternativamente se han propuesto otros sistemas de separación forzando la agregación del GO o su coagulación mediante la adición de electrolitos que neutralizan el exceso de carga superficial negativa [63-65], el empleo de compuestos orgánicos que favorecen la coagulación (polietilen-imina) [66] y cambiando el pH [67]. Otra opción es dotar al GO de propiedades magnéticas por formación de nanocompuestos mixtos de GO con magnetita [68], lo que posibilita la separación por aplicación de un campo magnético, o mediante interacción con hidróxidos dobles de Mg y Al [69, 70].

Como es sabido, un aumento en la fuerza iónica del medio mediante la adición de electrolitos favorece la coagulación del GO. Por ello se hicieron experimentos encaminados a aumentar la fuerza iónica para favorecer este proceso con el material sintetizado. En este caso, se recurrió a medir la señal de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cadmio antes del proceso de separación y la debida al cadmio remanente en la fase acuosa tras añadir el material adsorbente a la disolución en ausencia y presencia de NaCl [63], KBr [71] y KBr + Triton X-114. Las determinaciones se han realizado bien tras la centrifugación del material adsorbente durante 10 minutos a 5000 rpm (2400 g), bien tras la microfiltración de la fase acuosa a través de 0,22 μm . De la comparación de los resultados puede apreciarse que, en ausencia de agentes que favorezcan la agregación de Ag@rGO, la retención aparente de cadmio es baja, principalmente debido a que el proceso de centrifugación no permite coleccionar las partículas pequeñas. Los resultados obtenidos tras la microfiltración de la fase acuosa remanente indican que la retención es superior a la encontrada por simple centrifugación. La adición de electrolitos que neutralicen la carga superficial negativa del Ag@rGO favorece la agregación. Como puede apreciarse (Figura II.1.10), el empleo de KBr condujo a mejores resultados que NaCl. No obstante, en ambos casos, se observa una retención incompleta, aunque mejora con microfiltración. Los mejores resultados se obtuvieron combinando el empleo de KBr como agente que facilita la agregación del Ag@rGO y la metodología de extracción en punto de nube con el uso de un tensioactivo no iónico como el Triton X-114.

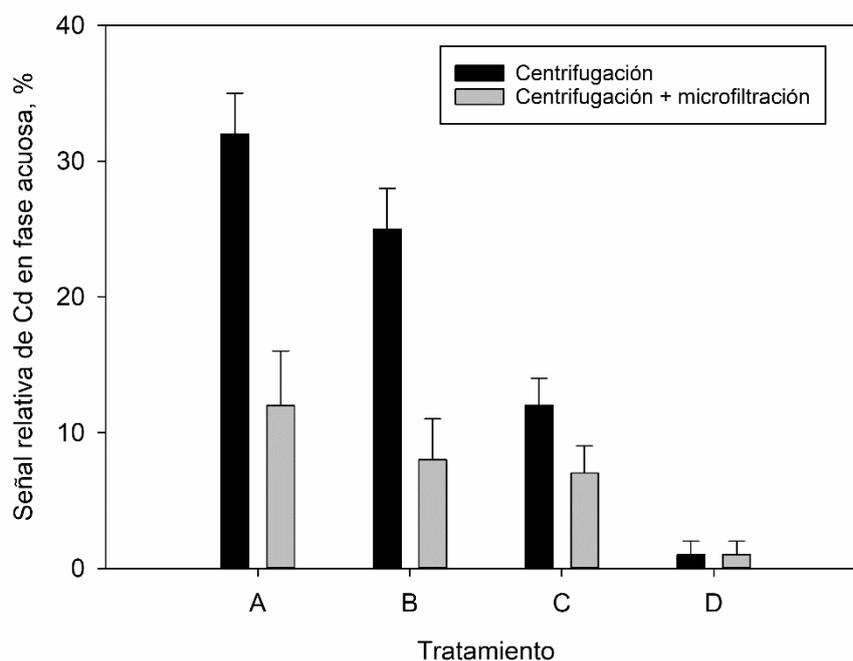


Figura II.1.10: Efecto del tipo de tratamiento aplicado para la separación de la fase adsorbente en la señal remanente de cadmio en fase acuosa. La barra negra A corresponde a la señal remanente en la fase acuosa tras centrifugar. Las barras negras B a D corresponden al empleo de NaCl, KBr y KBr+Triton X-114, respectivamente. Las barras grises corresponden a la señal medida en la fase acuosa tras microfiltración del líquido sobrenadante después de centrifugar. Los segmentos corresponden a la desviación estándar de cinco determinaciones consecutivas.

En el caso de utilizar KBr el proceso de agregación del Ag@rGO es mucho más rápido que con NaCl. De hecho, si la disolución de muestra conteniendo Ag@rGO se calienta a 40 °C en apenas 5 minutos, ya se observa la presencia de agregados importantes. Encontramos que una concentración 0,05 mol L⁻¹ en KBr es suficiente para conseguir este efecto, lo que supone la adición de 60 mg de KBr a 10 mL de muestra. Se ha seleccionado un tiempo de calentamiento de 10 minutos y, sin enfriar, se añade el Triton X-114 que forma una nube instantáneamente. Tras centrifugar, la medida de la señal de cadmio en la fase acuosa conduce a un valor que no se diferencia significativamente del ensayo en blanco, sin necesidad de microfiltración, lo que significa que la retención ha sido cuantitativa.

Se ha estudiado la temperatura de trabajo y la cantidad óptima de Triton X-114 a utilizar. En el primer caso, la temperatura ha de ser superior a la del punto de nube (23 °C). Encontramos que calentando a 40 °C se consigue la formación instantánea de la nube de micelas. En cuanto a la cantidad a añadir es claro que ha de ser superior a la concentración micelar crítica (2·4·10⁻⁴ mol L⁻¹) [72-74] pero no tan elevada como para que el volumen de fase condensada sea muy alto y disminuya la concentración de cadmio por dilución innecesaria. La Figura II.1.11 muestra

los resultados obtenidos. Como la concentración micelar crítica de los tensioactivos no iónicos disminuye al aumentar la temperatura [75, 76] ha sido posible obtener fases condensadas de Triton X-114 desde concentraciones $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. La señal aumenta con la concentración de tensioactivo, porque así lo hace la eficacia del proceso de separación, hasta alcanzar un máximo a partir del cual disminuye por dilución del coacervato. Hemos seleccionado el valor de $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ que corresponde a la adición de 150 μL de Triton X-114 al 15 % (V/V) en 10 mL de fase acuosa. En estas condiciones el volumen de fase condensada que se obtiene es de aproximadamente 95 μL , más que suficiente para realizar determinaciones por ETAAS.

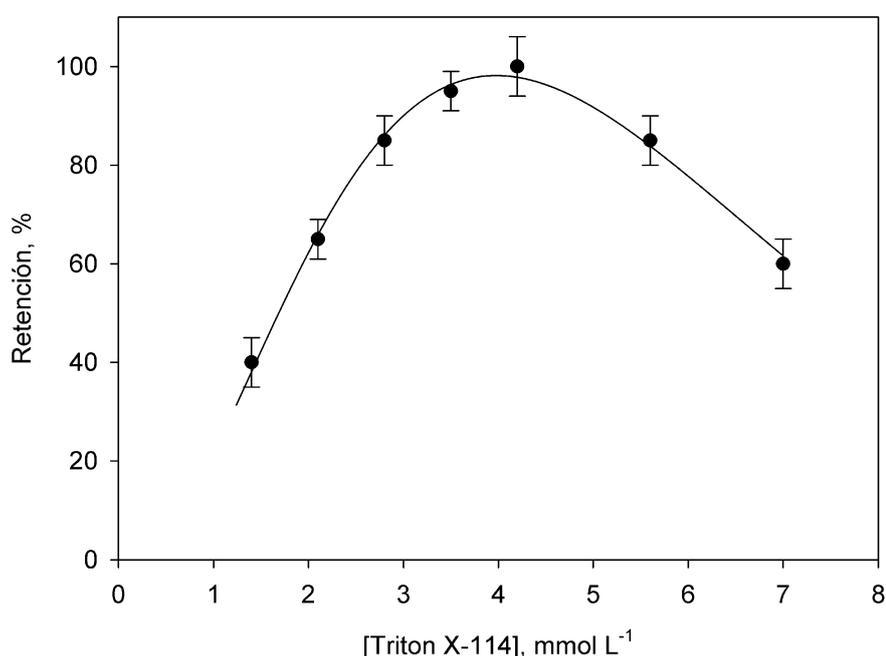


Figura II.1.11: Efecto de la concentración de Triton X-114 en la retención de 50 ng de Cd (II).

Tras la formación de la fase condensada, que se separa de la disolución acuosa por centrifugación, el Ag@rGO queda atrapado dentro de la misma. El siguiente paso es determinar el contenido de cadmio y/o plomo dentro de esta fase. Para ello, en una primera instancia se intentó desorber los analitos en un microvolumen de fase acuosa. La fase condensada se trató con distintas disoluciones que, además de solubilizar la fase micelar, pudieran extraer al analito a la fase acuosa. En todos los casos se trató la fase condensada con 100 μL de disolución extractante y se aplicaron ultrasonidos. Se ensayaron distintos medios con diferentes valores de pH. Los mejores resultados se obtuvieron con el empleo de ácido nítrico al 3 % mezclado con peróxido de hidrógeno al 10 % (v/v) y etanol al 30 %. Utilizando esta mezcla, la fase condensada desaparece tras 5 minutos de ultrasonidos y se obtiene una suspensión. Tras centrifugar, se

obtiene una separación incompleta de fases y el contenido de cadmio y/o plomo en el sobrenadante apenas alcanza el 70 % del total. Para evitar esta pérdida de sensibilidad se decidió estudiar otras alternativas. En este sentido, puesto que la viscosidad del Triton X-114 decrece mucho con la temperatura [72, 77] pensamos que sería posible calentar suavemente la suspensión de fase condensada con Ag@rGO y, con ayuda de ultrasonidos, generar una suspensión poco viscosa de forma que se pudieran tomar microvolúmenes de la misma y trasladarlos al atomizador. Se estudió el tiempo y la temperatura a la que hay que calentar la fase condensada para conseguir una suspensión que se pudiera muestrear con seguridad. Se encontró que el calentamiento a 50 °C durante 5 minutos en ultrasonidos genera una suspensión que se puede muestrear con micropipeta para introducirla en el atomizador electrotérmico.

II.2.3.4. Programa de calentamiento en ETAAS

La introducción de una fase micelar en el atomizador supone que el programa de calentamiento ha de contemplar en las etapas de secado la existencia de agua y un tensioactivo con punto de ebullición elevado. En nuestro caso el programa de calentamiento propuesto (Tabla II.1.1) contempla la existencia de dos etapas de secado. La primera consiste en calentar a 110 °C durante 15 segundos para eliminar la mayor parte del agua presente en el microvolumen inyectado. Seguidamente se aumenta la temperatura suavemente (durante 15 segundos) hasta 400 °C con el fin de vaporizar el tensioactivo Triton X-114, cuyos puntos de ebullición e inflamabilidad son 200 y 251 °C, respectivamente. Durante esta etapa se produce la emisión de humos blancos densos.

Antes de la etapa de atomización es preciso realizar una etapa de calcinación que permita reducir al máximo la absorción de fondo sin sufrir pérdidas de analito. La Figura II.1.12 muestra los resultados obtenidos al optimizar la temperatura de las etapas de calcinación y atomización en la determinación de cadmio y plomo presentes en la fase condensada. A la vista de los resultados se recomienda el empleo de 1000 y 1100 °C para cadmio y plomo, respectivamente, como temperaturas de calcinación. A temperaturas de calcinación más bajas se aprecia una elevada absorción de fondo que dificulta la determinación.

En estas condiciones, como se observa en la Figura II.1.13, las señales de cadmio y plomo se encuentran prácticamente exentas de absorción de fondo. Seleccionando estas temperaturas de calcinación se han estudiado las temperaturas de atomización óptimas para la determinación de estos dos elementos en este medio. Como se puede apreciar en la Figura II.2.12, la señal se

hace máxima a 1700 y 2200 °C para cadmio y plomo, respectivamente. La mejor sensibilidad se consigue deteniendo el flujo interno de argón durante esta etapa e incluyendo una breve etapa de enfriamiento previa a la atomización. De esta manera se retrasa ligeramente la atomización consiguiendo que se produzca en condiciones isotermas.

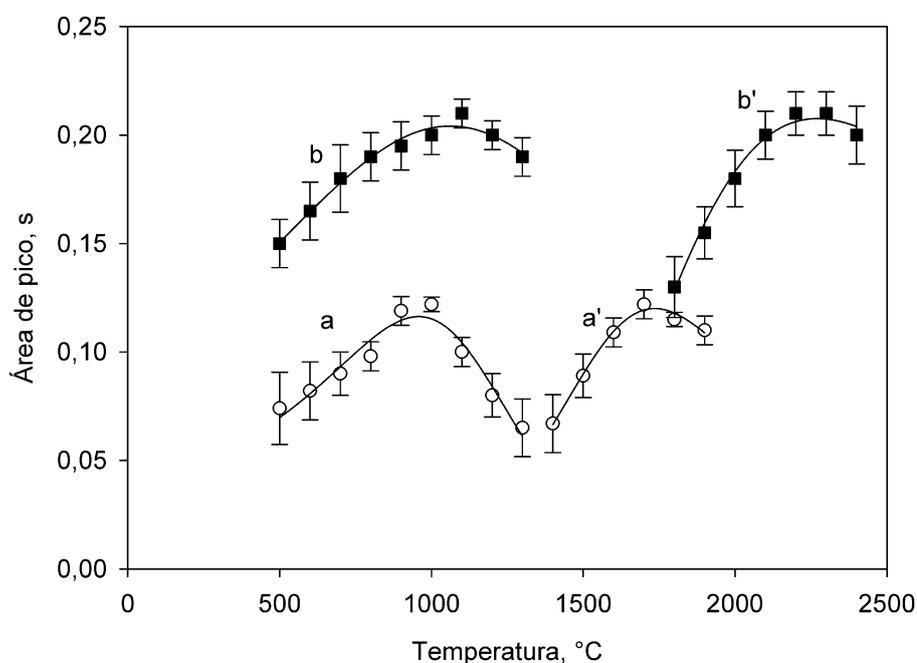


Figura II.1.12: Efecto de la temperatura de calcinación (curvas a y b para cadmio y plomo, respectivamente) y atomización (curvas a' y b' para cadmio y plomo, respectivamente) en la señal medida al inyectar las fases condensadas, siguiendo el procedimiento propuesto, obtenidas desde disoluciones de 0.02 y 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cadmio y plomo, respectivamente.

Para estabilizar los analitos se ensayaron distintos modificadores químicos. El objetivo fue seleccionar uno que resultara igual de eficaz para cadmio y plomo. Los resultados obtenidos mostraron que la inyección de 20 μL de una disolución de 500 mg L^{-1} de Pd (II) es suficiente para conseguir estabilizar tanto al cadmio como al plomo. Como este modificador se encuentra en fase acuosa, no se mezcla bien en la plataforma del atomizador con la fase condensada, disminuyendo su eficacia. Para evitar este inconveniente puede recurrirse al empleo de un modificador químico soluble en disolventes orgánicos (cloruro de paladio (II) bis(benzonitrilo)) o bien utilizar disoluciones acuosas de nitrato de paladio, pero separando la inyección del mismo de la de la fase condensada por una etapa de secado. Hemos optado por esta segunda vía. En efecto, tras la inyección del modificador de nitrato de paladio se ejecuta el programa de calentamiento durante las dos primeras etapas y se detiene y, una vez frío, se inyecta la fase condensada. La eficacia del modificador en estas condiciones resultó excelente.

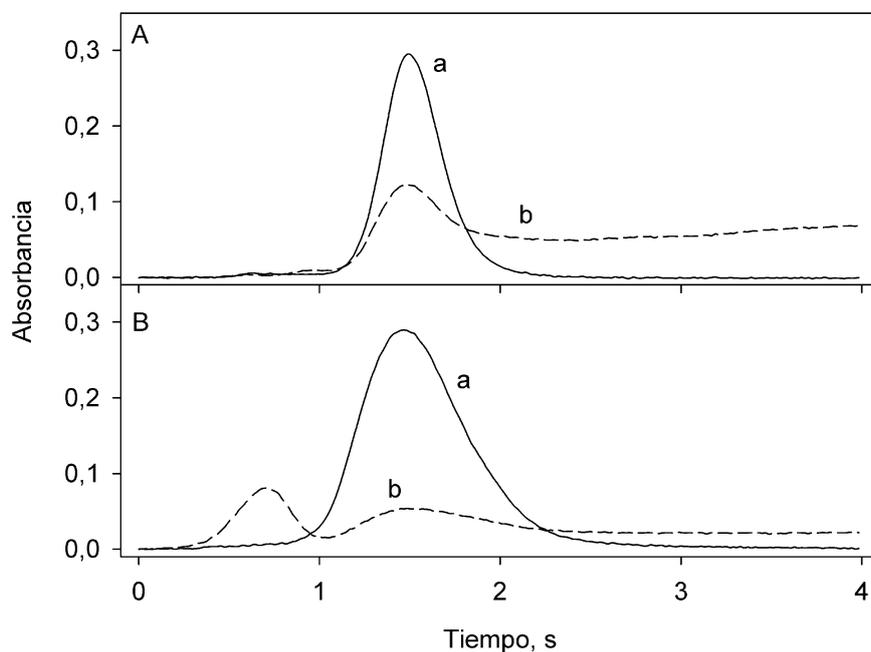


Figura II.1.13: Perfiles atómicos obtenidos tras la inyección de la fase condensada resultante de aplicar el procedimiento propuesto a disoluciones de 0.02 y $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de cadmio (A) y plomo (B), respectivamente. Las curvas a corresponden a la señal de absorbancia corregida y las curva b a la señal de absorción de fondo.

Trabajando en estas condiciones se ha estudiado el volumen óptimo de fase condensada a inyectar para conseguir la máxima sensibilidad sin que aparezcan problemas de absorción de fondo o residuos. Se encontró un comportamiento lineal entre la señal de pico y el volumen de fase condensada inyectado entre 5 y $30 \mu\text{L}$. Finalmente se ha seleccionado como más adecuado la inyección de $20 \mu\text{L}$ de fase condensada. La Tabla II.1.1 resume estos parámetros.

En estas condiciones no se observó la presencia de residuos ni tras cien inyecciones de muestra, máxima cantidad ensayada durante dos días.

II.1.3.5. Calibración

Trabajando en las condiciones recomendadas se ha encontrado un comportamiento lineal entre la señal en área de pico y la concentración de las especies de cadmio y plomo en disolución en el intervalo de $0,006 - 0,1$ y $0,1 - 2 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Las pendientes de las rectas de calibrado obtenidas para Cd (II) y Pb (II) fueron $5,324 \pm 0,002$ y $0,297 \pm 0,002 \text{ s } \mu\text{g}^{-1} \text{ L}$, respectivamente. El límite de detección se ha calculado a partir de tres veces el error estándar de la regresión, resultando un valor de $0,002$ y $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ de cadmio y plomo, respectivamente.

La desviación estándar relativa de las medidas dentro del intervalo de calibración estuvo en el intervalo entre 3,7 y 4,5 %.

La calibración acuosa, sin proceso de microextracción condujo a pendientes de calibrado para Cd (II) y Pb (II) de $0,051 \pm 0,001$ y $0,0028 \pm 0,001$ s μg^{-1} L, respectivamente. El factor de enriquecimiento se ha calculado a partir del cociente entre las pendientes en la medida tras aplicar el proceso de microextracción y las que se obtienen de forma directa, resultando ser de 105, lo que se corresponde de forma aproximada a la relación de volúmenes de fase dadora a aceptora.

La Tabla II.1.2 muestra una comparativa de procedimientos de microextracción publicados para la determinación de estas especies mediante microextracción dispersiva en fase sólida. Como puede apreciarse, en la mayoría de los casos la técnica ETAAS es la seleccionada por su excelente compatibilidad con el empleo de microvolúmenes, aunque frecuentemente se recurre a la dilución de la fase extractante para disminuir su viscosidad. Los resultados experimentales demuestran que esta técnica de microextracción combinada con ETAAS es una metodología simple al tiempo que amigable con el medio ambiente y puede ser una alternativa a la determinación de trazas de estos elementos con técnicas mucho más sofisticadas.

II.1.3.6. Determinación y especiación de cadmio y plomo en muestras de agua

Se estudió la aplicabilidad del procedimiento propuesto a la determinación de cadmio y plomo en muestras de agua de distinta procedencia como se detalla en la parte experimental. En estas aguas se realizó un estudio de recuperación de ambos elementos. Como se puede apreciar en la Tabla II.1.3 los resultados indican una recuperación cuantitativa. Al mismo tiempo se utilizaron 6 materiales de referencia (SRM) correspondientes a aguas de distinta procedencia tal y como aparece en la Tabla II.1.4. Como puede apreciarse, los contenidos de cadmio y plomo coinciden con los contenidos certificados en el caso de materiales de referencia.

II.1.4. Conclusiones

El tratamiento de óxido de grafeno en presencia de nitrato de plata con un reductor como el citrato o el borohidruro sódico conduce a la obtención de nanopartículas de Ag@rGO. La microextracción en punto de nube en presencia de Ag@rGO permite la separación cuantitativa de pequeñas cantidades de cadmio y plomo que quedan concentrados en el coacervado formado. Para su introducción directa en el atomizador electrotérmico no se necesita diluir la fase condensada, pues un suave calentamiento disminuye considerablemente

su viscosidad y permite su manipulación con la micropipeta. Debido al elevado factor de preconcentración, junto a la sensibilidad de la técnica utilizada (ETAAS), se consigue un alto grado de sensibilidad. Podemos confirmar que la microextracción en punto de nube permite la concentración de trazas de elementos metálicos con fines analíticos. Se evita el uso de disolventes orgánicos, sustituyendo éstos por tensioactivos para la obtención de coacervados. Los tensioactivos son fácilmente asequibles, tienen un bajo costo y los coacervados formados, desempeñan un papel similar al de los extractantes orgánicos convencionales, pero sin los riesgos asociados al uso de disolventes potencialmente nocivos.

Tabla II.1.2. Algunos procedimientos publicados recientemente sobre la determinación de cadmio y plomo utilizando microextracción dispersiva en fase sólida

Analito	Extractante +agente complejante + adsorbente	Desorción	Detección	LOD, ng g ⁻¹	EF	Muestra, mL	Ref.
Cd, Pb	[C(4)mim][FeCl ₄]+(Triton X-100 + ultrasonidos)+Fe ₃ O ₄	HNO ₃ 0,01 mol L ⁻¹	ETAAS	0,002, 0,02	--	10	[78]
Cd, Pb	Batofenantrolina + ox-MWCNTs	HNO ₃ 0,5 mol L ⁻¹	FAAS	0,13-0,35	200	50	[79]
Cd, Pb	HDTMABr + DDTc + Zn(II) + ZSM-5/Fe ₂ O ₃	HNO ₃ 11,8 mol L ⁻¹	ICP-OES	0,15, 0,23	4, 22	20	[80]
Cd	C-dots@cytopore	HNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹	ETAAS	0,0018	18	1	[81]
Cd, Pb	SBA-15/Metformina + (Ditizona + Triton X-100 + Cl ₃ CH)	HNO ₃ 0,3 mol L ⁻¹	ETAAS	0,00008	1650	100	[82]
Cd, Pb	Fe ₃ O ₄ @Ni-Al-CO ₃ -LDH	F ₃ C-COOH 3,8 mol L ⁻¹	FAAS	0,25, 1	80	10	[83]
Cd	Partículas magnéticas recubiertas de sílice y politiofeno	HCl 1,1 mol L ⁻¹	ETAAS	0,0008	139	50	[84]
Pb	Nanopartículas de cobalto modificadas superficialmente con SDS y 5-Br-PADAP	HNO ₃ 1,0 mol L ⁻¹	FAAS	1,6	100	500	[85]
Cd, Pb	[Hmim][PF ₆] + APDC + Fe ₃ O ₄	HNO ₃ 2,0 mol L ⁻¹	ETAAS	0,1, 0,15	48	15	[86]
Cd	ZnO@Fe ₃ O ₄ dopado con Al	H ₃ C-COOH 2,0 mol L ⁻¹	FAAS	0,17	50	100	[87]
Cd, Pb	Hidroxido de doble capa	F ₃ C-COOH 3,0 mol L ⁻¹	FAAS	0,6, 2	40	10	[88]
Cd, Pb	Nanofibras de carbon + 8-Hidroxiquinoleína	ninguno	ICP-MS	0,7, 3		100	[89]
Cd, Pb	Ag@rGO + Triton X-114	ninguno	ETAAS	0,002, 0,03	105	10	[*]

EF: factor de enriquecimiento; ox-MWCNTs: nanotubos de carbón multipared oxidados; ZSM-5/Fe₂O₃: ZSM-5 zeolita combinada con nanopartículas magnéticas de óxido de hierro; HDTMABr: bromuro de hexadecil trimetil amonio; DDTc: dietil ditiocarbamato sódico; C-dots@cytopore: puntos de carbón inmovilizados en el portador Cytopore; Fe₃O₄@Ni-Al-CO₃-LDH: hidróxido de doble capa de níquel y aluminio recubriendo partículas magnéticas; SDS: dodecil sulfato sódico; 5-Br-PADAP: 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietil aminofenol; [Hmim][PF₆]: 1-hexil-3-metilimidazol hexafluorofosfato; APDC: pirrolidin ditiocarbamato amónico; [*]: este trabajo.

Tabla II.1.3: Determinación de cadmio y plomo en aguas de distinta procedencia

Muestra	Añadido $\mu\text{g L}^{-1}$		Encontrado ^a $\mu\text{g L}^{-1}$		Recuperación. %	
	Cd(II)	Pb(II)	Cd(II)	Pb(II)	Cd(II)	Pb(II)
AME 1	0	0	<LOD	1,20 \pm 0,03	-	-
	0,010	0,25	0,009 \pm 0,001	1,44 \pm 0,05	90 \pm 5	96 \pm 4
	0,050	0,50	0,051 \pm 0,002	1,72 \pm 0,06	102 \pm 4	104 \pm 3
AME 2	0	0	<LOD	1,03 \pm 0,03	-	-
	0,010	0,25	0,011 \pm 0,001	1,29 \pm 0,05	104 \pm 3	104 \pm 4
	0,050	0,50	0,052 \pm 0,002	1,51 \pm 0,06	96 \pm 3	96 \pm 4
AG	0	0	<LOD	0,09 \pm 0,03	-	-
	0,010	0,25	0,010 \pm 0,001	0,34 \pm 0,06	110 \pm 5	100 \pm 3
	0,050	0,50	0,049 \pm 0,002	0,60 \pm 0,07	98 \pm 3	102 \pm 3
AM1	0	0	<LOD	0,44 \pm 0,03	-	-
	0,010	0,25	0,011 \pm 0,001	0,71 \pm 0,06	104 \pm 5	108 \pm 4
	0,050	0,50	0,048 \pm 0,003	0,93 \pm 0,06	96 \pm 4	98 \pm 3
AM2	0	0	<LOD	<LOD	-	-
	0,010	0,25	0,011 \pm 0,001	0,25 \pm 0,07	104 \pm 5	100 \pm 3
	0,050	0,50	0,050 \pm 0,002	0,52 \pm 0,08	100 \pm 4	104 \pm 4

^a Valor medio \pm desviación estándar (n=5)

AME: agua mineral embotellada; AG: agua de red; AM: agua de mar

Tabla II.1.4: Determinación de cadmio y plomo en materiales de referencia

Muestra	Certificado ^a , $\mu\text{g L}^{-1}$		Encontrado ^b , $\mu\text{g L}^{-1}$	
	Cd(II)	Pb(II)	Cd(II)	Pb(II)
NIST 1640a	$3,961 \pm 0,072$	$12,00 \pm 0,04$	$3,84 \pm 0,08$	$11,9 \pm 0,1$
SPS-SW2 batch 125	$2,50 \pm 0,02$	$25,0 \pm 0,1$	$2,45 \pm 0,06$	$24,9 \pm 0,1$
ERM-CA011b	$4,88 \pm 0,19$	$24,51 \pm 0,52$	$4,93 \pm 0,09$	$25,2 \pm 0,1$
TMRAIN-04	$0,524 \pm 0,060$	$0,346 \pm 0,069$	$0,517 \pm 0,009$	$0,350 \pm 0,008$
TM-23.4	$2,91 \pm 0,279$	$2,98 \pm 0,270$	$3,04 \pm 0,09$	$2,89 \pm 0,11$
TM-25.4	$23,5 \pm 1,8$	$27,0 \pm 2,35$	$23,0 \pm 0,1$	$26,4 \pm 0,2$

^a Intervalo de confianza (95%)^b Valor medio \pm desviación estándar (n=5)

II.1.5. Bibliografía

- [1] H. Pinto, R. Jones, J.P. Goss, P.R. Briddon, *Mechanisms of doping graphene*, *Physica Status Solidi a-Applications and Materials Science*, 2010, 207, 2131-2136. doi: 10.1002/pssa.201000009.
- [2] S. Park, R.S. Ruoff, *Chemical methods for the production of graphenes*, *Nature Nanotechnology*, 2009, 4, 217-224. doi: 10.1038/nnano.2009.58.
- [3] H.L. Poh, F. Sanek, A. Ambrosi, G. Zhao, Z. Sofer, M. Pumera, *Graphenes prepared by Staudenmaier, Hofmann and Hummers methods with consequent thermal exfoliation exhibit very different electrochemical properties*, *Nanoscale*, 2012, 4, 3515-3522. doi: 10.1039/c2nr30490b.
- [4] D. Jariwala, A. Srivastava, P.M. Ajayan, *Graphene Synthesis and Band Gap Opening*, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2011, 11, 6621-6641. doi: 10.1166/jnn.2011.5001.
- [5] P.K. Ang, S. Wang, Q. Bao, J.T.L. Thong, K.P. Loh, *High-Throughput Synthesis of Graphene by Intercalation - Exfoliation of Graphite Oxide and Study of Ionic Screening in Graphene Transistor*, *Acs Nano*, 2009, 3, 3587-3594. doi: 10.1021/nn901111s.
- [6] Y. Hernández, V. Nicolosi, M. Lotya, F.M. Blighe, Z. Sun, S. De, I.T. McGovern, B. Holland, M. Byrne, Y.K. Gun'ko, J.J. Boland, P. Niraj, G. Duesberg, S. Krishnamurthy, R. Goodhue, J. Hutchison, V. Scardaci, A.C. Ferrari, J.N. Coleman, *High-yield production of graphene by liquid-phase exfoliation of graphite*, *Nature Nanotechnology*, 2008, 3, 563-568. doi: 10.1038/nnano.2008.215.
- [7] C. Zhang, W. Lv, W. Zhang, X. Zheng, M.-B. Wu, W. Wei, Y. Tao, Z. Li, Q.-H. Yang, *Reduction of Graphene Oxide by Hydrogen Sulfide: A Promising Strategy for Pollutant Control and as an Electrode for Li-S Batteries*, *Advanced Energy Materials*, 2014, 4, 1301565-n/a. doi: 10.1002/aenm.201301565.
- [8] S. Stankovich, D.A. Dikin, R.D. Piner, K.A. Kohlhaas, A. Kleinhammes, Y. Jia, Y. Wu, S.T. Nguyen, R.S. Ruoff, *Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of*

- exfoliated graphite oxide*, Carbon, 2007, 45, 1558-1565. doi: 10.1016/j.carbon.2007.02.034.
- [9] L.G. Guex, B. Sacchi, K.F. Peuvot, R.L. Andersson, A.M. Pourrahimi, V. Strom, S. Farris, R.T. Olsson, *Experimental review: chemical reduction of graphene oxide (GO) to reduced graphene oxide (rGO) by aqueous chemistry*, Nanoscale, 2017, 9, 9562-9571. doi: 10.1039/C7NR02943H.
- [10] H. Feng, R. Cheng, X. Zhao, X. Duan, J. Li, *A low-temperature method to produce highly reduced graphene oxide*, Nature Communications, 2013, 4, 1539. doi: 10.1038/ncomms2555.
- [11] K.K.H. De Silva, H.H. Huang, R.K. Joshi, M. Yoshimura, *Chemical reduction of graphene oxide using green reductants*, Carbon, 2017, 119, 190-199. doi: 10.1016/j.carbon.2017.04.025.
- [12] S. Abdolhosseinzadeh, H. Asgharzadeh, H.S. Kim, *Fast and fully-scalable synthesis of reduced graphene oxide*, Scientific Reports, 2015, 5. doi: 10.1038/srep10160.
- [13] S. Pei, H.-M. Cheng, *The reduction of graphene oxide*, Carbon, 2012, 50, 3210-3228. doi: 10.1016/j.carbon.2011.11.010.
- [14] M.J. Fernández-Merino, L. Guardia, J.I. Paredes, S. Villar-Rodil, P. Solís-Fernández, A. Martínez-Alonso, J.M.D. Tascón, *Vitamin C Is an Ideal Substitute for Hydrazine in the Reduction of Graphene Oxide Suspensions*, The Journal of Physical Chemistry C, 2010, 114, 6426-6432. doi: 10.1021/jp100603h.
- [15] I.K. Moon, J. Lee, R.S. Ruoff, H. Lee, *Reduced graphene oxide by chemical graphitization*, Nature Communications, 2010, 1. doi: 10.1038/ncomms1067.
- [16] W. Gao, L.B. Alemany, L.J. Ci, P.M. Ajayan, *New insights into the structure and reduction of graphite oxide*, Nature Chemistry, 2009, 1, 403-408. doi: 10.1038/nchem.281.
- [17] A.L. de Toffoli, E.V. Soares Maciel, B.H. Fumes, F.M. Lancas, *The role of graphene-based sorbents in modern sample preparation techniques*, J. Sep. Sci., 2018, 41, 288-302. doi: 10.1002/jssc.201700870.
- [18] W.A.W. Ibrahim, H.R. Nodeh, M.M. Sanagi, *Graphene-Based Materials as Solid Phase Extraction Sorbent for Trace Metal Ions, Organic Compounds, and Biological Sample Preparation*, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2016, 46, 267-283. doi: 10.1080/10408347.2015.1034354.
- [19] A. Andrade-Eiroa, M. Canle, V. Leroy-Cancellieri, V. Cerdà, *Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I)*, TrAC, Trends Anal. Chem., 2016, 80, 641-654. doi: 10.1016/j.trac.2015.08.015.
- [20] Q. Liu, J. Shi, G. Jiang, *Application of graphene in analytical sample preparation*, TrAC, Trends Anal. Chem., 2012, 37, 1-11. doi: 10.1016/j.trac.2012.03.011.
- [21] J. Płotka-Wasyłka, N. Szczepańska, M. de la Guardia, J. Namieśnik, *Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016, 77, 23-43. doi: 10.1016/j.trac.2015.10.010.

- [22] X. Wang, B. Liu, Q. Lu, Q. Qu, *Graphene-based materials: Fabrication and application for adsorption in analytical chemistry*, J. Chromatogr. A, 2014, 1362, 1-15. doi: 10.1016/j.chroma.2014.08.023.
- [23] Y. Wen, L. Chen, J. Li, D. Liu, L. Chen, *Recent advances in solid-phase sorbents for sample preparation prior to chromatographic analysis*, TrAC, Trends Anal. Chem., 2014, 59, 26-41. doi: 10.1016/j.trac.2014.03.011.
- [24] R. Sitko, B. Zawisza, E. Malicka, *Graphene as a new sorbent in analytical chemistry*, TrAC, Trends Anal. Chem., 2013, 51, 33-43. doi: 10.1016/j.trac.2013.05.011.
- [25] Y. Wang, S. Gao, X. Zang, J. Li, J. Ma, *Graphene-based solid-phase extraction combined with flame atomic absorption spectrometry for a sensitive determination of trace amounts of lead in environmental water and vegetable samples*, Analytica Chimica Acta, 2012, 716, 112-118. doi: 10.1016/j.aca.2011.12.007.
- [26] Q. Chang, S. Song, Y. Wang, J. Li, J. Ma, *Application of graphene as a sorbent for preconcentration and determination of trace amounts of chromium(III) in water samples by flame atomic absorption spectrometry*, Analytical Methods, 2012, 4, 1110-1116. doi: 10.1039/C2AY05650J.
- [27] X. Zang, Q. Chang, W. Liang, T. Wu, C. Wang, Z. Wang, *Micro-solid phase extraction of chlorophenols using reduced graphene oxide functionalized with magnetic nanoparticles and graphitic carbon nitride as the adsorbent*, Microchim. Acta, 2018, 185. doi: 10.1007/s00604-017-2546-z.
- [28] S.P. Dubey, T.T.M. Nguyen, Y.-N. Kwon, C. Lee, *Synthesis and characterization of metal-doped reduced graphene oxide composites, and their application in removal of Escherichia coli, arsenic and 4-nitrophenol*, J. Ind. Eng. Chem., 2015, 29, 282-288. doi: 10.1016/j.jiec.2015.04.008.
- [29] Q. Bao, D. Zhang, P. Qi, *Synthesis and characterization of silver nanoparticle and graphene oxide nanosheet composites as a bactericidal agent for water disinfection*, Journal of Colloid and Interface Science, 2011, 360, 463-470. doi: 10.1016/j.jcis.2011.05.009.
- [30] D.A. Dinh, K.S. Hui, K.N. Hui, Y.R. Cho, W. Zhou, X. Hong, H.-H. Chun, *Green synthesis of high conductivity silver nanoparticle-reduced graphene oxide composite films*, Applied Surface Science, 2014, 298, 62-67. doi: 10.1016/j.apsusc.2014.01.101.
- [31] M.-H. Tran, H.K. Jeong, *Synthesis and characterization of silver nanoparticles doped reduced graphene oxide*, Chemical Physics Letters, 2015, 630, 80-85. doi: 10.1016/j.cplett.2015.04.042.
- [32] M. Zainy, N.M. Huang, S. Vijay Kumar, H.N. Lim, C.H. Chia, I. Harrison, *Simple and scalable preparation of reduced graphene oxide–silver nanocomposites via rapid thermal treatment*, Materials Letters, 2012, 89, 180-183. doi: 10.1016/j.matlet.2012.08.101.
- [33] T.S. Sreeprasad, S.M. Maliyekkal, K.P. Lisha, T. Pradeep, *Reduced graphene oxide-metal/metal oxide composites: Facile synthesis and application in water purification*, J. Hazard. Mater., 2011, 186, 921-931. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.11.100.

- [34] H. Yu, C.J. Miller, A. Ikeda-Ohno, T.D. Waite, *Photodegradation of contaminants using Ag@AgCl/rGO assemblages: Possibilities and limitations*, Catalysis Today, 2014, 224, 122-131. doi: 10.1016/j.cattod.2013.12.005.
- [35] G. Darabdhara, B. Sharma, M.R. Das, R. Boukherroub, S. Szunerits, *Cu-Ag bimetallic nanoparticles on reduced graphene oxide nanosheets as peroxidase mimic for glucose and ascorbic acid detection*, Sensors and Actuators B-Chemical, 2017, 238, 842-851. doi: 10.1016/j.snb.2016.07.106.
- [36] G. Lu, H. Li, C. Liusman, Z. Yin, S. Wu, H. Zhang, *Surface enhanced Raman scattering of Ag or Au nanoparticle-decorated reduced graphene oxide for detection of aromatic molecules*, Chemical Science, 2011, 2, 1817-1821. doi: 10.1039/c1sc00254f.
- [37] M. Guler, V. Turkoglu, Z. Basi, *Determination of malation, methidathion, and chlorpyrifos ethyl pesticides using acetylcholinesterase biosensor based on Nafion/Ag@rGO-NH₂ nanocomposites*, Electrochimica Acta, 2017, 240, 129-135. doi:10.1016/j.electacta.2017.04.069.
- [38] I. López, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Non-chromatographic speciation of chromium at sub-ppb levels using cloud point extraction in the presence of unmodified silver nanoparticles*, 2015. doi: 10.1016/j.talanta.2014.08.036.
- [39] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Determination of very low amounts of free copper and nickel ions in beverages and water samples using cloud point extraction assisted by silver nanoparticles*, 2015, 7, 3786-3792. doi: 10.1039/c5ay00513b.
- [40] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Cloud point extraction assisted by silver nanoparticles for the determination of traces of cadmium using electrothermal atomic absorption spectrometry*, J. Anal. At. Spectrom., 2015, 30, 375-380. doi: 10.1039/c4ja00468j.
- [41] I. López-García, S. Rengevicova, M.J. Muñoz-Sandoval, M. Hernández-Córdoba, *Speciation of very low amounts of antimony in waters using magnetic core-modified silver nanoparticles and electrothermal atomic absorption spectrometry*, Talanta, 2017, 162, 309-315. doi: 10.1016/j.talanta.2016.10.044.
- [42] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Determination of ultratraces of mercury species using separation with magnetic core-modified silver nanoparticles and electrothermal atomic absorption spectrometry*, J. Anal. At. Spectrom., 2015, 30, 1980-1987. doi: 10.1039/C5JA00213C.
- [43] A. Cruz Sotolongo, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, *An easily prepared graphene oxide-ionic liquid hybrid nanomaterial for micro-solid phase extraction and preconcentration of Hg in water samples*, Anal. Methods, 2018, 10, 338-346. doi: 10.1039/c7ay02201h.
- [44] E.M. Martinis, A. Castro Grijalba, M.B. Perez, M. Llaver, R.G. Wuilloud, *Synergistic analytical preconcentration with ionic liquid-nanomaterial hybrids*, TrAC, Trends Anal. Chem., 2017, 97, 333-344. doi: 10.1016/j.trac.2017.10.004.
- [45] X. Wang, G. Li, K.H. Row, *Magnetic graphene oxide modified by imidazole-based ionic liquids for the magnetic-based solid-phase extraction of polysaccharides from brown alga*, J. Sep. Sci., 2017, 40, 3301-3310. doi: 10.1002/jssc.201700393.

- [46] S. Kheirandish, M. Ghaedi, K. Dashtian, F. Pourebahim, *Design of a new technique based on combination of ultrasound waves via magnetite solid phase and cloud point microextraction for determination of Cr(III) ions*, *Ultrason. Sonochem.*, 2017, 39, 798-809. doi: 10.1016/j.ultsonch.2017.06.006.
- [47] M.R. Neyestani, F. Shemirani, S. Mozaffari, M. Alvand, *A magnetized graphene oxide modified with 2-mercaptobenzothiazole as a selective nanosorbent for magnetic solid phase extraction of gold(III), palladium(II) and silver(I)*, *Microchim. Acta*, 2017, 184, 2871-2879. doi: 10.1007/s00604-017-2299-8.
- [48] I. López-García, M.J. Muñoz-Sandoval, M. Hernández-Córdoba, *Cloud point microextraction involving graphene oxide for the speciation of very low amounts of chromium in waters*, *Talanta*, 2017, 172, 8-14. doi: 10.1016/j.talanta.2017.05.017.
- [49] L. Li, Z. Wang, S. Zhang, M. Wang, *Directly-thiolated graphene based organic solvent-free cloud point extraction-like method for enrichment and speciation of mercury by HPLC-ICP-MS*, *Microchem. J.*, 2017, 132, 299-307. doi: 10.1016/j.microc.2017.02.011.
- [50] K.Z. Kamali, A. Pandikumar, S. Jayabal, R. Ramaraj, H.N. Lim, B.H. Ong, C.S.D. Bien, Y.Y. Kee, N.M. Huang, *Amalgamation based optical and colorimetric sensing of mercury(II) ions with silver@graphene oxide nanocomposite materials*, *Microchim. Acta*, 2016, 183, 369-377. doi: 10.1007/s00604-015-1658-6.
- [51] T. Jeyapragasam, *Synthesis of Silver-Graphene Oxide nanocomposite for removal of anionic dye by adsorption*, *Materials Today-Proceedings*, 2016, 3, 2146-2154. doi: 10.1016/j.matpr.2016.04.120.
- [52] P.A. Bozkurt, *Sonochemical green synthesis of Ag/graphene nanocomposite*, *Ultrason. Sonochem.*, 2017, 35, 397-404. doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.10.018.
- [53] Q. Liu, X. Zhang, G. Wen, Y. Luo, A. Liang, Z. Jiang, *A Sensitive Silver Nanorod/Reduced Graphene Oxide SERS Analytical Platform and Its Application to Quantitative Analysis of Iodide in Solution*, *Plasmonics*, 2015, 10, 285-295. doi: 10.1007/s11468-014-9807-z.
- [54] S. Kalia, A. Dufresne, B.M. Cherian, B.S. Kaith, Av, #233, L. rous, J. Njuguna, E. Nassiopoulos, *Cellulose-Based Bio- and Nanocomposites: A Review*, *International Journal of Polymer Science*, 2011, 2011. doi: 10.1155/2011/837875.
- [55] M.M. Gudarzi, *Colloidal Stability of Graphene Oxide: Aggregation in Two Dimensions*, *Langmuir*, 2016, 32, 5058-5068. doi: 10.1021/acs.langmuir.6b01012.
- [56] M.J. Li, C.M. Liu, H.B. Cao, Y. Zhang, *Surface Charge Research of Graphene Oxide, Chemically Reduced Graphene Oxide and Thermally Exfoliated Graphene Oxide*, *Adv. Mater. Res.*, 2013, 716, 127-131. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.716.127.
- [57] T.-Y. Lin, D.-H. Chen, *One-step green synthesis of arginine-capped iron oxide/reduced graphene oxide nanocomposite and its use for acid dye removal*, *Rsc Advances*, 2014, 4, 29357-29364. doi: 10.1039/c4ra03505d.
- [58] A. Tayyebi, M. Outokesh, *Supercritical synthesis of a magnetite-reduced graphene oxide hybrid with enhanced adsorption properties toward cobalt & strontium ions*, *Rsc Advances*, 2016, 6, 13898-13913. doi: 10.1039/c5ra19057f.

- [59] Y. Bian, Z.-Y. Bian, J.-X. Zhang, A.-Z. Ding, S.-L. Liu, H. Wang, *Effect of the oxygen-containing functional group of graphene oxide on the aqueous cadmium ions removal*, Applied Surface Science, 2015, 329, 269-275. doi: 10.1016/j.apsusc.2014.12.090.
- [60] T. Guo, C. Bulin, B. Li, Z. Zhao, H. Yu, H. Sun, X. Ge, R. Xing, B. Zhang, *Efficient removal of aqueous Pb(II) using partially reduced graphene oxide-Fe₃O₄*, Adsorption Science & Technology, 2018, 36, 1031-1048. doi: 10.1177/0263617417744402.
- [61] Q. Liu, J. Shi, J. Sun, W. Thanh, L. Zeng, G. Jiang, *Graphene and Graphene Oxide Sheets Supported on Silica as Versatile and High-Performance Adsorbents for Solid-Phase Extraction*, Angew. Chem. Int. Ed., 2011, 50, 5913-5917. doi: 10.1002/anie.201007138.
- [62] G. Zhao, J. Li, X. Ren, C. Chen, X. Wang, *Few-Layered Graphene Oxide Nanosheets As Superior Sorbents for Heavy Metal Ion Pollution Management*, Environ. Sci. Technol., 2011, 45, 10454-10462. doi: 10.1021/es203439v.
- [63] D. Deng, X. Jiang, L. Yang, X. Hou, C. Zheng, *Organic solvent-free cloud point extraction-like methodology using aggregation of graphene oxide*, Anal. Chem., 2014, 86, 758-65. doi: 10.1021/ac403345s.
- [64] L. Wu, L. Liu, B. Gao, R. Munoz-Carpena, M. Zhang, H. Chen, Z. Zhou, H. Wang, *Aggregation Kinetics of Graphene Oxides in Aqueous Solutions: Experiments, Mechanisms, and Modeling*, Langmuir, 2013, 29, 15174-15181. doi: 10.1021/la404134x.
- [65] K.J. Yang, B.L. Chen, X.Y. Zhu, B.S. Xing, *Aggregation, Adsorption, and Morphological Transformation of Graphene Oxide in Aqueous Solutions Containing Different Metal Cations*, Environ. Sci. Technol., 2016, 50, 11066-11075. doi: 10.1021/acs.est.6b04235.
- [66] M. Ghazaghi, H.Z. Mousavi, A.M. Rashidi, H. Shirkhanloo, R. Rahighi, *Innovative separation and preconcentration technique of coagulating homogenous dispersive micro solid phase extraction exploiting graphene oxide nanosheets*, Anal. Chim. Acta, 2016, 902, 33-42. doi: 10.1016/j.aca.2015.11.011.
- [67] C.-J. Shih, S. Lin, R. Sharma, M.S. Strano, D. Blankschtein, *Understanding the pH-Dependent Behavior of Graphene Oxide Aqueous Solutions: A Comparative Experimental and Molecular Dynamics Simulation Study*, Langmuir, 2012, 28, 235-241. doi: 10.1021/la203607w.
- [68] Y. Wang, Q. He, H. Qu, X. Zhang, J. Guo, J. Zhu, G. Zhao, H.A. Colorado, J. Yu, L. Sun, S. Bhana, M.A. Khan, X. Huang, D.P. Young, H. Wang, X. Wang, S. Wei, Z. Guo, *Magnetic graphene oxide nanocomposites: nanoparticles growth mechanism and property analysis*, Journal of Materials Chemistry C, 2014, 2, 9478-9488. doi: 10.1039/c4tc01351d.
- [69] Y. Zou, X. Wang, Y. Ai, Y. Liu, J. Li, Y. Ji, X. Wang, *Coagulation Behavior of Graphene Oxide on Nanocrystallined Mg/Al Layered Double Hydroxides: Batch Experimental and Theoretical Calculation Study*, Environ. Sci. Technol., 2016, 50, 3658-3667. doi: 10.1021/acs.est.6b00255.
- [70] Y. Zou, X. Wang, Z. Chen, W. Yao, Y. Ai, Y. Liu, T. Hayat, A. Alsaedi, N.S. Alharbi, X. Wang, *Superior coagulation of graphene oxides on nanoscale layered double hydroxides and layered double oxides*, Environ. Pollut., 2016, 219, 107-117. doi: 10.1016/j.envpol.2016.10.052.

- [71] H. Wang, Y.H. Hu, *Electrolyte-induced precipitation of graphene oxide in its aqueous solution*, Journal of Colloid and Interface Science, 2013, 391, 21-27. doi: 10.1016/j.jcis.2012.09.056.
- [72] K. Szymczyk, A. Taraba, *Aggregation behavior of Triton X-114 and Tween 80 at various temperatures and concentrations studied by density and viscosity measurements*, J. Therm. Anal. Calorim., 2016, 126, 315-326. doi: 10.1007/s10973-016-5631-3.
- [73] N. Stubicar, J.J. Petres, *Micelle formation by tritons in aqueous-solutions*, Croatica Chemica Acta, 1981, 54, 255-266.
- [74] T. Gu, P.A. Galera-Gómez, *Clouding of Triton X-114: The effect of added electrolytes on the cloud point of Triton X-114 in the presence of ionic surfactants*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 1995, 104, 307-312. doi: 10.1016/0927-7757(95)03217-1.
- [75] J.H. Clint, *Micelle formation*, Surfactant Aggregation, Springer Dordrecht 1992. doi: 10.1007/978-94-011-2272-6_5.
- [76] M.J. Schick, *Effect of temperature on the critical micelle concentration of nonionic detergents. thermodynamics of micelle formation1*, The Journal of Physical Chemistry, 1963, 67, 1796-1799. doi: 10.1021/j100803a013.
- [77] H.-N. Xu, S.-F. Ma, *Effect of Temperature on Viscosity of Aqueous Triton X-114 Solution*, J. Chem. Eng. Data, 2011, 56, 2677-2679. doi: 10.1021/je100775e.
- [78] L. Yao, H. Liu, X. Wang, W. Xu, Y. Zhu, H. Wang, L. Pang, C. Lin, *Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction using a magnetic ionic liquid coupled with micro-solid phase extraction for the determination of cadmium and lead in edible vegetable oils*, Food Chem., 2018, 256, 212-218. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.02.132.
- [79] B. Feist, R. Sitko, *Method for the determination of Pb, Cd, Zn, Mn and Fe in rice samples using carbon nanotubes and cationic complexes of batophenanthroline*, Food Chem., 2018, 249, 38-44. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.12.082.
- [80] P. Baile, L. Vidal, M.A. Aguirre, A. Canals, *A modified ZSM-5 zeolite/Fe₂O₃ composite as a sorbent for magnetic dispersive solid-phase microextraction of cadmium, mercury and lead from urine samples prior to inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, J. Anal. At. Spectrom., 2018, 33, 856-866. doi: 10.1039/c7ja00366h.
- [81] Y.-K. Li, T. Yang, M.-L. Chen, J.-H. Wang, *Supported carbon dots serve as high-performance adsorbent for the retention of trace cadmium*, Talanta, 2018, 180, 18-24. doi: 10.1016/j.talanta.2017.12.020.
- [82] M. Sadeghi, F. Shiri, D. Kordestani, P. Mohammadi, A. Alizadeh, *SBA-15/Metformin as a novel sorbent combined with surfactant-assisted dispersive liquid-liquid microextraction (SA-DLLME) for highly sensitive determination of Pb, Cd and Ni in food and environmental samples*, J. Iran. Chem. Soc., 2018, 15, 753-768. doi: 10.1007/s13738-017-1272-0.
- [83] S. Arghavani-Beydokhti, M. Rajabi, A. Asghari, *Application of syringe to syringe dispersive micro-solid phase extraction using a magnetic layered double hydroxide for the*

- determination of cadmium(II) and lead(II) ions in food and water samples*, Anal. Methods, 2018, 10, 1305-1314. doi: 10.1039/c7ay01857f.
- [84] M. Behbahani, A. Veisi, F. Omid, A. Noghrhabadi, A. Esrafil, M.H. Ebrahimi, *Application of a dispersive micro-solid-phase extraction method for pre-concentration and ultra-trace determination of cadmium ions in water and biological samples*, Appl. Organomet. Chem., 2018, 32. doi: 10.1002/aoc.4134.
- [85] M. Roushani, Y.M. Baghelani, M. Mavaei, S. Abbasi, S.Z. Mohammadi, *Preparation of Modified Magnetic Cobalt Nanoparticles as a New Magnetic Sorbent for the Preconcentration and Determination of Trace Amounts of Lead Ions in Environmental Water and Soil (Air-Dust) Samples*, Commun. Soil Sci. Plant Anal., 2018, 49, 645-657. doi: 10.1080/00103624.2017.1417419.
- [86] L. Yao, X. Wang, H. Liu, C. Lin, L. Pang, J. Yang, Q. Zeng, *Optimization of ultrasound-assisted magnetic retrieval-linked ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of cadmium and lead in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry*, J. Ind. Eng. Chem., 2017, 56, 321-326. doi: 10.1016/j.jiec.2017.07.027.
- [87] H. Abdolmohammad-Zadeh, E. Rahimpour, A. Hosseinzadeh, M. Zamani-Kalajahi, *Aluminum(III)-doped ZnO@Fe₃O₄ nanocomposite as a magnetic sorbent for preconcentration of cadmium(II)*, Microchim. Acta, 2017, 184, 1641-1648. doi: 10.1007/s00604-017-2166-7.
- [88] M. Rajabi, S. Arghavani-Beydokhti, B. Barfi, A. Asghari, *Dissolvable layered double hydroxide as an efficient nanosorbent for centrifugeless air-agitated dispersive solid-phase extraction of potentially toxic metal ions from bio-fluid samples*, Anal. Chim. Acta, 2017, 957, 1-9. doi: 10.1016/j.aca.2016.12.041.
- [89] J. Yan, S. Chen, J. Li, Y. He, D. Lu, *Study on the Determination of Trace Lead and Cadmium by ICP-MS After Preconcentration and Separation on Carbon Nanofibers Loaded With 8-Hydroxyquinoline*, Atomic Spectroscopy, 2017, 38, 42-47.

II.2. ADSORCIÓN DE VANADIO EN ÓXIDO DE GRAFENO Y ESPECIACIÓN Y DETERMINACIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON CALENTAMIENTO ELECTROTÉRMICO MEDIANTE LA TÉCNICA DE MICROEXTRACCIÓN POR PUNTO DE NUBE

Contenido

II.2.1. Introducción	91
II.2.2. Parte experimental.....	93
II.2.2.1. Instrumentación.....	93
II.2.2.2 Reactivos y muestras	94
II.2.2.3 Procedimiento para la determinación de vanadio total.....	95
II.2.2.4 Procedimiento para la determinación de vanadio (IV).....	96
II.2.3 Resultados y discusión	96
II.2.3.1 Efecto del pH.....	96
II.2.3.2 Efecto de la cantidad de óxido de grafeno	101
II.2.3.3 Separación de la fase sólida tras la adsorción	102
II.2.3.4 Tratamiento de la fase condensada.....	104
II.2.3.5 Optimización del programa de calentamiento	105
II.2.3.6 Especiación de V(IV) y V(V)	107
II.2.3.7 Calibración	108
II.2.3.8 Determinación y especiación de vanadio en muestras de agua y cerveza.....	109
II.2.4. Conclusiones	110
II.2.5. Bibliografía	114

II.2.1. Introducción

El vanadio se encuentra presente a nivel de trazas en el medio ambiente, en los alimentos y también en el cuerpo humano, donde podría servir como un regulador de proteínas dependientes de fosfato. Se ha demostrado que los compuestos de vanadio son potencialmente eficaces contra la diabetes tipo 2, los tumores malignos incluyendo el cáncer, las enfermedades tropicales endémicas (como la tripanosomiasis, la leishmaniasis y la amebiasis), las infecciones bacterianas (tuberculosis y neumonía) e infecciones por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) [1]. Además, los fármacos de vanadio pueden ser operativos en la cardio- y neuroprotección [2]. Hasta el momento, los compuestos de vanadio aún no han sido aprobados como fármacos para uso clínico. Aunque es un elemento traza esencial para los organismos vivos, cantidades elevadas en el cuerpo humano pueden causar asma, rinitis, anemia, uremia e incluso pueden aumentar la posibilidad de desarrollar cáncer de pulmón [3].

Es poco probable que aparezcan casos de intoxicación con vanadio en ambientes ordinarios. Las sales de vanadio solubles, normalmente de V(V), se encuentran presentes en alimentos, agua natural ($0,05\text{-}130\ \mu\text{g L}^{-1}$) [4] y agua de mar ($1,8\ \mu\text{g L}^{-1}$) [5], mientras que V(IV) se encuentra fundamentalmente en los alimentos (cereales, en torno a $0,02\ \mu\text{g g}^{-1}$ de vanadio total). Para un adulto de 72 kg se ha establecido una ingesta máxima diaria de 1,8 mg de vanadio. Los óxidos insolubles de V_2O_5 , V_2O_4 y V_2O_3 se incorporan a las partículas de polvo y son transportados por el aire, especialmente en ambientes con cenizas volantes, emisiones volcánicas, empresas industriales de procesamiento de carbón y crudo de petróleo [6]. Se estima, por diversas fuentes, que la toxicidad debida a vanadio de un suelo comienza cuando su concentración es superior a $130\ \text{mg kg}^{-1}$ [7]. La inhalación de vanadio en las ciudades suele ser muy superior a la que se aprecia en zonas rurales. Se ha fijado en $0,05\ \text{mg m}^{-3}$ de vanadio el límite superior de este elemento en el aire que respiran los trabajadores de zonas industriales [8] y $50\ \mu\text{g L}^{-1}$ como el contenido máximo permitido en aguas potables [4].

Debido a la naturaleza dual del vanadio que tanto puede ser esencial como tóxico, se comprende que es muy importante el desarrollo de métodos sensibles y selectivos para su determinación. El elemento disuelto en las aguas naturales existe fundamentalmente en dos estados de oxidación, como V(IV) y V(V). Su especiación depende del pH, fuerza iónica y de las condiciones redox del medio acuoso, siendo V(V) estable en ambientes oxidantes, mientras que V(IV) lo es en ambientes reductores [5]. La toxicidad de las dos formas es diferente [9], pues existen evidencias de que V(V) presenta una toxicidad más elevada que V(IV) [3]. La diferente toxicidad de ambas especies justifica que en la actualidad tenga más interés la especiación del

elemento que la medida del vanadio total, como se comprueba a partir de las revisiones publicadas [5, 9-14].

La cuantificación de vanadio en distintos tipos de matrices se ha realizado fundamentalmente con técnicas espectroscópicas atómicas [10, 15]. En algunos tipos de materiales, debido a su complejidad ha sido preciso acoplar estos detectores a sistemas de separación, principalmente mediante cromatografía de líquidos de intercambio iónico [1, 16-19] lo que permite la especiación de las formas de V(IV) y V(V).

En muchas de ocasiones la concentración de vanadio es muy baja y roza los límites de detección de la técnica utilizada. En estos casos, se han acoplado técnicas de preconcentración que permiten tanto aislar el analito de la matriz como aumentar su concentración antes de la detección. Para ello se han propuesto distintas alternativas de microextracción donde la fase aceptora es un líquido. En este sentido se han propuesto el empleo de tensioactivos mediante la metodología de punto de nube [20], líquidos iónicos [4, 21-23] y disolventes orgánicos, líquidos [24] y en gota solidificada [25, 26].

También se han aplicado diversas técnicas de microextracción con fines de especiación. En este sentido se ha propuesto el empleo de las microextracciones dispersivas líquido-líquido [27, 28], líquido-líquido-líquido [29], con líquidos iónicos [30] y en fibra hueca [31]. La microextracción de vanadio en fase sólida, sin embargo, ha recibido menor atención, a pesar de que puede ser una técnica muy adecuada para gran cantidad de muestras y analitos debido a sus características de rapidez, simplicidad, flexibilidad y facilidad de automatización con varias técnicas de detección. Al mismo tiempo ofrece elevados factores de enriquecimiento y recuperación [32]. En este sentido se ha propuesto la microextracción de vanadio con el empleo de fibra hueca de titanio [33] o película de titanio mesoporoso [34].

El uso de nanomateriales en fase dispersa permite una retención rápida del analito, pero resulta preciso optimizar el proceso de separación de la fase sólida tras la retención. Dentro de esta línea, se ha propuesto el empleo de nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro, silicio y cerio [35]. En este caso la separación de la fase adsorbente se realiza por aplicación de un campo magnético.

En este trabajo aprovechamos la gran afinidad de V(IV) y V(V), en determinadas condiciones experimentales, para adsorberse sobre óxido de grafeno nanométrico. El óxido de grafeno (GO) se obtiene a partir de la oxidación del grafito y presenta grupos funcionales conteniendo oxígeno (epoxi, hidroxilo y carboxilo). En consecuencia, presenta zonas hidrofóbicas caracterizadas por un sistema de electrones π deslocalizados y zonas hidrofílicas

debido a los grupos conteniendo oxígeno que lo hacen más adecuado para la retención de sustancias polares. La separación entre capas es mayor y, por tanto, resulta más fácilmente exfoliable [36] que el grafeno. Las láminas de GO pueden dispersarse fácilmente en disolución acuosa debido a la presencia de estos grupos funcionales [37].

Sin embargo, las hojas de GO son muy difíciles de aislar completamente de la dispersión, incluso centrifugando a elevada velocidad debido a su minúsculo tamaño. Por tanto, este procedimiento es bastante problemático, tedioso y con escasa recuperación de GO. Para evitar estos inconvenientes, se han propuesto diversos procedimientos de agregación del GO disperso con la adición de electrolitos [37-40]. Alternativamente, se puede incorporar el GO a un núcleo magnético posibilitándose de esta forma la separación magnética [41-44].

La mezcla de propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas del GO lo hacen un buen candidato para su incorporación a las micelas generadas cuando se aplica la metodología de extracción en punto de nube (CPE) con el empleo de tensioactivos [45-47]. En lo que nosotros sabemos, el GO no se ha utilizado con CPE para la determinación de vanadio hasta ahora. Abordamos en este capítulo el empleo de Triton X-114 para el procedimiento de extracción en punto de nube, empleando como detector el espectrómetro de absorción atómica de calentamiento electrotérmico. Esta técnica resulta perfectamente compatible con el empleo de microvolúmenes. Para la especiación se ha recurrido a la separación previa de las especies con el empleo de cartuchos de intercambio iónico. El procedimiento propuesto se ha aplicado con éxito a la determinación de V(V) y V(IV) en distintos tipos de agua y cerveza.

II.2.2. Parte experimental

II.2.2.1. Instrumentación

Todas las medidas se han realizado con un espectrómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 800 (Waltham, MA), equipado con un atomizador de horno de grafito con calentamiento transversal, un dispositivo corrector de fondo con efecto Zeeman y un automuestreador (modelo AS-800). Los tubos equipados con plataforma de L'Vov fueron de grafito pirolítico y se obtuvieron del mismo fabricante. Como gas inerte se ha empleado argón, con una velocidad de flujo de 250 mL min^{-1} en todas las etapas, excepto en la de atomización en la que el flujo se detuvo. Se ha utilizado una lámpara de cátodo hueco de vanadio (Perkin Elmer) operada a 30 mA. Los parámetros instrumentales seleccionados se muestran en la Tabla II.2.1.

Para el tratamiento con ultrasonidos se utilizó un baño de ultrasonidos ATU modelo ATM 40-0.7LC (Valencia, España) de 50 W a 40 kHz. También se utilizó una centrifuga Hettich modelo EBA 200 (Tuttlingen, Alemania) equipada con un soporte para tubos cónicos de 15 mL, capaz de trabajar hasta 6000 rpm (3641 g).

La homogeneización del coacervado tras la separación, se llevó a cabo con el accesorio vortex Heidolph modelo Reax (Alemania).

Tabla II.2.1 Parámetros instrumentales para la determinación de V en los coacervados y programa de calentamiento

Parámetros	Valor
Corriente de lámpara, mA	30
Longitud de onda, nm	318,4
Ancho de banda espectral, nm	0,7
Tipo de atomizador	Plataforma
Volumen de muestra inyectada, μL	20
Temperatura de inyección, $^{\circ}\text{C}$	50
Modificador químico	ninguno
Volumen de muestra, mL	10

Programa de calentamiento de horno			
Etapa	Temperatura, $^{\circ}\text{C}$	Rampa, $^{\circ}\text{C s}^{-1}$	Mantenido, s
1: Secado	110	1	30
2: Secado	400	20	30
3: Calcinación	1200	10	30
4: Atomización ^a	2600	0	5
5: Limpieza	2650	1	3

^a Etapa de lectura. Se detiene el flujo de gas.

II.2.2.2 Reactivos y muestras

Las disoluciones se prepararon con agua desionizada (resistividad 18 M Ω cm) purificada con un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). El material de vidrio y de plástico (polipropileno) se lavó con una disolución al 1 % (v/v) de ácido nítrico y se aclaró con agua desionizada antes de su uso.

Las disoluciones estándar de 1000 mg mL⁻¹ de V(V) y V(IV) fueron preparadas disolviendo la cantidad necesaria de NH₄VO₃ (Sigma, St. Louis, MO, USA) y VOSO₄·5H₂O (Merck, Darmstadt, Germany), respectivamente. Las disoluciones estándar de trabajo se prepararon mediante la adecuada dilución de las disoluciones iniciales preparadas anteriormente. El tensioactivo Triton X-114 se obtuvo de Sigma-Aldrich y fue usado sin purificación adicional. El óxido de grafeno fue

obtenido de Timesnano (Chengdu Organic Chemicals Co. Ltd., Chinese Academy of Sciences). En el laboratorio se preparó una suspensión acuosa de 2 mg mL^{-1} manteniendo en ultrasonidos durante 30 minutos.

Se adquirieron dos muestras de agua embotellada de un supermercado y el agua de red se recogió del suministro principal de la Universidad de Murcia. La muestra de mar se obtuvo cerca de la costa, próxima a un puerto del sureste de España. El agua residual corresponde a una muestra tomada en una estación depuradora de una localidad próxima a nuestra Universidad. Estas muestras se filtraron y se mantuvieron en un recipiente de plástico a 4°C de temperatura hasta que se analizaron (menos de 48 horas). También se compraron cuatro muestras de cerveza en un supermercado cercano.

Además, se utilizaron siete materiales de referencia certificados de agua, NIST 1640a (agua natural), NASS-6 (agua de mar), SPS-SW2 Batch 125 (agua superficial), ERM-CA011b (agua potable), TMRAIN-04 (agua de lluvia), TM-23.4 (agua fortificada con elementos traza) y TM-25.4 (agua fortificada a bajo nivel) cuyo certificado indica el contenido total de vanadio que fueron obtenidas del National Institute of Standards and Technology, National Research Council Canada, Spectrapure Standards, European Reference Materials y Environment Canada (TM materials).

II.2.2.3 Procedimiento para la determinación de vanadio total

Sobre una alícuota de 10 mL de muestra en un tubo de centrífuga, se añadieron 100 μL de disolución reguladora de acetato-acido acético $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6) y 300 μL de la suspensión de GO de 2 mg mL^{-1} . La mezcla se agitó durante unos segundos y, posteriormente, se dejó reposar durante 15 minutos. A continuación, se disolvieron 30 mg de KBr en el tubo conteniendo la muestra y se calentaron a 40°C en un baño de agua durante 10 minutos. Seguidamente, se incorporaron 150 μL de una disolución de Triton X-114 15% (m/V). La disolución se enturbió indicando la formación de micelas. La mezcla fue centrifugada a 5000 rpm (2400 g) durante 10 minutos, el sobrenadante se desechó y el coacervado se homogeneizó mediante agitación con vórtex durante unos segundos. Después de calentar a 50°C el coacervado, se tomaron alícuotas de 20 μL que se introdujeron en el atomizador electrotérmico. Se aplicó al programa de calentamiento descrito en la Tabla II.2.1 y se obtuvo la señal correspondiente a vanadio total. Las medidas se realizaron por duplicado.

II.2.2.4 Procedimiento para la determinación de vanadio (IV)

Se ajustó la muestra a pH 4 con una disolución reguladora de acetato-ácido acético 0,1 mol L⁻¹. Se tomaron 15 mL de esta muestra y se pasaron por un cartucho de intercambio aniónico DSC-SAX de Supelco, activado con reguladora acetato-acético del mismo pH. Para ello se utilizó una bomba peristáltica a la velocidad de flujo de 2 mL min⁻¹. El V(V) quedó retenido en la columna, mientras que el V(IV) eluyó. Tomamos 10 mL del eluido y procedimos como en el procedimiento descrito en II.2.2.3 para la determinación del vanadio total. Por diferencia con el anterior se puede conocer el contenido de V(V).

Alternativamente, es posible eluir el V(V) retenido haciendo pasar ácido nítrico al 1% (v/v) y aplicar entonces el procedimiento general ya descrito.

II.2.3 Resultados y discusión

II.2.3.1 Efecto del pH

En medio acuoso y a bajas concentraciones [48] el V(V) se encuentra, dependiendo del pH, como oxianión (VO_4^{3-} , HVO_4^{2-} , H_2VO_4^-) además de VO_2^+ a pH inferior a 4, mientras que V(IV) se encuentra como especies catiónicas (VO^{2+} , $\text{VO}(\text{OH})^+$) [49]. La Figura II.2.1 muestra el diagrama de predominancia de las formas de V(V) dependiendo de su concentración molar y la Figura II.2.2 muestra la zona de predominancia de las especies de V(V) a bajas concentraciones. Como se puede apreciar, a pH superiores a 3,5 el V(V) se encuentra en forma aniónica.

La Figura II.2.3 muestra la fracción de predominancia de las formas de V(IV) en un medio 0,0025 mol L⁻¹. En este caso, a baja concentración, las dos especies destacables son VO^{2+} (presente a pH < 7) y $\text{VO}(\text{OH})^+$ (a valores de pH superiores). En ambos casos se trata de especies positivas. La gran estabilidad de los complejos de V(IV) y sulfato posibilita la presencia de VOSO_4 [49]. Sin embargo, V(IV) resulta fácilmente oxidable incluso por el oxígeno disuelto en el agua a valores de pH superiores a 5, como se puede apreciar en la Figura II.2.4 [1]. En consecuencia, la presencia de V(IV) solamente se puede detectar en ambientes ligeramente reductores.

En los primeros experimentos con GO se observó una fuerte retención de vanadio en el intervalo de pH comprendido entre 4 y 7, siendo completa entre 5 y 6. Como se puede deducir de la observación de la Figura II.2.2, a estos valores de pH el vanadio se encuentra como forma aniónica.

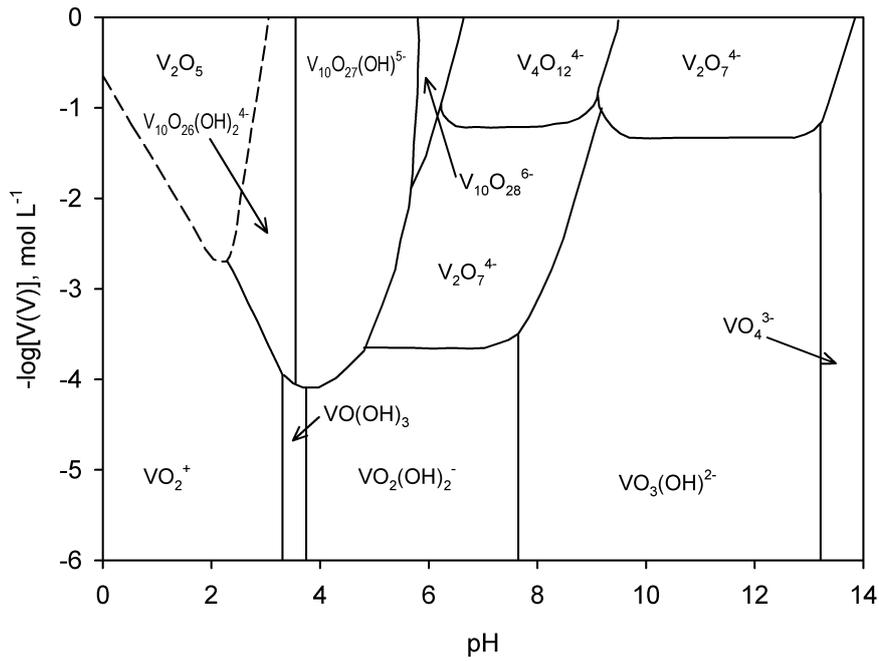


Figura II.2.1: Diagrama de predominancia de las distintas formas de V(V) en función del pH y dependiendo de la concentración total de vanadio. Calculado según los valores dados en [49].

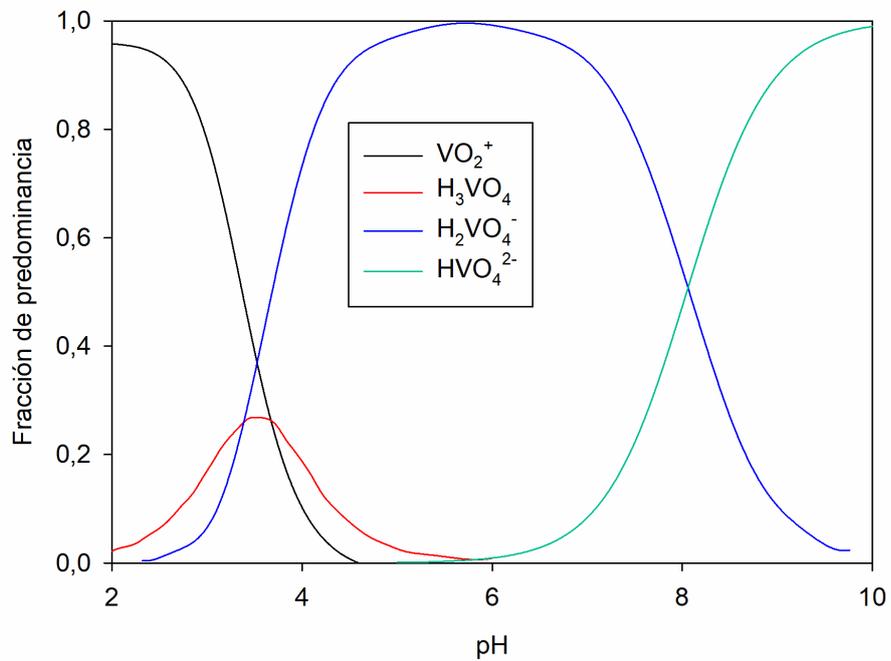


Figura II.2.2: Diagrama de distribución de las especies de V(V) a baja concentración en un medio de fuerza iónica aproximadamente cero. Calculado según los valores dados en [49].

Por otra parte, la presencia de grupos carboxilo en el GO le confiere una carga superficial negativa que aumenta con el pH como consecuencia de la desprotonación de estos grupos funcionales [50]. Se ha estimado el pH para el potencial de carga cero (pH_{pzc}) del GO en un valor de aproximadamente 3,9 [51]. Por tanto, a $\text{pH} > \text{pH}_{\text{pzc}}$ la carga superficial del GO es negativa, lo que posibilita la interacción electrostática con cationes metálicos.

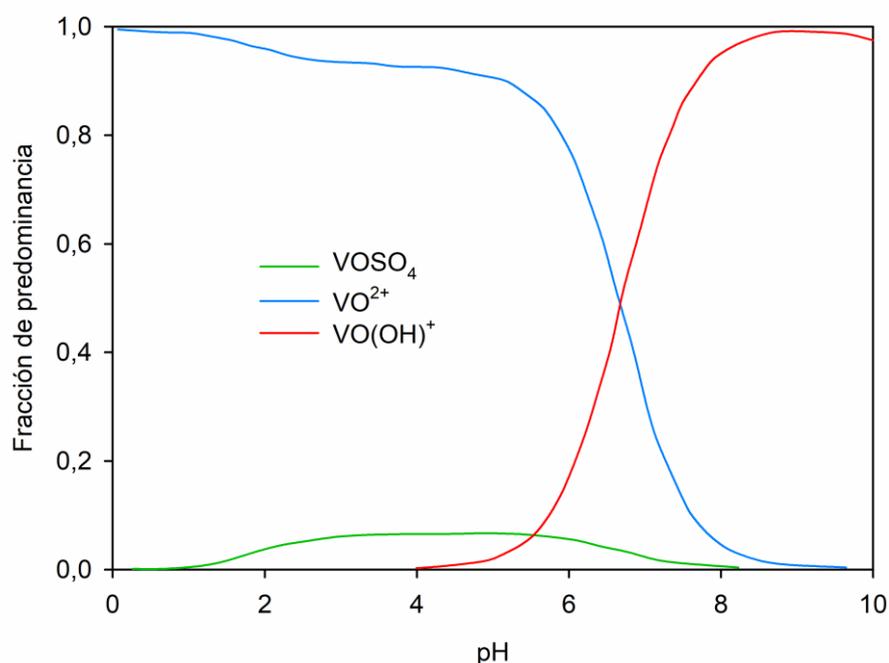


Figura II.2.3: Diagrama de distribución de las especies de V(IV) en un medio conteniendo sulfato a la concentración de $0.0025 \text{ mol L}^{-1}$. Calculado según los valores dados en [49].

Además de la interacción electrostática, se ha descrito que los electrones π deslocalizados del grafeno pueden actuar como base de Lewis y formar complejos dador-aceptor con metales [52]. La adsorción de iones metálicos a pH inferior a 4 se explica en base a un proceso de intercambio iónico del metal con los protones de los grupos carboxilo ya que incluso se han detectado descensos del pH de la disolución al producirse la adsorción [52, 53]. El hecho de que la adsorción de V(IV) sobre GO sea muy superior a su adsorción sobre GO reducido, indica claramente el enorme papel complejante de los átomos de oxígeno [53].

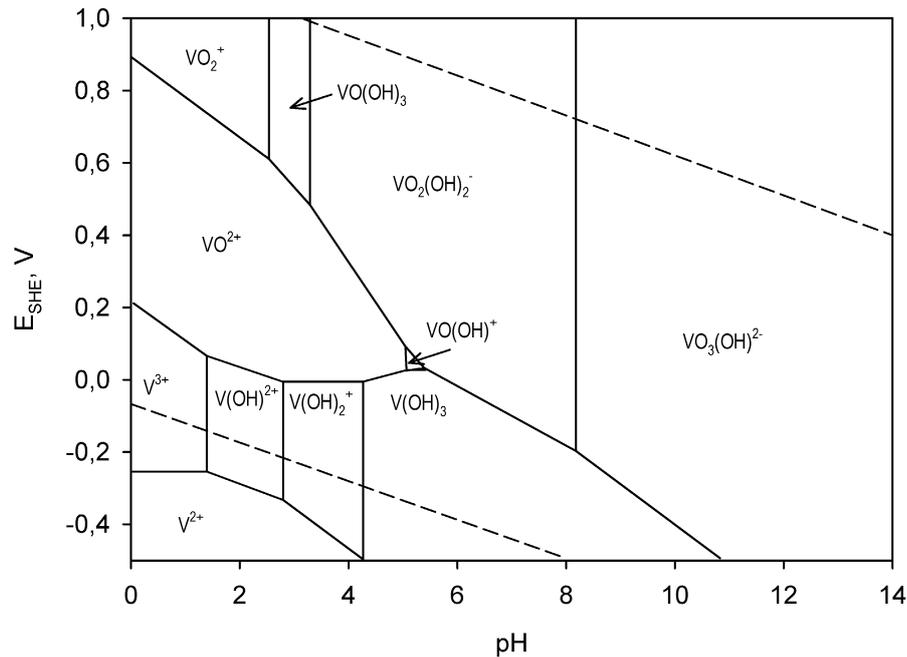
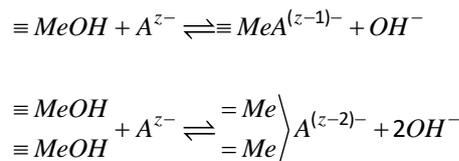


Figura II.2.4: Efecto del pH en el potencial redox de las distintas formas de vanadio. Las líneas discontinuas corresponden a los procesos de oxidación y reducción del agua. Calculado según los valores dados en [1].

Respecto de la retención de especies aniónicas por GO no hemos encontrado publicaciones, si bien hemos encontrado algunas referencias a los posibles mecanismos de adsorción de especies aniónicas en óxidos metálicos. En este sentido, la retención de aniones se explica vía la formación de quelatos mono o bidentados con la especie aniónica [54] sustituyendo a los grupos OH⁻:



Este modelo se ha utilizado para explicar la adsorción de vanadio en goetita (α -FeOOH) [55], Al₂O₃ y TiO₂ [56]. Según este modelo, V(IV) formaría ligandos bidentados, mientras que V(V) lo haría monodentados. Es evidente la diferencia entre estos dos soportes y el GO, pero la presencia conjunta de grupos OH⁻ y el hecho experimental incontestable de la retención de las formas iónicas de vanadio, exigen una mayor dedicación por parte de los investigadores que conduzca a la propuesta de un mecanismo de adsorción probable.

La Figura II.2.5 muestra los resultados al estudiar la retención de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de V(V) y V(IV) (curvas a y b, respectivamente) a distintos valores de pH. Este estudio se ha realizado

midiendo la señal de vanadio en la disolución antes de añadir el GO y después del proceso de adsorción, previa centrifugación a 5000 rpm (2400 g) durante 10 minutos. Tras la centrifugación no se consigue la completa deposición del GO en el fondo de la disolución, por lo que el sobrenadante se microfiltró a través de membrana de 0,2 μm . Como puede apreciarse, la retención de V(V) es completa a valores de pH comprendidos entre 5 y 6. En este intervalo de pH el V(V) se encuentra en forma de H_2VO_4^- , a valores de pH superiores formaría especies con mayor carga negativa y la retención disminuye rápidamente. El descenso que se observa en esta zona de pH es mucho más acusado que el que se manifiesta en la retención de cationes metálicos como Cu(II), Zn(II), Cd(II) y Pb(II) [57]. En el caso de V(IV) el comportamiento es muy similar, aunque el V(IV) solamente es estable a pH inferior a 2-3 y es oxidado gradualmente al aumentar el pH [19], por tanto suponemos que el comportamiento de V(IV) por encima de pH 4 puede ser el que corresponde a V(V). En medios más ácidos parece que existe una mejor retención de V(IV) que de V(V), pero en ambos casos dicha retención resulta incompleta. Por tanto, al pH de trabajo seleccionado ($5 < \text{pH} < 6$) se retienen ambas especies, probablemente porque en realidad estamos tratando solamente con V(V) debido a la oxidación de V(IV). Finalmente hemos seleccionado pH 6 como el valor óptimo para realizar la retención. Hemos comprobado experimentalmente que para el ajuste del pH a 6 se puede utilizar la reguladora acetato /ácido acético $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (100 μL para 10 mL de fase acuosa).

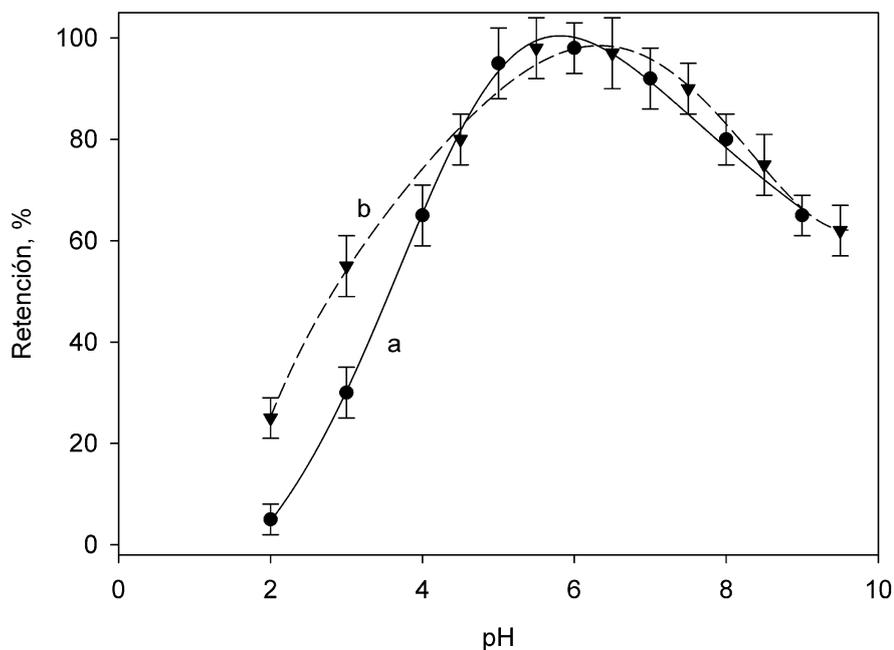


Figura II.2.5: Efecto del pH en la retención en GO de disoluciones de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ de V(V) y V(IV), curvas a y b, respectivamente.

II.2.3.2 Efecto de la cantidad de óxido de grafeno

El efecto de la concentración de óxido de grafeno necesario para conseguir una retención cuantitativa se ha llevado a cabo utilizando una suspensión de óxido de grafeno en agua de 2 g L^{-1} . La Figura II.2.6 muestra los resultados obtenidos al medir la retención de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ de V(V). Como puede apreciarse, a partir de $0,05 \text{ g L}^{-1}$ la retención es máxima. Hemos seleccionado como valor más adecuado la adición de $600 \mu\text{g}$ de GO, lo que equivale a una concentración de $0,06 \text{ g L}^{-1}$ ($300 \mu\text{L}$ de la suspensión de 2 g L^{-1}). Esta concentración es alta para la determinación de vanadio a nivel de trazas, pero también es cierto que otras especies que acompañen al vanadio en la muestra pueden consumir fase adsorbente. Tampoco debe utilizarse una concentración excesiva porque, como ha sido comprobado [58], la adsorción disminuye a muy elevadas concentraciones ya que los sitios enlazantes y el área superficial disminuyen. Llama la atención que la cantidad necesaria para retener vanadio con GO sea muy superior a la que se ha encontrado en la retención de cromo [59]. En aquel caso, con $100 \mu\text{g}$ de GO se consigue la retención cuantitativa de concentraciones similares de especies positivas de Cr(III) a pH 7. No obstante, otros autores [38, 57] utilizan cantidades muy superiores (1 y 2 mg , respectivamente) para la retención de metales divalentes, aunque a concentraciones mayores y con procedimientos de separación distintos.

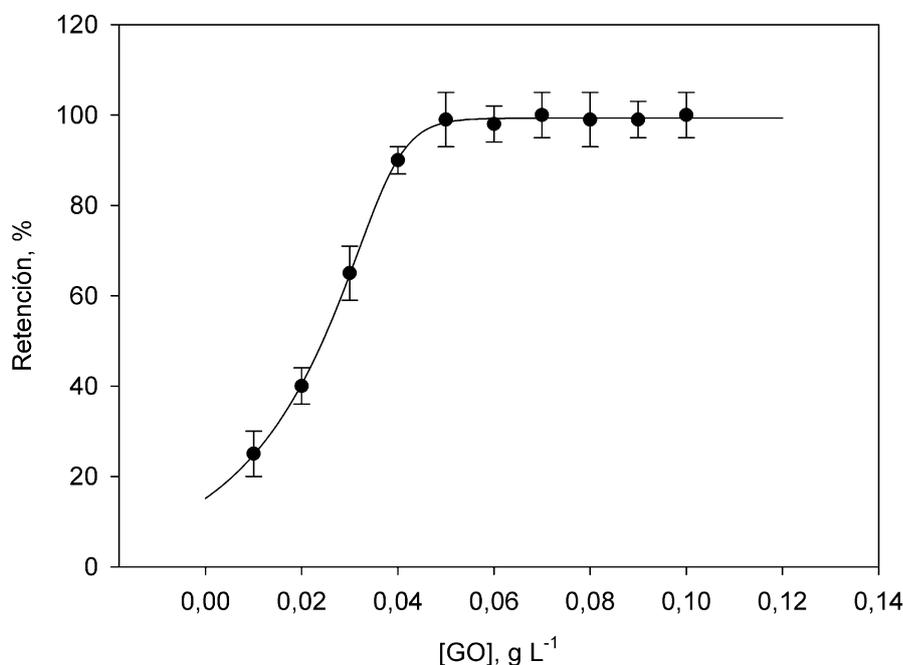


Figura II.2.6: Efecto de la concentración de GO en la retención de $2 \mu\text{g}$ de V(V). Los segmentos corresponden a la desviación estándar de tres determinaciones.

En nuestro caso encontramos que la adsorción de las especies de vanadio no es instantánea. La adsorción aumenta rápidamente al principio para después hacerlo suavemente hasta alcanzar el estado de equilibrio. El estudio del tiempo de contacto entre las especies en disolución y el GO revela que, a partir de 15 minutos, la adsorción de vanadio es completa a temperatura ambiente. Este tiempo es similar [38, 41] o inferior [57, 58, 60] a los propuestos para la adsorción de otras especies con GO.

II.2.3.3 Separación de la fase sólida tras la adsorción

Como ya se ha dicho, la presencia en el GO de grupos funcionales conteniendo oxígeno (epoxi, hidroxilo y carboxílicos) en los planos basales y los extremos [38, 61] es la responsable de la polaridad y carácter hidrofílico, lo que conduce a la formación de suspensiones coloidales muy bien dispersas en disolución acuosa. En consecuencia, resulta difícil recuperar de forma completa las minúsculas hojas de GO de la disolución por centrifugación [62], ni siquiera por filtración a través de filtros de membrana de 0,22 μm [63] ya que la separación es incompleta y consume mucho tiempo. Alternativamente se han propuesto otros sistemas de separación forzando la agregación del GO o su coagulación mediante la adición de electrolitos que neutralizan el exceso de carga superficial negativa [37, 38, 40], el empleo de compuestos orgánicos que favorecen la coagulación (polietilenimina) [39] y jugando con el pH [64]. Otra opción es añadir al GO un comportamiento magnético por formación de nanocompuestos mixtos de GO con magnetita [65], lo que posibilita la separación por aplicación de un campo magnético, o mediante interacción con hidróxidos dobles de Mg y Al [66, 67].

La Figura II.2.7 muestra los resultados obtenidos al estudiar la separación de las nanopartículas de GO conteniendo vanadio en distintas condiciones experimentales. Para ello se recurrió a medir la señal de vanadio remanente en la fase acuosa tras añadir GO a la disolución y someterlo a distintas condiciones de separación. Las experiencias se han realizado tras la centrifugación del material adsorbente durante 10 minutos a 5000 rpm (2400 g) en ausencia y presencia de NaCl [38], KBr [68] y KBr+Triton X-114. En todos los casos se midió además la señal de la fase acuosa microfiltrada a través de 0,22 μm . Como puede apreciarse, en ausencia de agentes que favorezcan la agregación del GO, la retención aparente de vanadio es baja, principalmente debido a que el proceso de centrifugación no permite coleccionar las partículas pequeñas. La microfiltración de la fase acuosa remanente indica que la retención es superior a la encontrada por simple centrifugación. La adición de electrolitos que neutralicen la carga superficial negativa del GO favorece la agregación y el empleo de KBr condujo a mejores

resultados que NaCl. No obstante, en ambos casos, la señal indica una retención incompleta que aunque aumenta microfiltrando la disolución, está lejos de ser cuantitativa. Los mejores resultados se obtuvieron combinando el empleo de KBr como agente que facilita la agregación de GO y la metodología de extracción en punto de nube con el uso de un tensioactivo no iónico como el Triton X-114.

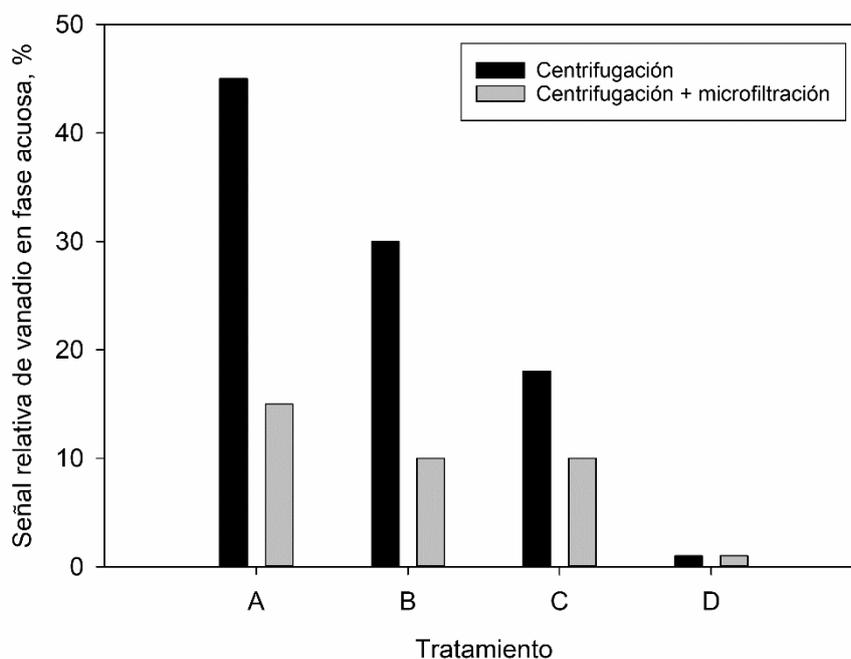


Figura II.2.7: Efecto del tipo de tratamiento de la fase adsorbente en la señal remanente de vanadio en fase acuosa. La barra sólida A corresponde a la señal remanente en la fase acuosa tras centrifugar. Las barras sólidas B a D corresponden al empleo de NaCl, KBr y KBr+Triton X-114, respectivamente. Las barras grises corresponden a la señal medida en la fase acuosa tras microfiltración del líquido remanente.

En el caso de utilizar KBr el proceso de agregación es mucho más rápido que con NaCl. De hecho, si la suspensión de GO se calienta a 40 °C, en apenas 5 minutos ya se observa la presencia de agregados importantes. Hemos seleccionado un tiempo de calentamiento de 10 minutos y sin enfriar se añade el Triton X-114 que forma una nube instantáneamente. Tras centrifugar, la medida de la señal de vanadio en la fase acuosa conduce a un valor que no se diferencia significativamente del ensayo en blanco, sin necesidad de microfiltración.

Se ha estudiado la temperatura de trabajo y la cantidad óptima de Triton X-114 a utilizar. En el primer caso, la temperatura ha de ser superior a la del punto de nube (23 °C). Encontramos que calentando a 40 °C se consigue la formación instantánea de la nube de micelas. En cuanto a la cantidad a añadir, es claro que ha de ser superior a la concentración micelar crítica ($2 \cdot 10^{-4}$ mol

L⁻¹) pero no tan elevada como para que el volumen de fase condensada sea muy alto y disminuya la concentración de vanadio por dilución innecesaria. La Figura II.2.8 muestra los resultados obtenidos. Como la concentración micelar crítica de los tensioactivos no iónicos disminuye al aumentar la temperatura [69], ha sido posible obtener fases condensadas de Triton X-114 desde concentraciones 10⁻⁴ mol l⁻¹. La señal aumenta con la concentración de tensioactivo, porque así lo hace la eficacia del proceso de separación, hasta alcanzar un máximo a partir del cual disminuye por dilución del extracto. Hemos seleccionado el valor de 3 · 10⁻⁴ mol l⁻¹ que corresponde a la adición de 150 µL de Triton X-114 al 15 % (v/v) en 10 mL de fase acuosa. En estas condiciones el volumen de fase condensada que se obtiene es de aproximadamente 95 µL, más que suficiente para realizar determinaciones por ETAAS.

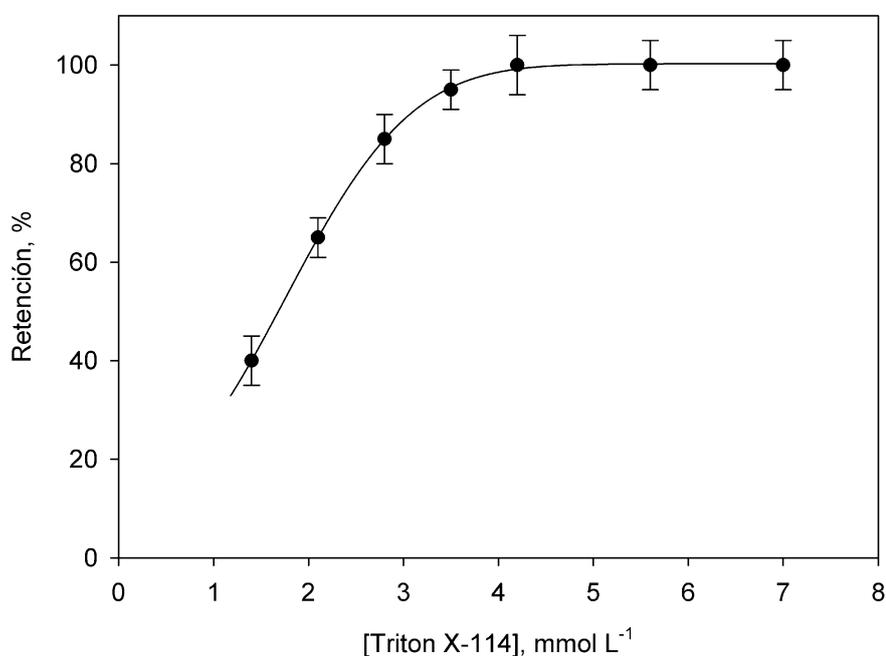


Figura II.2.8: Efecto de la concentración de Triton X-114 en la retención de 2 µg de V(V).

II.2.3.4 Tratamiento de la fase condensada

Tras la formación de la fase condensada, que se separa de la disolución acuosa por centrifugación, el GO queda atrapado dentro de la misma. El siguiente paso es determinar el contenido de vanadio dentro de esta fase. Para ello, en una primera instancia se intentó desorber el vanadio retenido en el GO. La fase condensada se trató con distintas disoluciones que, además de solubilizar la fase micelar, pudieran extraer el analito a la fase acuosa. En todos los casos se trató la fase condensada con 100 µL de disolución extractante y, seguidamente, se aplicaron ultrasonidos. Se ensayaron distintos medios con diferentes valores de pH. Los mejores

resultados se obtuvieron con el empleo de ácido nítrico al 3 % (v/v) mezclado con peróxido de hidrógeno al 10 % (v/v) y etanol al 30 %. Utilizando esta mezcla, la fase condensada desaparece tras 5 minutos de ultrasonidos y se obtiene una suspensión en donde la cantidad de vanadio retroextraído (medido en el líquido microfiltrado) apenas alcanzó el 55 % del total retenido. Además, la presencia de ácido nítrico y etanol disminuye la señal de vanadio respecto de la que presenta en fase acuosa. En efecto, encontramos que la señal de vanadio decrece un 20 % en presencia de HNO₃ al 1% (v/v). Este efecto también se observó a partir de concentraciones de etanol superiores al 15 %. Sin embargo, la presencia de peróxido de hidrógeno no afectó la señal de vanadio.

Puesto que no fue posible la desorción completa y tampoco la separación de la fase acuosa del GO en este microvolumen de suspensión, se decidió estudiar otras alternativas. En este sentido, ya que la viscosidad del Triton X-114 decrece mucho con la temperatura [70, 71] pensamos que sería posible calentar suavemente la suspensión de fase condensada con GO para que, con ayuda de ultrasonidos, se pudieran tomar microvolúmenes de la misma y trasladarlos al atomizador. Se estudió el tiempo y la temperatura a la que hay que calentar la fase condensada para conseguir una suspensión que se pudiera muestrear con seguridad. Se encontró que el calentamiento a 50 °C durante 5 minutos en ultrasonidos genera una suspensión que se puede muestrear con micropipeta para introducirla en el atomizador electrotérmico. Este procedimiento se mostró más adecuado que aquellos que recurren a la adición de disolventes miscibles con el agua para redissolver la fase condensada, ya que en estos casos se incrementa innecesariamente el volumen final de la fase conteniendo el analito.

II.2.3.5 Optimización del programa de calentamiento

La introducción de una fase micelar en el atomizador significa que el programa de calentamiento ha de contemplar en las etapas de secado la existencia de agua y un tensioactivo con punto de ebullición elevado. Por ello, el programa de calentamiento propuesto (Tabla II.2.1) incluye dos etapas de secado. La primera consiste en calentar a 110 °C durante 30 segundos para eliminar la mayor parte del agua presente en el microvolumen inyectado. Seguidamente, se aumenta la temperatura hasta 400 °C con el fin de vaporizar el tensioactivo Triton X-114. Durante esta etapa se produce la emisión de humos blancos densos. Antes de la etapa de atomización es preciso realizar una etapa de calcinación que permita reducir al máximo la absorción de fondo sin sufrir pérdidas de analito. La Figura II.2.9 muestra los resultados obtenidos al optimizar la temperatura de las etapas de calcinación y atomización. A la vista de

los resultados se recomienda el empleo de 1200 °C para la calcinación y 2600 °C para la atomización. La mejor sensibilidad se consigue deteniendo el flujo interno de argón durante esta etapa.

La Figura II.2.10 muestra el perfil de absorbancia-tiempo durante la atomización de vanadio, tanto en la fase condensada como en disolución acuosa, utilizando el programa propuesto en la Tabla II.2.1.

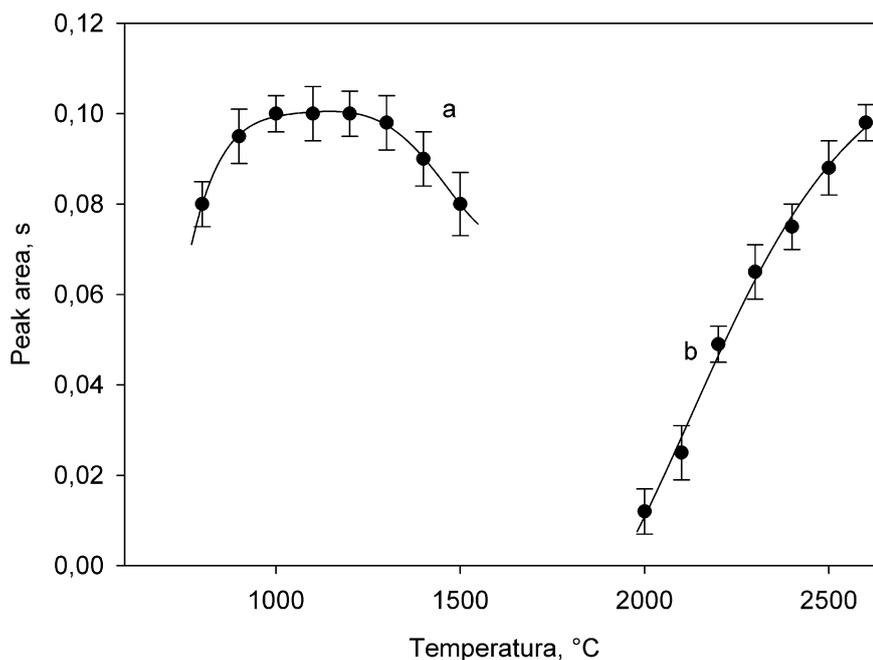


Figura II.2.9: Efecto de la temperatura de calcinación y atomización (curvas a y b, respectivamente) en la señal medida en la fase condensada tras aplicar el procedimiento propuesto a una disolución conteniendo $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de V(V).

Como puede apreciarse, la absorción de fondo resulta pequeña y no supone un inconveniente para la cuantificación. La masa característica encontrada en estas condiciones resultó ser 58 y 62 pg para vanadio en disolución acuosa o fase condensada, respectivamente. Estos valores son ligeramente superiores a los encontrados previamente con empleo de modificadores químicos [72-74]. El empleo de diferentes modificadores químicos (ácido ascórbico, níquel, paladio, paladio + magnesio) para estabilizar al analito, no condujo a mejores resultados, por lo que no se recomienda utilizar en este caso modificador alguno.

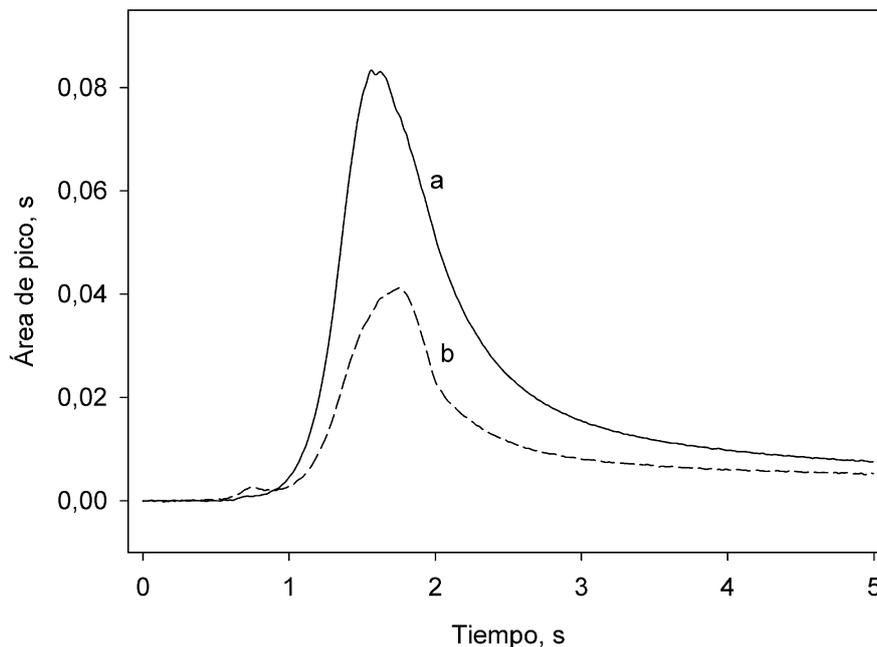


Figura II.2.10: Perfiles de señal atómica (a) y absorción de fondo (b) encontrados en la atomización de la fase concentrada obtenida por aplicación del procedimiento propuesto a 10 mL de V(V) de $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$.

II.2.3.6 Especiación de V(IV) y V(V)

Varios autores [28, 30, 31] han recurrido al empleo de ácido 1,2-diaminociclohexanotetraacético (DCTA) como agente enmascarante selectivo de V(IV) para realizar la especiación. En nuestro caso, el empleo de DCTA con V(IV) ha conducido a una retención parcial de, aproximadamente, el 45 %. En el caso del V(V), el empleo de DCTA también inhibe parcialmente la retención y, por tanto, su empleo fue descartado.

Como se ha comentado, la presencia de V(IV) a pH neutro no es probable más que en ambientes ligeramente reductores. No obstante, hemos abordado su especiación mediante la separación con cromatografía de intercambio iónico. Utilizamos distintos intercambiadores y los mejores resultados se obtuvieron con los cartuchos de intercambio Supelco Discovery DSC-SAX, un intercambiador aniónico fuerte que consiste en una amina cuaternaria enlazada poliméricamente (Figura II.2.11) que permanece cargada a todos los valores de pH, siendo el cloruro su contraión. El cartucho, de 6 mL de capacidad, se activa con 2 mL de metanol seguido de 2 mL de agua.

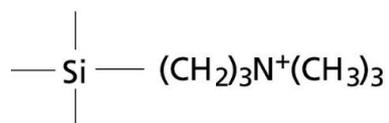


Figura II.2.11: Grupo funcional en el material adsorbente que constituye los cartuchos DSC-SAX que actúa como intercambiador aniónico.

Se ensayó la separación a valores de pH comprendidos entre 2 y 6. A pH menor que 2 ninguna de las especies queda retenida. A pH 3 se retiene parcialmente V(V) y a pH 6 se retienen ambas. A pH 4 el V(V) se encuentra cargado negativamente y se retiene al 100 % en la resina, mientras que el V(IV), en forma catiónica no se retiene. Para evitar gradientes de pH en el interior de la resina, se lava previamente a la introducción de la muestra con 5 mL de una disolución reguladora de acetato-ácido acético $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. La muestra se ajusta a pH 4 con el menor volumen necesario de reguladora acetato-ácido acético. Al pasar por la columna se recoge el eluido que contiene V(IV), se ajusta a pH 6 dicho eluido y se aplica el procedimiento propuesto. De esta manera se conoce el contenido en V(IV). El contenido en vanadio total se obtiene a partir de la aplicación directa del procedimiento sobre la muestra. Se ha estudiado el caudal al que se puede pasar la muestra por el cartucho de intercambio iónico y se encontró una retención cuantitativa hasta un caudal de 2 mL min^{-1} .

Para comprobar la validez del procedimiento de separación se prepararon mezclas sintéticas de V(V) y V(IV) en distintas proporciones que se sometieron al procedimiento propuesto y a la separación por intercambio iónico. La Tabla II.2.2 muestra los resultados obtenidos. Como puede apreciarse la determinación de V(IV) resulta cuantitativa incluso a relaciones V(V)/V(IV) de 10/1.

II.2.3.7 Calibración

Trabajando en las condiciones recomendadas se ha encontrado un comportamiento lineal entre la señal en área de pico y la concentración de las especies de vanadio en disolución en el intervalo de $0,06 - 3,3 \mu\text{g L}^{-1}$. Las pendientes de las rectas de calibrado obtenidas para V(V) y V(IV) fueron $0,154 \pm 0,002$ y $0,152 \pm 0,002 \text{ s } \mu\text{g}^{-1}\text{L}$, respectivamente. Como puede apreciarse, no existen diferencias significativas entre las pendientes al 95 % de nivel de confianza, por lo que resulta posible realizar la calibración con una sola de las formas de vanadio. El límite de detección se ha calculado a partir de tres veces el error estándar de la regresión, resultando un valor de $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$. La desviación estándar relativa de las medidas dentro del intervalo de calibración se encontró entre 3,5 y 4,7 %.

La calibración acuosa, sin proceso de microextracción, condujo a pendientes de calibrado para las formas V(V) y V(IV) de $0,00147 \pm 0,00001$ y $0,00146 \pm 0,00001$ s $\mu\text{g}^{-1}\text{L}$, respectivamente. El factor de enriquecimiento se ha calculado a partir del cociente entre las pendientes promedio en la medida tras el proceso de microextracción y las que se obtienen de forma directa, resultando ser de 103, lo que se corresponde de forma aproximada a la relación de volúmenes de fase dadora a aceptora. La Tabla II.2.3 muestra una comparativa de procedimientos de microextracción publicados con especiación de vanadio. Como puede apreciarse, en la mayoría de los casos [29, 30] la técnica ETAAS es la seleccionada por su excelente compatibilidad con el empleo de microvolúmenes, aunque frecuentemente se recurre a la dilución de la fase extractante para disminuir su viscosidad [28-30]. Los resultados experimentales demuestran que esta técnica de microextracción y especiación de vanadio combinada con ETAAS es una metodología sencilla al tiempo que amigable con el medio ambiente y puede ser una alternativa a la determinación de trazas de este elemento con técnicas mucho más sofisticadas.

II.2.3.8 Determinación y especiación de vanadio en muestras de agua y cerveza

Se estudió la aplicabilidad del procedimiento propuesto a la determinación de las formas de vanadio en muestras de agua de distinta procedencia, como se detalla en la parte experimental. En estas aguas se realizó un estudio de recuperación de V(V) y V(IV). Como se puede apreciar en la Tabla II.2.4, los resultados revelan una recuperación cuantitativa. También se utilizaron 7 materiales de referencia (SRM) correspondientes a aguas de distinta procedencia, tal y como aparece en la Tabla II.2.5. Los contenidos certificados para estos materiales son exclusivamente contenidos de vanadio total, pero resultan adecuados con fines comparativos. El procedimiento propuesto se ha aplicado asimismo a la determinación de vanadio en muestras de cerveza en lata o botella, con o sin alcohol. En los casos donde se ha detectado la presencia de V(IV) se recurrió además a eluir, en medio ácido, el V(V) retenido en la columna de intercambio para su determinación por el procedimiento propuesto. Los resultados obtenidos en estas determinaciones aparecen también recogidos en la Tabla II.2.5. Como puede apreciarse, la suma de los contenidos encontrados de V(IV) y V(V) coincide muy bien con el contenido total de vanadio y éste con los valores certificados en el caso de materiales de referencia.

II.2.4. Conclusiones

La microextracción en punto de nube en presencia de óxido de grafeno permite la separación cuantitativa de pequeñas cantidades de vanadio, que se concentra en el coacervado formado. No se necesita diluir la fase surfactante conteniendo el analito para su incorporación directa en el atomizador, pues con un suave calentamiento se consigue disminuir su viscosidad lo que permite tomar el volumen necesario con micropipeta. Debido al elevado factor de preconcentración, junto a la sensibilidad de la técnica utilizada para la medida (ETAAS), se consigue una gran sensibilidad. Se confirma que la microextracción en punto de nube es una forma útil de concentrar trazas de elementos metálicos con fines analíticos. De esta forma se evita el uso de disolventes orgánicos, sustituyendo éstos por tensioactivos para la obtención de coacervados. Estos reactivos son de bajo costo, fácilmente asequibles, y desempeñan un papel similar al de los extractantes orgánicos convencionales, pero sin los riesgos asociados al uso de disolventes potencialmente nocivos.

Tabla II.2.2. Selectividad del método para la especiación de V(IV) y V(V)

Relación	V(V)			V(IV)		
	Adicionado, $\mu\text{g L}^{-1}$	Encontrado ^a , $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperado, %	Adicionado, $\mu\text{g L}^{-1}$	Encontrado, $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperado, %
10	5	4,95 ± 0,18	99,0	0,5	0,49 ± 0,07	98,0
5	5	5,12 ± 0,15	102,4	1	1,02 ± 0,10	102,0
2	4	4,02 ± 0,19	100,5	2	2,03 ± 0,12	101,5
1	1	0,99 ± 0,10	99,0	1	0,99 ± 0,08	99,0
0,1	0,5	0,52 ± 0,06	104,0	5	5,02 ± 0,15	100,4

^a Valor medio ± desviación estándar (n=5)

Tabla II.2.3. Comparativa de algunos procedimientos propuestos para la especiación de vanadio empleando técnicas de microextracción

Microextracción	Detalles	Especiación	Detección	LOD, ng L ⁻¹	EF	Ref.
DLLME	Extracción del par iónico de V(V) y V(IV) formado con PAR y DCTA como contraión en cloroformo:etanol	V(IV) enmascarado con DCTA	UV	60	98	[28]
TPLLME	Extracción selectiva en disolventes orgánicos de los complejos con PAN	V(V)-PAN en cloroformo V(IV)-PAN en 1-undecanol	ETAAS	34 (V(V)) 28 (V(IV))	100	[29]
TILLME	Extracción de V(V) y V(IV) complejados con 5-Br-PADAP en el líquido iónico [C ₄ mim][PF ₆]	V(IV) enmascarado con DCTA	ETAAS	5	40	[30]
HF-LPME	Extracción de V(V) y V(IV) complejados con APDC CCl ₄	V(IV) enmascarado con DCTA	ETV-ICP-OES	71 (V(V)) 86 (V(IV))	74	[31]
CPE	Adsorción de V(V) y V(IV)	V(V) separado por intercambio iónico	ETAAS	20	103	[*]

DLLME: microextracción dispersiva líquido-líquido; PAR: 4-(2-piridilazo)-resorcinol; CTAB: bromuro de N-cetil-N, N, N-trimetil amonio; DCTA: ácido 1,2-diaminociclohexanotetraacético; TPLLME: microextracción en tres fases líquido-líquido; PAN: 1-(2-Piridilazo)-2-naftol; TILLME: microextracción en fase líquida dispersiva con líquidos iónicos a temperatura controlada; 5-Br-PADAP: 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol; [C₄mim][PF₆]; hexafluorofosfato de 1-butyl-3-metilimidazolio; HF-LPME: microextracción en fase líquida con fibra hueca; APDC: pirrolidin ditiocarbamato amónico; ETV-ICP-OES: espectroscopia de emisión óptica con plasma de acoplamiento inducido y vaporización electrotérmica; CPE: extracción en punto de nube; [*]: este trabajo

Tabla II.2.4: Determinación de V(V) y V(IV) en muestras de agua de distinta procedencia

Muestra	Añadido $\mu\text{g L}^{-1}$		Encontrado ^a $\mu\text{g L}^{-1}$		Recuperación, %	
	V(V)	V(IV)	V(V)	V(IV)	V(V)	V(IV)
AME 1	0	0	<LOD	<LOD	-	-
	1,00	1,00	0,98 ± 0,05	1,02 ± 0,05	98 ± 3	102 ± 3
	2,00	2,00	2,03 ± 0,07	2,05 ± 0,06	102 ± 2	103 ± 3
AME 2	0	0	<LOD	<LOD	-	-
	1,00	1,00	1,02 ± 0,06	0,97 ± 0,05	102 ± 3	97 ± 3
	2,00	2,00	2,02 ± 0,08	1,98 ± 0,06	101 ± 3	99 ± 3
AG	0	0	0,60 ± 0,06	0,97 ± 0,05	-	-
	1,00	1,00	1,58 ± 0,06	2,01 ± 0,06	98 ± 3	104 ± 3
	2,00	2,00	2,70 ± 0,07	2,95 ± 0,07	105 ± 3	99 ± 3
AM1	0	0	1,35 ± 0,08	<LOD	-	-
	1,00	1,00	2,27 ± 0,08	0,98 ± 0,06	92 ± 3	98 ± 3
	2,00	2,00	3,30 ± 0,09	2,05 ± 0,06	98 ± 3	103 ± 3
AM2	0	0	0,56 ± 0,06	<LOD	-	-
	1,00	1,00	1,58 ± 0,07	1,02 ± 0,07	102 ± 3	102 ± 3
	2,00	2,00	2,60 ± 0,07	1,99 ± 0,08	102 ± 3	100 ± 3
AR	0	0	0,90 ± 0,07	<LOD	-	-
	1,00	1,00	1,95 ± 0,08	0,97 ± 0,06	105 ± 3	97 ± 3
	2,00	2,00	2,85 ± 0,08	2,04 ± 0,07	98 ± 3	102 ± 3

^a Valor medio ± desviación estándar (n=5)

AME: agua mineral embotellada; AG: agua de red; AM: agua de mar; AR: agua residual

Tabla II.2.5: Determinación de V(V) y V(IV) en materiales de referencia y cerveza

Muestra	Certificado ^a , µg L ⁻¹	Encontrado ^b , µg L ⁻¹			
	V _{total}	V(V)	V(IV)	V _{total}	V(IV)+V(V)
NIST 1640a	14,93 ± 0,21	14,8 ± 0,2	<LOD	14,8 ± 0,2	-
NASS-6	1,42 ± 0,16	1,35 ± 0,12	<LOD	1,35 ± 0,12	-
SPS-SW2 batch 125	50,0 ± 0,3	50,8 ± 0,3	<LOD	50,8 ± 0,3	-
ERM-CA011b	4,75 ± 0,34	4,44 ± 0,23	<LOD	4,44 ± 0,23	-
TMRAIN-04	0,683 ± 0,008	0,69 ± 0,11	<LOD	0,69 ± 0,11	-
TM-23.4	1,92 ± 0,21	1,93 ± 0,21	<LOD	1,93 ± 0,21	-
TM-25.4	27,4 ± 2,5	26,9 ± 0,3	<LOD	26,9 ± 0,3	-
Cerveza de lata 1	-	1,70 ± 0,22	7,76 ± 0,31	9,11 ± 0,33	9,46 ± 0,38
Cerveza de lata 2	-	1,63 ± 0,18	3,64 ± 0,25	5,26 ± 0,28	5,27 ± 0,31
Cerveza en botella	-	6,26 ± 0,32	<LOD	6,26 ± 0,25	6,26 ± 0,32
Cerveza de lata sin alcohol	-	7,86 ± 0,30	0,58 ± 0,08	8,65 ± 0,31	8,44 ± 0,31

^a Intervalo de confianza (95%)^b Valor medio ± desviación estándar (n=5)

II.2.5. Bibliografía

- [1] F. Aureli, S. Ciardullo, M. Pagano, A. Raggi, F. Cubadda, *Speciation of vanadium(IV) and (V) in mineral water by anion exchange liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry after EDTA complexation*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2008, 23, 1009-1016. doi: 10.1039/b805234b.
- [2] I.E. León, A.L. Di Virgilio, V. Porro, C.I. Muglia, L.G. Naso, P.A.M. Williams, M. Bollati-Fogolin, S.B. Etcheverry, *Antitumor properties of a vanadyl(IV) complex with the flavonoid chrysin [VO(chrysin)2EtOH]2 in a human osteosarcoma model: the role of oxidative stress and apoptosis*, Dalton Transactions, 2013, 42, 11868-11880. doi: 10.1039/C3DT50524C.
- [3] D.C. Crans, J.J. Smee, E. Gaidamauskas, L. Yang, *The Chemistry and Biochemistry of Vanadium and the Biological Activities Exerted by Vanadium Compounds*, Chemical Reviews, 2004, 104, 849-902. doi: 10.1021/cr020607t.
- [4] Naeemullah, T.G. Kazi, M. Tuzen, *Magnetic stirrer induced dispersive ionic-liquid microextraction for the determination of vanadium in water and food samples prior to graphite furnace atomic absorption spectrometry*, Food Chemistry, 2015, 172, 161-165. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.09.053.
- [5] D. Wang, S.A. Sañudo Wilhelmy, *Vanadium speciation and cycling in coastal waters*, Marine Chemistry, 2009, 117, 52-58. doi: 10.1016/j.marchem.2009.06.001.
- [6] D. Rehder, *Perspectives for vanadium in health issues*, Future Medicinal Chemistry, 2016, 8, 325-338. doi: 10.4155/fmc.15.187.

- [7] J. Yang, Y. Teng, J. Wu, H. Chen, G. Wang, L. Song, W. Yue, R. Zuo, Y. Zhai, *Current status and associated human health risk of vanadium in soil in China*, Chemosphere, 2017, 171, 635-643. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.058.
- [8] V.A. Ehrlich, A.K. Nersesyan, C. Hoelzi, F. Ferk, J. Bichler, E. Valic, A. Schaffer, R. Schulte-Hermann, M. Fenech, K.H. Wagner, S. Knasmüller, *Inhalative Exposure to Vanadium Pentoxide Causes DNA Damage in Workers: Results of a Multiple End Point Study*, Environmental Health Perspectives, 2008, 116, 1689-1693. doi: 10.1289/ehp.11438.
- [9] K. De Cremer, Speciation of Vanadium, Handbook of Elemental Speciation II – Species in the Environment, Food, Medicine and Occupational Health, John Wiley & Sons, Ltd 2005, pp. 464-487. doi: 10.1002/0470856009.ch2u.
- [10] Z.L. Chen, G. Owens, *Trends in speciation analysis of vanadium in environmental samples and biological fluids—A review*, Analytica Chimica Acta, 2008, 607, 1-14. doi: 10.1016/j.aca.2007.11.013.
- [11] D.C. Crans, K.A. Woll, K. Prusinskas, M.D. Johnson, E. Norkus, *Metal Speciation in Health and Medicine Represented by Iron and Vanadium*, Inorganic Chemistry, 2013, 52, 12262-12275. doi: 10.1021/ic4007873.
- [12] K. Pyrzynska, *Selected problems in speciation analysis of vanadium in water samples*, Chemia Analityczna, 2006, 51, 339-350.
- [13] K. Pyrzyńska, T. Wierzbicki, *Determination of vanadium species in environmental samples*, Talanta, 2004, 64, 823-829. doi: 10.1016/j.talanta.2004.05.007.
- [14] G.R. Willsky, E.S. Takeuchi, A.S. Tracey, Vanadate Speciation, Vanadium, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2007, pp. 7-30. doi:10.1201/9781420046144.ch2.
- [15] M.D.A. Korn, D.S.S. dos Santos, B. Welz, M.G.R. Vale, A.P. Teixeira, D.D. Lima, S.L.C. Ferreira, *Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels - A review*, Talanta, 2007, 73, 1-11. doi: 10.1016/j.talanta.2007.03.036.
- [16] M. Hu, P.P. Coetzee, *Method for vanadium speciation in aqueous samples by HPLC-ICP-OES*, South African Journal of Chemistry-Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Chemie, 2007, 60, 113-117.
- [17] M. Takaya, K. Sawatari, *Speciation of vanadium(IV) and vanadium(V) using ion-exchange chromatography and ICP-AES*, Ind Health, 1994, 32, 165-78.
- [18] H. Debeer, P.P. Coetzee, *Vanadium speciation by ion chromatography*, Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 1994, 348, 806-809.
- [19] M. Hu, P.P. Coetzee, *Vanadium speciation by chromatographic separation of V(IV) and V(V) in acidic solution followed by ICP-OES determination*, Water Sa, 2007, 33, 291-296.
- [20] E. Ghasemi, M. Kaykhaii, *Developing a New Micro Cloud Point Extraction Method for Simultaneous Preconcentration and Spectrophotometric Determination of Uranium and Vanadium in Brine*, Analytical Sciences, 2015, 31, 407-411.

- [21] Naeemullah, M. Tuzen, T.G. Kazi, D. Citak, M. Soylak, *Pressure-assisted ionic liquid dispersive microextraction of vanadium coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2013, 28, 1441-1445. doi: 10.1039/c3ja50174d.
- [22] M. Zeeb, B. Mirza, R. Zare-Dorabei, H. Farahani, *Ionic Liquid-based Ultrasound-Assisted In Situ Solvent Formation Microextraction Combined with Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry as a Practical Method for Preconcentration and Trace Determination of Vanadium in Water and Food Samples*, Food Analytical Methods, 2014, 7, 1783-1790. doi: 10.1007/s12161-014-9820-z.
- [23] P. Berton, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, *Development of an on-line temperature-assisted ionic liquid dispersive microextraction system for sensitive determination of vanadium in environmental and biological samples*, Journal of Hazardous Materials, 2010, 176, 721-728. doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.11.094.
- [24] A.M.D. de Jesus, M. Angel Aguirre, M. Hidalgo, A. Canals, E.R. Pereira-Filho, *The determination of V and Mo by dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) combined with laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2014, 29, 1813-1818. doi: 10.1039/c4ja00151f.
- [25] T. Asadollahi, S. Dadfarnia, A.M.H. Shabani, *Separation/preconcentration and determination of vanadium with dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop (DLLME-SFO) and electrothermal atomic absorption spectrometry*, Talanta, 2010, 82, 208-212. doi: 10.1016/j.talanta.2010.04.020.
- [26] S. Dadfarnia, A.M.H. Shabani, A. Mirshamsi, *Solidified floating organic drop microextraction and spectrophotometric determination of vanadium in water samples*, Turkish Journal of Chemistry, 2011, 35, 625-636. doi: 10.3906/kim-1101-12.
- [27] A.P. Santos, V.A. Lemos, *Determination of Vanadium Levels in Seafood Using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Optical Sensors*, Water Air and Soil Pollution, 2015, 226. doi: 10.1007/s11270-015-2334-5.
- [28] M. Uslu, H. Uluturk, A. Yartasi, S. Doker, *A sensitive method for selective determination of vanadium species by dispersive liquid- liquid microextraction (DLLME) with spectrophotometric detection*, Toxicological and Environmental Chemistry, 2013, 95, 1638-1649. doi: 10.1080/02772248.2014.896920.
- [29] O.Z. Pekiner, Naeemullah, M. Tuzen, *Preconcentration and speciation of vanadium by three phases liquid-liquid microextraction prior to electrothermal atomic absorption spectrometry*, Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2014, 20, 1825-1829. doi: 10.1016/j.jiec.2013.08.037.
- [30] P. Berton, E.M. Martinis, L.D. Martinez, R.G. Wuilloud, *Room temperature ionic liquid-based microextraction for vanadium species separation and determination in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry*, Analytica Chimica Acta, 2009, 640, 40-46. doi: 10.1016/j.aca.2009.03.028.
- [31] L. Li, B. Hu, *Hollow-fibre liquid phase microextraction for separation and preconcentration of vanadium species in natural waters and their determination by*

- electrothermal vaporization-ICP-OES*, *Talanta*, 2007, 72, 472-479. doi: 10.1016/j.talanta.2006.11.005.
- [32] W.A.W. Ibrahim, H.R. Nodeh, M.M. Sanagi, *Graphene-Based Materials as Solid Phase Extraction Sorbent for Trace Metal Ions, Organic Compounds, and Biological Sample Preparation*, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2016, 46, 267-283. doi: 10.1080/10408347.2015.1034354.
- [33] C. Huang, B. Hu, *Synthesis and characterization of titania hollow fiber and its application to the microextraction of trace metals*, *Analyst*, 2011, 136, 1425-1432. doi: 10.1039/c0an00660b.
- [34] Y. Wu, B. Hu, W. Hu, Z. Jiang, B. Li, *A novel capillary microextraction on ordered mesoporous titania coating combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry for the determination of V, Cr and Cu in environmental and biological samples*, *Journal of Mass Spectrometry*, 2007, 42, 467-475. doi: 10.1002/jms.1179.
- [35] A. Dados, E. Papparizou, P. Eleftheriou, C. Papastephanou, C.D. Stalikas, *Nanometer-sized ceria-coated silica-iron oxide for the reagentless microextraction/preconcentration of heavy metals in environmental and biological samples followed by slurry introduction to ICP-OES*, *Talanta*, 2014, 121, 127-135. doi: 10.1016/j.talanta.2013.12.045.
- [36] F. Perreault, A.F. de Faria, M. Elimelech, *Environmental applications of graphene-based nanomaterials*, *Chemical Society Reviews*, 2015, 44, 5861-5896. doi: 10.1039/c5cs00021a.
- [37] K.J. Yang, B.L. Chen, X.Y. Zhu, B.S. Xing, *Aggregation, Adsorption, and Morphological Transformation of Graphene Oxide in Aqueous Solutions Containing Different Metal Cations*, *Environmental Science & Technology*, 2016, 50, 11066-11075. doi: 10.1021/acs.est.6b04235.
- [38] D. Deng, X. Jiang, L. Yang, X. Hou, C. Zheng, *Organic solvent-free cloud point extraction-like methodology using aggregation of graphene oxide*, *Analytical chemistry*, 2014, 86, 758-65. doi: 10.1021/ac403345s.
- [39] M. Ghazaghi, H.Z. Mousavi, A.M. Rashidi, H. Shir Khanloo, R. Rahighi, *Innovative separation and preconcentration technique of coagulating homogenous dispersive micro solid phase extraction exploiting graphene oxide nanosheets*, *Analytica Chimica Acta*, 2016, 902, 33-42. doi: 10.1016/j.aca.2015.11.011.
- [40] L. Wu, L. Liu, B. Gao, R. Munoz-Carpena, M. Zhang, H. Chen, Z. Zhou, H. Wang, *Aggregation Kinetics of Graphene Oxides in Aqueous Solutions: Experiments, Mechanisms, and Modeling*, *Langmuir*, 2013, 29, 15174-15181. doi: 10.1021/la404134x.
- [41] E. Kazemi, S. Dadfarnia, A.M. Haji Shabani, *Dispersive solid phase microextraction with magnetic graphene oxide as the sorbent for separation and preconcentration of ultra-trace amounts of gold ions*, *Talanta*, 2015, 141, 273-278. doi: 10.1016/j.talanta.2015.04.024.
- [42] H.R. Nodeh, W.A.W. Ibrahim, M.M. Sanagi, *Magnetic graphene oxide as adsorbent for the removal of lead(ii) from water samples*, *Jurnal Teknologi*, 2016, 78, 25-30.

- [43] L. Wu, L. Yu, X. Ding, P. Li, X. Dai, X. Chen, H. Zhou, Y. Bai, J. Ding, *Magnetic solid-phase extraction based on graphene oxide for the determination of lignans in sesame oil*, Food Chemistry, 2017, 217, 320-325. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.109.
- [44] R. Zhang, P. Su, Y. Yang, *Microwave-assisted preparation of magnetic nanoparticles modified with graphene oxide for the extraction and analysis of phenolic compounds*, Journal of Separation Science, 2014, 37, 3339-3346. doi: 10.1002/jssc.201400767.
- [45] E.K. Paleologos, D.L. Giokas, M.I. Karayannis, *Micelle-mediated separation and cloud-point extraction*, TrAC-Trends in Analytical Chemistry, 2005, 24, 426-436. doi: 10.1016/j.trac.2005.01.013.
- [46] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Cloud point extraction assisted by silver nanoparticles for the determination of traces of cadmium using electrothermal atomic absorption spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2015, 30, 375-380. doi: 10.1039/c4ja00468j.
- [47] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Speciation of silver nanoparticles and Ag(I) species using cloud point extraction followed by electrothermal atomic absorption spectrometry*, Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy, 2014, 101, 93-97. doi: 10.1016/j.sab.2014.07.017.
- [48] J. Wen, F. Liu, H. Cao, P. Ning, Y. Zhang, *Insights into the extraction of various vanadium species by primary amine*, Hydrometallurgy, 2017, 173, 57-62. doi: 10.1016/j.hydromet.2017.07.002.
- [49] J.-H. Huang, F. Huang, L. Evans, S. Glasauer, *Vanadium: Global (bio)geochemistry*, Chemical Geology, 2015, 417, 68-89. doi: 10.1016/j.chemgeo.2015.09.019.
- [50] M.M. Gudarzi, *Colloidal Stability of Graphene Oxide: Aggregation in Two Dimensions*, Langmuir, 2016, 32, 5058-5068. doi: 10.1021/acs.langmuir.6b01012.
- [51] X. Wang, B. Liu, Q. Lu, Q. Qu, *Graphene-based materials: Fabrication and application for adsorption in analytical chemistry*, Journal of Chromatography A, 2014, 1362, 1-15. doi: 10.1016/j.chroma.2014.08.023.
- [52] G. Zhao, X. Ren, X. Gao, X. Tan, J. Li, C. Chen, Y. Huang, X. Wang, *Removal of Pb(II) ions from aqueous solutions on few-layered graphene oxide nanosheets*, Dalton Transactions, 2011, 40, 10945-10952. doi: 10.1039/c1dt11005e.
- [53] Z. Li, F. Chen, L. Yuan, Y. Liu, Y. Zhao, Z. Chai, W. Shi, *Uranium(VI) adsorption on graphene oxide nanosheets from aqueous solutions*, Chemical Engineering Journal, 2012, 210, 539-546. doi: 10.1016/j.cej.2012.09.030.
- [54] L. Sigg, W. Stumm, *The interaction of anions and weak acids with the hydrous goethite (α -FeOOH) surface*, Colloids and Surfaces, 1981, 2, 101-117. doi: 10.1016/0166-6622(81)80001-7.
- [55] C.L. Peacock, D.M. Sherman, *Vanadium(V) adsorption onto goethite (α -FeOOH) at pH 1.5 to 12: a surface complexation model based on ab initio molecular geometries and EXAFS spectroscopy*, Geochimica et Cosmochimica Acta, 2004, 68, 1723-1733. doi: 10.1016/j.gca.2003.10.018.

- [56] B. Wehrli, W. Stumm, *Vanadyl in natural waters: Adsorption and hydrolysis promote oxygenation*, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1989, 53, 69-77. doi: 10.1016/0016-7037(89)90273-1.
- [57] R. Sitko, E. Turek, B. Zawisza, E. Malicka, E. Talik, J. Heimann, A. Gagor, B. Feist, R. Wrzalik, *Adsorption of divalent metal ions from aqueous solutions using graphene oxide*, *Dalton Transactions*, 2013, 42, 5682-5689. doi: 10.1039/c3dt33097d.
- [58] W. Wan, Z. Zhao, H. Hu, Y. Gogotsi, J. Qiu, *Highly controllable and green reduction of graphene oxide to flexible graphene film with high strength*, *Materials Research Bulletin*, 2013, 48, 4797-4803. doi: 10.1016/j.materresbull.2013.08.031.
- [59] I. López-García, M.J. Muñoz-Sandoval, M. Hernández-Córdoba, *Cloud point microextraction involving graphene oxide for the speciation of very low amounts of chromium in waters*, *Talanta*, 2017, 172, 8-14. doi: 10.1016/j.talanta.2017.05.017.
- [60] W. Peng, H. Li, Y. Liu, S. Song, *A review on heavy metal ions adsorption from water by graphene oxide and its composites*, *Journal of Molecular Liquids*, 2017, 230, 496-504. doi: 10.1016/j.molliq.2017.01.064.
- [61] J. Zhao, Z. Wang, J.C. White, B. Xing, *Graphene in the Aquatic Environment: Adsorption, Dispersion, Toxicity and Transformation*, *Environmental Science & Technology*, 2014, 48, 9995-10009. doi: 10.1021/es5022679.
- [62] Q. Liu, J. Shi, J. Sun, W. Thanh, L. Zeng, G. Jiang, *Graphene and Graphene Oxide Sheets Supported on Silica as Versatile and High-Performance Adsorbents for Solid-Phase Extraction*, *Angewandte Chemie, International Edition*, 2011, 50, 5913-5917. doi: 10.1002/anie.201007138.
- [63] G. Zhao, J. Li, X. Ren, C. Chen, X. Wang, *Few-Layered Graphene Oxide Nanosheets As Superior Sorbents for Heavy Metal Ion Pollution Management*, *Environmental Science & Technology*, 2011, 45, 10454-10462. doi: 10.1021/es203439v.
- [64] C.-J. Shih, S. Lin, R. Sharma, M.S. Strano, D. Blankschtein, *Understanding the pH-Dependent Behavior of Graphene Oxide Aqueous Solutions: A Comparative Experimental and Molecular Dynamics Simulation Study*, *Langmuir*, 2012, 28, 235-241. doi: 10.1021/la203607w.
- [65] Y. Wang, Q. He, H. Qu, X. Zhang, J. Guo, J. Zhu, G. Zhao, H.A. Colorado, J. Yu, L. Sun, S. Bhana, M.A. Khan, X. Huang, D.P. Young, H. Wang, X. Wang, S. Wei, Z. Guo, *Magnetic graphene oxide nanocomposites: nanoparticles growth mechanism and property analysis*, *Journal of Materials Chemistry C*, 2014, 2, 9478-9488. doi: 10.1039/c4tc01351d.
- [66] Y. Zou, X. Wang, Y. Ai, Y. Liu, J. Li, Y. Ji, X. Wang, *Coagulation Behavior of Graphene Oxide on Nanocrystallined Mg/Al Layered Double Hydroxides: Batch Experimental and Theoretical Calculation Study*, *Environmental Science & Technology*, 2016, 50, 3658-3667. doi: 10.1021/acs.est.6b00255.
- [67] Y. Zou, X. Wang, Z. Chen, W. Yao, Y. Ai, Y. Liu, T. Hayat, A. Alsaedi, N.S. Alharbi, X. Wang, *Superior coagulation of graphene oxides on nanoscale layered double hydroxides and layered double oxides*, *Environmental Pollution*, 2016, 219, 107-117. doi: 10.1016/j.envpol.2016.10.052.

- [68] H. Wang, Y.H. Hu, *Electrolyte-induced precipitation of graphene oxide in its aqueous solution*, Journal of Colloid and Interface Science, 2013, 391, 21-27. doi: 10.1016/j.jcis.2012.09.056.
- [69] J.H. Clint, *Micelle formation, Surfactant Aggregation*, Springer Dordrecht1992. doi: 10.1007/978-94-011-2272-6_5.
- [70] K. Szymczyk, A. Taraba, *Aggregation behavior of Triton X-114 and Tween 80 at various temperatures and concentrations studied by density and viscosity measurements*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2016, 126, 315-326. doi: 10.1007/s10973-016-5631-3.
- [71] H.-N. Xu, S.-F. Ma, *Effect of Temperature on Viscosity of Aqueous Triton X-114 Solution*, J. Chem. Eng. Data, 2011, 56, 2677-2679. doi: 10.1021/je100775e.
- [72] B. Ambrozini, V.R.A. Filho, S.R. Oliveira, L.V.S. Sacramento, J.A. Gomes Neto, *Evaluation of modifiers for determination of V in parsley by GF AAS*, Food Chemistry, 2009, 116, 1024-1028. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.03.057.
- [73] I. López-García, P. Viñas, R. Romero-Romero, M. Hernández-Córdoba, *Ion-exchange preconcentration and determination of vanadium in milk samples by electrothermal atomic absorption spectrometry*, Talanta, 2009, 78, 1458-1463. doi: 10.1016/j.talanta.2009.02.045.
- [74] L. Macháčková, M. Žemberyová, *The selection of a chemical modifier for vanadium determination in various types of natural waters by electrothermal atomic absorption spectrometry*, International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2012, 92, 405-416. doi: 10.1080/03067319.2011.603076.

Empleo de microcelulosa cristalina como material adsorbente acoplada a la microextracción en punto de nube para la especiación y determinación de cromo utilizando ETAAS como sistema de detección

CAPÍTULO III

III. MICROEXTRACCIÓN DISPERSIVA EN FASE SÓLIDA PARA LA ESPECIACIÓN DE Cr EN AGUAS USANDO CELULOSA CRISTALINA Y SU DETERMINACIÓN POR ETAAS

Contenido

III.1. Introducción	125
III.2. Parte experimental	130
III.2.1. Instrumentación	130
III.2.2. Reactivos y muestras	131
III.2.3. Procedimiento para la determinación de cromo (III)	132
III.2.4. Procedimiento para la determinación de cromo total	133
III.3. Resultados y discusión	133
III.3.1. Efecto del pH.....	135
III.3.2. Efecto de la concentración de celulosa microcristalina	136
III.3.3. Efecto de la presencia de electrolitos en la capacidad de retención	138
III.3.4. Optimización del proceso de extracción en punto de nube.....	141
III.3.5. Retroextracción del cromo (III) retenido en la fase condensada y MCC.....	142
III.3.6. Especiación de cromo (III) y cromo (VI)	143
III.3.7. Optimización del programa de calentamiento	144
III.3.8. Calibración	146
III.3.9. Determinación de cromo (III) y cromo (VI) en muestras de agua	147
III.4. Conclusiones	147
III.5. Bibliografía	151

III.1. Introducción

La celulosa es un biopolímero natural renovable ubicuo en el planeta Tierra. Está considerado como uno de los compuestos orgánicos más importantes producidos en la biosfera [1]. Es sintetizado por un gran número de organismos vivos que van desde las plantas inferiores a las superiores, animales marinos, bacterias y hongos [2]. La celulosa es un polímero de carbohidrato lineal con cadenas largas formadas por la repetición de D-anhidro-glucopiranosas unidas por enlace β -(1 \rightarrow 4) como se puede apreciar en la Figura III.1B [1]. Como la celulosa está compuesta de monómeros de azúcar es un polisacárido. Las unidades se enlazan combinando el H de un grupo y el OH del otro con la eliminación de agua. La unión de estos dos monómeros produce un disacárido llamado celobiosa (Figura III.1A).

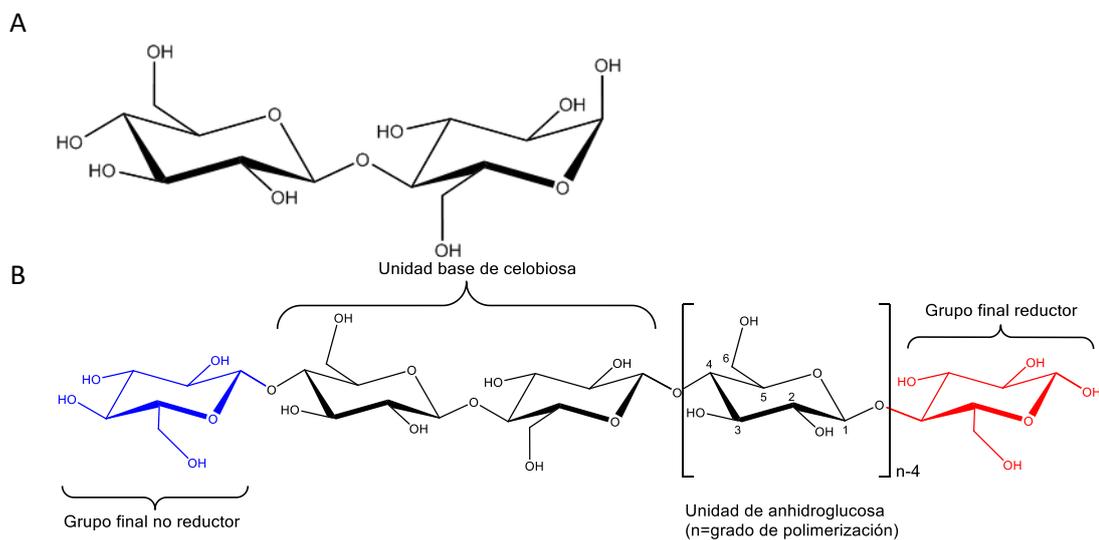


Figura III.1: Estructura de la celobiosa (A) y su combinación para generar celulosa (B).

Las unidades de glucosa son anillos de seis eslabones que se denominan piranosas. Se unen a través de un átomo de oxígeno (unión acetal) entre un carbono 1 de una piranosa y el carbono 4 de otra. Como se pierde una molécula de agua, debido a la reacción de un alcohol y un hemiacetal para formar acetal, a las unidades de glucosa en el polímero de la celulosa, se les denomina unidades de anhidroglucosa [3]. El tamaño de las moléculas de celulosa se representa normalmente a partir del grado de polimerización. Éste hace referencia al número de unidades de anhidroglucosa por cadena de celulosa. Así, en el caso del algodón la celulosa presenta un grado de polimerización en torno a 15000, mientras que en su forma microcristalina apenas se acerca a 100. La presencia de grupos hidroxilo permite la formación de puentes de hidrógeno que juegan un papel importante en las propiedades fisicoquímicas de la celulosa. Las cadenas de celulosa (20-300) se agrupan para generar micro-fibrillas, que a su vez se agrupan para formar

fibras de celulosa. Cada cadena polimérica es asimétrica y posee dos unidades finales diferentes: una reductora y otra no reductora. El extremo reductor tiene funcionalidad carbonilo, mientras que el extremo no reductor presenta un grupo hidroxilo. Los enlaces de hidrógeno dentro de una cadena de celulosa dificultan la rotación libre de los anillos a lo largo de sus enlaces glicosídicos enlazados, dando como resultado el endurecimiento de la cadena (Figura III.2). Son precisamente estos enlaces de hidrógeno, junto con las interacciones de van der Waals, los responsables de la existencia de regiones ordenadas (cristalinas) y desordenadas (amorfias) en la estructura de la celulosa (Figura III.3).

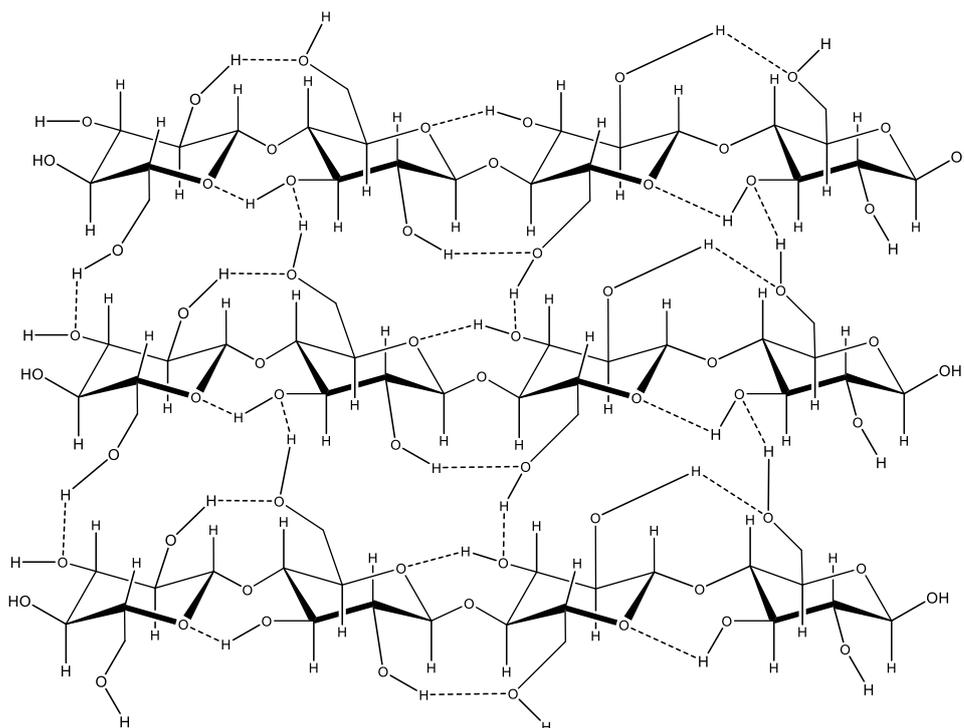


Figura III.2: Enlaces por puente de hidrógeno entre cadenas de celulosa que permite la formación de fibras.

El porcentaje y tamaño de las áreas cristalinas depende del origen de la celulosa. El tratamiento con ácido induce la hidrólisis selectiva de las zonas amorfas de la celulosa liberando estructuras micro y nano cristalinas. La microcelulosa cristalina (MCC) obtenida por este tratamiento puede secarse y se presenta como un polvo fino y puro que tiene innumerables aplicaciones en farmacia, cosmética, alimentación, industria de los polímeros y biotecnología. Los productos comerciales más habituales son Avicel®, Heweten®, Microcel®, Nilyn® y Novagel®. Comercialmente se obtiene a partir del tratamiento de biomásas con hidróxido sódico para eliminar otros constituyentes seguido de hidrólisis ácida. El grado de polimerización de la

celulosa decrece con el tiempo de hidrólisis hasta alcanzar un valor casi constante entre 25 y 300. Cuando se utiliza ácido sulfúrico para la hidrólisis se introducen fracciones de semiéster de sulfato (0,5-2 %) en los microcristales. La carga negativa que aportan estos grupos en disolución acuosa es la responsable de la estabilidad de las suspensiones de microcelulosa. Este efecto no se observa cuando la hidrólisis ácida se realiza con ácido clorhídrico. También se puede procesar la MCC como un polímero soluble en agua para originar suspensiones. En la forma coloidal, la MCC se utiliza como un estabilizador de suspensiones, humectante, regulador de viscosidad y emulsionante en diferentes pastas y cremas [1].

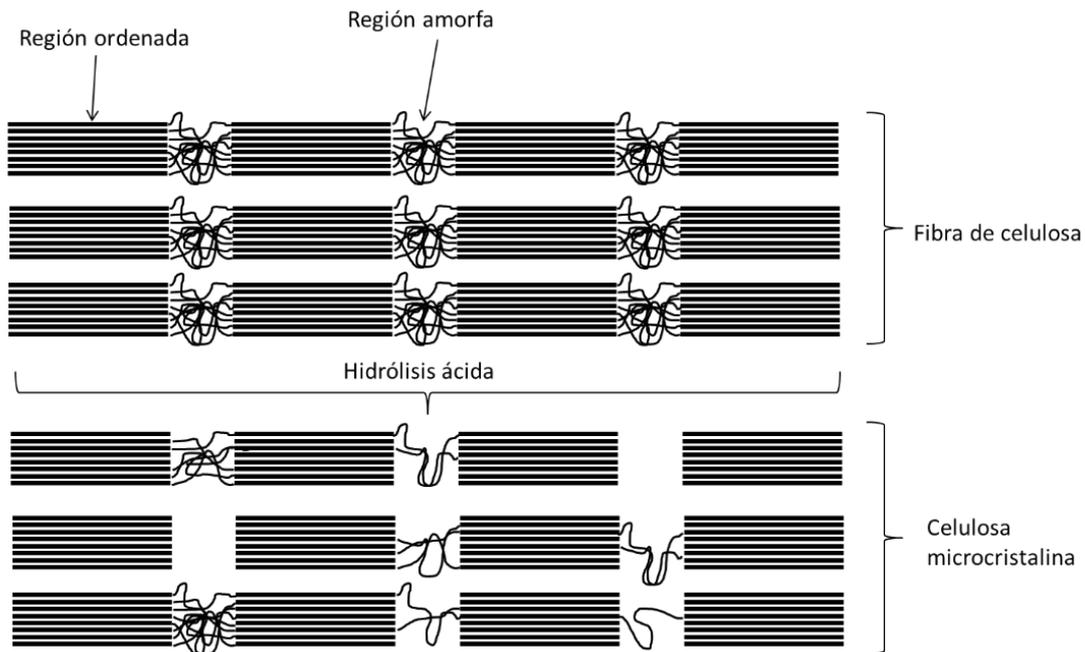


Figura III.3: Detalle de la estructura cristalina y amorfa de la celulosa y el proceso de hidrólisis.

Desde el punto de vista de su aplicación en Química Analítica como material adsorbente podemos decir que su reactividad se debe fundamentalmente a la presencia de tres grupos hidroxilo por unidad de anhidroglucosa. Contiene un grupo metilo en el C6 y dos grupos hidroxilos en C3 y C4. Debido a la ausencia de cadenas laterales o ramificaciones, las cadenas de celulosa pueden, como ya hemos comentado, existir en una estructura ordenada, semicristalina y conteniendo fases cristalinas y amorfas. La presencia de los grupos hidroxilo con características hidrófilas no la hace soluble en agua y en disolventes comunes debido a fuertes enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals entre las cadenas de celulosa. Esta celulosa no modificada tiene una baja capacidad de adsorción, así como la posibilidad de degradación. La modificación de la celulosa se ha usado para mejorar y/o conseguir ciertas propiedades como hidrofilia, hidrofobicidad, resistencia al ataque microbiano, adsorción o capacidad de intercambio de iones, etc. [4]. Todas las modificaciones se basan en la derivatización de estos grupos hidroxilo

[5]. El grupo activo en la posición C6 en el monómero de celulosa tiene la capacidad de reaccionar con grupos adecuados de ligandos orgánicos.

Los métodos de modificación se pueden dividir en dos categorías principales [4]. En una primera englobamos todos aquellos que insertan un monómero en la celulosa posibilitando la incorporación de grupos funcionales que sustituyen a los grupos hidroxilo [6, 7]. La Figura III.4 muestra algunos grupos funcionales que se han insertado en celulosa incrementando sus propiedades de adsorción para la eliminación de contaminantes en aguas.

En la segunda categoría se aborda la modificación química directa, mediante la cual los grupos funcionales se unen a los grupos hidroxilo de la estructura empleando ácidos o bases minerales u orgánicas, agentes oxidantes, compuestos orgánicos, etc. [8]. En este sentido se han acoplado reacciones de esterificación, halogenación, oxidación, eterificación, carboxilación y silinación. La Tabla III.1 muestra algunos métodos de modificación de celulosa propuestos [9].

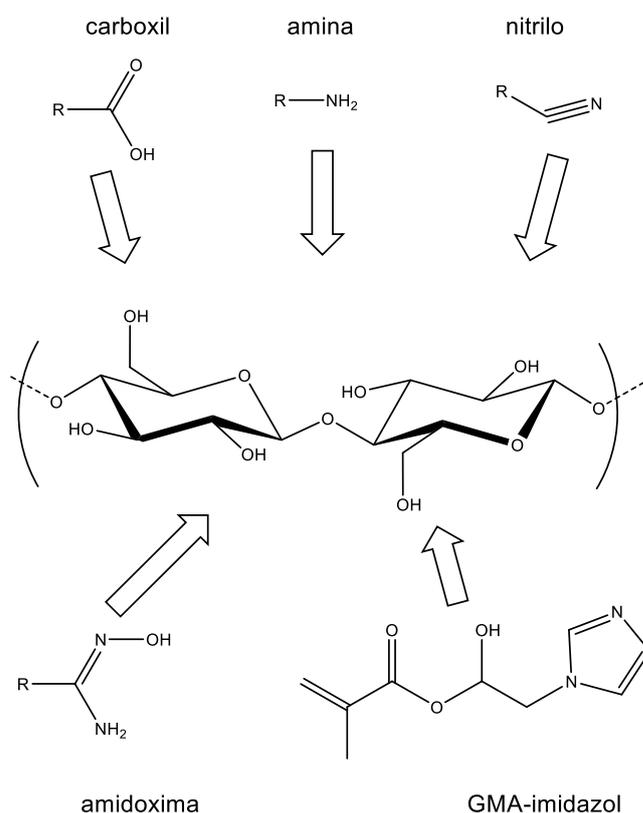
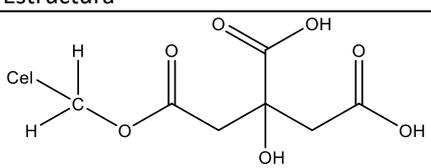
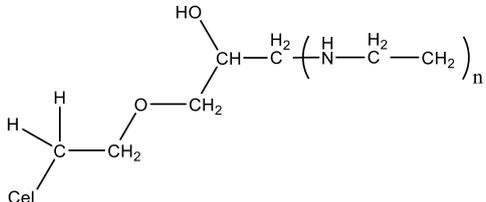
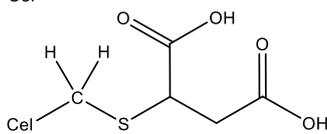
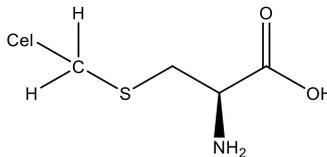
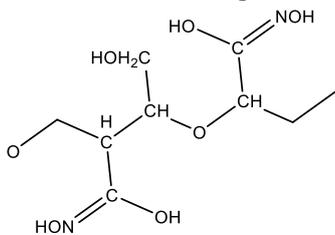


Figura III.4: Algunos de los grupos funcionales que se han insertado dentro de la cadena de celulosa para conseguir mayor selectividad.

Tabla III.1: Modificación de la celulosa con distintos reactivos químicos.			
Modificación	Reactivo modificante	Estructura	Adsorción
Esterificación	Ácido cítrico		Cu (II), Pb (II)
	Polietilenimina		Hg (II)
Halogenación	Ácido mercaptobutanodioico		Cu (II), Pb (II), Ni (II)
	Cisteína		Cu (II), Pb (II), Ni (II)
Oxidación	Ácido hidroxámico + metaperiodato sódico		Cu (II)

Todos estos procesos de modificación de la celulosa se realizan con el fin de conseguir un adsorbente eficaz para distintos analitos [9-11]. Si bien es cierto que la capacidad de la celulosa para retener iones metálicos es conocida desde hace tiempo [12, 13], la incorporación de grupos funcionales aumenta su especificidad. Así por ejemplo, utilizando nitrato de cerio y amonio como iniciador, se ha insertado glicidil metacrilato y, posteriormente, se ha derivatizado con oligosacáridos cíclicos y grupos amonio cuaternarios para generar un soporte que adsorbe Cr (VI) de disoluciones acuosas [14]. Alternativamente, la derivatización con etilendiamina [15] y cisteína [16] también permite la retención de Cr (VI) a pH ligeramente ácido. La inserción de dibenzo-18-corona 6 en la celulosa permite obtener un material compuesto muy adsorbente para metales [17].

Dejando aparte el empleo de la celulosa como film o filtro para la adsorción de especies, la formación de materiales compuestos combinando celulosa con partículas magnéticas e hidrotalcita ($Mg_6Al_2(OH)_{16}CO_3 \cdot xH_2O$) permite aumentar mucho la capacidad de adsorción [18], al tiempo que disminuye la tendencia a la agregación de las nanopartículas magnéticas [19]. En

este sentido también se ha utilizado para la formación de materiales compuestos con óxido de grafeno [20, 21], óxido de titanio [22] y óxido de circonio [22].

Aprovechando la solubilidad en líquidos iónicos [23], ha sido propuesta para la adsorción en una gota simple [24] de una amina heterocíclica y compuestos fenólicos [25].

Sin embargo, son muy pocos los casos en los que la celulosa sin funcionalizar se ha utilizado como adsorbente en técnicas de microextracción para la preconcentración de analitos con fines de determinación cuantitativa. Los procedimientos propuestos recurren a alguna modificación de la celulosa. En este sentido, y puesto que la celulosa se ha mostrado como un adsorbente eficaz de diversas nanopartículas metálicas [26] se ha propuesto su empleo a tamaño nanométrico hidrolizada con ácido sulfúrico, lo que permite su funcionalización con grupos sulfonato, para la determinación de nanopartículas de plata en alimentos [27]. También se ha propuesto la celulosa recubierta de hidróxido de lantano para la extracción en fase sólida y especiación de selenio en aguas [28], se ha determinado cadmio en suelos [29] previa funcionalización con 5,7-dibromoquinolina-8-ol y plomo en aguas funcionalizando con ácido aminocarboxílico [30] o ácido tioglicólico [31].

En la revisión bibliográfica realizada no se ha encontrado ninguna referencia al empleo de la celulosa microcristalina o nanométrica como soporte directo para el desarrollo de técnicas de microextracción dispersiva en fase sólida con fines analíticos cuantitativos. Por nuestra parte, abordamos aquí la determinación de Cr (VI), un serio contaminante en aguas, utilizando celulosa sin funcionalizar, pues entendimos en su momento que presentaba características muy favorables. La retención de esta especie en el soporte sólido finamente dividido permite su aislamiento de la disolución original al tiempo que conseguimos preconcentrarlo por posterior redisolución en un microvolumen adecuado. La determinación se realiza por aplicación de la espectrometría de absorción atómica de calentamiento electrotérmico. Esta técnica aúna la sensibilidad y selectividad necesarias para los bajos niveles de analito a determinar, al tiempo que resulta compatible con pequeños volúmenes de muestra.

III.2. Parte experimental

III.2.1. Instrumentación

Todas las medidas se han llevado a cabo con un espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo 800 (Waltham, MA), equipado con un atomizador de horno de grafito con calentamiento transversal, un dispositivo corrector de absorción de fondo con efecto Zeeman y

un automuestreador (modelo AS-800). Los tubos equipados con plataforma fueron de grafito pirolítico con plataforma de L'Vov y se obtuvieron del mismo fabricante. Como gas inerte se ha empleado argón, con una velocidad de flujo de 250 mL min⁻¹ en todas las etapas, excepto en la de atomización en la que el flujo se detuvo. Se ha utilizado una lámpara de cátodo hueco (Perkin Elmer) operando a 30 mA. Los parámetros instrumentales seleccionados se muestran en la Tabla III.2.

Para el tratamiento con ultrasonidos se utilizó un baño de ultrasonidos ATU modelo ATM 40-0.7LC (Valencia, España) de 50 W a 40 kHz. También se utilizó una centrífuga Hettich modelo EBA 200 (Tuttlingen, Alemania) equipada con un soporte para tubos cónicos de 15 mL, capaz de trabajar hasta 6000 rpm (3641 g). La homogeneización del coacervado tras la separación, se llevó a cabo con el accesorio vortex Heidolph modelo Reax (Alemania).

Tabla III.2: Parámetros instrumentales y programa de calentamiento.

Parámetros	Valor		
Corriente de lámpara, mA	30		
Longitud de onda, nm	318.4		
Ancho de banda espectral, nm	0.7		
Tipo de atomizador	Plataforma		
Volumen de muestra inyectada, µL	20		
Modificador químico inyectado, µL	10		
Modificador químico	Pd(NO ₃) ₂ , 500 mg L ⁻¹ de Pd(II)		
Volumen de muestra, mL	10		
Programa de calentamiento de horno			
Etapas	Temperatura, °C	Rampa, s	Mantenido, s
1: Secado	110	1	30
2: Secado	400	20	30
3: Calcinación	1200	10	30
4: Atomización	2600	0	4
5: Limpieza	2650	1	3

^a Etapa de lectura. Flujo de gas detenido.

III.2.2. Reactivos y muestras

Las muestras se prepararon con agua desionizada (resistividad 18 MΩ cm) purificada con un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). El material de vidrio y de plástico (polipropileno) se lavó con una disolución al 1 % (v/v) de ácido nítrico y se aclaró con agua desionizada antes de su uso.

Las disoluciones estándar de cromo (III) y (VI) (1000 mg mL⁻¹) fueron preparadas a partir de Cr(NO₃)₃·9H₂O y K₂Cr₂O₇ (Fluka, Buchs SG, Switzerland), respectivamente, en agua, y diluidas

diariamente para obtener las disoluciones de trabajo adecuadas. Ácido nítrico concentrado (65 %), peróxido de hidrógeno al 30 % (m/m), nitrato de paladio de 10 g L⁻¹ y Triton X-100 se obtuvieron de Sigma-Aldrich. La celulosa microcristalina (polvo de 20 µm) se obtuvo de Sigma-Aldrich. Se preparó una suspensión acuosa de 100 mg mL⁻¹ en nuestro laboratorio con la ayuda de ultrasonidos durante 30 minutos. El resto de los productos químicos utilizados se obtuvieron de Merck (Darmstadt, Alemania).

Se compraron dos muestras de agua embotellada en un supermercado próximo y se recolectó agua de grifo del suministro principal de la Universidad de Murcia. La muestra de agua de río se obtuvo del río Segura, Murcia (España). El agua de manantial corresponde a una muestra tomada en el manantial “La Murta”, Cieza, Murcia (España). Todas las muestras se filtraron y se mantuvieron en un recipiente de plástico a 4 °C hasta que se analizaron (menos de 48 horas).

Además, se utilizaron cinco materiales de referencia certificados de agua, NIST 1640a (elementos traza en agua natural), NASS-6 (agua de mar conteniendo trazas de elementos), TMRAIN-04 (agua simulada de lluvia), TM-23.4 (muestra fortificada con trazas de elementos) y TM-25.4 (agua fortificada a bajo nivel) cuyo certificado indica el contenido total de cromo y fueron obtenidas del National Institute of Standards and Technology, National Research Council Canada, Spectrapure Standards, European Reference Materials y Environment Canada (TM materials).

III.2.3. Procedimiento para la determinación de cromo (III)

Sobre una alícuota de 10 mL de muestra (llevada a pH neutro) en un tubo de centrifuga, se añaden 50 µL de una suspensión de MCC de 100 mg mL⁻¹ y se deja reposar durante 10 minutos. A continuación, se añaden 100 µL de NaCl 0,1 mol L⁻¹, 10 µL de azul Victoria 10⁻³ mol L⁻¹ y 100 µL de Triton X-100 al 10 % (m/m). El tubo se calienta a 80 °C en baño de agua durante 10 minutos y seguidamente se centrifuga a 5000 rpm durante 10 minutos. Se elimina el sobrenadante y se adicionan 100 µL de la mezcla peróxido de hidrógeno: etanol 1:1 (v/v). Se somete a un baño de ultrasonidos durante 5 minutos y se centrifuga 5 minutos a 5000 rpm. Se toma una alícuota del sobrenadante que se lleva al equipo de ETAAS para la cuantificación aplicando el programa de calentamiento propuesto en la Tabla III.2.

III.2.4. Procedimiento para la determinación de cromo total

Para reducir Cr(VI) a Cr(III) se toman 20 mL de muestra a la que se añaden 10 μL de Fe(II) 0,01 mol L⁻¹ y 190 μL de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹. Tras 10 minutos de contacto se neutraliza la disolución con NaOH al 2 % (m/v) y se lleva finalmente a 25 mL. Se toman 10 mL de esta disolución a la que se le aplica el procedimiento comentado previamente para la determinación de Cr(III). De esta forma se obtiene el contenido total de cromo. Por diferencia con el anterior se puede conocer el contenido de Cr (VI).

III.3. Resultados y discusión

La Figura III.5 muestra el estudio de tamaño de partícula realizado a suspensiones de la celulosa microcristalina (MCC) utilizada en este trabajo. Se observa que la mayoría de las partículas son de tamaño inferior a 100 nm aunque existe una pequeña fracción con tamaño superior, próximo a 500 nm que provoca una importante dispersión de la luz que se manifiesta claramente en el gráfico de intensidad. En un intento de conseguir tamaños menores se investigó la posibilidad de obtener nanopartículas de celulosa a partir de la MCC.

Por una parte se compró nanocelulosa comercializada por Blue Goose Biorefineries Inc (BGB) obtenida a partir de biomasa vegetal (bluegoosebiorefineries.com) y por otra se prepararon partículas de nanocelulosa mediante algunos de los procedimientos recogidos en la bibliografía [32].

Hemos utilizado celulosa microcristalina [33, 34] comercial para tratar de obtener nanocelulosa. De entre los distintos procedimientos que se pueden aplicar, los más habituales son la hidrólisis ácida [35-39] y la hidrólisis alcalina [40]. Por nuestra parte intentamos la obtención de nanopartículas de celulosa a partir de MCC comercial por tratamiento de hidrólisis ácida con [41] y sin homogeneizador de alta presión [42] y por hidrólisis alcalina [40]. En los tres casos el producto obtenido no mejoró la retención de Cr(III) observada con MCC. En efecto, si bien el estudio de tamaño de partícula reveló una notable reducción de tamaño, la importante retención de Cr(III) que se había observado utilizando MCC no se apreciaba en la misma extensión.

Los potenciales zeta aparentes obtenidos para las tres muestras de nanocelulosa sintetizadas fueron $-46 \pm 0,5$ mV para la hidrólisis ácida con H₂SO₄ con homogeneizador de alta presión, $-38 \pm 0,2$ mV para la hidrólisis ácida con H₂SO₄ sin homogeneizador de alta presión y $-28,3 \pm 0,2$ mV para la hidrólisis alcalina. Estos potenciales se midieron en suspensiones al 0,1%

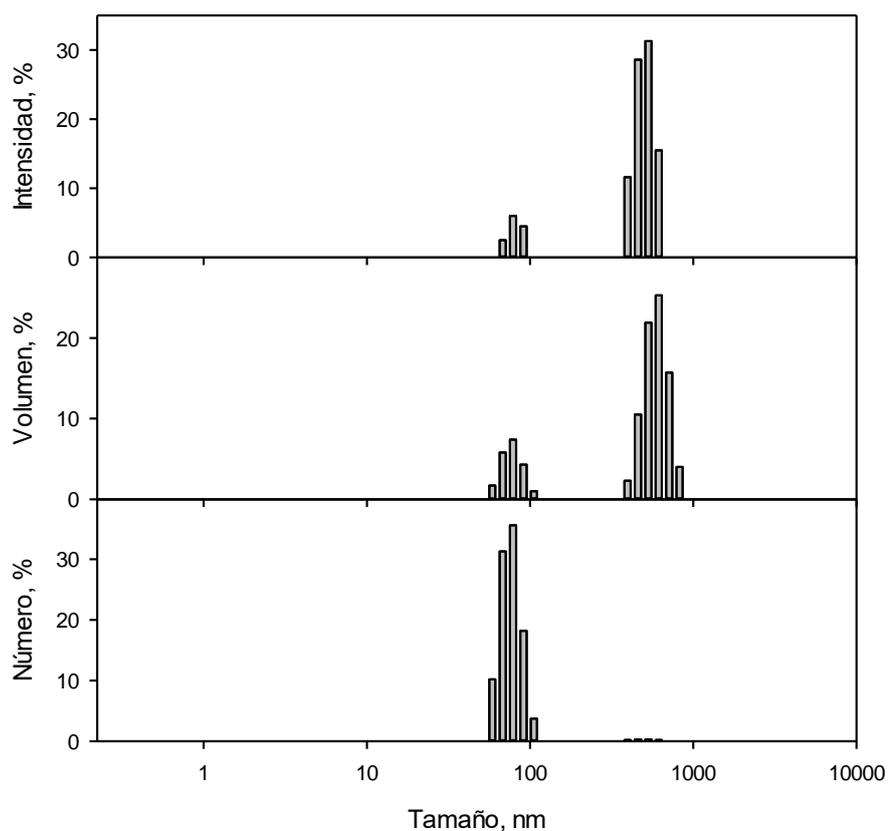


Figura III.5: Distribución de tamaño de partícula de la MCC utilizada.

en agua a pH neutro. Posiblemente debido a la funcionalización de la superficie de la celulosa con, por ejemplo, grupos sulfonato [27] la carga superficial negativa aumenta. En ausencia de reactivos, el potencial zeta es próximo a cero a pH inferior a 2, adquiriendo valores negativos cuando el pH aumenta. El potencial zeta recogido en la bibliografía [43] para la nanocelulosa obtenida por hidrólisis ácida con ácido sulfúrico es de -38.2 mV, mientras que la que contiene grupos carboxílicos es de -46.5 mV.

En el caso de la nanocelulosa comercial obtenida de la firma BGB, el procedimiento de síntesis no es dominio público y lo único declarado es que está basado en la “química verde con empleo de procesos de biorefinería y biocatalíticos (R3™)” pero el potencial zeta más negativo significa una superior carga negativa superficial, lo que dificulta la retención de especies negativas por la vía electrostática y, a la par las suspensiones de las nanopartículas se hacen más estables evitándose la agregación.

Cuando medimos el potencial zeta en suspensiones similares preparadas en nuestro laboratorio a partir de MCC comercial, se obtuvo un valor de -28.5 mV. Esto significa que los

iones cargados positivamente, probablemente se retienen en este material debido a esta notable carga negativa.

Como no conseguimos ventajas significativas con el empleo de las nanocelulosas ensayadas se decidió continuar con la MCC como adsorbente adecuado para la retención de Cr(III).

III.3.1. Efecto del pH

Dependiendo de su origen la MCC puede tener en su superficie grupos carboxílicos, sulfónicos, catecólicos, fenólicos o hidroxílicos. En ausencia de aditivos catiónicos el potencial zeta (o movilidad electroforética) es aproximadamente cero a pH menor que 2 y se hace más negativo al ir aumentando el pH. Generalmente, cuando el potencial zeta disminuye de -15 mV comienza el proceso de agregación, mientras que a potenciales zeta superiores a -30 mV (más negativos) aumenta la repulsión entre las partículas y la estabilidad coloidal [2]. Como ya hemos comentado la MCC utilizada en nuestro trabajo presentaban un potencial zeta de -28.5 mV que coincide bastante con el propio de celulosa conteniendo únicamente grupos hidroxilo.

En la Figura III.6 se muestra el diagrama de predominancia de las formas químicas de Cr(III) y Cr(VI) más habituales a los distintos valores de pH. Como puede apreciarse, por debajo de pH= 10 todas las formas de Cr(III) son catiónicas y susceptibles, por tanto, de atracción electrostática por la superficie de la MCC. Sin embargo, Cr(VI) se presenta en forma aniónica a cualquier pH y es de esperar la no existencia de atracción electrostática.

Se estudió la retención de Cr (III) y Cr (VI) en MCC a distintos valores de pH entre 3 y 10. Para ello se calculó el porcentaje de retención a partir de la medida de la señal de cromo en la fase acuosa antes y después de agitar con la MCC. Como parte de la MCC no sedimenta por centrifugación a 5000 rpm debido a su pequeño tamaño, el sobrenadante se microfiltró por 0,2 μm antes de la medida. La Figura III.7 muestra los resultados obtenidos. Como puede apreciarse, el Cr(VI) no se retiene en la MCC en todo el intervalo de pH estudiado, mientras que el Cr(III) presenta un máximo de retención entre 6,5 y 8,5. Antes y después de estos valores de pH la retención cae bruscamente. El pH adecuado de trabajo se ha seleccionado en 7 y se puede ajustar con el empleo de HCl y NaOH diluidos o con una disolución reguladora hidrogenocarbonato-carbonato diluida, por ejemplo, añadiendo 1 mL de reguladora 0,01 mol L^{-1} . Concentraciones superiores de reguladora no son aconsejables porque se produce una sustitución parcial de los grupos hidroxilo que rodean al Cr(III) por hidrogenocarbonato dificultando su adsorción.

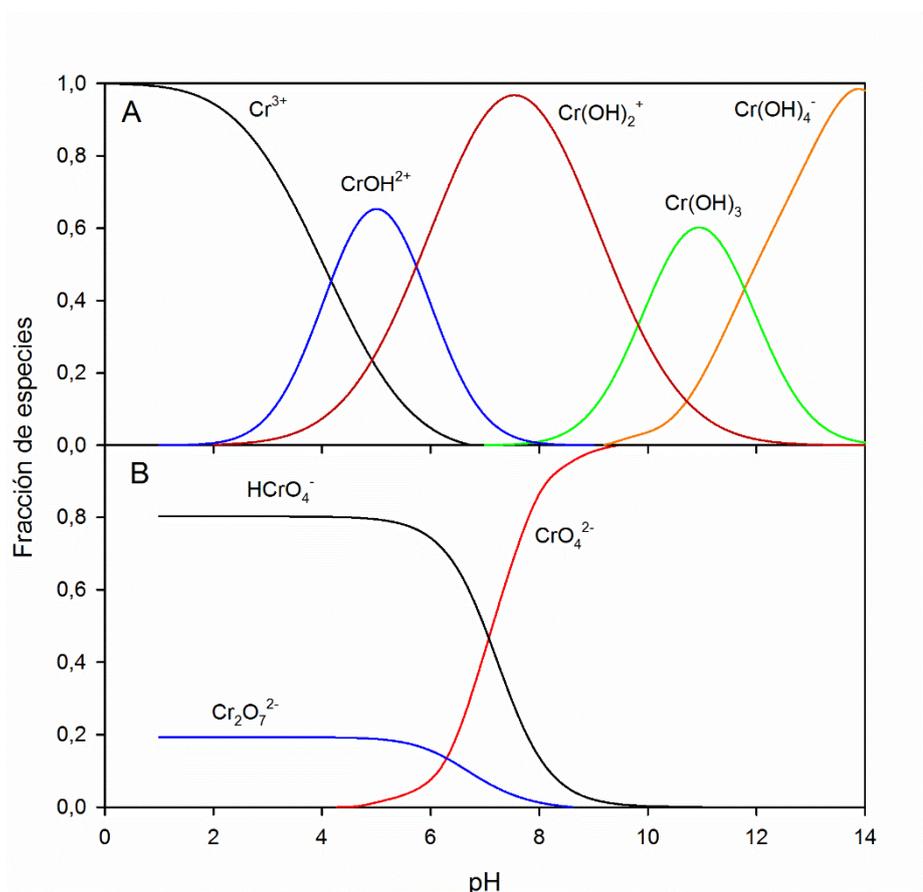


Figura III.6: Diagramas de predominancia de las formas químicas de Cr (III) y Cr (VI) en disolución acuosa. Adaptado de [44, 45].

III.3.2. Efecto de la concentración de celulosa microcristalina

La Figura III.8 muestra los resultados obtenidos al estudiar la cantidad de MCC que es necesaria para la completa retención de Cr (III). Este efecto se ha estudiado a concentraciones de 50 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr (III). Estos valores de concentración de Cr (III) son muy superiores a los que se determinaron por el procedimiento final propuesto, pero era necesario contemplar la posibilidad de que existan otras especies en la muestra que pudieran competir con Cr(III) en la adsorción sobre MCC. Como puede apreciarse en la Figura III.8, una cantidad de 2 mg es suficiente para conseguir la completa retención del analito. Sin embargo, se ha seleccionado como valor más adecuado la cantidad de 5 mg de MCC añadidos a 10 mL de muestra. En un intento de facilitar el empleo de la MCC se prepararon suspensiones de celulosa a distinta concentración de forma que el material adsorbente pueda ser añadido como un microvolumen de suspensión en vez de mediante pesada directa del sólido. En este caso resulta llamativo que fue necesario el empleo

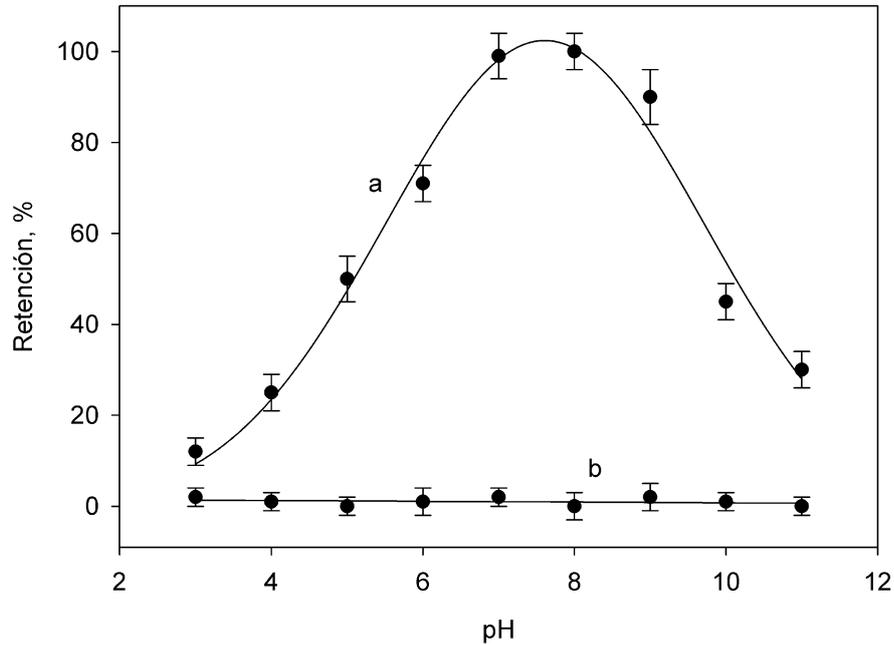


Figura III.7: Efecto del pH en la retención de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de las formas químicas de Cr(III) y Cr(VI) (curvas a y b, respectivamente) en MCC.

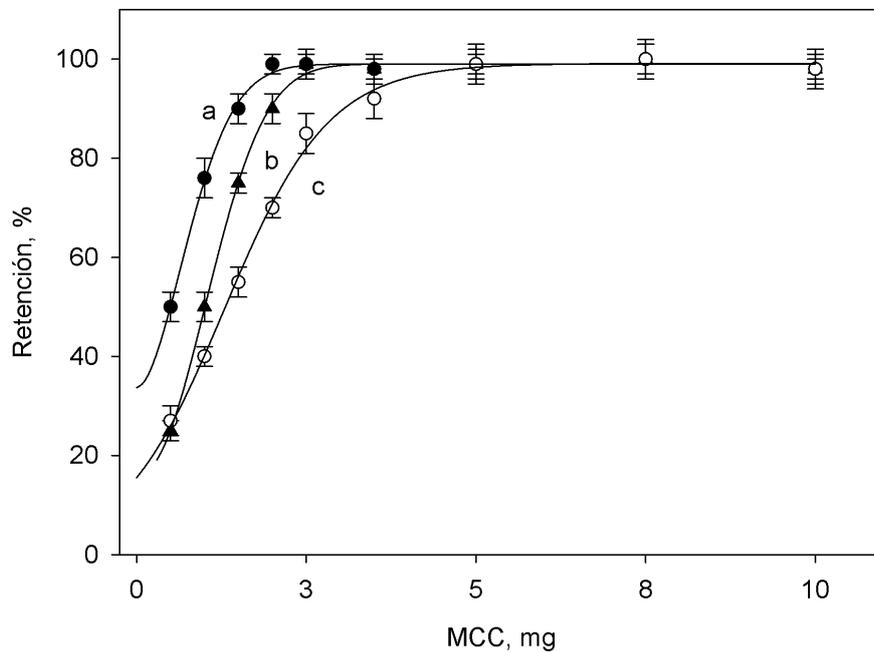


Figura III.8: Efecto de la cantidad de MCC añadida en la retención de 50 y $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (curvas a y b, respectivamente) de Cr(III). La curva c corresponde a cantidades de MCC equivalentes cuando se parte de una suspensión de MCC de 100 mg mL^{-1} .

de mayor cantidad de MCC que cuando el producto se añade sólido. Encontramos que la adición de $50 \mu\text{L}$ de suspensión de MCC de 100 mg mL^{-1} resultan adecuados para la retención de Cr(III).

Se estudió la influencia del tiempo de contacto entre las partículas de MCC y la disolución de Cr(III) de forma que se produjera la transferencia de fase. Los resultados indican que con tan solo 4 minutos de contacto la extracción es cuantitativa. El tiempo se contó a partir del momento de mezcla y tras 1 minuto de vortex para asegurar la homogénea distribución del sólido en la disolución. Tiempos de contacto superiores, hasta 30 minutos, no provocan alteración alguna en el proceso de adsorción.

III.3.3. Efecto de la presencia de electrolitos en la capacidad de retención

Todas las determinaciones realizadas hasta ahora lo han sido centrifugando la suspensión tras el proceso de adsorción y midiendo el contenido de cromo en la fase acuosa sobrenadante. Cuando se utilizó la suspensión de MCC preparada en presencia de disolución reguladora $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{pH} = 7$ (independientemente del tipo de reguladora) la capacidad de adsorción disminuyó hasta el 25 %. Esto también ocurre si la muestra acuosa conteniendo cromo contiene además un electrolito que aumente la fuerza iónica. En efecto, encontramos descensos similares en la capacidad de retención cuando la concentración salina superaba el valor de $0,001 \text{ mol L}^{-1}$. Este efecto desaparece si el pH de trabajo aumenta hasta 11-12 como se muestra en la Figura III.9. A este valor de pH es de prever que el Cr(III) se encuentre como $\text{Cr}(\text{OH})_3$ o cargado como $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$.

Además, a este pH, si se recurre a la aplicación de la metodología de punto de nube para recoger la MCC en la fase condensada utilizando tensioactivos no iónicos (Triton X-100 o Triton X-114), y se mide el contenido de cromo en la fase acuosa, se comprueba que la retención es completa. Para explicar este hecho experimental se recurrió a realizar un estudio de tamaño de partícula y potencial zeta de las partículas.

La presencia de electrolitos, incluso a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, provoca importantes cambios en la distribución de tamaño de partícula como se puede apreciar en la Figura III.10 que afectan a la adsorción de Cr(III). Como puede apreciarse, en presencia de electrolito el tamaño medio de partícula aumenta mucho (curva b), y aún más si se lleva el pH de la disolución hasta 12 (curva c). La adición de Triton X-100 a la disolución conteniendo MCC y electrolitos provoca una reducción significativa en el tamaño de partícula (curva d). Estos cambios de tamaño promedio no justifican los efectos comentados.

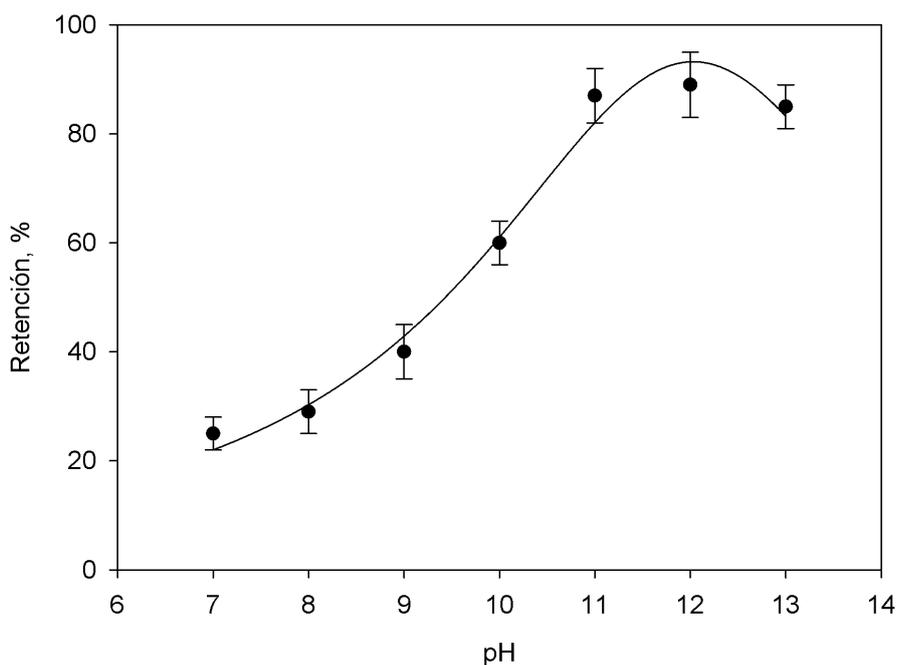


Figura III.9: Efecto del pH en la retención de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) en presencia de NaCl 0,01 M.

Sin embargo, al estudiar el potencial zeta en distintas condiciones experimentales (Figura III.11) se encontró que la presencia de electrolitos provoca un cambio importante del potencial zeta de las partículas de MCC haciéndose positivo (Figura III.11B, curva a), lo que justifica la no retención. Al llevar hasta $\text{pH}= 12$, el potencial zeta de nuevo vuelve hacia potenciales negativos (Figura III.11B, curva b) de forma que de nuevo es posible la interacción electrostática con Cr(III). La adición de Triton X-100 a una suspensión conteniendo electrolitos a $\text{pH}= 7$ presenta también un potencial zeta negativo, de forma que se habilita la retención de cromo (Figura III.11C).

Por tanto, vemos que los fenómenos de agregación y los cambios en el potencial zeta de la MCC como consecuencia de la presencia de electrolitos, se minimizan si en el medio existe un tensioactivo como Triton X-100. Además, si el tensioactivo se añade en concentración superior a la micelar crítica y se calienta por encima de la temperatura micelar crítica, se produce una fase condensada que retiene de forma más eficaz a las partículas de MCC que por simple centrifugación, y ésta fue la vía finalmente adoptada.

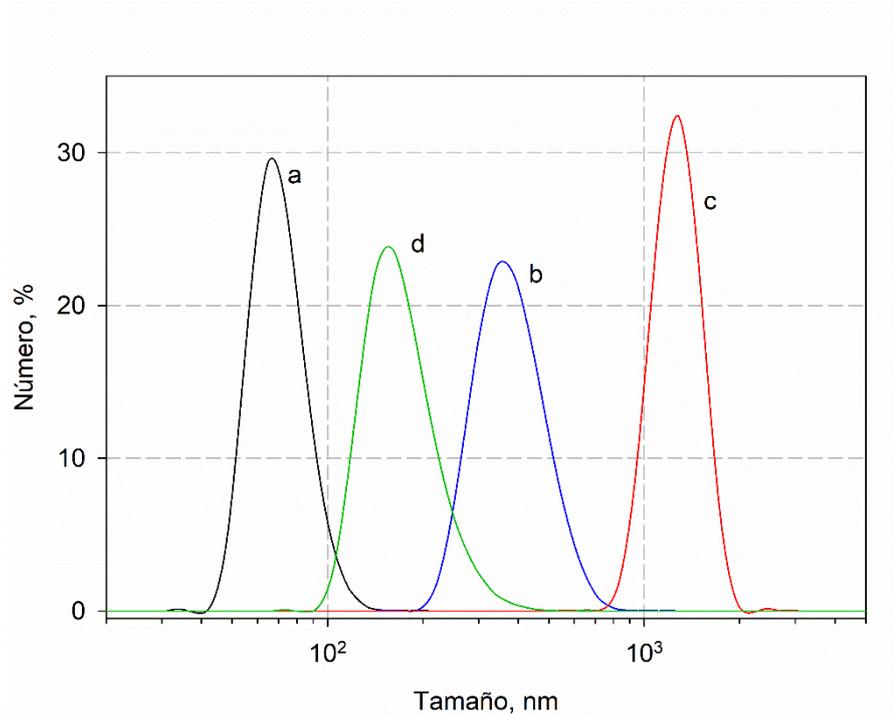


Figura III.10: Efecto de la composición del medio en la distribución de tamaño de partícula obtenida para la MCC estudiada. La curva a corresponde a una suspensión de $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ de MCC en agua, las curvas b y c corresponden a una suspensión de igual concentración en presencia de NaCl $0,005 \text{ M}$ a $\text{pH}=7$ y 12 , respectivamente. La curva d corresponde a la distribución obtenida para la suspensión mostrada en b pero en presencia de $50 \mu\text{l}$ de Triton X-100 al $10\% \text{ m/v}$.

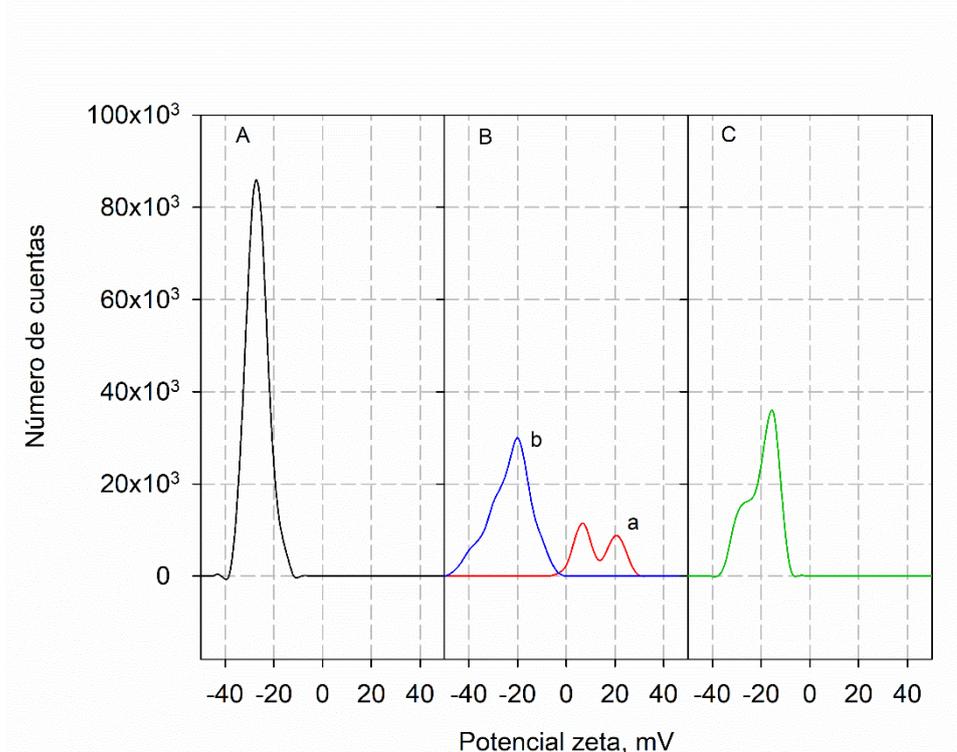


Figura III.11: Efecto de la composición del medio en el potencial zeta de la MCC estudiada. La figura A corresponde a una suspensión de $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ de MCC en agua a $\text{pH}=7$. La Figura B muestra el potencial zeta a $\text{pH}=7$ y 12 (curvas a y b, respectivamente) de la suspensión anterior en presencia de NaCl $0,005 \text{ M}$. La Figura C muestra el potencial zeta en presencia de Triton X-100 al $0,05 \%$, NaCl $0,005 \text{ M}$ y $\text{pH}=7$.

III.3.4. Optimización del proceso de extracción en punto de nube

Como es sabido, los tensioactivos más habituales en la metodología de punto de nube son los de tipo no iónico como el Triton X-114 y, en menor extensión, Triton X-100 [46], por lo que hemos centrado nuestra atención en el empleo de estos tensioactivos. Se ha estudiado el efecto de distintas concentraciones de estos surfactantes por encima de su concentración micelar crítica (0,01 y 0,015 %, respectivamente). En ambos casos se consiguen excelentes separaciones, pero cuando se emplea Triton X-114 se observa un progresivo enturbiamiento de la fase acuosa tras la centrifugación. Este efecto desaparece si se acidula la disolución una vez formada la fase condensada y antes de centrifugar. Sin embargo, esto no ocurre en el caso de emplear Triton X-100. Con el fin de proponer el procedimiento más sencillo se ha recurrido al empleo de Triton X-100.

Se optimizó la cantidad de Triton X-100 necesaria para retener eficazmente las partículas de MCC y se encontró que para 10 mL de fase acuosa resulta aconsejable el empleo de 100 μL de Triton X-100 al 10 % (m/v). Cantidades superiores incrementan de forma innecesaria el volumen de la fase condensada, lo que va en detrimento del efecto de enriquecimiento. La temperatura micelar crítica de este tensioactivo es de 65 $^{\circ}\text{C}$ aproximadamente, porque depende de su concentración y la presencia de electrolitos [47]. Hemos encontrado que, en presencia de la cantidad de Triton X-100 propuesta, resulta suficiente el calentamiento de la disolución a 80 $^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos para formar la fase condensada.

Para mejorar la separación de fases resulta aconsejable incrementar el contenido salino de la disolución. Encontramos que la adición de 100 μL de NaCl 0,1 mol L^{-1} es suficiente para conseguir una buena separación estable en el tiempo.

Tras la centrifugación se observa en el fondo del tubo una fase sólida impregnada de tensioactivo y una fase condensada de muy pequeño volumen, que se distingue con dificultad de la fase acuosa debido a que es incolora. Para poder aislar de forma conveniente este sedimento de la disolución acuosa resulta imprescindible distinguir correctamente las fases con el fin de no retirar parte de la fase condensada. Con este objetivo se ensayó la adición de distintos colorantes a la disolución susceptibles de extraerse cuantitativamente en la fase condensada y que al dotarla de color se distinguiera de la fase acuosa. Buenos resultados se obtuvieron con Azul Victoria B (Figura III.12), un colorante básico, que en disolución 10^{-6} mol L^{-1} pasa completamente a la fase condensada dotándola de la coloración azulada necesaria para diferenciarla de la fase acuosa (Figura III.13).

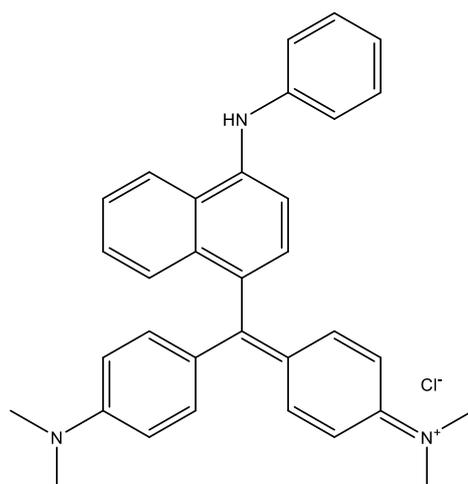


Figura III.12: Azul Victoria B (cloruro de N-[4-[[4-(Dimetilamino)fenil][4-(fenilamino)-1-naftil]metileno]-2,5-ciclohexadien-1-ilideno]-N-metil-Metanaminio), C.I. 44045.

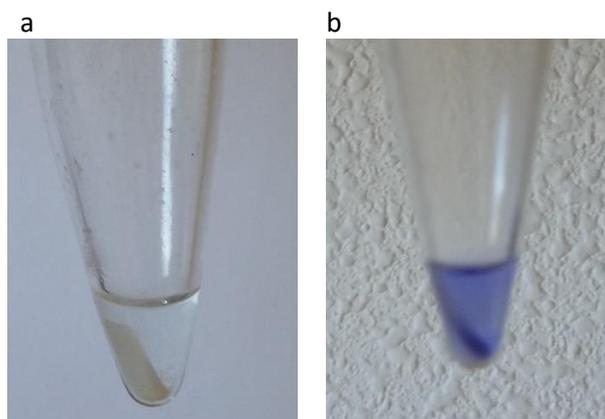


Figura III.13: Fase condensada conteniendo MCC sin (a) y con (b) azul Victoria.

III.3.5. Retroextracción del cromo (III) retenido en la fase condensada y MCC

Aunque la viscosidad de la fase condensada disminuye rápidamente con la temperatura, las suspensiones de MCC en el coacervado mediante el empleo de vortex o ultrasonidos a 40 °C no fueron reproducibles. Además, la introducción de MCC en el atomizador genera la aparición de residuos carbonáceos que exigen su limpieza al menos cada diez atomizaciones. Téngase en cuenta que la inyección de 20 μL de esta suspensión supone la introducción en el atomizador de 1 mg de MCC si la suspensión tiene 100 μL de volumen.

Para evitar este inconveniente se ensayó la retroextracción de cromo desde la fase aceptora. Se ensayaron distintos medios ácidos y básicos, y los mejores resultados se obtuvieron con el empleo de una mezcla 1:1 de etanol y peróxido de hidrógeno. En estas condiciones, la retroextracción de cromo fue completa. Por una parte el etanol facilita la solubilización de la

fase condensada de Triton X-100 y el peróxido de hidrógeno, al pH de trabajo (aproximadamente 7), actúa como oxidante, transformando Cr(III) en Cr(VI) con ayuda de los ultrasonidos [48, 49].

Así pues, se recomienda realizar la retroextracción con la adición de 100 μL de una mezcla de H_2O_2 y etanol 1:1 al sedimento que contiene la MCC y la fase condensada. Tras agitar en vortex y aplicar ultrasonidos durante 5 minutos se centrifuga de nuevo a 5000 rpm durante 10 minutos. Para la determinación de cromo se toman 20 μL de la disolución sobrenadante que se llevan al atomizador de ETAAS utilizando el programa de calentamiento que aparece en la Tabla III.2. La señal obtenida resulta proporcional a la concentración de Cr(III) en la disolución acuosa inicial.

III.3.6. Especiación de cromo (III) y cromo (VI)

Como se aprecia en la Figura III.7, al pH de trabajo el Cr(VI) no se retiene en la fase sólida de MCC. Para conseguir su determinación se pensó en reducirlo a Cr(III) y de esa forma realizar la determinación del cromo total en la disolución. El contenido en Cr(VI) se obtendría por diferencia entre este contenido y el encontrado para la determinación de Cr(III).

Se ensayaron distintos reductores con este fin [50]. El reductor debe ser compatible con la fase adsorbente. A este respecto, debe indicarse que pudimos comprobar que en la mayoría de los casos ensayados se produce una alteración de los grupos funcionales de la MCC que impide la retención de Cr(III) y, en otros casos, al retornar a pH= 7 para provocar la retención, el Cr(III) generado se reconvierte a Cr(VI) de nuevo, como es el caso del empleo de peróxido de hidrógeno en medio ácido. Otros reductores como sulfito, sulfato de hidracina, ácido ascórbico, etc., aunque permiten la reducción, su exceso altera las propiedades adsorbentes de la MCC dificultando su retención.

Por el contrario, excelentes resultados sin deterioro de la MCC se obtuvieron con el empleo de Fe(II). La Figura III.14 muestra el efecto de la concentración de Fe(II) en la señal obtenida para el cromo retenido en MCC. Como puede apreciarse, la adición de 50 μL de sulfato ferroso amónico 0,001 mol L^{-1} y de 100 μL de ácido sulfúrico 0,5 mol L^{-1} a 10 mL de disolución acuosa resultan adecuados para la completa transformación de Cr(VI) a Cr(III). Seguidamente, la disolución se neutraliza hasta pH = 7 con NaOH al 2 % m/v y se aplica el procedimiento propuesto para la determinación de Cr(III).

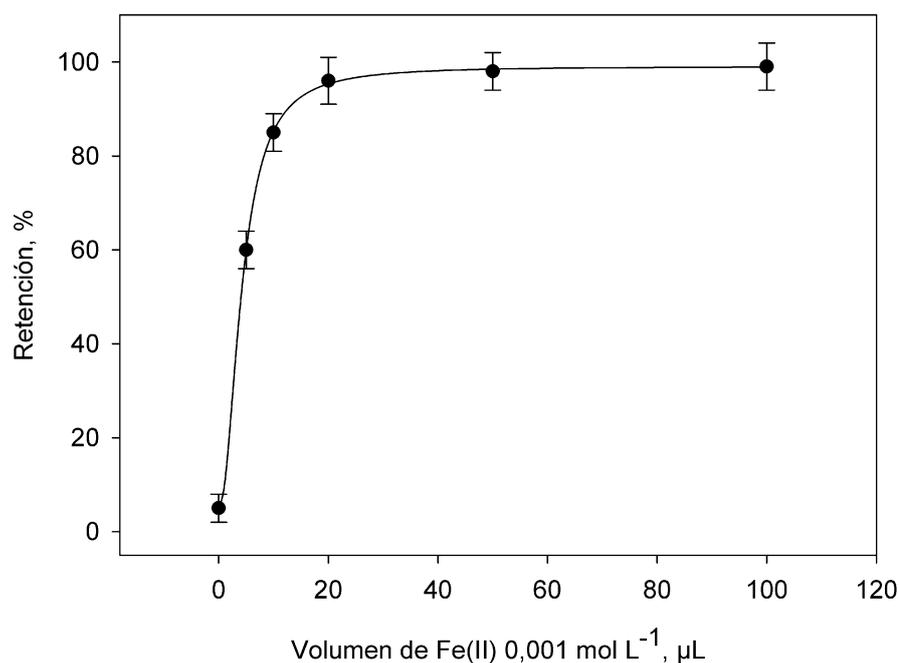


Figura III.14: Efecto del volumen de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ 0,001 M añadido a $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI) en medio H_2SO_4 0,005 M. La reducción de Cr (VI) a Cr (III) conlleva a su retención en MCC.

Para comprobar la capacidad de especiación de Cr(VI) y Cr(III) con el procedimiento propuesto, se prepararon disoluciones con distintas proporciones de ambos analitos a las que se aplicó el procedimiento optimizado. Los resultados aparecen en la Tabla III.3. Como puede apreciarse, las recuperaciones fueron cuantitativas a todas las relaciones.

Tabla III.3. Valores de recuperación de Cr(III) y Cr total obtenidos en diferentes proporciones.

Relación Cr (III)/Cr (VI)	Cr (III), ng L^{-1}			Cr (total), ng L^{-1}	
	Adicionado	Encontrado ^a	Recuperado, %	Encontrado ^b	Recuperado, %
0.1	50	48 ± 2	96	552 ± 6	101
1	250	252 ± 5	101	505 ± 5	101
5	300	299 ± 4	99	357 ± 4	95
10	500	503 ± 6	101	551 ± 5	96

^a Valor medio \pm desviación estándar ($n=5$)

^b Después de la reducción con hierro (II) a pH= 2,3

III.3.7. Optimización del programa de calentamiento

Los parámetros a utilizar en las distintas etapas del programa de calentamiento del equipo de ETAAS deben contemplar la singularidad de la introducción de una concentración elevada de tensioactivo no iónico que, aunque no se encuentra en fase condensada posee un punto de ebullición elevado. Así pues, la etapa de secado debe contemplar la evaporación del

agua y el tensioactivo, de ahí la inclusión de una etapa de secado a 110 °C y otra a una temperatura superior, ya que el punto de ebullición del Triton X-100 es de 252 °C. Experimentalmente hemos encontrado que el calentamiento de la fase condensada a 400 °C es adecuado para evitar el chisporroteo de la muestra inyectada al aumentar la temperatura durante la etapa de calcinación.

Para evitar pérdidas de cromo durante la etapa de calcinación, se ha estudiado la combinación de temperatura más adecuada y/o el empleo de modificadores químicos. En este sentido, aunque muchos autores señalan que la adición de un modificador químico no resulta necesaria en ETAAS [51, 52], otros recomiendan el empleo de diversos modificadores químicos como magnesio [53-55], paladio [56, 57] o sus mezclas [58, 59]. En estudios de extracción de cromo previa formación de un quelato por CPE también se ha propuesto el mismo agente quelatante como modificador químico [60, 61]. Por nuestra parte, el estudio de la influencia de la temperatura de calcinación en la señal obtenida para cromo retroextraído en la mezcla H₂O₂: etanol concluyó que la señal se mantuvo estable hasta 1300 °C. En presencia de 5 µg de Pd (II) la señal atómica debida a cromo se mantuvo también constante hasta 1300 °C. En presencia de paladio su perfil atómico resultó más alto y estrecho que sin el empleo de paladio. En la Figura III.15 se muestran algunos perfiles atómicos correspondientes a distintas concentraciones de cromo en presencia de paladio. El estudio de la temperatura de atomización indica que la señal

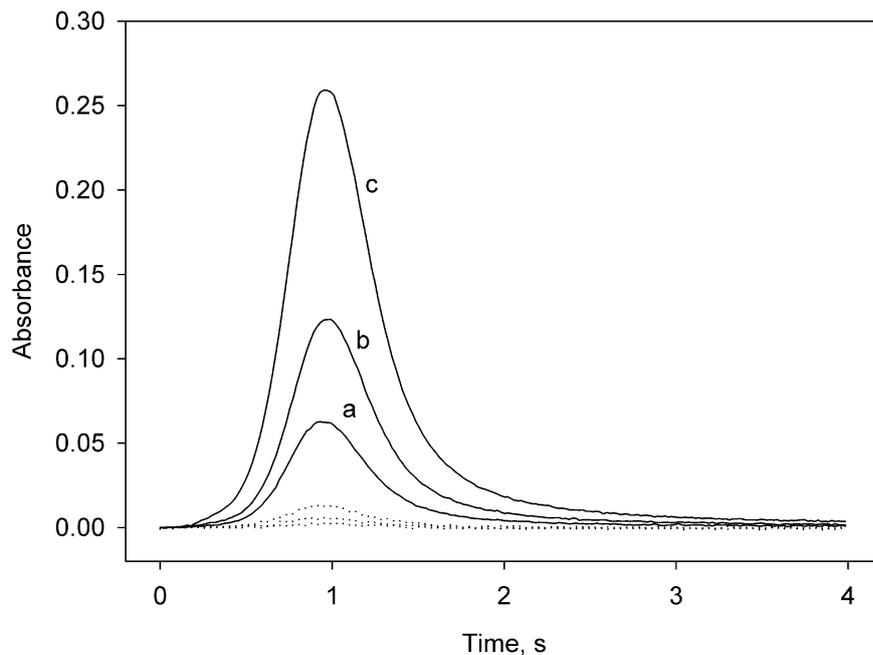


Figura III.15. Perfiles de atomización de cromo obtenidos por aplicación del programa propuesto a disoluciones de 0,12, 0,25 y 0,5 µg L⁻¹ de Cr (III) (curvas a-c, respectivamente). Las líneas de puntos corresponden a la absorción de fondo de estas disoluciones.

atómica aumenta hasta hacerse constante a partir de 2300 °C. Finalmente, seleccionamos las temperaturas de 1500 y 2400 °C para las etapas de calcinación y atomización, respectivamente, en presencia de 5 µg de Pd (II) que se adicionaron como 10 µL de disolución de nitrato de paladio de 500 mg L⁻¹ de Pd (II). La Tabla III.2 muestra el programa de calentamiento recomendado. Para conseguir la máxima sensibilidad, el flujo interno de gas se detuvo durante la etapa de atomización.

III.3.8. Calibración

Utilizando el procedimiento recomendado se encontró una relación lineal entre la señal corregida de área de pico y la concentración de cromo en la fase acuosa previa a la microextracción entre 20 y 500 ng L⁻¹. Del ajuste por mínimos cuadrados de la línea de regresión ($r=0.9989$) se obtuvo un error estándar de la regresión que condujo a un límite de detección de 6 ng L⁻¹, calculado utilizando el criterio de $3S_{y/x}$. La repetitividad del procedimiento se estudió a 50, 100 y 250 ng L⁻¹ resultando desviaciones estándar relativas de 5,5, 5,1 y 4,5, respectivamente, para 5 determinaciones en cada nivel de concentración. El factor de enriquecimiento (EF), calculado como el cociente entre la pendiente de la recta de regresión para el procedimiento recomendado y la pendiente de la recta de calibrado que resulta para la determinación de cromo directa en fase acuosa condujo a un valor de 95. Este valor resulta prácticamente coincidente con la relación de volúmenes de la fase acuosa a la fase de retroextracción, lo que indica una extracción cuantitativa del analito en esta fase.

Teniendo en cuenta que este procedimiento se ha diseñado para la determinación de cromo en aguas potables, se estudió el efecto que otras especies, habituales en este tipo de muestras, pueden tener en la determinación de cromo. Se encontró que trabajando a un nivel de concentración de cromo de 100 ng L⁻¹ ($1,9 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹), la presencia de sulfato, nitrato y cloruro hasta una relación de 10000 no causan efecto alguno en la señal. La presencia de grandes cantidades de carbonato o fosfato puede exigir la corrección del pH. En estas condiciones, se observó la no existencia de interferencias incluso en relación 10000:1. En cuanto a la presencia de especies metálicas, debido a la excelente selectividad de la técnica de ETAAS no se observaron efectos interferentes por la presencia de Ca (II), Mg (II), Na (I) y K(I) en relación 5000:1. Otros iones metálicos como Cu (II), Co (II), Hg (II), Fe (III), As (III) y Sb (III) se toleran incluso en relación 500:1. Relaciones superiores pueden suponer una interferencia en tanto que al adsorberse sobre MCC pueden competir con el cromo y producirse errores por defecto.

La Tabla III.4. muestra un resumen de las principales características encontradas en algunos procedimientos recientes publicados para la determinación y especiación de cromo utilizando microextracción en fase sólida. Nótese que los procedimientos propuestos con elevados EF utilizan un gran volumen de muestra. El procedimiento propuesto en este trabajo compite también ventajosamente en cantidad de material adsorbente necesario y tiempo de contacto.

III.3.9. Determinación de cromo (III) y cromo (VI) en muestras de agua

Para estudiar la validez del procedimiento se aplicó a la determinación de cromo en diversos materiales de referencia con contenido certificado para cromo total. Los resultados obtenidos aparecen en la Tabla III.5. Como algunos de estos materiales presentan un contenido elevado para la sensibilidad de la técnica, se recurrió a la dilución previa del mismo. El grado de dilución aparece en esta tabla. Como puede apreciarse, la concordancia entre los contenidos totales de cromo encontrados y certificados es excelente, sin diferencias significativas al 95 % de nivel de confianza. En la Tabla III.6 se presentan los resultados obtenidos en la determinación de cromo en agua embotellada, de grifo y de mar, recolectadas en nuestra región. Como el contenido de cromo en estas muestras resulta inferior al límite de detección, se recurrió a la realización de test de recuperación que demuestran la validez del procedimiento propuesto.

III.4. Conclusiones

Se propone a la celulosa microcristalina como un adsorbente adecuado para Cr (III). La cinética de adsorción es muy rápida y el proceso cuantitativo. Con cantidades muy pequeñas de MCC (5 mg) se consigue la retención cuantitativa de Cr (III), lo que unido a su bajo precio, asequibilidad y gran capacidad de adsorción la hacen un soporte ideal para su empleo en laboratorios de rutina. Se estudian las condiciones experimentales adecuadas para llevar a cabo la adsorción y se propone un procedimiento alternativo a la ultracentrifugación para la separación de la fase adsorbente basado en el empleo de la metodología de punto de nube. El cromo retenido puede redisolverse en una mezcla de etanol y peróxido de hidrógeno. Un microvolumen de esta fase se lleva al atomizador de ETAAS para la cuantificación de cromo. La determinación del contenido de Cr (VI) se ha optimizado mediante la reducción previa a Cr (III) con el empleo de Fe (II) en medio ácido. El procedimiento propuesto se ha aplicado a la determinación de Cr (III) y Cr (VI) en muestras de agua de diversa procedencia y se ha contrastado con la determinación de esta especie en aguas certificadas.

Tabla III.4: Algunos procedimientos recientes propuestos para la especiación de cromo utilizando microextracción con fase sólida dispersa

Analito	Especiación	Adsorbente	pH	Detección	Calibración	LOD, ng mL ⁻¹	V, mL	M, mg	T, min	EF	Ref.
Cr (VI)	Oxidación de Cr (III) con MnO ₄ ⁻	GO modificado con aminosilanos	pH=3,5	EDXRF	2-1400	170	50	5	180	--	[62]
Cr (III)	Reducción de Cr (VI) con sulfito	GO	pH=7 and CPE with Triton X-45	ETAAS	0,01-0,5	5	10	0,1	10	140	[63]
Cr (VI)	Cr (III)+ Cr (VI) at pH=5	GO magnético funcionalizado con imidazolilo	pH=2	ETAAS	0,004-0,35	1,2	25	17	9	357	[64]
Cr (VI)	Cr (III)+ Cr (VI) at pH=5	MOF	pH=2	ETAAS	0,003-0,3	1	15	15	6,5	470	[65]
Cr (VI)	Oxidación de Cr (III)	MNC	pH=6	ICP-OES	0-500	20	--	250	10	94	[66]
Cr (VI)	Oxidación de Cr (III) con MnO ₄ ⁻	MWCNTs magnéticos con líquidos iónicos hidrofílicos	pH=2	FO-LADS	0,5-50	100	50	100	5	318	[67]
Cr (VI)	Oxidación de Cr (III) con MnO ₄ ⁻	GO Magnético	pH=2	FAAS	0,5-50	100	100	6	60	200	[68]
Cr (VI)	Ninguna	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @IL	pH=5,5	ICP-OES	0,5-200	100	40	20	5	43	[69]
Cr (III)	Cr (VI) no es retenido	CHS-AgNPs	pH=8,5	ICP-MS	0,05-5	20	20	0,5	60	--	[70]
Cr (III)	Reducción de Cr (VI) con Fe (II)	Celulosa microcristalina	pH=7	ETAAS	0,02-0,5	20	10	5	15	95	[*]

V: volumen; M: masa de material adsorbente; T: tiempo de extracción; GO: óxido de grafeno; EDXRF: espectrometría de fluorescencia de rayos-X por energía dispersiva; CPE: Extracción por punto de nube; MOF: Estructura orgánico-metal (MOF) del tipo MIL-101(Fe)/2-(propilaminoetil) ditiocarbamato sobre la superficie de NP's magnéticas; MNC: nanocompuesto magnético de óxido de hierro, óxido de manganeso y óxido de alúmina y, posteriormente, funcionalizado con [3-(2-aminoetilamino)propil]trimetoxisilano (AAPTMS); MWCNTs: nanotubos de carbono de paredes múltiples; FO-LADS: espectrofotómetro de detección lineal de fibra óptica; Fe₃O₄@SiO₂@IL: NP's magnéticas recubiertas de sílice y líquidos iónicos; CHS-AgNPs: NP's de plata recubiertas de quitosán.

Tabla III.5: Determinación de Cr(III) y Cr(VI) en materiales de referencia (SRM)

SRM	Descripción	Contenido en cromo ^a , $\mu\text{g L}^{-1}$					
		Certificado		Encontrado			
		Dilución	Total	Cr (III)	Cr (VI)	Total	Total
TM-Rain-04	Agua simulada de lluvia	1:2	0.866 ± 0.013 ^b	0.89 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.91 ± 0.01	0.91 ± 0.01
TM-23.4	Agua de lago fortificada	1:20	6.77 ± 0.63 ^b	6.85 ± 0.05	0.06 ± 0.02	6.91 ± 0.05	6.91 ± 0.05
TM-25.4	Agua de lago fortificada a nivel de trazas	1:100	24.0 ± 1.73 ^b	23.6 ± 0.1	0.08 ± 0.01	23.7 ± 0.03	23.7 ± 0.03
1640a	Agua de manantial	1:100	40.54 ± 0.30 ^b	15.1 ± 0.1	26.1 ± 0.2	41.2 ± 0.3	41.2 ± 0.3
NASS-6	Agua de mar	ninguna	0.118 ± 0.008 ^b	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01

^a Valor medio ± desviación estándar (n=3)^b Intervalo de confianza 95 %

Tabla III.6: Determinación de Cr(III) y Cr(VI) en muestras de agua						
Muestra	Cr (III) ^a , ng L ⁻¹			Cr (IV) ^a , ng L ⁻¹		
	Añadido	Encontrado	Recuperación, %	Añadido	Encontrado	Recuperación, %
AG ^b	0	30 ± 4	-	0	<LOD	-
	50	78 ± 7	96	50	52 ± 7	104
	100	133 ± 9	103	100	99 ± 9	99
AR ^c	0	32 ± 3	-	0	<LOD	-
	50	81 ± 7	98	50	49 ± 7	98
	100	135 ± 9	103	100	103 ± 6	103
AM ^d	0	<LOD	-	0	27 ± 4	-
	50	52 ± 4	104	50	75 ± 7	96
	100	98 ± 8	98	100	131 ± 8	104
AME ^e 1	0	<LOD	-	0	<LOD	-
	50	48 ± 5	96	50	53 ± 6	106
	100	106 ± 8	106	100	102 ± 8	102
AME ^e 2	0	<LOD	-	0	<LOD	-
	50	51 ± 5	102	50	51 ± 5	102
	100	99 ± 9	99	100	103 ± 9	103

^a Valor medio ± desviación estándar (n=3);

^b AG: Agua de grifo;

^c AR: Agua de río;

^d AM: Agua de mar;

^e AME: Agua mineral embotellada.

III.5. Bibliografía

- [1] T. Heinze, Cellulose: Structure and Properties, in: O.J. Rojas (Ed.), Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials 2016, pp. 1-52. doi: 10.1007/12_2015_319.
- [2] V.K. Thakur, Nanocellulose Polymer Nanocomposites: Fundamentals and Applications, Wiley 2015.
- [3] S. Kalia, A. Dufresne, B.M. Cherian, B.S. Kaith, Av, #233, L. rous, J. Njuguna, E. Nassiopoulos, Cellulose-Based Bio- and Nanocomposites: A Review, International Journal of Polymer Science, 2011, 2011. doi: 10.1155/2011/837875.
- [4] S. Hokkanen, A. Bhatnagar, M. Sillanpää, A review on modification methods to cellulose-based adsorbents to improve adsorption capacity, Water Research, 2016, 91, 156-173. doi: 10.1016/j.watres.2016.01.008.
- [5] J. Tang, J. Sisler, N. Grishkewich, K.C. Tam, Functionalization of cellulose nanocrystals for advanced applications, Journal of Colloid and Interface Science, 2017, 494, 397-409. doi: 10.1016/j.jcis.2017.01.077.
- [6] D.O. de Castro, J. Bras, A. Gandini, N. Belgacem, Surface grafting of cellulose nanocrystals with natural antimicrobial rosin mixture using a green process, Carbohydrate Polymers, 2016, 137, 1-8. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.09.101.
- [7] S.M. Musyoka, J.C. Ngila, B. Moodley, L. Petrik, A. Kindness, Synthesis, Characterization, and Adsorption Kinetic Studies of Ethylenediamine Modified Cellulose for Removal of Cd and Pb, Analytical Letters, 2011, 44, 1925-1936. doi: 10.1080/00032719.2010.539736.
- [8] E. Espino-Pérez, S. Domenek, N. Belgacem, C. Sillard, J. Bras, Green Process for Chemical Functionalization of Nanocellulose with Carboxylic Acids, Biomacromolecules, 2014, 15, 4551-4560. doi: 10.1021/bm5013458.
- [9] D.W. O'Connell, C. Birkinshaw, T.F. O'Dwyer, Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: A review, Bioresource Technology, 2008, 99, 6709-6724. doi: 10.1016/j.biortech.2008.01.036.
- [10] A.W. Carpenter, C.-F. de Lannoy, M.R. Wiesner, Cellulose Nanomaterials in Water Treatment Technologies, Environmental Science & Technology, 2015, 49, 5277-5287. doi: 10.1021/es506351r.
- [11] E. Madivoli, P. Kareru, A. Gachanja, S. Mugo, M. Murigi, P.K. Kairigo, C. Kipyegon, J. K Mutembei, F. Njonge, Adsorption of Selected Heavy Metals on Modified Nano Cellulose, 2016. doi: 10.9734/IRJPAC/2016/28548.
- [12] A. Jamshaid, A. Hamid, N. Muhammad, A. Naseer, M. Ghauri, J. Iqbal, S. Rafiq, N.S. Shah, Cellulose-based Materials for the Removal of Heavy Metals from Wastewater - An Overview, Chembioeng Reviews, 2017, 4, 240-256. doi: 10.1002/cben.201700002.

- [13] D.S. Malik, C.K. Jain, A.K. Yadav, *Removal of heavy metals from emerging cellulosic low-cost adsorbents: a review*, Applied Water Science, 2017, 7, 2113-2136. doi: 10.1007/s13201-016-0401-8.
- [14] Y. Zhou, Q. Jin, T. Zhu, Y. Akama, *Adsorption of chromium (VI) from aqueous solutions by cellulose modified with β -CD and quaternary ammonium groups*, Journal of Hazardous Materials, 2011, 187, 303-310. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.01.025.
- [15] C. Lin, S. Qiao, W. Luo, Y. Liu, D. Liu, X. Li, M. Liu, *Thermodynamics, Kinetics, and Regeneration Studies for Adsorption of Cr(VI) from Aqueous Solutions using Modified Cellulose as Adsorbent*, Bioresources, 2014, 9, 6998-7017.
- [16] R. Yang, K.B. Aubrecht, H. Ma, R. Wang, R.B. Grubbs, B.S. Hsiao, B. Chu, *Thiol-modified cellulose nanofibrous composite membranes for chromium (VI) and lead (II) adsorption*, Polymer, 2014, 55, 1167-1176. doi: 10.1016/j.polymer.2014.01.043.
- [17] N.A. Fakhre, B.M. Ibrahim, *The use of new chemically modified cellulose for heavy metal ion adsorption*, Journal of Hazardous Materials, 2018, 343, 324-331. doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.08.043.
- [18] S. Periyasamy, V. Gopalakannan, N. Viswanathan, *Fabrication of magnetic particles imprinted cellulose based biocomposites for chromium(VI) removal*, Carbohydrate Polymers, 2017, 174, 352-359. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.06.029.
- [19] A. Stoica-Guzun, M. Stroescu, S.I. Jinga, N. Mihalache, A. Botez, C. Matei, D. Berger, C.M. Damian, V. Ionita, *Box-Behnken experimental design for chromium(VI) ions removal by bacterial cellulose-magnetite composites*, International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 91, 1062-1072. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.06.070.
- [20] A.A. Yakout, R.H. El-Sokkary, M.A. Shreadah, O.G. Abdel Hamid, *Cross-linked graphene oxide sheets via modified extracted cellulose with high metal adsorption*, Carbohydrate Polymers, 2017, 172, 20-27. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.05.004.
- [21] E. Yavuz, S. Tokalioglu, H. Sahan, M. Kacer, S. Patat, *Dispersive Solid-Phase Extraction of Rhodium from Water, Street Dust, and Catalytic Converters Using a Cellulose-Graphite Oxide Composite*, Analytical Letters, 2017, 50, 63-79. doi: 10.1080/00032719.2016.1174708.
- [22] M.E. Mahmoud, A.E.H. Abdou, M.E. Sobhy, *Engineered nano-zirconium oxide-crosslinked-nanolayer of carboxymethyl cellulose for speciation and adsorptive removal of Cr(III) and Cr(VI)*, Powder Technology, 2017, 321, 444-453. doi: 10.1016/j.powtec.2017.08.041.
- [23] A. Pinkert, K.N. Marsh, S.S. Pang, M.P. Staiger, *Ionic Liquids and Their Interaction with Cellulose*, Chemical Reviews, 2009, 109, 6712-6728. doi: 10.1021/cr9001947.
- [24] C. Ruiz-Palomero, M.L. Soriano, M. Valcárcel, *Ternary composites of nanocellulose, carbonanotubes and ionic liquids as new extractants for direct immersion single drop microextraction*, Talanta, 2014, 125, 72-77. doi: 10.1016/j.talanta.2014.02.055.
- [25] J. Cao, L.Q. Peng, L.J. Du, Q.D. Zhang, J.J. Xu, *Ultrasound-assisted ionic liquid-based micellar extraction combined with microcrystalline cellulose as sorbent in dispersive microextraction for the determination of phenolic compounds in propolis*, Analytica Chimica Acta, 2017, 963, 24-32. doi: 10.1016/j.aca.2017.01.063.

- [26] M. Kaushik, A. Moores, *Review: nanocelluloses as versatile supports for metal nanoparticles and their applications in catalysis*, *Green Chemistry*, 2016, 18, 622-637. doi: 10.1039/c5gc02500a.
- [27] C. Ruiz-Palomero, M. Laura Soriano, M. Valcárcel, *Sulfonated nanocellulose for the efficient dispersive micro solid-phase extraction and determination of silver nanoparticles in food products*, *Journal of Chromatography A*, 2016, 1428, 352-358. doi: 10.1016/j.chroma.2015.06.023.
- [28] C. Herrero Latorre, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Pena Crecente, *Solid phase extraction for the speciation and preconcentration of inorganic selenium in water samples: a review*, *Analytica chimica acta*, 2013, 804, 37-49. doi: 10.1016/j.aca.2013.09.054.
- [29] K. Prasad, P. Gopikrishna, R. Kala, T.P. Rao, G.R.K. Naidu, *Solid phase extraction vis-a-vis coprecipitation preconcentration of cadmium and lead from soils onto 5,7-dibromoquinoline-8-ol embedded benzophenone and determination by FAAS*, *Talanta*, 2006, 69, 938-945. doi: 10.1016/j.talanta.2005.11.040.
- [30] Y. Akama, K. Yamada, O. Itoh, *Solid phase extraction of lead by Chelest Fiber Iry (aminopolycarboxylic acid-type cellulose)*, *Analytica Chimica Acta*, 2003, 485, 19-24. doi: 10.1016/s0003-2670(03)00399-4.
- [31] S. Takemori, K. Yamada, O. Itoh, N. Nanbu, Y. Akama, *Solid-phase extraction of lead and copper by chelating cellulose functionalized with thioglycolic acid*, *Bunseki Kagaku*, 2004, 53, 841-845. doi: 10.2116/bunsekikagaku.53.841.
- [32] M. Jonoobi, R. Oladi, Y. Davoudpour, K. Oksman, A. Dufresne, Y. Hamzeh, R. Davoodi, *Different preparation methods and properties of nanostructured cellulose from various natural resources and residues: a review*, *Cellulose*, 2015, 22, 935-969. doi: 10.1007/s10570-015-0551-0.
- [33] J. Nsor-Atindana, M. Chen, H.D. Goff, F. Zhong, H.R. Sharif, Y. Li, *Functionality and nutritional aspects of microcrystalline cellulose in food*, *Carbohydrate Polymers*, 2017, 172, 159-174. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.04.021.
- [34] D. Trache, M.H. Hussin, C.T.H. Chuin, S. Sabar, M.R.N. Fazita, O.F.A. Taiwo, T.M. Hassan, M.K.M. Haafiz, *Microcrystalline cellulose: Isolation, characterization and bio-composites application-A review*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93, 789-804. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.09.056.
- [35] D. Bondeson, A. Mathew, K. Oksman, *Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis*, *Cellulose*, 2006, 13, 171-180. doi: 10.1007/s10570-006-9061-4.
- [36] S. Elazzouzi-Hafraoui, Y. Nishiyama, J.-L. Putaux, L. Heux, F. Dubreuil, C. Rochas, *The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acid hydrolysis of native cellulose*, *Biomacromolecules*, 2008, 9, 57-65. doi: 10.1021/bm700769p.
- [37] P. Satyamurthy, N. Vigneshwaran, *A novel process for synthesis of spherical nanocellulose by controlled hydrolysis of microcrystalline cellulose using anaerobic microbial consortium*, *Enzyme and Microbial Technology*, 2013, 52, 20-25. doi: 10.1016/j.enzmictec.2012.09.002.

- [38] C. Tian, J. Yi, Y. Wu, Q. Wu, Y. Qing, L. Wang, *Preparation of highly charged cellulose nanofibrils using high-pressure homogenization coupled with strong acid hydrolysis pretreatments*, Carbohydrate Polymers, 2016, 136, 485-492. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.09.055.
- [39] Q. Xiang, Y.Y. Lee, P.O. Pettersson, R.W. Torget, *Heterogeneous aspects of acid hydrolysis of alpha-cellulose*, Applied biochemistry and biotechnology, 2003, 105 -108, 505-14.
- [40] S. Shankar, J.-W. Rhim, *Preparation of nanocellulose from micro-crystalline cellulose: The effect on the performance and properties of agar-based composite films*, Carbohydrate Polymers, 2016, 135, 18-26. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.08.082.
- [41] G. Han, S. Huan, J. Han, Z. Zhang, Q. Wu, *Effect of Acid Hydrolysis Conditions on the Properties of Cellulose Nanoparticle-Reinforced Polymethylmethacrylate Composites*, Materials, 2014, 7, 16.
- [42] G.H. Riva, J. García-Estrada, B. Vega, F. López-Dellamary, M.E. Hernández, J.A. Silva, *Cellulose - Chitosan Nanocomposites - Evaluation of Physical, Mechanical and Biological Properties*, in: M. Poletto, H.L.O. Junior (Eds.), Cellulose - Fundamental Aspects and Current Trends, InTech, Rijeka, 2015, p. Ch. 09. doi: 10.5772/61727.
- [43] Y.M. Zhou, S.Y. Fu, L.M. Zheng, H.Y. Zhan, *Effect of nanocellulose isolation techniques on the formation of reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite films*, Express Polymer Letters, 2012, 6, 794-804. doi: 10.3144/expresspolymlett.2012.85.
- [44] V.C.G. Dos Santos, A.D.A. Salvado, D.C. Dragunski, D.N.C. Peraro, C.R.T. Tarley, J. Caetano, *Highly improved chromium (III) uptake capacity in modified sugarcane bagasse using different chemical treatments*, Quim. Nova, 2012, 35, 1606-1611.
- [45] S. Zink, R. Schoenberg, M. Staubwasser, *Isotopic fractionation and reaction kinetics between Cr(III) and Cr(VI) in aqueous media*, Geochimica et Cosmochimica Acta, 2010, 74, 5729-5745. doi: [10.1016/j.gca.2010.07.015](https://doi.org/10.1016/j.gca.2010.07.015).
- [46] M.D. Bezerra, M.A.Z. Arruda, S.L.C. Ferreira, *Cloud point extraction as a procedure of separation and pre-concentration for metal determination using spectroanalytical techniques: A review.*, Applied Spectroscopy Reviews, 2005, 40, 269-299. doi: 10.1080/05704920500220880.
- [47] T. Inoue, H. Ohmura, D. Murata, *Cloud point temperature of polyoxyethylene-type nonionic surfactants and their mixtures*, Journal of Colloid and Interface Science, 2003, 258, 374-382. doi: 10.1016/S0021-9797(02)00162-5.
- [48] J.F. Perez-Benito, C. Arias, *A Kinetic Study of the Chromium(VI)-Hydrogen Peroxide Reaction. Role of the Diperoxochromate(VI) Intermediates*, The Journal of Physical Chemistry A, 1997, 101, 4726-4733. doi: 10.1021/jp963868d.
- [49] M. Pettine, F.J. Millero, *Chromium speciation in seawater - the probable role of hydrogen-peroxide*, Limnology and Oceanography, 1990, 35, 730-736. doi: 10.4319/lo.1990.35.3.0730.
- [50] C.E. Barrera-Díaz, V. Lugo-Lugo, B. Bilyeu, *A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous Cr(VI) reduction*, Journal of Hazardous Materials, 2012, 223, 1-12. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.04.054.

- [51] A.T. Duarte, M.B. Dessuy, M.G.R. Vale, B. Welz, J.B. de Andrade, *Sequential determination of Cd and Cr in biomass samples and their ashes using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis*, *Talanta*, 2013, 115, 55-60. doi: 10.1016/j.talanta.2013.04.036.
- [52] A.V. Zmozinski, T. Pretto, A.R. Borges, M.G.R. Vale, *Determination of Cd and Cr in tannin samples by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample sequential analysis (HR-CS SS-GF AAS)*, *Analytical Methods*, 2015, 7, 3735-3741. doi: 10.1039/c5ay00536a.
- [53] A.R. Borges, L.L. Francois, E.M. Becker, M.G.R. Vale, B. Welz, *Method development for the determination of chromium and thallium in fertilizer samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis*, *Microchemical Journal*, 2015, 119, 169-175. doi: 10.1016/j.microc.2014.11.007.
- [54] A.S. Silva, G.C. Brandao, G.D. Matos, S.L.C. Ferreira, *Direct determination of chromium in infant formulas employing high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry and solid sample analysis*, *Talanta*, 2015, 144, 39-43. doi: 10.1016/j.talanta.2015.05.046.
- [55] E.d.N. da Silva, N. Baccan, S. Cadore, *Determination of Selenium, Chromium and Copper in Food Dyes by GF AAS*, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2013, 24, 1267-1275. doi: 10.5935/0103-5053.20130161.
- [56] J.C.R. García, J.B. García, C.H. Latorre, S.G. Martín, R.M.P. Crecente, *Direct and combined methods for the determination of chromium, copper, and nickel in honey by electrothermal atomic absorption spectroscopy*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 6616-6623. doi: 10.1021/jf050887o.
- [57] F.A. Silva, C.C.F. Padilha, L.E. Pezzato, M.M. Barros, P.M. Padilha, *Determination of chromium by GFAAS in slurries of fish feces to estimate the apparent digestibility of nutrients in feed used in pisciculture*, *Talanta*, 2006, 69, 1025-1030. doi: 10.1016/j.talanta.2005.12.008.
- [58] C.K. de Andrade, V.E. dos Anjos, M.L. Felsner, Y.R. Torres, S.P. Quinaia, *Direct determination of Cd, Pb and Cr in honey by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry*, *Food Chemistry*, 2014, 146, 166-173. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.09.065.
- [59] A.V. Zmozinski, T. Pretto, A.R. Borges, A.T. Duarte, M.G.R. Vale, *Determination of Pb and Cr in sunscreen samples by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct analysis*, *Microchemical Journal*, 2016, 128, 89-94. doi: 10.1016/j.microc.2016.03.020.
- [60] P. Liang, H. Sang, *Speciation of chromium in water samples with cloud point extraction separation and preconcentration and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry*, *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 154, 1115-1119. doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.11.017.
- [61] M. Sun, Q. Wu, *Cloud point extraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for speciation of Cr(III) in human serum samples*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, 60, 14-18. doi: 10.1016/j.jpba.2011.10.034.

- [62] P. Janik, B. Zawisza, E. Talik, R. Sitko, *Selective adsorption and determination of hexavalent chromium ions using graphene oxide modified with amino silanes*, *Microchimica Acta*, 2018, 185. doi: 10.1007/s00604-017-2640-2.
- [63] I. López-García, M.J. Muñoz-Sandoval, M. Hernández-Córdoba, *Cloud point microextraction involving graphene oxide for the speciation of very low amounts of chromium in waters*, *Talanta*, 2017, 172, 8-14. doi: 10.1016/j.talanta.2017.05.017.
- [64] Z. Sarikhani, M. Manoochehri, *Determination of Ultra Trace Cr(III) and Cr(VI) Species by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after Simultaneous Magnetic Solid Phase Extraction with the Aid of a Novel Imidazolium-Functionalized Magnetite Graphene Oxide Nanocomposite*, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2017, 90, 746-753. doi: 10.1246/bcsj.20160407.
- [65] A. Saboori, *A nanoparticle sorbent composed of MIL-101(Fe) and dithiocarbamate-modified magnetite nanoparticles for speciation of Cr(III) and Cr(VI) prior to their determination by electrothermal AAS*, *Microchimica Acta*, 2017, 184, 1509-1516. doi: 10.1007/s00604-017-2155-x.
- [66] T.S. Munonde, N.W. Maxakato, P.N. Nomngongo, *Preconcentration and speciation of chromium species using ICP-OES after ultrasound-assisted magnetic solid phase extraction with an amino-modified magnetic nanocomposite prepared from Fe₃O₄, MnO₂ and Al₂O₃*, *Microchimica Acta*, 2017, 184, 1223-1232. doi: 10.1007/s00604-017-2126-2.
- [67] S.M. Yousefi, F. Shemirani, *Carbon nanotube-based magnetic bucky gels in developing dispersive solid-phase extraction: application in rapid speciation analysis of Cr(VI) and Cr(III) in water samples*, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2017, 97, 1065-1079. doi: 10.1080/03067319.2017.1381236.
- [68] E. Kazemi, A.M.H. Shabani, S. Dadfarnia, F. Izadi, *Speciation and determination of chromium ions by dispersive micro solid phase extraction using magnetic graphene oxide followed by flame atomic absorption spectrometry*, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2017, 97, 1080-1093. doi: 10.1080/03067319.2017.1381693.
- [69] Y. Yamini, S. Seidi, F. Latifeh, *Ionic liquid-modified silica-coated magnetic nanoparticles; promising anion-exchange sorbent for extraction of Cr(VI)*, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2017, 97, 1223-1236. doi: 10.1080/03067319.2017.1399369.
- [70] L. Djerahov, P. Vasileva, I. Karadjova, *Self-standing chitosan film loaded with silver nanoparticles as a tool for selective determination of Cr(VI) by ICP-MS*, *Microchemical Journal*, 2016, 129, 23-28. doi: 10.1016/j.microc.2016.06.007.

Empleo de ferrita como material adsorbente magnético para la especiación y determinación de plata, cromo y arsénico utilizando ETAAS como sistema de detección

CAPÍTULO IV

IV.1. MICROEXTRACCIÓN DE Ag(I) Y Ag(0) CON PARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE FERRITA Y DETERMINACION CON ETAAS

Contenido

IV.1.1. Introducción	161
IV.1.1.1. La ferrita como material adsorbente en Química Analítica	161
IV.1.1.2. Empleo de Ag (I) y Ag (0) como agentes antimicrobianos.....	167
IV.1.2. Parte experimental	171
IV.1.2.1. Instrumentación	171
IV.1.2.2. Reactivos	173
IV.1.2.3. Muestras estudiadas	173
IV.1.2.4. Síntesis del material adsorbente	173
IV.1.2.5. Procedimiento propuesto	174
IV.1.2.6. Tratamiento de las muestras estudiadas	174
IV.1.3. Resultados y discusión	175
IV.1.3.1. Efecto del pH en la retención de Ag(I) y Ag(0)	177
IV.1.3.2. Efecto de la masa de Fe ₃ O ₄ NPs en la retención de Ag(I) y Ag(0).....	178
IV.1.3.3. Estudio por microscopía de barrido electrónico de las Fe ₃ O ₄ NPs sintetizadas.....	179
IV.1.3.4. Especiación de Ag (I) y Ag (0)	180
IV.1.3.5. Determinación de la plata retenida en las nanopartículas de ferrita.....	181
IV.1.3.6. Efecto de la relación Ag(I)/Ag(0)	190
IV.1.3.7. Efecto de otras especies en la determinación de Ag (I) y Ag (0)	190
IV.1.3.8. Optimización del programa de calentamiento.....	191
IV.1.3.9. Calibración.....	194
IV.1.3.10. Aplicación del procedimiento propuesto a muestras reales.....	195
IV.1.4. Conclusiones.....	197
IV.1.5. Bibliografía.....	201

IV.1.1. Introducción

IV.1.1.1. La ferrita como material adsorbente en Química Analítica

Se conocen ocho óxidos de hierro [1] de los que hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), magnetita (Fe_3O_4) y maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) centrarán nuestra atención debido a sus propiedades magnéticas. La hematita es el óxido de hierro más estable, actúa como semiconductor del tipo n a temperatura ambiente y es ampliamente utilizado en catálisis, pigmentos y sensores. También se puede utilizar en la síntesis de magnetita y maghemita. Como se muestra en la Figura IV.1.1, los átomos de Fe^{2+} muestran coordinación octaédrica. La magnetita (Figura IV.1.1-B) es un óxido mezcla de Fe^{2+} y Fe^{3+} (1:2) con una estructura en espinela cúbica centrada donde los iones de Fe^{3+} presentan coordinación octaédrica mientras que los de Fe^{2+} muestran coordinación tetraédrica (Figura IV.1.2). La maghemita (Figura IV.1.1-C) tiene una estructura cúbica con los iones Fe^{3+} mostrando una coordinación tetraédrica.

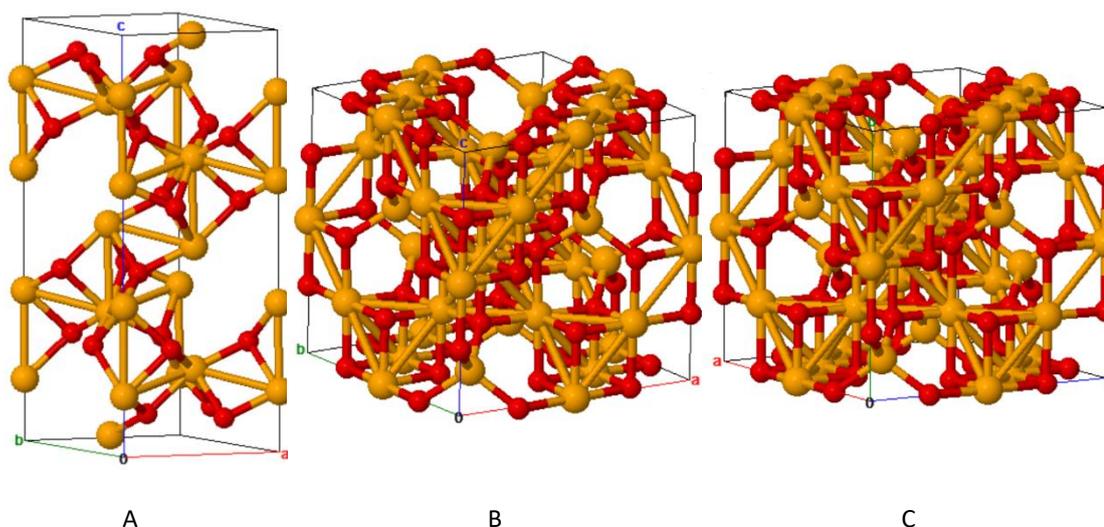


Figura IV.1.1: Estructuras cristalinas de hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), magnetita (Fe_3O_4) y maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$); A a C, respectivamente. Los átomos de O son rojos y los de Fe amarillos.

La estructura de espinela normal se ajusta a la fórmula general AB_2X_4 , donde A es un catión divalente como Mg, Mn, Fe, Co, Ni, etc., B es un catión trivalente como Al, Ga, Fe, Cr, etc. y X es O, S, Se, etc. Una celda unitaria de espinela está formada por 8 subceldas. Los aniones, normalmente oxígeno, ocupan los puntos centrales del enrejado de las subceldas. El catión divalente A ocupa un octavo de los tetraedros vacíos y el catión trivalente B ocupa la mitad de los octaedros vacíos. La fórmula general se representa como $(\text{A}^{\text{II}})^{\text{tet}}(\text{B}^{\text{III}})_2^{\text{oct}}\text{O}_4$. En una

estructura espinela invertida el ion A^{II} ocupa los octaedros vacíos mientras que los iones B^{III} ocupan los tetraedros vacíos y la mitad de los octaedros. Se ajusta a la estructura $(B^{III})^{tet}(A^{II}B^{III})^{oct}O_4$. Ejemplos de estructura de espinela inversa los tenemos en el Fe_3O_4 ($Fe^{III}(Fe^{II}Fe^{III})O_4$), $CoFe_2O_4$ ($Fe^{III}(Co^{II}Fe^{III})O_4$) y $NiFe_2O_4$ ($Fe^{III}(Ni^{II}Fe^{III})O_4$).

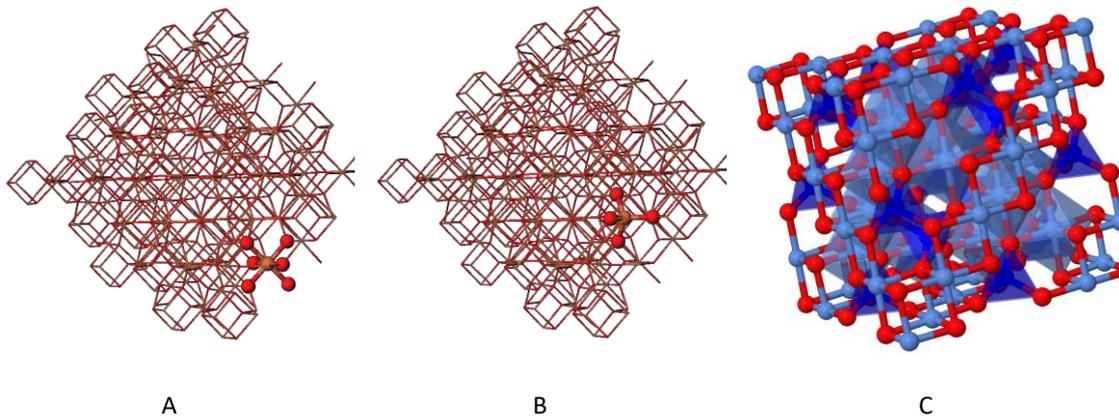


Figura IV.1.2: Estructura cristalina de la magnetita mostrando la coordinación octaédrica (A), tetraédrica (B) y ambas en forma de poliedros traslúcidos (C), donde el Fe^{2+} forma tetraedros azul oscuro y el Fe^{3+} octaedros azul claro. Las esferas rojas son átomos de oxígeno.

Una de las características más notables de estos óxidos dobles es su comportamiento magnético. Los átomos o iones que contienen electrones apareados no presentan un momento magnético permanente pero, ante un campo magnético aplicado, esos electrones precisan originando un campo magnético opuesto al campo magnético aplicado. Todos los materiales que exhiben una magnetización inducida opuesta al campo aplicado se llaman diamagnéticos. Cuando los átomos o iones desapareados muestran campo magnético permanente y bajo la influencia de un campo magnético externo tienden a alinearse en la dirección del campo se les denomina paramagnéticos.

Cuando disminuye el tamaño de partícula de los materiales paramagnéticos aparece la relación superparamagnética, donde la coercitividad y la remanencia es prácticamente nula [2, 3]. Esto es, la capacidad para resistir un campo magnético externo sin desmagnetizarse y la magnetización que queda en un material después de retirar el campo magnético externo tienden a desaparecer. En estas condiciones, al retirar el campo magnético las partículas vuelven a aparecer como sin actividad magnética (sin histéresis) y se pueden dispersar cómodamente.

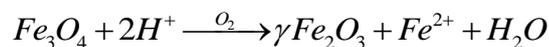
Se han propuesto muchos procedimientos para la síntesis de nanopartículas basadas en óxidos de hierro [4-6] que podemos agrupar en tres grandes categorías:

- 1) Los denominados procedimientos de abajo-arriba (down-up) en donde los iones se combinan para formar las partículas. Este bloque incluye procedimientos basados en coprecipitación, descomposición térmica, hidrotermal, solvotermal, sol-gel, pirólisis de pulverizados en llama, ultrasonidos, deposición de vapores asistidos por microondas, microemulsiones y técnicas empleando polialcoholes. De todos ellos, los más ampliamente utilizados son los cuatro primeros. Estas técnicas permiten un control eficaz del tamaño de partículas.
- 2) Los denominados procedimientos de arriba-abajo (top-down) en donde los materiales se pulverizan para formar partículas de tamaño nanométrico. En este caso, las más habituales son los de molienda mecánica y ablación láser. El principal inconveniente de estas técnicas es la dificultad de producir el tamaño de partícula y la forma deseados.
- 3) Métodos microbianos en donde las nanopartículas surgen de un proceso de biomineralización por la presencia de bacterias magnetotácticas que generan un ambiente de crecimiento cristalino ultralento. Estos métodos proporcionan alto rendimiento, buena reproducibilidad, escalabilidad y control sobre el tamaño de las partículas y la composición del material resultante.

La técnica de coprecipitación es probablemente la forma más simple y asequible de conseguir partículas magnéticas. Los óxidos de hierro (Fe_3O_4 o γ - Fe_2O_3) se preparan a partir de sales de Fe (II) y Fe (III) en medio acuoso según:



La precipitación completa del óxido ocurre a pH comprendido entre 8 y 14 con una estequiometría de 2:1 (Fe^{3+}/Fe^{2+}) en un ambiente no oxidante (exento de oxígeno). El producto de la reacción, magnetita, no es muy estable y tiende a oxidarse para formar maghemita (γ - Fe_2O_3) en presencia de oxígeno según:



Sin embargo, esta oxidación también puede producirse en medio anaerobio ligeramente ácido, en donde el Fe^{2+} superficial es retirado por la disolución como complejo hexaaquo [7].

La principal ventaja del método de coprecipitación es que se obtiene una gran cantidad de nanopartículas. Sin embargo, se dispone de poco control sobre el tamaño de las mismas. En el proceso de coprecipitación se involucran dos etapas. Así, tras un breve estallido de nucleación cuando la concentración de la especie alcanza una sobresaturación crítica, sigue un crecimiento lento de los núcleos por difusión de los solutos a la superficie del cristal. Para producir

nanopartículas de óxido de hierro monodispersas, estas dos etapas deben separarse; es decir, debe evitarse la nucleación durante el período de crecimiento. A pH menor de 11 el proceso de nucleación es más fácil, mientras que el crecimiento aumenta a pH mayor de 11.

El factor más influyente en el tamaño de las partículas obtenidas es la relación molar Fe^{2+}/Fe^{3+} [8]. El tamaño de las partículas aumenta con el valor de esta relación mientras que disminuye el rendimiento. A relaciones bajas se forma goetita que no es magnética. Solamente las partículas sintetizadas para relaciones entre 0,4 y 0,6 condujeron a propiedades magnéticas intensas.

El segundo factor más importante es la concentración total de hierro. La evolución de este factor es similar a la de la relación Fe^{2+}/Fe^{3+} con un óptimo entre 38 y 78 mM. La fuerza iónica y la acidez del medio también influyen en el tamaño de la magnetita. Cuando mayor sea el pH y la fuerza iónica, menor será el tamaño de partícula y el ancho de distribución del tamaño de partícula, ya que estos parámetros determinan la composición química de la superficie del cristal y, en consecuencia, la carga superficial electrostática de las partículas. Otros factores que también afectan al desarrollo de las partículas son la velocidad de mezcla de los reactivos, la temperatura de trabajo y el burbujeo de nitrógeno [9].

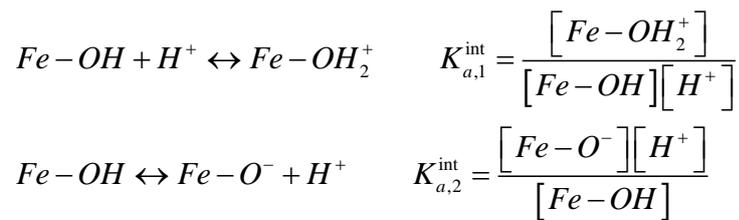
Durante la irradiación ultrasónica, se producen los fenómenos físicos de cavitación y nebulización. En la cavitación se producen burbujas en el disolvente que acumulan la energía difusa del ultrasonido; tras el colapso de la burbuja se libera una energía muy alta que calienta el contenido. Esto genera la aparición de puntos calientes transitorios donde se alcanzan temperaturas de hasta 5000 K y 1000 bares de presión, con velocidades de calentamiento ultrarápidas superiores a $10^{10} Ks^{-1}$. Complementario a la cavitación se produce el fenómeno de nebulización. Esto es la formación de una niebla a partir del ultrasonido que pasa a través del líquido y que incide en una interfase líquido-gas. Esto es la base de la pulverización ultrasónica. Estas condiciones extraordinarias facilitan una variedad de reacciones químicas, que normalmente no son accesibles, lo que permite la síntesis de una amplia diversidad de materiales nanométricos [10].

Muchos grupos de investigación han reconocido las ventajas del enfoque sonoquímico sobre los métodos convencionales en la síntesis de óxidos metálicos, incluida una distribución de tamaño más uniforme, un área de superficie más alta, un tiempo de reacción más rápido y una pureza de fase mejorada. Así, los óxidos de hierro se han sintetizados en presencia de ultrasonidos [11-13] desde distintos medios sin que fuera necesario el empleo de atmósfera inerte para evitar la oxidación de Fe (II).

En un intento de simplificar al máximo la obtención de nanopartículas magnéticas de ferrita se ha propuesto la combinación del procedimiento de coprecipitación con el empleo de ultrasonidos en atmósfera abierta [14]. En este caso la óptima formación de las nanopartículas se consigue rápidamente para una relación $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 2:1, lo que resulta completamente distinto a lo recomendado en el método de coprecipitación, donde la relación óptima es de 1:2. Los autores justifican este hecho en base a la posible oxidación de Fe (II) por el aire, lo que exige una mayor concentración para formar magnetita. De hecho, cuando se emplean relaciones 1:2 o 1:1,5 lo que se obtiene es goetita (no magnética). La formación de las nanopartículas en presencia de la muestra provoca el atrapamiento de varios iones metálicos en la estructura de la magnetita durante su formación. Las nanopartículas magnéticas formadas son superparamagnéticas, es decir, las partículas no muestran magnetismo en ausencia del campo, pero si lo hacen en presencia de un campo magnético externo. De esta forma, la fase sólida puede separarse fácilmente evitando las etapas de filtración y centrifugación.

Si las partículas se forman en el seno de la muestra, es previsible que algunos iones metálicos se puedan incorporar dentro de la estructura en espinela de la magnetita. Sin embargo, esto estaría limitado por la capacidad del ion de ocupar los huecos tetraédricos u octaédricos dado su radio iónico. Además, la formación de las nanopartículas de hierro exige un pH superior a 8 y, en esas condiciones, la mayoría de los metales están formando especies aniónicas (oxi o hidroxí). En cualquier caso, también es evidente la posibilidad de retención por adsorción superficial debido a interacción electrostática. En este sentido, a pH superior a 7 la carga superficial de la magnetita es negativa y, por tanto, se retendrán especies positivas por atracción electrostática o incluso negativas por un proceso de intercambio iónico con los grupos hidroxilo superficiales [15, 16].

A temperatura ambiente las nanopartículas de magnetita envejecen con distinta velocidad dependiendo del pH [17]. Este envejecimiento, que es menor en medio alcalino (pH= 11) se manifiesta en forma de una pérdida de saturación magnética, mucho mayor en medio ácido (pH= 2). Además, se ha registrado un cambio de pH para el potencial de carga cero desde 8 (recién sintetizadas) hasta 7, en partículas almacenadas en estado sólido o en suspensión durante varios años [18]. Cuando la magnetita se encuentra en suspensión son previsibles las siguientes reacciones:



Las constantes de estos equilibrios se han determinado experimentalmente [18] siendo:

$$\log(K_{a,1}^{int}) = 6,6 \pm 0,1$$

$$\log(K_{a,2}^{int}) = -9,1 \pm 0,1$$

Y por tanto el pH para el potencial de carga cero se calcula según [19]:

$$pH_{pzc} = 0,5 \{ \log(K_{a,1}^{int}) - \log(K_{a,2}^{int}) \} = 7,9 \pm 0,2$$

Por debajo de este pH la superficie de la magnetita está cargada positivamente con una densidad de carga creciente al disminuir el pH y aumentar la fuerza iónica del medio. Del mismo modo, a valores de pH superior al pH_{pzc} se produce una densidad superficial de carga negativa. El envejecimiento de las partículas provoca un descenso, en valor absoluto, importante en la densidad superficial de carga [18]. A valores de pH próximos al potencial de carga cero, donde la densidad de carga superficial es baja, se produce la agregación de las partículas que es tanto más acentuada cuando mayor es la fuerza iónica del medio debido a efecto de apantallamiento de los electrolitos [20].

Estas consideraciones sobre la carga superficial de las nanopartículas son importantes para intentar comprender los mecanismos de adsorción de los iones metálicos.

La mayor parte de los autores recurren a la funcionalización de la ferrita con el fin de conseguir mayor estabilidad y especificidad o evitar la formación de agregados [6, 21]. En este sentido se han propuesto recubrimientos con materiales orgánicos (desde grupos funcionales sencillos hasta biomoléculas pasando por polímeros) y materiales inorgánicos (sílice, compuestos de carbono, metales, óxidos metálicos y sulfuros) [6, 21, 22].

Las nanopartículas de magnetita con y sin funcionalización se han utilizado para la adsorción de varias especies metálicas en aguas [23-25]. En el caso de la formación de ferrita en la misma disolución que contiene los iones a retener, se han presentado resultados que indican su capacidad para separar gran cantidad de iones metálicos [14, 26, 27] con detección posterior mediante fluorescencia de rayos X. La formación de materiales compuestos de ferrita y plata con [28, 29] o sin funcionalizar [30, 31] demuestra claramente la interacción entre ambas sustancias. En lo que nosotros sabemos no se ha propuesto hasta ahora el empleo de ferrita

para la preconcentración y especiación de plata, únicamente se ha publicado un artículo relativo a la retención de plata y otros elementos en nanopartículas de ferrita recubiertas con 3-(trimetoxisilil)propan-1-tiol modificadas con bis-mercaptoacetato de etilenglicol como adsorbente [32] con detección ICP-OES.

En este trabajo se ha desarrollado un procedimiento para la síntesis rápida de nanopartículas de ferrita en condiciones muy accesibles y se han optimizado las condiciones experimentales para la especiación de Ag(I) y Ag(0) en diversos tipos de muestras.

IV.1.1.2. Empleo de Ag (I) y Ag (0) como agentes antimicrobianos

La comercialización de productos mínimamente procesados, como son la fruta y verduras (lavadas, peladas, cortadas, rebanadas o trituradas), ha crecido mucho recientemente. Si bien sus beneficios para la salud son innegables, preservar la calidad, prolongar su vida útil y garantizar la seguridad microbiana son esenciales. En ocasiones, estos requisitos se han convertido en un desafío para la industria alimentaria. De hecho gran parte de los problemas provocados por alimentos están relacionados con el consumo de productos frescos [33].

El envasado de estos productos ha pasado de lo que se conoce como pasivo (se aísla al producto de los microorganismos, el oxígeno y la luz) a lo que se denomina envase activo que incluye recubrimientos antimicrobianos, absorbentes de oxígeno, atmósfera modificada, etc. También lo podemos encontrar en forma de sobres o almohadillas colocados dentro del envase. El envasado activo es una tecnología que proporciona una interacción positiva con el producto o el entorno para ampliar la vida útil o mejorar la seguridad alimentaria [34, 35].

Sorbato potásico, benzoato sódico, parabenos, dióxido de cloro y ozono son algunos de los antimicrobianos químicos más ampliamente utilizados en la conservación de productos frescos o mínimamente procesados [33]. Con el desarrollo de la nanotecnología, el interés por los compuestos inorgánicos (como plata, cobre, zinc y oro) a nivel de nano tamaño ha aumentado.

La nanotecnología implica la fabricación y el uso de materiales con tamaños de 1 a 100 nm que tienen propiedades físicas, químicas, ópticas y biológicas únicas. El uso de nanopartículas ha brindado grandes oportunidades para el desarrollo de materiales con nuevas propiedades, como la capacidad de oxidación del etileno o la eliminación de oxígeno. Por ejemplo, el dióxido de titanio fotoactivo puede oxidar el etileno a agua y dióxido de carbono, controlar el desarrollo microbiano y actuar como un eliminador de oxígeno. Las nanopartículas de plata también se han postulado como bloqueadores de etileno en varios trabajos y como un sistema antimicrobiano

válido para mejorar la vida útil. Otras nanopartículas con propiedades antimicrobianas son óxido de magnesio, cobre, óxido de zinc y nanopartículas de oro. Estos productos se han incluido en la pared del envase y se han probado contra microorganismos transmitidos por los alimentos o bien se han usado directamente para conservar frutas y verduras, carne y productos lácteos.

La Tabla IV.1.1 muestra diferentes sustancias metálicas micro y nanoestructuradas que presentan propiedades antimicrobianas. La Administración de los Estados Unidos para los alimentos y medicamentos (FDA) aprobó el uso de nitrato de plata como aditivo alimentario en botellas de agua y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) concluyó que no existe una preocupación de seguridad para los consumidores si la migración de iones de plata no supera el límite de 0,05 mg de Ag por Kg de alimento [36]. Como se puede apreciar Cu y TiO₂ también tienen un marcado efecto microbiano. Las nanopartículas (NP) tienen un área de superficie proporcionalmente mayor que los compuestos microestructurados, lo que mejora las interacciones y el rendimiento. En concreto, las nanopartículas de plata han recibido una gran atención debido a los altos efectos biocidas en muchas especies diferentes de microorganismos [37].

Tabla IV.1.1: Agentes antimicrobianos metálicos estudiados en el envasado de productos frescos y mínimamente procesados.

Especie	Tamaño	Material	Soporte	Alimento	Microorganismo	Ref.
AgNO ₃	-	-	Polilactida	Kiwi, piña	Salmonella y felina calicivirus	[38]
Cu	-	Nanopartículas de quitosano	-	Fresa	Hongos	[39]
AgNP	10-40 nm	Alginato de calcio	Polipropileno	Zanahoria	Mesófilos y psicrotrofos, enterobacterias, pseudomonas, levaduras y mohos.	[40]
AgNP	10-40 nm	-	Polipropileno	Kiwi, piña	Mesófilos y psicrotrofos, bacterias, coliformes, bacterias de ácido láctico, levaduras y mohos	[41]
AgNP	10-40 nm	-	Celulosa	Melón, kiwi	Mesobílico aeróbico, moho y levadura.	[37]
TiO ₂	20-80 nm	-	Polietileno	Pera	Pseudomonas y rhodotorula mucilaginoso	[42]

Uno de los nanocompuestos más comúnmente utilizado para el envasado de alimentos se basa en el empleo de plata. Es bien conocida su elevada estabilidad y su fuerte toxicidad frente a una amplia gama de microorganismos [43]. La plata es antihongos, antilevaduras, antivirales y puede combinarse con polímeros no degradables y comestibles como almidón, quitosán, agar,

carboximetilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. La aplicación real de las AgNP en el envasado de alimentos está regulada por las autoridades de seguridad alimentaria de la UE y los EE.UU. de manera prudente, debido a la incapacidad de hacer declaraciones concluyentes sobre su toxicidad [44].

La eficacia antimicrobiana de una película polimérica con nanopartículas de plata está influenciada por diversos factores, como el tamaño de partícula, la distribución de tamaño, el grado de aglomeración de partículas, el contenido de plata y la interacción de la superficie de plata con el polímero [45]. La actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata puede estar relacionada con varios mecanismos, incluida la inducción de estrés oxidativo, debido a la generación de especies reactivas de oxígeno, que pueden causar la degradación de la estructura de la membrana de la célula y la liberación de iones desde la superficie de las nanopartículas que causan muerte bacteriana [46] o bien dañan las células microbianas provocando cambios en el ADN.

Se han utilizado nanopartículas de plata antimicrobianas en envases y contenedores de almacenamiento para mejorar la vida útil de diferentes productos alimenticios tanto recubriendo las bandejas [40] como en almohadillas absorbentes [47]. Los iones de plata liberados en las almohadillas absorbentes a base de celulosa en contacto con matrices vegetales se han demostrado útiles para controlar la población de microorganismos relacionados con el deterioro del producto fresco. Además, la presencia de almohadillas absorbentes cargadas con plata retardó la senescencia del material fresco, presentando crecimientos de levadura notablemente más bajos y valores Brix mucho más bajos [48]. Otros recubrimientos como polivinilpirrolidona, gel de agar y alginato de calcio condujeron a buenos resultados y además, las muestras empaquetadas con el recubrimiento activo parecían estar mejor conservadas desde un punto de vista sensorial [34].

Además de las propiedades antimicrobiales de las nanopartículas de plata también son de destacar sus propiedades como insecticida, lo que ha provocado su empleo en el sector desde hace muchos años. Recientemente, ha aumentado el interés en el uso de pesticidas inorgánicos, como los que contienen Ag NPs. Los fabricantes de estos productos anticipan que estos nuevos pesticidas tendrán una mayor eficacia en el campo, lo que posteriormente disminuirá la liberación de pesticidas a través de la deriva ambiental o de “rociado” y la escorrentía de aguas pluviales. La producción global de AgNPs se estima en 500 toneladas por año y se anticipan aumentos significativos en el futuro [49].

Es muy importante para la seguridad del consumidor evaluar los peligros y riesgos de la migración potencial de los componentes del envase a los alimentos. Se ha estudiado la migración de plata iónica o en partículas de diferentes tipos de nanocompuestos (polietileno de baja densidad, polipropileno, cloruro de polivinilo, etc.) a alimentos [43, 50, 51]. Los resultados mostraron que la migración de la plata depende del alimento y de la temperatura a la que se trate, incluso de la acidez. En medio ácido y tras calentar en horno clásico se consiguen las mayores migraciones. Sin embargo, en estos estudios encontraron que la migración de Ag siempre quedó por debajo de los límites máximos permitidos en la legislación de Unión Europea.

También se ha estudiado la localización y la especiación de plata en una planta de cultivo después de la exposición foliar. Los resultados han mostrado que las AgNPs se transfirieron en todos los tipos de tejidos. Un procedimiento de lavado con agua ligeramente acidificada no se mostró eficaz para eliminar una cantidad significativa de contaminación. Por lo tanto, las AgNPs aplicadas en los cultivos pueden transferirse potencialmente a los humanos ya que quedan retenidas o incorporadas a los tejidos vegetales. Las AgNPs bioacumuladas pueden liberarse pasando a la disolución por complejación de Ag (I) con moléculas que contienen grupos tiol. En cualquier caso, no se detectó ningún síntoma de toxicidad en las pruebas realizadas [52].

Además de por estos dos mecanismos comentados (empleo de insecticidas y envases activos), la plata puede llegar a los vegetales a través de su migración por el suelo. En efecto, el empleo de biosólidos (residuos orgánicos sólidos, semisólidos o líquidos que resultan del tratamiento de las aguas residuales) puede introducir en el suelo nanopartículas de plata sulfuradas, Ag_2S -NP. Se ha encontrado que la absorción de plata por parte de la planta del suelo modificado con biosólidos que contenían Ag_2S -NP fue muy baja [53]. Sin embargo, la fertilización con tiosulfato de amonio y cloruro de potasio aumenta significativamente las concentraciones de plata en las raíces y brotes de las plantas. La extensión del efecto depende del tipo de plata, siendo muy baja la biodisponibilidad si se encuentra como Ag_2S -NP. El riesgo potencial de AgNPs en suelos es bajo; incluso en las plantas que tenían las concentraciones más altas de plata (Ag^+ + tiosulfato), solo el 0,06% de la plata añadida se encontró en las partes comestibles de las plantas. Este estudio sugiere que el riesgo potencial de AgNPs para las plantas es muy bajo.

Todos estos antecedentes demuestran la importancia actual de disponer de procedimientos analíticos de elevada sensibilidad que permitan la determinación de plata, y si es posible la discriminación entre $Ag(0)$ y $Ag(I)$ a muy bajos niveles. En este apartado se presenta el estudio realizado por nuestra parte para poner a disposición de cualquier laboratorio un procedimiento para tal finalidad. Como se verá a continuación, la combinación de un procedimiento de

microextracción dispersiva en fase sólida con ETAAS consigue el propósito con sensibilidad extrema.

IV.1.2. Parte experimental

IV.1.2.1. Instrumentación

Se ha utilizado un espectrómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer modelo 600 (Perkin-Elmer, Shelton, USA) como el que se muestra en la Figura IV.1.3 equipado con un sistema de corrección de absorción de fondo basado en el efecto Zeeman. El equipo consta además de un atomizador para tubos de grafito de calentamiento transversal (THGA) y un automuestreador modelo AS-800. Los tubos de grafito pirolítico utilizados disponen de plataformas de L'Vov y se compraron directamente al fabricante del equipo (referencia B050-4033). Se utilizó gas argón como gas inerte a un flujo constante de 250 mL min^{-1} en todas las etapas del programa de calentamiento, excepto durante la de atomización, en la que el flujo de gas interno se detuvo. Las medidas se realizaron utilizando una lámpara de cátodo hueco de plata (Perkin Elmer) como fuente de radiación. Los parámetros instrumentales aparecen resumidos en la Tabla IV.1.2.

Tabla IV.1.2: Parámetros instrumentales y programa de calentamiento

Parámetro			
Corriente de la lámpara, mA	8		
Longitud de onda, nm	328,1		
Rendija, nm	0.7		
Atomizador	Transversal con plataforma de L'Vov		
Volumen de muestra inyectado, μL	20		
Modificador químico	20 μL de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ de 500 mg/L		
Volumen de muestra, mL	10		
Programa de calentamiento			
Paso	Temperatura, $^{\circ}\text{C}$	Rampa, $^{\circ}\text{C/s}$	Mantenido, s
1: Secado	110	10	20
2: Secado	130	15	30
3: Calcinación	400	10	20
4 ^a : Atomización	1900	0	5
5: Limpieza	2450	1	3
^a Flujo de argón 250 mL min^{-1} en todos los pasos, excepto durante atomización, donde el flujo de gas se detuvo.			
Secuencia para la determinación de plata			
A	Pipeteo 10 μL de modificador químico y se aplican los pasos 1 y 2 del programa de horno.		
B	Se inyectan 20 μL de muestra y se aplica el programa completo		

Los imanes permanentes compuestos de Nd-Fe-B fueron suministrados por Supermagnete (Gottmadingen, Alemania). Para las separaciones analíticas, el imán era un solo bloque (50 x 15x 15 mm y 86 g de peso) con una resistencia de 33 kg. Para la separación de nanopartículas durante la preparación del material magnético, se utilizó un disco (35 mm de diámetro, 20 mm de espesor y 150 g de peso) con una resistencia de 38 kg. Para el tratamiento con ultrasonidos se utilizó un baño de ultrasonidos ATU modelo ATM 40-0.7LC (Valencia, España) de 50 W a 40 kHz. La homogeneización del coacervado tras la separación se realizó con un accesorio vortex, modelo Reax de Heidolph (Germany). El tamaño de partícula se estudió con un instrumento Malvern Zetasizer nano zsp (Inglaterra). Para el estudio de microscopía electrónica se utilizó un equipo JEOL modelo JSM-6100 (Peabody, MA, USA).



B

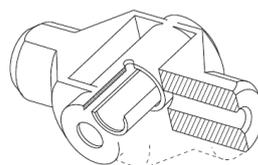


Figura IV.1.3: Detector (A) y tubos de grafito pirolítico con calentamiento transversal. Se muestra un dibujo esquemático del atomizador para que se aprecie la forma de la plataforma de L'Vov (B).

IV.1.2.2. Reactivos

Se utilizó exclusivamente agua pura (18 M Ω .cm resistividad) que se obtuvo de un sistema Millipore (Millipore, Bedford, MA). Para evitar la contaminación, el material de vidrio se lavó con ácido nítrico al 10 % (v/v) y después se aclaró con agua antes de su uso. Peróxido de hidrógeno del 30% v/v, ácido fluorhídrico del 40 % v/v, hidrogenocarbonato de sodio, hidróxido amónico y nitrato de paladio (II) de 10 g L⁻¹ de alta calidad fueron usados como reactivos y se obtuvieron de Sigma (St. Louis, MO, EE.UU.). El ácido nítrico (65 %) se obtuvo de Merck (Darmstadt, Alemania). Las suspensiones estándar de AgNPs (0,02 mg mL⁻¹) se obtuvieron de Sigma (20 nm de tamaño de partícula en disolución acuosa que contiene citrato de sodio como estabilizador). La disolución estándar de plata se preparó a partir de nitrato de plata de Sigma Aldrich a la concentración de 1 g L⁻¹ en HNO₃ al 1%. Las disoluciones 0,2 M de FeCl₂·4H₂O y 0,1 M de FeCl₃·6H₂O se prepararon en agua. El resto de los productos químicos usados se obtuvieron de Sigma.

IV.1.2.3. Muestras estudiadas

Una vez optimizado el procedimiento se analizaron cuatro muestras de agua. Una de ellas proviene de los surtidores de agua potable de nuestro laboratorio. Las otras tres muestras son de agua mineral que se compraron en supermercados locales. Para comprobar la fiabilidad de los resultados obtenidos, se analizó también el material de referencia estándar SRM- 1640A (agua natural) que se obtuvo del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, Gaithersburg, MD) y los materiales de referencia certificados TM-23.4 y TM-25.4 de Environment Canada y que corresponden a muestras de agua con elementos traza fortificadas. Los productos antibacterianos que contienen AgNPs comerciales (bayetas y estropajos) fueron adquiridos de los supermercados locales y tiendas de productos farmacéuticos. Las diez muestras de ensaladas comerciales y la de espinacas se compraron en supermercados locales y corresponden a productos comerciales embolsados en atmósfera de conservación.

IV.1.2.4. Síntesis del material adsorbente

Las partículas magnéticas de ferrita se obtuvieron con el siguiente procedimiento. En un tubo de centrifuga de fondo cónico se añaden 10 mL de agua, 0.1 mL de la disolución de FeCl₂·4H₂O 0,2 M y 0.1 mL de FeCl₃·6H₂O 0,1 M. Se mezclan y se coloca en el baño termostático ajustado a 60 °C durante 5 min. A continuación, se añaden 40 μ L NH₄OH concentrado, se mezcla y se aplica

ultrasonidos durante 4 min. Pasado este tiempo se separan de la fase acuosa con ayuda del imán y se lavan con dos porciones de 1 mL de agua. Las partículas así obtenidas se encuentran listas para utilizarse en el procedimiento propuesto.

IV.1.2.5. Procedimiento propuesto

La muestra se ajusta a pH = 8 con ayuda de hidrogenocarbonato sódico sólido o pequeños volúmenes del mismo 1 M. Se colocan 10 mL de muestra en el tubo donde se han sintetizado las partículas de ferrita. Se agita para favorecer el contacto durante 10 s y se aplica el imán para coleccionar el material adsorbente. Se desecha el líquido sobrenadante y se lavan las partículas dos veces con 1 mL de agua con ayuda del imán para la separación. Sobre el material adsorbente se añaden 100 µL de agua y con ayuda de un vortex se forma una suspensión que se transfiere a un tubo eppendorf. Con ayuda del imán se separa el líquido sobrenadante que se desecha. Sobre el material adsorbente se añaden 100 µL de una mezcla de HF y HNO₃ al 80% y 4% (v/v), respectivamente, preparados a partir de los productos comerciales. Al aplicar vortex unos pocos segundos la ferrita se disuelve y el líquido resultante se encuentra en condiciones de llevarse al detector aplicando el programa de calentamiento que aparece en la Tabla IV.1.2. La señal medida en el detector resulta proporcional a la concentración de Ag (I) ya que Ag(0) no se retiene a este pH.

Para conseguir determinar el contenido de plata total es preciso oxidar Ag(0). Para ello se toman 10 mL de muestra que se ajustan a pH= 8 con NaHCO₃. La oxidación se completa tras la adición de 25 µL de H₂O₂ al 30% (v/v) en 15 min. Para eliminar el exceso de oxidante se calienta a 80 °C durante 30 min con ultrasonidos. Una vez enfriada la muestra se encuentra en condiciones de ser utilizada con el procedimiento recomendado arriba. El contenido de plata medido en el detector corresponde al contenido total de plata, por diferencia conoceremos el de Ag(0).

IV.1.2.6. Tratamiento de las muestras estudiadas

Las muestras de agua se microfiltraron por 0,45 µm y se almacenaron a 4°C hasta su análisis que siempre fue antes de tres días.

Los lixiviados de bayetas, estropajos y apósitos de enfermería se obtuvieron a partir de 16 recortes en porciones cuadradas de 1 x 1 cm de los materiales que se sumergieron en 100 mL de agua durante 45 min a 40 °C. El líquido remanente se microfiltró y se trató como se indica en el procedimiento recomendado.

Para obtener el lixiviado de Ag(I) y Ag(0) de las muestras comerciales de ensalada se abrió la bolsa e introdujeron 50 mL de agua. A continuación, la bolsa se selló y se mantuvo en un agitador de vaivén durante 4 horas. Transcurrido este tiempo se recuperó el lixiviado que se sometió al procedimiento para la determinación de estas especies. Para determinar el contenido total de plata en la hoja se tomaron 50 g de material que se secaron a 120 °C durante 24 h. Estas muestras se molieron y se tomaron 0,5 g que calcinaron en horno de mufla a 600 °C hasta reducirlos a cenizas. Se añadió 1 mL de H₂O₂ al 30% y se calentó suavemente en placa calefactora hasta que cesó la efervescencia. Seguidamente se añadió 1 mL de HNO₃ concentrado y se calentó suavemente hasta casi sequedad. Finalmente se añadieron 10 mL de agua y se calentó suavemente hasta disolución completa. El contenido total de plata se determinó con el empleo de ETAAS.

IV.1.3. Resultados y discusión

Como ya hemos comentado, los procedimientos más habituales para la síntesis de nanopartículas de óxido de hierro magnéticas son el de coprecipitación y el de descomposición térmica. Cuando se emplea el procedimiento de coprecipitación se mezclan Fe (II) y Fe (III) en proporción 1:2 y atmósfera inerte. Se aumenta el pH hasta 8 con la adición de hidróxido amónico o sódico y se mantienen en incubación durante varias horas. El resultado es la obtención de partículas negras fuertemente magnéticas [4, 54]. Una variante de este procedimiento consiste en el empleo de ultrasonidos a temperatura ambiente para conseguir la síntesis en medio alcalino [14, 26, 27]. De esta forma se acorta el proceso de síntesis. Sin embargo, la relación Fe (II): Fe (III) óptima pasa a ser de 2:1, ya que al no realizarse en un ambiente exento de oxígeno hay una parcial oxidación de Fe(II) a Fe(III). En nuestro caso hemos sustituido el empleo de un sonotrodo en forma de cuerno de copa y temperatura ambiente por un baño de ultrasonidos con agua a 60 °C. El tratamiento con ultrasonidos durante 5 min permite obtener un precipitado negro de nanopartículas de óxido de hierro que presentan fuerte magnetismo. La síntesis apenas dura unos minutos y las partículas obtenidas muestran una distribución de tamaños como la que aparece en la Figura IV.1.4.

Cuando se trabaja con agua destilada las nanopartículas de óxido de hierro se pueden obtener mezclando 20 μmoles de Fe (II) y 10 μmoles de Fe (III) en 10 mL de agua. Tras calentar a 60 °C se añaden 25 μL de hidróxido amónico concentrado y se someten a ultrasonidos durante 5 min. Las nanopartículas formadas se separan fácilmente con el empleo de un imán Nd-Fe-B (disco de 35 mm de diámetro, 20 mm de alto y magnetización N45, de Supermagnete). Sin embargo, cuando se emplea una disolución acuosa con mayor fuerza iónica estas cantidades de

hierro y amoníaco no son suficientes y el precipitado gelatinoso formado no evoluciona a ferrita. En estas condiciones de fuerza iónica es necesario añadir más cantidad de todos los reactivos. Así, por ejemplo, para una fuerza iónica $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ resulta preciso el empleo de 60 y 30 μmoles de Fe (II) y Fe (III), respectivamente, así como 100 μL de hidróxido amónico concentrado. Así se consigue la formación de una mayor cantidad de nanopartículas. Otros autores han utilizado también cantidades superiores de reactivos [14, 26, 27] para la formación in situ de nanopartículas de ferrita en medios de elevada fuerza iónica. En este sentido, se ha propuesto el empleo de 40 y 20 μmoles de Fe (II) y Fe (III) y 1,3 mL de NH_4OH concentrado por cada 10 mL de disolución para conseguir la formación de nanopartículas de ferrita al tiempo que se atrapan gran cantidad de iones metálicos presentes en el medio. Tras la separación de las nanopartículas se consigue determinar el contenido de los iones mediante fluorescencia de rayos X [14, 26].

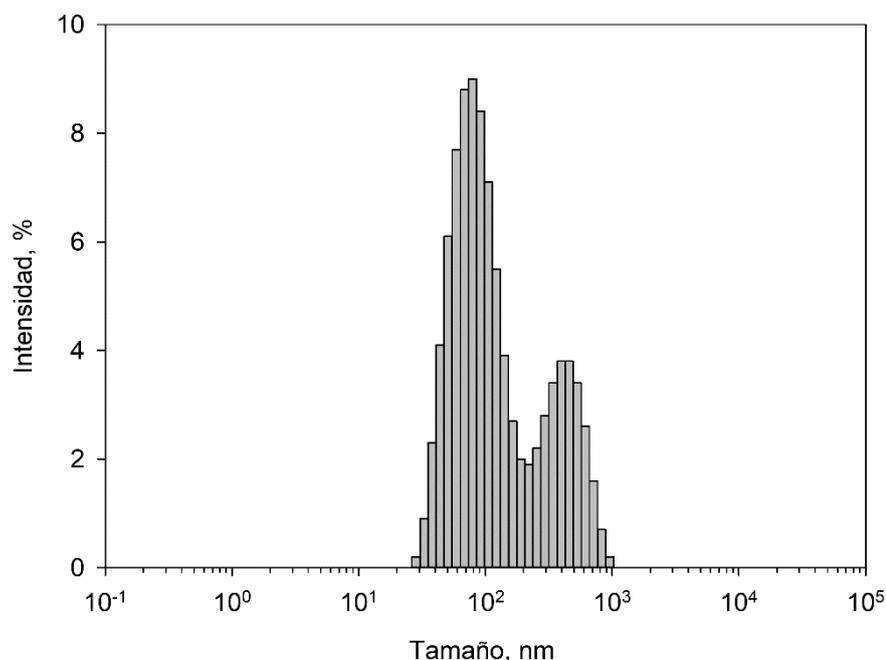


Figura IV.1.4: Estudio del tamaño de partículas de la ferrita obtenida por el procedimiento recomendado.

En nuestro caso queremos aprovechar las excelentes características de las nanopartículas de óxido de hierro (sencillas de sintetizar, con el empleo de reactivos asequibles, de fácil separación debido a su fuerte magnetismo, etc.) para preconcentrar Ag(I) y Ag(0) desde disoluciones acuosas como una técnica de microextracción en fase sólida dispersa y, posteriormente, llevar a cabo la retroextracción en un pequeño volumen. Finalmente, la cuantificación se realizará por ETAAS.

IV.1.3.1. Efecto del pH en la retención de Ag(I) y Ag(0)

Las Fe_3O_4 NPs sintetizadas, como se ha indicado, se lavan con dos porciones de agua de 1 mL que se separan del sólido tras aplicar campo magnético por decantación y con ayuda de una micropipeta. Si sobre estas partículas recién sintetizadas se añaden 10 mL de agua y se agita, tras aplicar el imán la disolución toma un ligero color marrón consecuencia de la incompleta separación de las nanopartículas de Fe_3O_4 . Esto es consecuencia de la falta de electrolitos que ayuden a la coagulación y de esta forma facilitar la separación magnética. La simple adición de una pequeña cantidad de electrolito como 25 mg de hidrogenocarbonato de sodio es suficiente para conseguir el efecto que se aprecia en la Figura IV.1.5.



Figura IV.1.5: Efecto del cambio de la fuerza iónica en la capacidad de recoger las partículas de ferrita obtenidas por el procedimiento recomendado.

Se ha medido el potencial de carga zero de las partículas sintetizadas a distintos valores de pH. La Figura IV.1.6 muestra los resultados obtenidos. Como puede apreciarse, el potencial zeta de la superficie de la partícula de ferrita se mantiene en valores positivos hasta un pH de aproximadamente 8, tal y como se había comentado en la introducción. A valores superiores, el potencial zeta se hace negativo. Estas medidas se realizaron en disolución acuosa y el pH se ajustó con el empleo de ácido nítrico e hidróxido sódico diluidos. Cuando en el medio existe la presencia de carbonato, el potencial zeta cambia ligeramente y a pH = 8 muestra un valor de -23.5 mV.

Se ha comprobado que estas partículas recién sintetizadas son capaces de retener tanto Ag(I) como Ag(0) en una extensión que depende del pH del medio, de forma que podemos conseguir condiciones selectivas. En efecto, como se aprecia en la Figura IV.1.7, donde se ha realizado un estudio entre pH 3 y 11 con el empleo de distintas disoluciones reguladoras, a pH próximo a 8 se puede conseguir la retención cuantitativa de Ag(I) mientras que la de Ag(0) no resulta significativa. Hemos comprobado que la adición de 0,3 mmoles de NaHCO₃ a 10 mL de disolución es suficiente para ajustar el pH a 8. Esto equivale a la adición de 300 µL de una disolución 1 M a los 10 mL de muestra. Valores de pH inferiores a 4 y superiores a 10 no son adecuados porque se produce la parcial redisolución de las nanopartículas de ferrita.

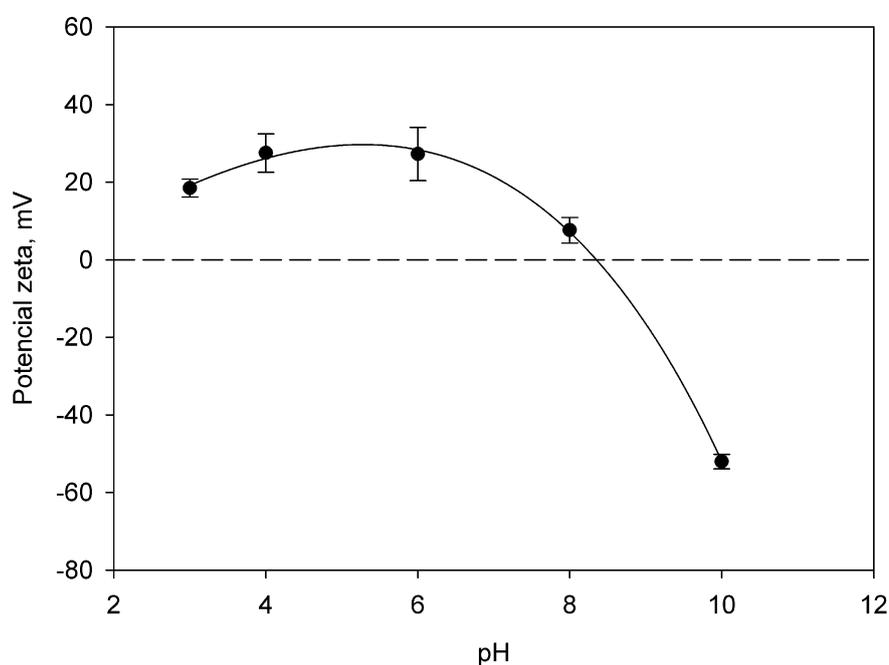


Figura IV.1.6: Efecto del pH en el potencial zeta de las partículas de ferrita sintetizadas aplicando el procedimiento propuesto.

IV.1.3.2. Efecto de la masa de Fe₃O₄NPs en la retención de Ag(I) y Ag(0)

La preparación de las nanopartículas de ferrita en la forma recomendada conduce a la formación de 2,2 mg de material que se utilizan para la retención de especies de nuestro interés. Se estudió la cantidad de material necesario con el fin de conseguir retenciones cuantitativas. Para ello se prepararon suspensiones del material de las que se tomaron distintos volúmenes que se utilizaron para estudiar la retención de 10 mL de Ag (I) de 20 µg/L de concentración. Para la obtención de cantidades superiores de material se recurrió al empleo de cantidades superiores y proporcionales de Fe (II) y Fe (III) durante la síntesis. La Figura IV.1.8 muestra los

resultados obtenidos. Como puede apreciarse, a partir de 1,3 mg de material la extracción es máxima y constante. Nótese además que la concentración ensayada es adecuada para seguir el descenso de la concentración de plata en la fase acuosa, pero resulta excesiva cuando lo que se quiere medir es la plata retenida en el sólido. Por tanto, entendemos que una cantidad de 2,2 mg, obtenida aplicando el procedimiento propuesto, es suficiente para conseguir resultados cuantitativos.

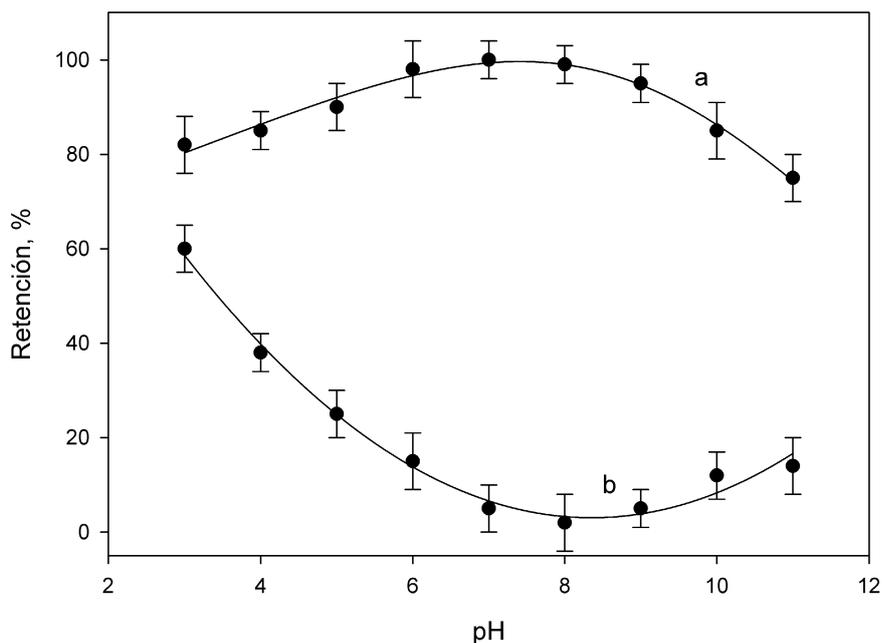


Figura IV.1.7: Efecto del pH en la retención de 20 µg/L de Ag (I) y Ag (0), curvas a y b, respectivamente.

IV.1.3.3. Estudio por microscopía de barrido electrónico de las Fe₃O₄NPs sintetizadas

Se ha realizado un estudio morfológico de las nanopartículas sintetizadas con ayuda de la microscopía de barrido electrónico. Se realizaron sobre suspensiones al 0,022 % (m/v). Las muestras se colocaron en portas de aluminio pulido con carburo de silicio y la muestra se recubrió con platino. La Figura IV.1.9 muestra el aspecto que presentan las partículas antes y después del proceso de microextracción. Como puede apreciarse el aspecto morfológico es similar al que se aprecia cuando las partículas muy pequeñas se depositan y el sedimento se seca. Las Figuras IV.1.10 y IV.1.11 muestran el análisis espectrográfico obtenido a partir de los rayos X generados en la porción de muestra marcada en las figuras, antes y después de retener

Ag (I). Como puede apreciarse se detecta claramente la presencia de plata en el espectro de energía dispersa.

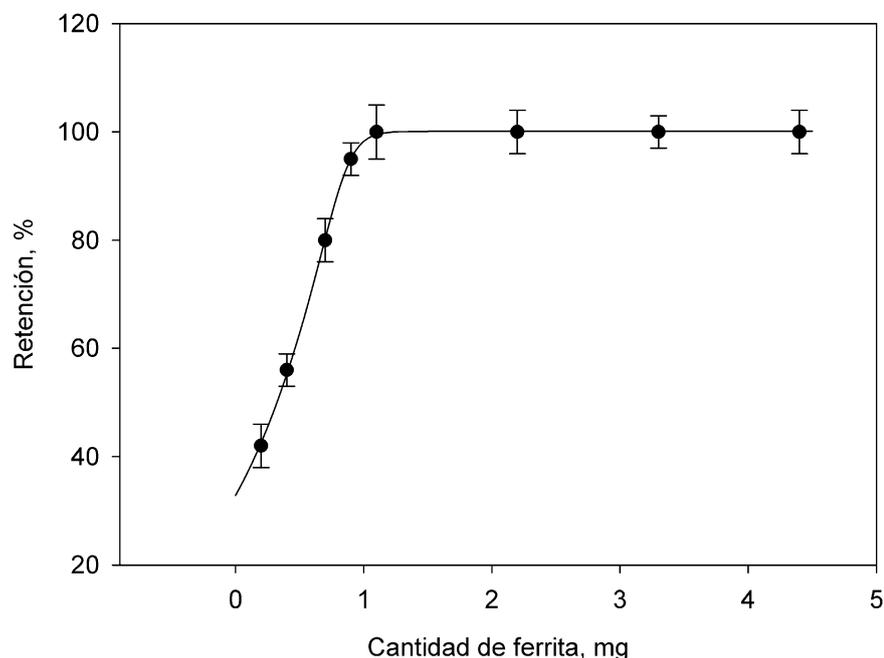


Figura IV.1.8: Efecto de la cantidad de ferrita en la retención de 20 µg/L de Ag(I) aplicando el procedimiento propuesto.

IV.1.3.4. Especiación de Ag (I) y Ag (0)

No ha sido posible encontrar un valor de pH para conseguir la retención cuantitativa de Ag (0). Por tanto, se consideró la oxidación de Ag (0) a Ag (I) a pH= 8 con el fin de introducir la menor cantidad de reactivos en el procedimiento. Los mejores resultados se obtuvieron con el empleo de peróxido de hidrógeno. En efecto, la adición de una pequeña cantidad de H₂O₂, 25 µL del 30%, permite obtener la oxidación completa en menos de 15 minutos. La Figura IV.1.12 muestra la evolución del porcentaje de extracción con el tiempo de contacto entre Ag (0) y el H₂O₂. Como puede apreciarse, 15 minutos de contacto son suficientes para conseguir la oxidación cuantitativa de Ag (0). Sin embargo, el peróxido de hidrógeno genera unas pequeñas burbujas que impiden la completa separación de la fase acuosa de las nanopartículas de ferrita porque las agitan desde el fondo del tubo, a pesar de la acción del campo magnético. Para conseguir la eliminación completa del peróxido sin necesidad de modificar el pH se ha recurrido a calentar la muestra a 80 °C durante 30 minutos en un baño termostático aplicando ultrasonidos.

IV.1.3.5. Determinación de la plata retenida en las nanopartículas de ferrita

Hasta ahora las determinaciones de plata se realizaron sobre las disoluciones acuosas tratadas con las nanopartículas de ferrita para conseguir su adsorción. El siguiente paso es tratar el material sólido con un microvolumen de disolución adecuada para conseguir la transferencia de los iones de plata retenidos en las nanopartículas de ferrita a esa nueva fase acuosa y, con ello, la preconcentración final del analito.

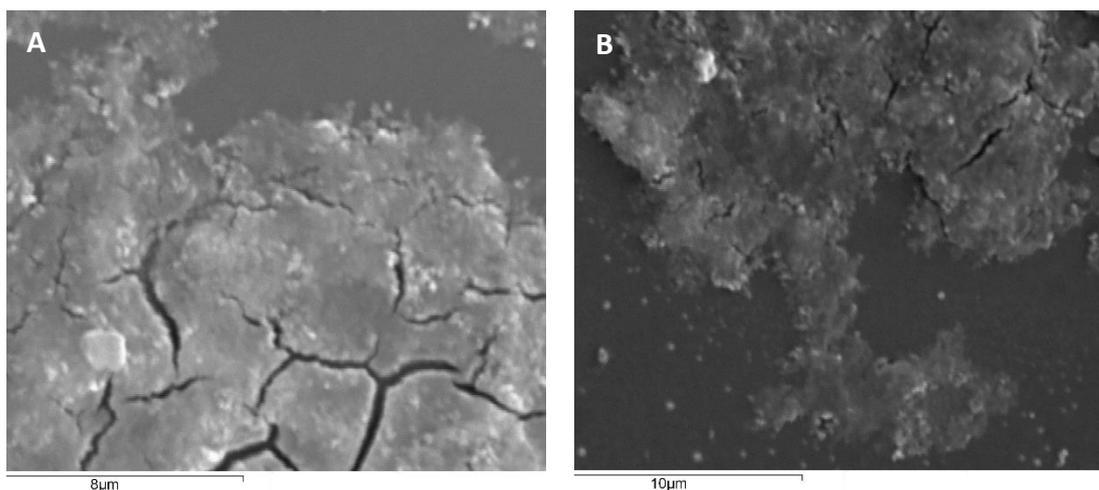
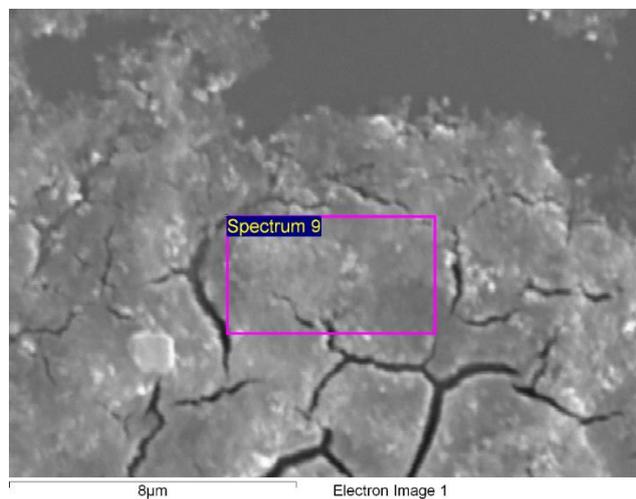


Figura IV.1.9: Fotografías del estudio SEM realizado a suspensiones de ferrita antes (A) y después (B) de retener Ag(I).

Elemento	Peso,%	Atómico, %
O K	26.73	47.58
Na K	6.78	8.39
Mg K	1.45	1.70
Si K	31.26	31.69
Ca K	6.85	4.87
Fe K	21.56	10.99
Ag L	-0.31	-0.08
Pt M	8.23	1.20



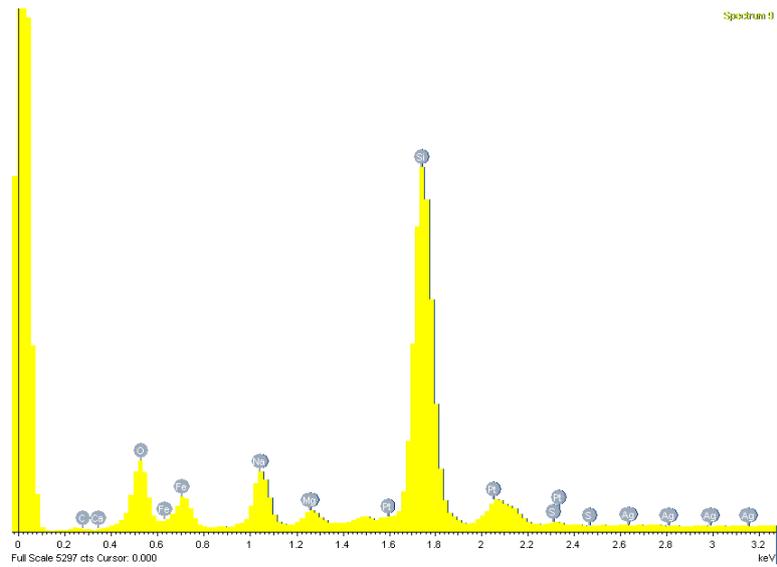
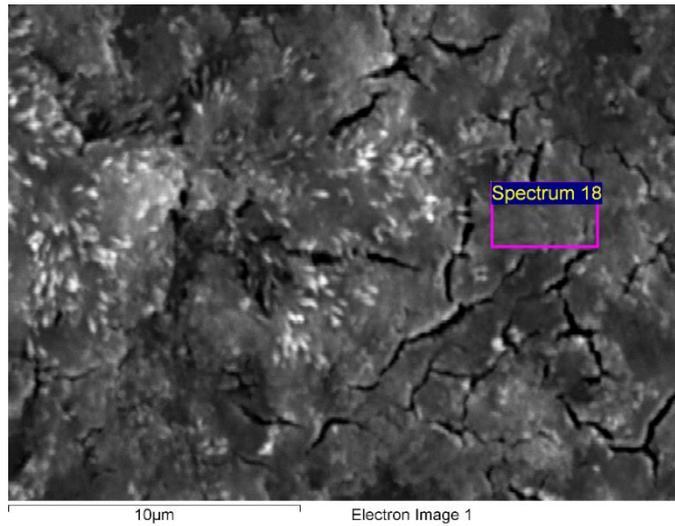


Figura IV.1.10: Composición obtenida por EDX de la zona marcada en partículas de ferrita antes de retener Ag(I)

Elemento	Peso, %	Atomico, %
O K	25.17	38.64
Na K	6.30	6.63
Mg K	1.23	1.24
Si K	23.17	20.26
Ca K	5.10	3.12
Fe K	23.25	10.22
Ag L	2.31	2.08
Pt M	6.45	0.81



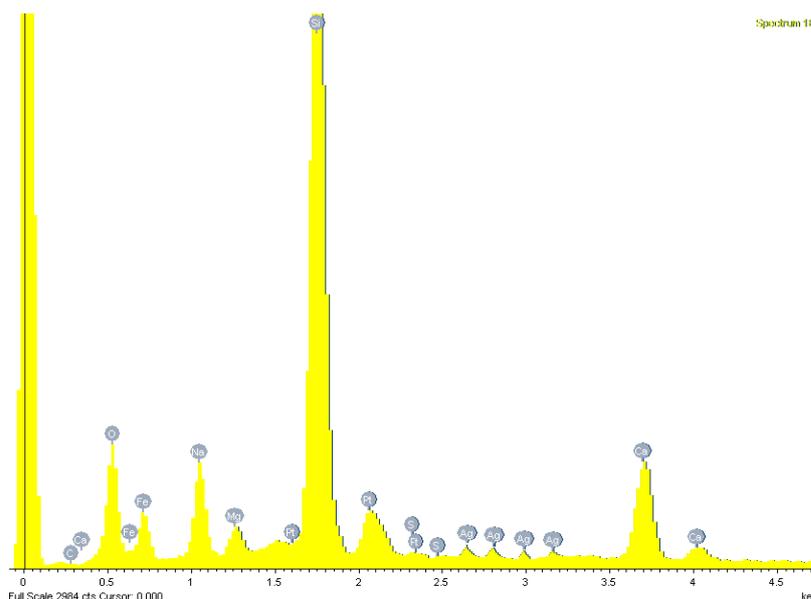


Figura IV.1.11: Composición obtenida por EDX de la zona marcada en partículas de ferrita después de retener Ag(I).

Sin embargo, al intentar la retroextracción de plata a una fase acuosa en medio ácido, encontramos elevados valores de señal tanto en medio nítrico como clorhídrico. Estos valores son aún mucho más altos si lo que se introduce en el atomizador es una suspensión de las partículas en esos medios. La Figura IV.1.13 muestra las señales obtenidas en la introducción de 10 μL de suspensión correspondiente a un ensayo en blanco preparada en 100 μL en distintos medios. Como se puede apreciar, cuando el medio de suspensión es agua (gráfica A) la señal atómica corregida por el efecto Zeeman es muy elevada y la de fondo también. Estas señales disminuyen en medio HNO_3 al 3% (v/v) (gráfica B) y mucho más en medio HF al 8% (v/v) preparado a partir del ácido comercial concentrado (gráfica C). En este último caso, la ferrita se disuelve y la suspensión desaparece para dejar un medio líquido homogéneo. En medio fluoruro el ion Fe (III) forma tres complejos: FeF^{2+} , FeF_2^+ y FeF_3 con constantes sucesivas de formación, de 10^5 , $10^{3,9}$ y 10^3 , respectivamente. La Figura IV.1.14 muestra la distribución de las distintas especies. Claramente, a las concentraciones de HF utilizados, la forma predominante será FeF_3 .

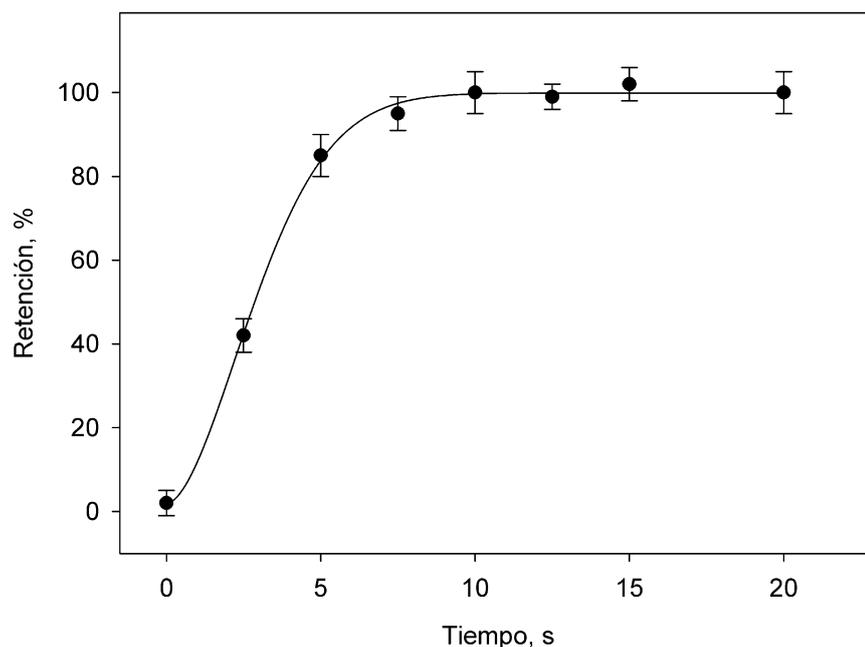


Figura IV.1.12: Efecto del tiempo de contacto entre la muestra conteniendo 20 $\mu\text{g/L}$ de $\text{Ag}(0)$ y el medio oxidante en la magnitud de la oxidación y en consecuencia en la retención de la $\text{Ag}(I)$ en el material adsorbente.

En principio se pensó que la interferencia se podía deber a la presencia de hierro en el atomizador con la inyección de suspensiones. Se pensó que podía producirse un solapamiento de bandas que el corrector Zeeman no fuera capaz de separar. Sin embargo, los estudios realizados concluyeron que la introducción de 1000 $\mu\text{g/L}$ de $\text{Fe}(III)$ en el atomizador no conduce a señal medible a la longitud de onda de resonancia de la plata. Además, la señal debido a hierro medida a la longitud de onda del hierro no disminuye por la presencia de HF . Debemos por tanto pensar que se trata de una interferencia molecular [55]. En el caso del empleo de HCl , la ferrita de la suspensión también se disuelve, pero mucho más lentamente, necesita al menos 24 horas. Sin embargo, tras su disolución la señal para el ensayo en blanco sigue siendo muy importante (Figura 13-E).

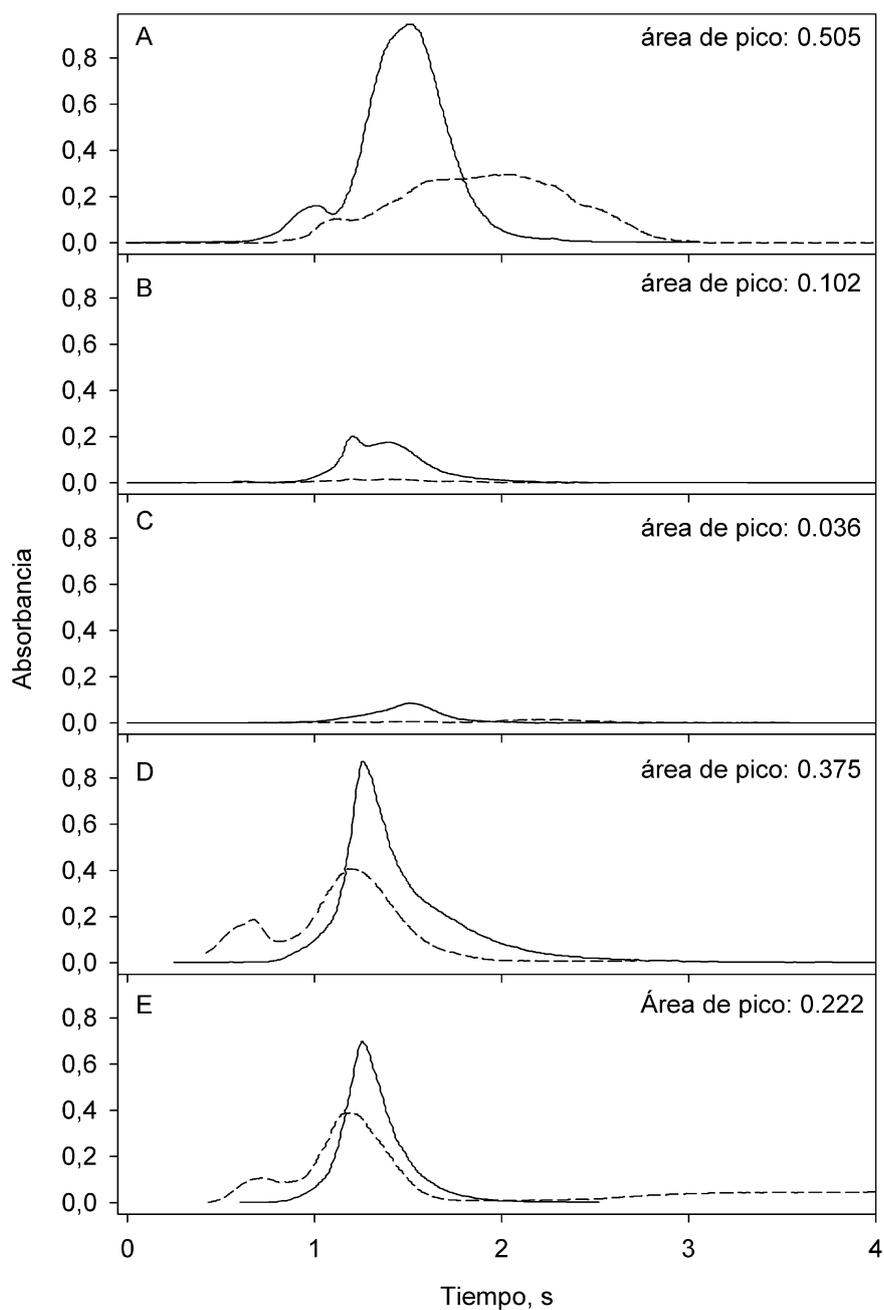


Figura IV.1.13: Perfiles de señal obtenidos en la inyección de suspensiones de un ensayo en blanco preparadas en agua, HNO_3 al 3%, HF al 8%, HCl al 10% v/v y en las mismas condiciones tras 24 h (gráficas A-E, respectivamente). En todos los casos la línea continua corresponde a la señal atómica corregida y la discontinua a la señal de fondo. El área de pico obtenido para la señal atómica aparece en la gráfica.

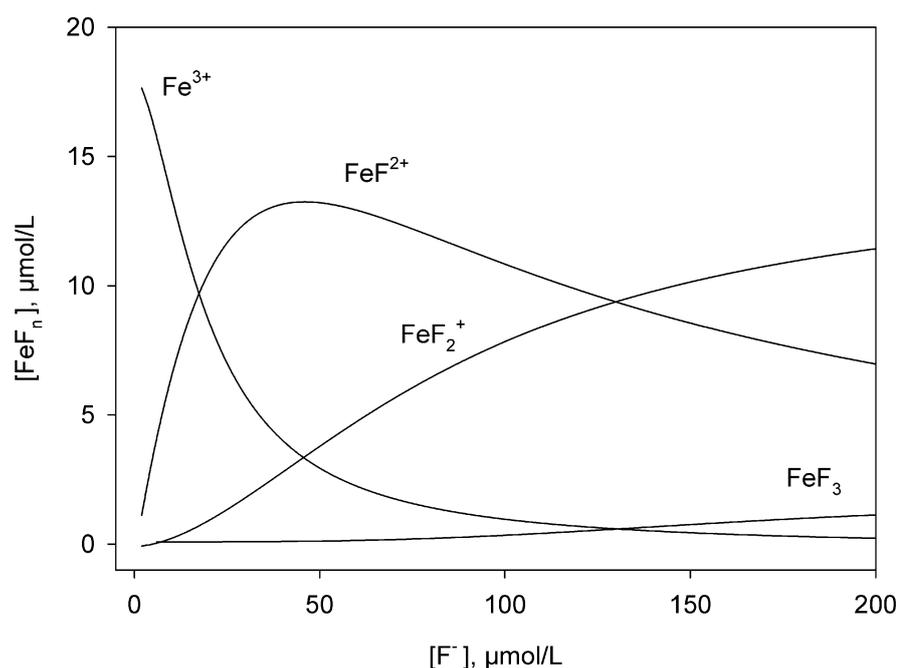


Figura IV.1.14: Distribución de los distintos compuestos fluorurados de Fe (III) en función de la concentración total de fluoruro en el medio. Tomado de Sillen, L.G. and Martell, A.E., Stability constant of Metal-ion Complexes, The Chemical Society, London, (1964).

Se estudió el efecto del empleo de distintas temperaturas de atomización y calcinación en la señal del ensayo en blanco. La Figura IV.1.15 muestra cómo cambia la señal para el ensayo en blanco preparada usando agua como medio de suspensión al cambiar la temperatura de atomización. Nótese que al aumentar la temperatura de atomización se produce un adelantamiento de la señal, cosa habitual y un descenso importante a partir de 1800 °C (gráficas B-D). Sin embargo, la señal obtenida sigue siendo muy elevada y no se resuelve el problema ya que no se consigue descomponer a la especie absorbente.

Algo parecido ocurre con la temperatura de calcinación. El aumento de la temperatura de calcinación desde 400 °C hasta 800 °C no resuelve el problema si bien disminuye, aunque no en la medida deseada, la señal para el ensayo en blanco.

Finalmente se ensayó el empleo de otra longitud de onda de medida para la plata para ver si esta señal del ensayo en blanco no se producía. En este sentido se ensayó la línea de 338,3 nm que presenta una masa característica de 0,04 mg L⁻¹ frente a 0,02 mg L⁻¹ que se obtiene a la línea de resonancia de 328,1 nm. Los estudios realizados concluyen que a 338,3 nm la interferencia espectral se sigue produciendo y no desaparece con el cambio de las temperaturas de calcinación y/o atomización y solamente disminuye con el empleo de HF. En efecto, como se

puede apreciar en la Figura IV.1.16, el aumento de la temperatura de calcinación apenas afecta a la señal medida a 383,3 nm.

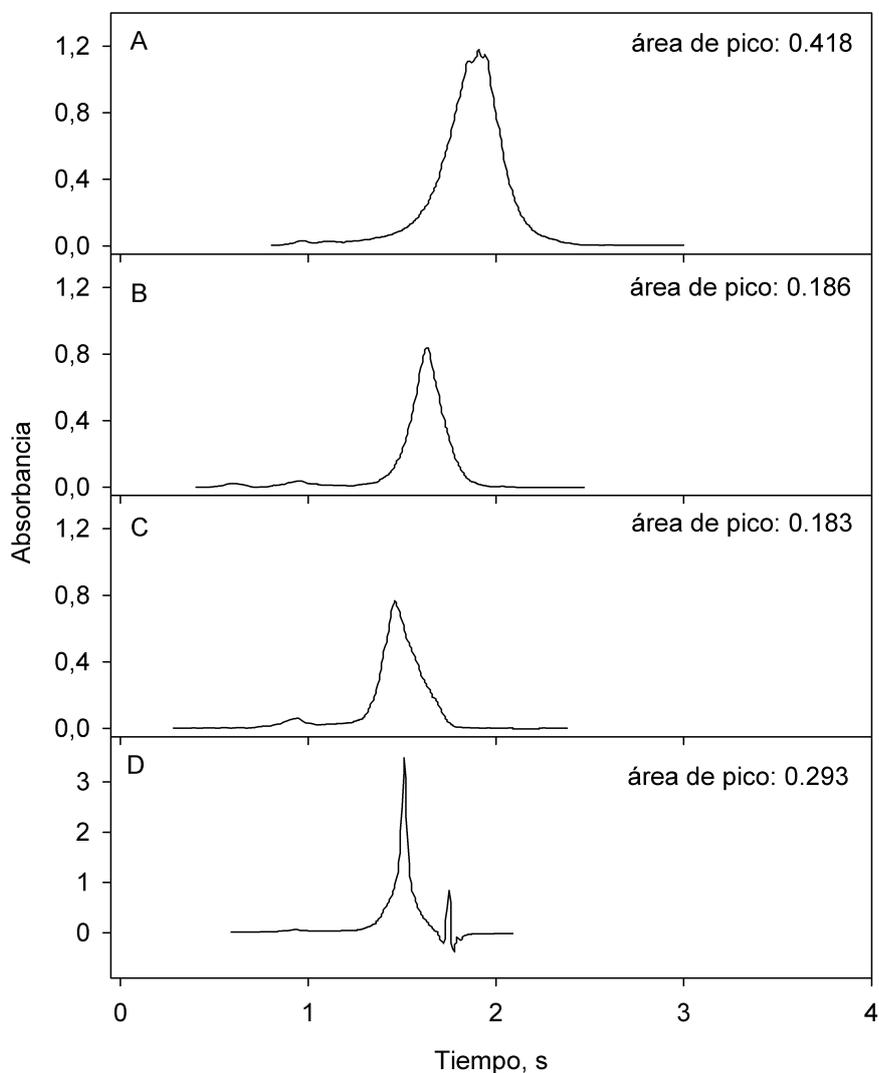


Figura IV.1.15: Efecto de la temperatura de atomización en la señal de un ensayo en blanco donde la suspensión se realizó en agua. Las gráficas A-D se obtuvieron a 1600, 1800, 2000 y 2400 °C, respectivamente.

Cuando se estudió el comportamiento de las suspensiones en medio HF a estas dos longitudes de onda se comprobó que las mejores condiciones se obtienen con el empleo de la longitud de onda de 328,1 nm. En efecto, como se puede apreciar en la Figura IV.1.17 la señal tanto para el ensayo en blanco, como la de fondo, es menor en presencia de HF a 328,1 nm (gráficas A y B, respectivamente).

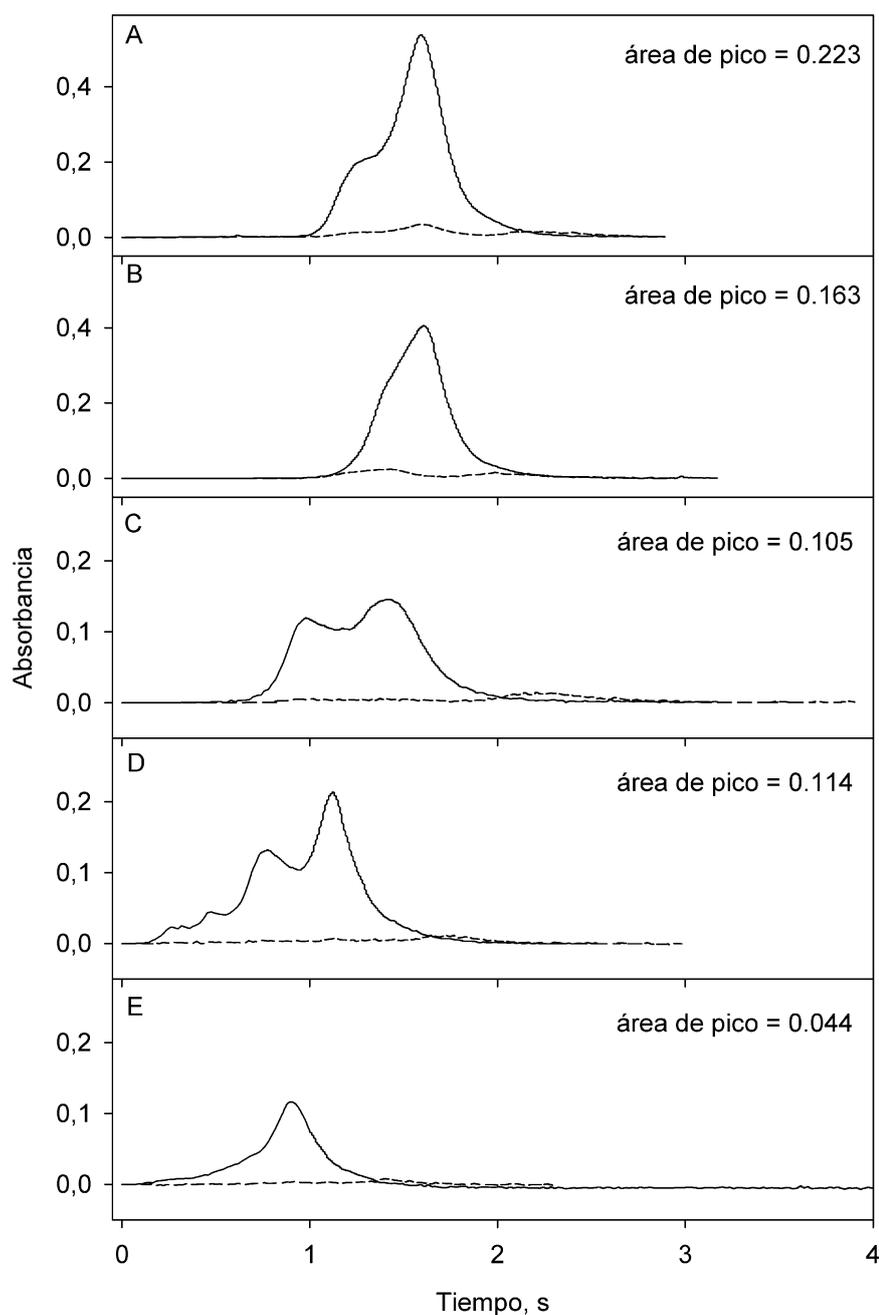


Figura IV.1.16: Efecto de la temperatura de calcinación en la señal de un ensayo en blanco donde la suspensión se realizó en agua. La gráfica A corresponde a la obtenida a 328.1 nm a 400 °C y las gráficas B-E se obtuvieron a 400, 600, 800 y 1000 °C, respectivamente, medidas a 338.3 nm.

Se estudió si la presencia de HF tiene efecto sobre la señal de la plata. Se encontró que hasta el 10 % de HF la señal de la plata se mantiene constante durante al menos una hora. Sin embargo, a concentraciones más elevadas la señal debida a la plata disminuye con el tiempo. Así en un medio al 50 % en HF la señal de una disolución estándar de Ag (I) de 20 $\mu\text{g/L}$ se mantuvo constante durante al menos 90 minutos sin descenso significativo de la señal. Sin embargo,

cuando esta cantidad de plata se encuentra presente en un medio de la misma concentración en HF pero cantidades crecientes de masa de ferrita sí se observa un claro descenso en la señal de plata. La Figura IV.1.18 resume los resultados obtenidos. Como puede apreciarse, al aumentar la concentración de ferrita en la suspensión la señal decae y este descenso aumenta con el paso del tiempo. Hemos comprobado que este descenso no es debido a la presencia del hierro en la suspensión, porque se han realizado experiencias similares con cantidades muy altas de hierro y la señal de plata no se ha visto afectada en elevadas concentraciones de HF.

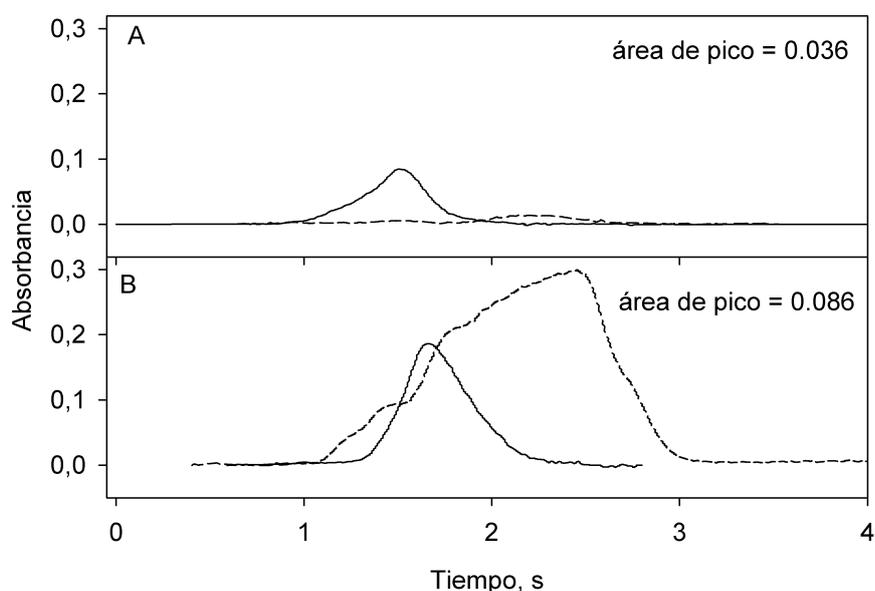


Figura IV.1.17: Perfiles de atomización (línea continua) y fondo (línea discontinua) obtenidos utilizando un medio de suspensión en HF al 8% v/v para 328.1 y 338.3 nm (gráficas A y B, respectivamente) correspondiente a un ensayo en blanco.

Este descenso en la señal debida a plata en presencia de suspensiones de ferrita solamente se aprecia a elevadas concentraciones de HF. En las condiciones recomendadas, 8 % de HF y 4 % de HNO₃, la señal debida a plata es estable en presencia de 22 mg mL⁻¹ de ferrita durante al menos 30 minutos.

En conclusión, todo parece indicar que en presencia de HF se forman fluoruros de hierro volátiles que se pierden durante el programa de calentamiento evitando de esta forma la interferencia encontrada.

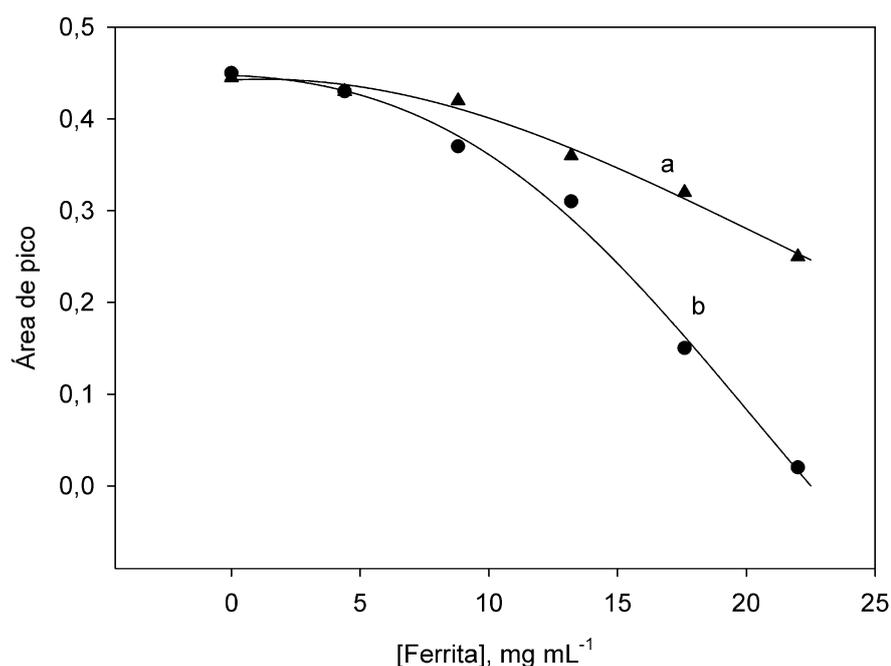


Figura IV.1.18: Efecto de la concentración de ferrita en la señal de plata cuando el medio de suspensión se prepara al 50 % (v/v) en HF. La curva a corresponde a las señales medidas tras la preparación de la suspensión ($t = 0$ min) y la curva b a las señales medidas transcurridos 30 minutos desde la preparación de las suspensiones.

IV.1.3.6. Efecto de la relación Ag(I)/Ag(0)

Las especies Ag(I) y Ag(0) se transforman mutuamente en los ecosistemas dependiendo de las condiciones redox del medio. Se investigó si su presencia a distintas relaciones puede afectar a los contenidos encontrados. La Tabla IV.1.3 muestra los resultados de recuperación de ambas especies obtenidos al variar la relación Ag (I)/Ag (0) de 10/1 a 1/10. Como se puede apreciar, la recuperación de ambas especies es cuantitativa, lo que indica que el método propuesto tiene un buen potencial de aplicación para el análisis de especiación de Ag(I) y Ag(0) en muestras reales con contenidos variables.

IV.1.3.7. Efecto de otras especies en la determinación de Ag (I) y Ag (0)

Se ha estudiado el efecto que las especies habituales en las muestras acuosas tienen en la determinación de Ag(I) y Ag(0) por aplicación del procedimiento propuesto. Los iones K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NO_3^- y SO_4^{2-} se toleraron hasta 1 g L^{-1} en la determinación de ambas especies. La presencia de cloruro a concentraciones superiores a 30 mg L^{-1} provoca la obtención de resultados por

defecto en la determinación de Ag(I) y Ag(0). Otras especies que pueden consumir al oxidante en la determinación de Ag(0) resultaron interferentes en una concentración superior a 20 mg L⁻¹ como es el caso de Mn²⁺, Se⁴⁺ y As³⁺. Otros iones metálicos que también pueden retenerse en la ferrita no resultan interferentes debido a la selectividad de la técnica de detección, siempre que no se supere la capacidad de retención del material adsorbente.

Tabla IV.1.3. Recuperación de Ag(I) y Ag total a diferentes relaciones Ag(I)/Ag(0)

Ag(I)/Ag(0)	Ag(I), ng L ⁻¹		Ag (total), ng L ⁻¹	
	Encontrado ^{a,b}	Recuperación, %	Encontrado ^{a,b}	Recuperación, %
100/5000 ^c	99 ± 5	99	5108 ± 25	100
100/1000 ^d	101 ± 6	101	1095 ± 15	99
100/100	99 ± 4	99	205 ± 4	102
1000 ^d /100	1002 ± 14	100	1109 ± 4	101
5000 ^c /100	4898 ± 30	98	5092 ± 21	100

^a n=5

^b después de la oxidación de Ag(0) a Ag(I)

^c diluido 50 veces después de mezclar para determinar la especie mayoritaria

^d diluido 10 veces después de mezclar para determinar la especie mayoritaria

Se

ha

determinado la capacidad de adsorción de la ferrita recientemente sintetizada a partir del empleo de 2,2 mg de material y concentraciones crecientes de Ag(I) hasta conseguir la saturación. Los resultados obtenidos indican una capacidad de adsorción de 32 mg g⁻¹ para Ag(I). Este valor resulta similar o incluso superior al obtenido por otros autores que emplean adsorbentes magnéticos con distintos reactivos funcionalizantes [32, 56].

Es sabido que el ácido húmico presente en aguas naturales puede asociarse a las nanopartículas de plata [57, 58] dificultando su retención. También puede actuar como un recubrimiento de la superficie del material adsorbente [59]. Para evitar este efecto se ha propuesto el empleo de Ca²⁺ [59] o La³⁺ [58] que se asocian al ácido húmico evitando su interferencia. En nuestro caso el procedimiento propuesto tolera la presencia de hasta 10 mg L⁻¹ de ácido húmico sin efecto significativo en la adsorción de Ag(I) o Ag(0).

IV.1.3.8. Optimización del programa de calentamiento

La Figura IV.1.19 muestra los perfiles atómicos corregidos obtenidos en la atomización de la disolución de ferrita obtenida al aplicar el procedimiento propuesto a una muestra de 0,25 µg L⁻¹ de Ag(I). La disolución final se realizó en un medio al 8 % (v/v) de HF y al 4 % en HNO₃ (v/v). En todos los casos la temperatura de atomización se mantuvo en 1600 y la temperatura de calcinación varió desde 200 a 800 °C (curvas a-d). La señal de fondo no se ha presentado porque resultó muy pequeña en todos los casos y no aportaba información relevante alguna. Como

puede apreciarse, el aumento de la temperatura de calcinación simplemente provoca un adelantamiento de la atomización sin pérdida de área de pico cuando la atomización ocurre en presencia de 5 μg de Pd (II) como modificador químico. Tomando como temperatura de calcinación la de 400 $^{\circ}\text{C}$, se varió la temperatura de atomización entre 1200 y 2400 $^{\circ}\text{C}$. Como se puede apreciar en los perfiles atómicos que aparecen en la Figura IV.1.20, al aumentar la temperatura la señal se mantuvo constante entre 1400 y 1900 $^{\circ}\text{C}$, si bien el área de pico se mantiene constante, la altura aumenta mucho, resultando este efecto muy adecuado para mejorar la relación señal/ruido. La Figura IV.1.21 muestra los valores de área de pico obtenidos en este estudio de optimización del programa de calentamiento. Finalmente se han seleccionado las temperaturas de 400 y 1900 $^{\circ}\text{C}$ como las adecuadas para la calcinación y atomización, respectivamente, tal y como aparece en la Tabla IV.1.2 donde se presenta el programa de calentamiento propuesto.

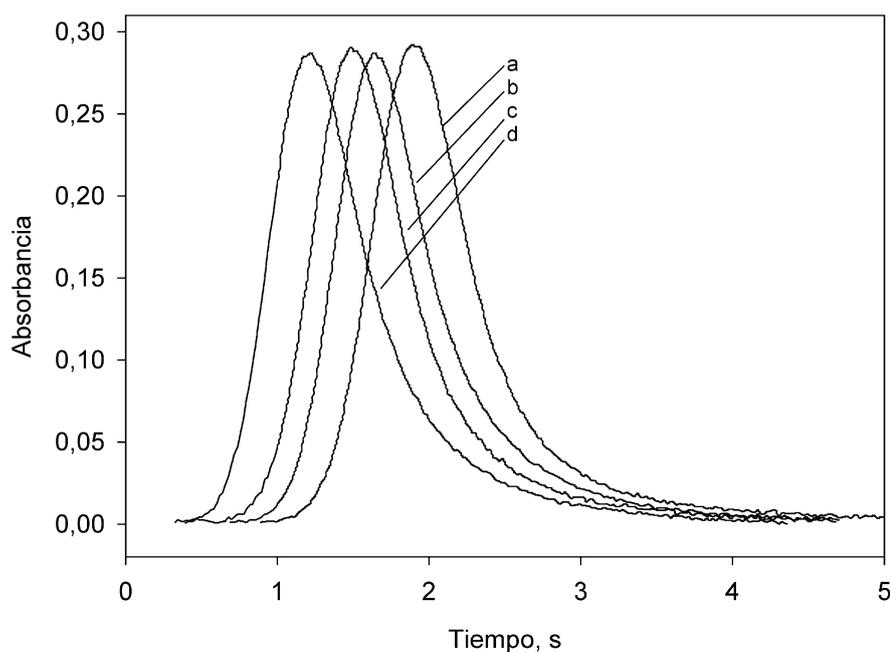


Figura IV.1.19: Perfiles de absorbanza corregida correspondientes a 0,25 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Ag(I) obtenidos a distintas temperaturas de calcinación (200, 400, 600 y 800 $^{\circ}\text{C}$, curvas a-d, respectivamente) cuando la temperatura de atomización se mantuvo constante en 1600 $^{\circ}\text{C}$.

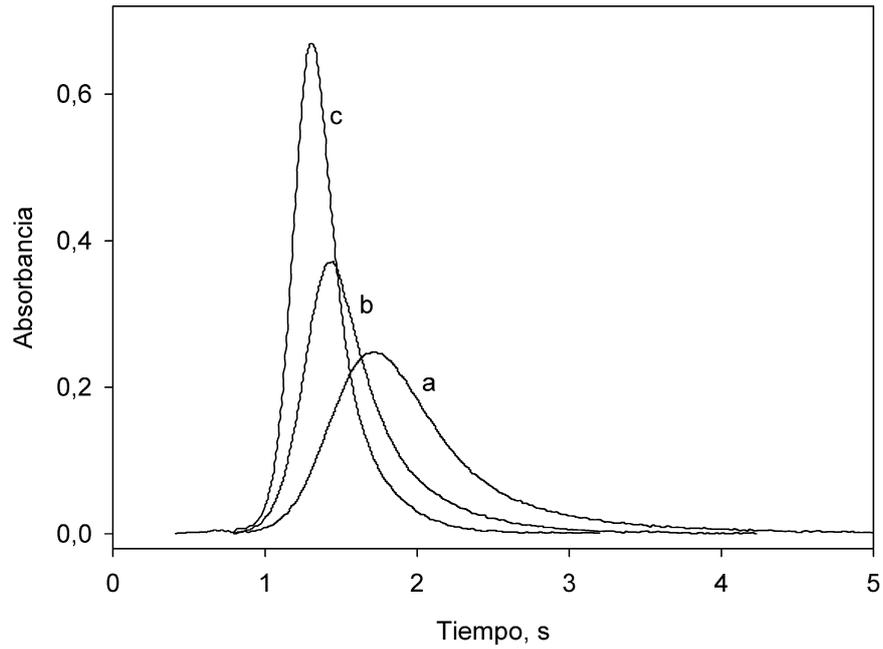


Figura IV.1.20: Perfiles de absorbanza corregida correspondientes a $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ag(I) obtenidos a distintas temperaturas de atomización (1500, 1700 y 1900 °C, curvas a-c, respectivamente) cuando la temperatura de calcinación se mantuvo constante en 400 °C.

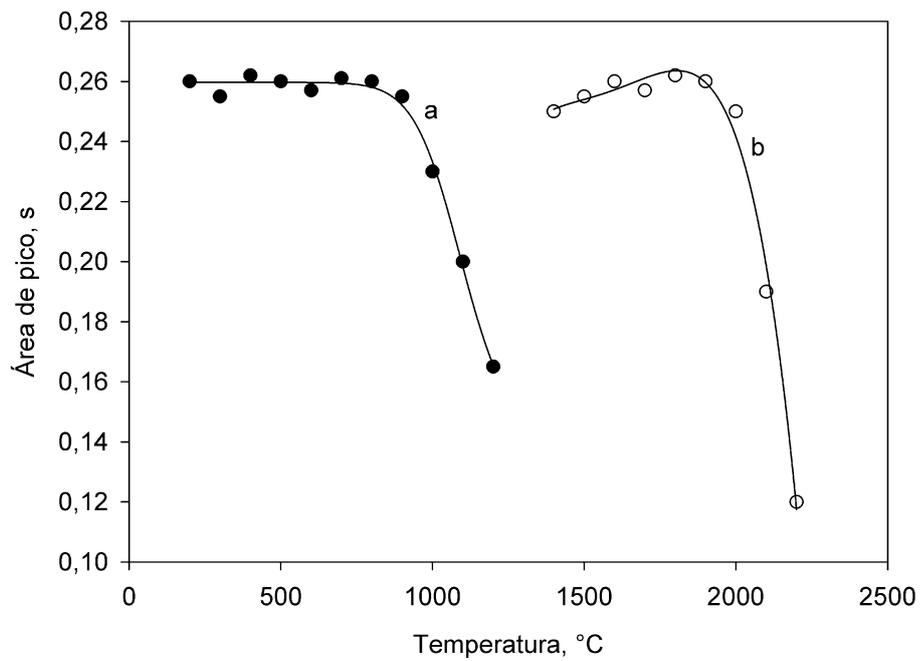


Figura IV.1.21: Estudio de las temperaturas de calcinación (a) y atomización (b) óptimas para una disolución de $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ag(I) en un medio HF al 8 % (v/v) y HNO_3 al 4 % (v/v).

La Figura IV.1.22 muestra cómo cambian los perfiles atómicos de una disolución de Ag (I) de $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$ en presencia del 8 % (v/v) de HF y 4 % de HNO_3 (v/v) a una temperatura de atomización de $1600 \text{ }^\circ\text{C}$. Como se puede apreciar, el aumento en la concentración de Pd (II) provoca una estabilización y ensanchamiento del pico. Hemos encontrado una situación de compromiso con el empleo de $10 \mu\text{L}$ de Pd (II) de 500 mg L^{-1} como modificador químico y una temperatura de atomización de $1900 \text{ }^\circ\text{C}$ para evitar un ensanchamiento indeseable de la señal atómica.

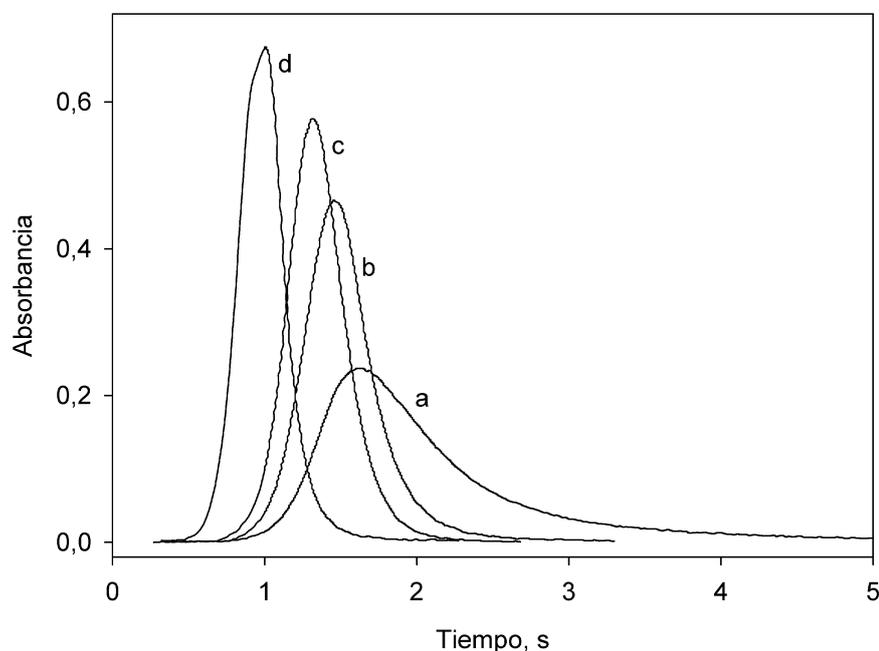


Figura IV.1.22: Perfiles de absorbanza corregida correspondientes a $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ag(I) obtenidos en presencia de distintas concentraciones de Pd (II) (0, 100, 500 y 1000 mg L^{-1} , curvas a-d, respectivamente) cuando la temperatura de calcinación se mantuvo constante en $400 \text{ }^\circ\text{C}$ y la de atomización a $1600 \text{ }^\circ\text{C}$.

IV.1.3.9. Calibración

Trabajando en las condiciones recomendadas en la Parte Experimental (apartado IV.1.2) se ha evaluado la retención de los iones Ag(I) en las partículas de ferrita y los resultados aparecen recogidos en la Tabla IV.1.3. Cuando disoluciones conteniendo Ag(0) se tratan con peróxido de hidrógeno en las condiciones recomendadas, se consigue su oxidación a Ag(I) y las prestaciones analíticas conseguidas también aparecen recogidas en la Tabla IV.1.4. Los límites de detección

de los procedimientos propuestos se han calculado en base a tres veces el error estándar de la estimación lineal ($3s_{y/x}$) y el factor de enriquecimiento se ha calculado a partir del cociente entre las pendientes de calibración para plata en el medio donde se realiza la redisolución de las partículas y la que se obtiene para plata en disolución acuosa. Los valores de desviación estándar relativa se han calculado a partir de los resultados obtenidos al aplicar el procedimiento propuesto a la determinación por quintuplicado de 50 ng L^{-1} de Ag(I) y Ag(0).

Tabla IV.1.4: Prestaciones analíticas del procedimiento propuesto

Especie medida	Ecuación Lineal, $\mu\text{g L}^{-1}$	R^2	Intervalo Lineal, $\mu\text{g L}^{-1}$	Factor de enriquecimiento	LOD, ng L^{-1}	RSD, $n = 5$
Ag (I)	área = $1,92 \cdot [\text{Ag}] + 0,059$	0,9997	0,01-0,3	95	3	5,7
Ag (0)	área = $1,89 \cdot [\text{Ag}] + 0,065$	0,9991	0,01-0,3	95	3	5,2

La Tabla IV.1.5 muestra una comparativa del procedimiento propuesto con otros que aparecen en la bibliografía para la determinación de Ag(I) o Ag(0) utilizando material magnético con distintas técnicas de detección y desorción. Como puede apreciarse, en la mayoría de los casos se recurre a volúmenes de muestra superiores a 10 mL para conseguir elevados de enriquecimiento. La adecuación del procedimiento a la determinación de ambas especies no es habitual y los LOD aquí propuestos son similares o más altos que el que se propone en este trabajo. En nuestra opinión es de destacar que estas cualidades analíticas se consiguen con el empleo de un material con muy bajo tratamiento previo lo que lo hace mucho más asequible.

IV.1.3.10. Aplicación del procedimiento propuesto a muestras reales

El procedimiento propuesto se ha aplicado a la determinación de Ag(I) y Ag(0) en muestras de agua potable de grifo y embotelladas obtenidas en supermercados de la zona. Los resultados obtenidos aparecen en la Tabla IV.1.6. En estas muestras se ha aplicado un procedimiento de recuperación. Como puede apreciarse, la recuperación de ambas formas es cuantitativa en todos los casos. No ha sido posible aplicar el procedimiento propuesto en aguas de mar debido a la elevada concentración de iones cloruro. Adicionalmente se ha comprobado la validez del procedimiento propuesto mediante la determinación del contenido de Ag(I) y Ag(0) en tres materiales de referencia correspondientes a muestras de agua con contenido de Ag(I) certificado. Los resultados obtenidos se incluyen en la Tabla IV.1.6 y, como puede apreciarse, no existen diferencias significativas con los valores certificados. Todos los contenidos de Ag(0)

medidos quedan por debajo del límite de detección, por lo que se aplicó un procedimiento de recuperación. Como puede apreciarse los resultados de recuperación son cuantitativos.

Como ya se ha comentado en la introducción de este capítulo, la creciente demanda de una mayor vida útil de los alimentos frescos, así como la necesidad de protección contra las enfermedades transmitidas por los alimentos, han impulsado el desarrollo de envases antimicrobianos para alimentos [35]. Entre los métodos más eficientes, la combinación de envasado orgánico-inorgánico, es decir, nanopartículas metálicas incrustadas en polímeros ha demostrado ser altamente efectiva. Las nanopartículas de plata (AgNPs), en particular, tienen actividades antimicrobianas, anti-hongos, anti-levaduras y antivirales y se pueden combinar con polímeros no degradables y comestibles para el envasado activo de alimentos [44, 60]. Además, existe un uso cada vez mayor de nanopartículas de plata como pesticidas para frutas y verduras debido a las propiedades únicas antimicrobianas e insecticidas de las partículas. Sin embargo, las AgNPs residuales en los productos cosechados pueden transferirse a través de la cadena alimentaria y representar un riesgo potencial para la salud pública [49].

Teniendo en cuenta esto, el procedimiento propuesto también se ha aplicado a la determinación de Ag(I) y Ag(0) en los líquidos de lavado de 10 tipos diferentes de ensaladas embolsadas y comercializadas por distintas empresas. Para ello, se tomaron 50 g de la ensalada que se colocaron en la misma bolsa. Se añadieron 100 mL de agua al interior y se selló la bolsa. La bolsa conteniendo la ensalada y el agua para la extracción de Ag(I) y Ag(0) se mantuvo en agitación de vaivén durante 4 horas a temperatura ambiente. Con ello queremos determinar si el líquido de lavado de las ensaladas contiene alguna de estas especies. Pasado ese tiempo se centrifugó la ensalada en la forma habitual y el líquido se utilizó para determinar el contenido de Ag(I) y Ag(0) por aplicación del procedimiento propuesto. Los resultados obtenidos aparecen en la Tabla IV.1.6. Como puede apreciarse, los niveles de Ag(I) y Ag(0) encontrados en el líquido de lavado son muy bajos. Además, la recuperación de estas especies añadidas antes del proceso resulta cuantitativa.

Se ha estudiado la posible adsorción de Ag(I) y Ag(0) en las hojas de espinacas. Sobre porciones de hoja de espinaca se añaden microvolúmenes de Ag(I) y Ag(0). Se dejan secar a temperatura ambiente y después de varios días se tratan las porciones con un volumen conocido de agua. La lixiviación se produce por agitación mecánica durante 4 horas. El estudio del contenido de Ag(I) y Ag(0) en el lixiviado indica una recuperación cuantitativa de Ag(I) mientras que la Ag(0) se recuperó en aproximadamente el 33 %, lo que indica una fuerte adsorción por el material vegetal. Estos resultados son consistentes con los que aparecen en la bibliografía [49].

Puesto que el lixiviado de las hojas de espinaca no contiene Ag(I) y Ag(0) detectables, se ha adulterado el líquido de lixiviado con cantidades conocidas de estas especies para estudiar si durante el proceso de lixiviado hay retención de alguna de las especies. Los resultados obtenidos tras 4 horas de agitación indican la no retención de estas especies. Por tanto, aún en el caso de que se hubiera utilizado en las ensaladas una disolución de Ag(0) como líquido de lavado conservante durante el proceso de fabricación, sería difícil detectar la presencia de Ag(0) en los líquidos de lavado por el consumidor. Habría que analizar el contenido total de plata en el vegetal. Además, también se aprecia que la posible migración desde el envase, en caso de producirse no es importante. En ese sentido, se calcinaron las muestras de ensalada en horno de mufla a 600 °C y las cenizas se disolvieron con el empleo de peróxido de hidrógeno y ácido nítrico. Se determinó el contenido de plata total mediante ETAAS. Los resultados obtenidos aparecen en la Tabla IV.1.7. El coeficiente de correlación entre los valores de contenido de plata total previa mineralización y los encontrados por lixiviación es de 0,9817, lo que indica que la plata procede del material vegetal.

Adicionalmente, el procedimiento se ha aplicado a la determinación de Ag (I) y Ag (0) en lixiviado en agua de algunos materiales que los fabricantes tratan con nanopartículas de plata para mejorar su comportamiento. En este sentido se han analizado bayetas, estropajos y apósitos de enfermería. Los resultados obtenidos en la determinación de los contenidos en estas muestras, junto con los estudios de recuperación efectuados, aparecen en la Tabla IV.1.8. Como puede verse, el procedimiento propuesto resulta perfectamente válido para la determinación de estas especies en lixiviados de este tipo de materiales.

IV.1.4. Conclusiones

El empleo de óxidos mixtos de Fe(II) y Fe(III) con propiedades magnéticas, sintetizados justo antes de su empleo como material adsorbente ofrece unas interesantes propiedades al tiempo que su preparación resulta muy sencilla. Utilizando este material de tamaño nano-micro ha sido posible realizar la especiación de Ag(0) y Ag(I) en diversos tipos de muestras (aguas, lixiviados de materiales enriquecidos con estas especies y líquidos de lavado de vegetales comestibles). Para compensar la absorción de radiación mostrada por las partículas de ferrita en el atomizador electrotérmico a las distintas longitudes de onda en la determinación de plata, se propone la introducción del material tras su tratamiento en medio ácido y en presencia de HF. Se consigue la solubilización completa del material de forma casi instantánea y su muestreo líquido.

Tabla IV.1.5: Comparación de diferentes métodos para la determinación y/o especiación de plata con adsorbentes magnéticos

Analito	Adsorbente	Condiciones experimentales	Detección	Volumen de muestra, mL	Desorción	EF, %	LOD, ng L ⁻¹	Ref.
Ag(I), Ag(0)	Fe ₃ O ₄ +TEOS+MPS+VIM	MSA + pH=6	ETAAS	50	Secuencial: Ag (I) con S ₂ O ₃ ²⁻ Ag (0) con HNO ₃	100	7,5 (Ag(I)) 8,2 (Ag(0))	[58]
Ag (0)	Fe ₃ O ₄ +chitosan	pH=4,5	ICP-MS	20	HNO ₃ +tiourea	--	16	[59]
Ag (0)	Fe ₃ O ₄ +dopamina o glutatation	--	ICP-MS	500	Agua regia	250	2000	[61]
Ag (I)	Fe ₃ O ₄ +TMSPT+EGBMA	pH=6	ICP-OES	250	HCl+tiourea	240	70	[32]
Ag (I)	MnFe ₂ O ₄ +GO+SDS+MBT	pH=4	ICP-OES	50	HNO ₃ +tiourea	140	45	[62]
Ag (I)	Fe ₃ O ₄ +PTh	pH=4	ICP-OES	100	HNO ₃ +tiourea	114	200	[63]
Ag (I)	Fe ₃ O ₄ +TMSPT+AMT	pH=6	ICP-OES	200	HCl+tiourea	194	120	[56]
Ag(I), Ag(0)	Fe ₃ O ₄	pH=7	ETAAS	10	HNO ₃ +HF	95	3	[*]

TEOS:tetraetoxisilano; MPS: metacriloxi propil trimetoxil silano; VIM: 1-vinil imidazol; MSA: ácido mercaptosuccinico; rGO: óxido de grafeno reducido; TMSPT: 3-(trimetoxisilil)-1-propanotiol; EGBMA: etilene glicol bis-mercaptopacetato; GO: óxido de grafeno; SDS: dodecil sulfato sódico; MBT: 2-mecarptobenzotiazol; PTh: poltiofeno; TMSPT: 3-(trimetoxisilil)-1-propanotiol; AMT: 2-amino-5-mercaptop-1,3,4-tiadiazol; [*]: este trabajo

Tabla IV.1.6: Resultados analíticos obtenidos en la determinación de Ag(I) y Ag(0) en muestras de agua

Muestra	Añadido, ng L ⁻¹		Encontrado ^a , ng L ⁻¹		Recuperación, %	
	Ag (I)	Ag (0)	Ag (I)	Ag (0)	Ag (I)	Ag (0)
Agua de grifo	0	0	17 ± 3	42 ± 4	-	-
	50	50	66 ± 4	90 ± 5	98	96
	100	100	119 ± 5	145 ± 5	102	103
Agua embotellada 1	0	0	21 ± 3	<3	-	-
	50	50	72 ± 4	52 ± 5	102	104
	100	100	119 ± 5	101 ± 5	98	101
Agua embotellada 2	0	0	<3	<3	-	-
	50	50	48 ± 4	52 ± 5	96	104
	100	100	105 ± 5	102 ± 5	105	102
Agua embotellada 3	0	0	19 ± 3	<3	-	-
	50	50	70 ± 3	48 ± 3	102	96
	100	100	121 ± 3	102 ± 3	102	102
SRM 1640 ^b	0	0	80 ± 3	<3	-	-
	50	50	132 ± 4	49 ± 3	104	98
	100	100	178 ± 5	101 ± 4	98	98
SRM TM-23.4 ^c	0	0	48 ± 3	<3	-	-
	50	50	101 ± 4	52 ± 3	106	104
	100	100	145 ± 5	98 ± 4	97	98
SRM TM-25.4 ^d	0	0	22 ± 3	<3	-	-
	50	50	73 ± 4	53 ± 3	102	106
	100	100	120 ± 4	99 ± 3	98	99

a Valor medio de tres determinaciones ± desviación estándar

b Valor certificado: 8.017 ± 0.042. [Ag] encontrada tras una dilución 1:100

c Valor certificado: 4.78 ± 0.43. [Ag] encontrada tras una dilución 1:100

d Valor certificado: 22.0 ± 1.51. [Ag] encontrada tras una dilución 1:1000

Tabla IV.1.7: Resultados analíticos obtenidos en la determinación de Ag (I) y Ag (0) en lixiviados de ensaladas

Muestra	Lixiviado, ng g ⁻¹		Encontrado ^a		Recuperación, %		Total ^a , ng g ⁻¹
	Añadido		Ag (I)		Ag (0)		
	Ag (I)	Ag (0)	Ag (I)	Ag (0)	Ag (I)	Ag (0)	
Ensalada 1	0	0	0.08 ± 0.01	<0.006	-	-	3.32 ± 0.03
	0.2	0.2	0.27 ± 0.02	0.21 ± 0.02	95	104	
Ensalada 2	0	0	<0.006	<0.006	-	-	0.28 ± 0.02
	0.2	0.2	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.01	100	99	
Ensalada 3	0	0	0.05 ± 0.02	0.02 ± 0.01	-	-	3.5 ± 0.02
	0.2	0.2	0.25 ± 0.02	0.23 ± 0.02	100	100	
Ensalada 4	0	0	0.10 ± 0.03	<0.006	-	-	5.71 ± 0.02
	0.2	0.2	0.31 ± 0.03	0.19 ± 0.01	105	104	
Ensalada 5	0	0	<0.06	0.12 ± 0.01	-	-	8.42 ± 0.02
	0.2	0.2	0.21 ± 0.02	0.33 ± 0.02	104	103	
Ensalada 6	0	0	0.04 ± 0.02	0.26 ± 0.02	-	-	23.7 ± 0.2
	0.2	0.2	0.25 ± 0.03	0.45 ± 0.03	96	98	
Ensalada 7	0	0	<0.006	0.20 ± 0.01	-	-	19.2 ± 0.1
	0.2	0.2	0.19 ± 0.03	0.39 ± 0.02	97	97	
Ensalada 8	0	0	<0.006	0.20 ± 0.02	-	-	17.32 ± 0.03
	0.2	0.2	0.21 ± 0.03	0.42 ± 0.02	104	108	
Ensalada 9	0	0	<0.006	<0.006	-	-	0.37 ± 0.01
	0.2	0.2	0.19 ± 0.03	0.21 ± 0.01	97	105	
Ensalada 10	0	0	<0.006	0.05 ± 0.03	-	-	3.1 ± 0.02
	0.2	0.2	0.19 ± 0.03	0.25 ± 0.03	96	106	

^a Valor medio de tres determinaciones ± desviación estándar

Tabla IV.1.8: Resultados obtenidos en la determinación de Ag(0) y Ag(I) en productos de limpieza y apósitos

Muestra	Plata lixiviada, $\mu\text{g g}^{-1}$		
	Ag total	Ag(0)	Ag(I)
Estropajo verde	0.25 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.02
Bayeta amarilla	1.75 ± 0.05	1.30 ± 0.02	0.45 ± 0.02
Bayeta azul	1.92 ± 0.05	1.15 ± 0.03	0.77 ± 0.02
Apósito	2.09 ± 0.04	1.46 ± 0.03	0.63 ± 0.03

IV.1.5. Bibliografía

- [1] R.M. Cornell, U. Schwertmsnn, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurences and Uses*, 2nd ed., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.2003. doi: 10.1002/3527602097.
- [2] Q. Li, C.W. Kartikowati, S. Horie, T. Ogi, T. Iwaki, K. Okuyama, *Correlation between particle size/domain structure and magnetic properties of highly crystalline Fe₃O₄ nanoparticles*, Scientific reports, 2017, 7, 9894. doi: 10.1038/s41598-017-09897-5.
- [3] E.D. Smolensky, H.-Y.E. Park, Y. Zhou, G.A. Rolla, M. Marjańska, M. Botta, V.C. Pierre, *Scaling laws at the nanosize: the effect of particle size and shape on the magnetism and relaxivity of iron oxide nanoparticle contrast agents*, Journal of Materials Chemistry B, 2013, 1, 2818-2828. doi: 10.1039/C3TB00369H.
- [4] K.K. Kefeni, T.A.M. Msagati, B.B. Mamba, *Ferrite nanoparticles: Synthesis, characterisation and applications in electronic device*, Materials Science and Engineering: B, 2017, 215, 37-55. doi: 10.1016/j.mseb.2016.11.002.
- [5] L.H. Reddy, J.L. Arias, J. Nicolas, P. Couvreur, *Magnetic nanoparticles: design and characterization, toxicity and biocompatibility, pharmaceutical and biomedical applications*, Chemical reviews, 2012, 112, 5818-78. doi: 10.1021/cr300068p.
- [6] W. Wu, Z. Wu, T. Yu, C. Jiang, W.-S. Kim, *Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications*, Science and technology of advanced materials, 2015, 16, 023501-023501. doi: 10.1088/1468-6996/16/2/023501.
- [7] J.P. Jolivet, C. Chaneac, E. Tronc, *Iron oxide chemistry. From molecular clusters to extended solid networks*, Chemical communications (Cambridge, England), 2004. doi: 10.1039/b304532n.
- [8] L. Babes, B. Denizot, G. Tanguy, J.J. Le Jeune, P. Jallet, *Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Used as MRI Contrast Agents: A Parametric Study*, Journal of colloid and interface science, 1999, 212, 474-482. doi: 10.1006/jcis.1998.6053.
- [9] S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. Vander Elst, R.N. Muller, *Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications*, Chemical reviews, 2008, 108, 2064-110. doi: 10.1021/cr068445e.

- [10] J.H. Bang, K.S. Suslick, *Applications of ultrasound to the synthesis of nanostructured materials*, Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.), 2010, 22, 1039-59. doi: 10.1002/adma.200904093.
- [11] R.V. Kumar, Y. Koltypin, X. Xu, Y. Yeshurun, A. Gedanken, I. Felner, *Fabrication of magnetite nanorods by ultrasound irradiation*, Journal of applied physics, 2001, 89, 6324-6328. doi: 10.1063/1.1369408.
- [12] K.V.P.M. Shafi, A. Ulman, A. Dyal, X. Yan, N.-L. Yang, C. Estournès, L. Fournès, A. Wattiaux, H. White, M. Rafailovich, *Magnetic Enhancement of γ -Fe₂O₃ Nanoparticles by Sonochemical Coating*, Chemistry of Materials, 2002, 14, 1778-1787. doi: 10.1021/cm011535+.
- [13] K.V.P.M. Shafi, A. Ulman, X. Yan, N.-L. Yang, C. Estournès, H. White, M. Rafailovich, *Sonochemical Synthesis of Functionalized Amorphous Iron Oxide Nanoparticles*, Langmuir, 2001, 17, 5093-5097. doi: 10.1021/la010421+.
- [14] V. Romero, I. Costas-Mora, I. Lavilla, C. Bendicho, *In situ ultrasound-assisted synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles with simultaneous ion co-precipitation for multielemental analysis of natural waters by total reflection X-ray fluorescence spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2013, 28, 923-933. doi: 10.1039/c3ja50067e.
- [15] S. Koesnarpadi, S.J. Santosa, D. Siswanta, B. Rusdiarso, *Synthesis and characterization of magnetite nanoparticle coated humic acid (Fe₃O₄/HA)*, Procedia Environmental Sciences, 2015, 30, 103-108. doi: 10.1016/j.proenv.2015.10.018.
- [16] E. Tombacz, A. Majzik, Z. Horvat, E. Illes, *Magnetite in aqueous medium: coating its surface and surface coated with it*, Romanian Reports in physics, 2006, 58, 281.
- [17] A. Trinchi, T.H. Muster, J.B. Dunlop, S.J. Collocott, *Ageing of Magnetite Nanoparticles in Aqueous Solutions of Differing pH*, IEEE, New York, 2008. doi: 10.1109/iconn.2008.4639251.
- [18] E. Tombácz, E. Illés, A. Majzik, A. Hajdú, N. Rideg, M. Szekeres, *Ageing in the inorganic nanoworld: example of magnetite nanoparticles in aqueous medium*, Croatica Chemica Acta, 2007, 80, 503-515.
- [19] J. Lyklema, *Nomenclature, symbols, definitions and measurements for electrified interfaces in aqueous dispersions of solids*, Pure and Applied Chemistry, 1991, 63, 895-906.
- [20] Y. Zhang, C. Zhu, F. Liu, Y. Yuan, H. Wu, A. Li, *Effects of ionic strength on removal of toxic pollutants from aqueous media with multifarious adsorbents: A review*, Science of The Total Environment, 2019, 646, 265-279. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.279.
- [21] M. Mahdavi, M.B. Ahmad, M.J. Haron, F. Namvar, B. Nadi, M.Z. Rahman, J. Amin, *Synthesis, surface modification and characterisation of biocompatible magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications*, Molecules (Basel, Switzerland), 2013, 18, 7533-48. doi: 10.3390/molecules18077533.
- [22] W. Wu, Q. He, C. Jiang, *Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies*, Nanoscale research letters, 2008, 3, 397-415. doi: 10.1007/s11671-008-9174-9.

- [23] K.K. Kefeni, B.B. Mamba, T.A. Msagati, *Application of spinel ferrite nanoparticles in water and wastewater treatment: a review*, Separation Purification Technology, 2017, 188, 399-422. doi: 10.1016/j.seppur.2017.07.015.
- [24] S. Rajput, C.U. Pittman, Jr., D. Mohan, *Magnetic magnetite (Fe₃O₄) nanoparticle synthesis and applications for lead (Pb²⁺) and chromium (Cr⁶⁺) removal from water*, Journal of colloid and interface science, 2016, 468, 334-346. doi: 10.1016/j.jcis.2015.12.008.
- [25] D.H.K. Reddy, Y.-S. Yun, *Spinel ferrite magnetic adsorbents: alternative future materials for water purification?*, Coordination Chemistry Reviews, 2016, 315, 90-111. doi: 10.1016/j.ccr.2016.01.012.
- [26] M. Camba, V. Romero, I. Lavilla, C. Bendicho, *In situ growth of Fe₃O₄ nanoparticles for dispersive magnetic micro-solid phase extraction of cadmium followed by ETAAS detection*, Analytical Methods, 2015, 7, 1154-1160. doi: 10.1039/c4ay02522a.
- [27] E. Nourbala-Tafti, V. Romero, I. Lavilla, S. Dadfarnia, C. Bendicho, *In situ ultrasound-assisted preparation of Fe₃O₄@ MnO₂ core-shell nanoparticles integrated with ion co-precipitation for multielemental analysis by total reflection X-ray fluorescence*, Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2017, 131, 40-47. doi: 10.1016/j.sab.2017.03.005.
- [28] H.N. Abdelhamid, H.-F. Wu, *Facile synthesis of nano silver ferrite (AgFeO₂) modified with chitosan applied for biothiol separation*, Materials Science Engineering: C, 2014, 45, 438-445. doi: 10.1016/j.msec.2014.08.071.
- [29] E. Tahmasebi, Y. Yamini, *Facile synthesis of new nano sorbent for magnetic solid-phase extraction by self assembling of bis-(2, 4, 4-trimethyl pentyl)-dithiophosphinic acid on Fe₃O₄@Agcore@shell nanoparticles: Characterization and application*, Analytica chimica acta, 2012, 756, 13-22. doi: 10.1016/j.aca.2012.10.040.
- [30] K.E. Farley, A.C. Marschilok, E.S. Takeuchi, K.J. Takeuchi, *Synthesis and electrochemistry of silver ferrite*, Electrochemical Solid-State Letters, 2011, 15, A23-A27.
- [31] Y. Murthy, T.K. Rao, R. Singh, *Synthesis and characterization of nano silver ferrite composite*, Journal of Magnetism Magnetic Materials, 2010, 322, 2071-2074. doi: 10.1016/j.jmmm.2010.01.036.
- [32] M.H. Mashhadizadeh, M. Amoli-Diva, M.R. Shapouri, H. Afruzi, *Solid phase extraction of trace amounts of silver, cadmium, copper, mercury, and lead in various food samples based on ethylene glycol bis-mercaptoacetate modified 3-(trimethoxysilyl)-1-propanethiol coated Fe₃O₄ nanoparticles*, Food Chem, 2014, 151, 300-305. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.11.082.
- [33] J. Jung, Y. Zhao, *Antimicrobial packaging for fresh and minimally processed fruits and vegetables*, Antimicrobial food packaging, Elsevier2016, pp. 243-256. doi: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00018-8.
- [34] C. Costa, A. Conte, M. Alessandro, D. Nobile, *Use of Metal Nanoparticles for Active Packaging Applications*, Antimicrobial Food Packaging, Elsevier2016, pp. 399-406. doi: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00031-0.

- [35] A.M. Khaneghah, S.M.B. Hashemi, I. Es, D. Fracassetti, S. Limbo, *Efficacy of Antimicrobial Agents for Food Contact Applications: Biological Activity, Incorporation into Packaging, and Assessment Methods: A Review*, Journal of Food Protection, 2018, 81, 1142-1156. doi: 10.4315/0362-028x.Jfp-17-509.
- [36] E.F.S. Authority, *Scientific Opinion on the safety evaluation of the substance, silver zeolite A (silver zinc sodium ammonium alumino silicate), silver content 2–5%, for use in food contact materials*, EFSA Journal, 2011, 9, 1999. doi: 10.2903/j.efsa.2011.1999.
- [37] E. Lloret, P. Picouet, A. Fernández, *Matrix effects on the antimicrobial capacity of silver based nanocomposite absorbing materials*, LWT-Food Science Technology, 2012, 49, 333-338. doi: 10.1016/j.lwt.2012.01.042.
- [38] A. Martínez-Abad, M. Ocio, J. Lagarón, G. Sánchez, *Evaluation of silver-infused polylactide films for inactivation of Salmonella and feline calicivirus in vitro and on fresh-cut vegetables*, International journal of food microbiology, 2013, 162, 89-94. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.024.
- [39] S. Eshghi, M. Hashemi, A. Mohammadi, F. Badii, Z. Mohammadhoseini, K. Ahmadi, *Effect of nanochitosan-based coating with and without copper loaded on physicochemical and bioactive components of fresh strawberry fruit (Fragaria x ananassa Duchesne) during storage*, Food bioprocess technology, 2014, 7, 2397-2409. doi: 10.1007/s11947-014-1281-2.
- [40] C. Costa, A. Conte, G. Buonocore, M. Lavorgna, M.A. Del Nobile, *Calcium-alginate coating loaded with silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf-life of fresh-cut carrots*, Food Research International, 2012, 48, 164-169. doi: 10.1016/j.foodres.2012.03.001.
- [41] C. Costa, A. Conte, G.G. Buonocore, M.A. Del Nobile, *Antimicrobial silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf life of fresh fruit salad*, International Journal of Food Microbiology, 2011, 148, 164-167. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.018.
- [42] H. Bodaghi, Y. Mostofi, A. Oromiehie, Z. Zamani, B. Ghanbarzadeh, C. Costa, A. Conte, M.A. Del Nobile, *Evaluation of the photocatalytic antimicrobial effects of a TiO₂ nanocomposite food packaging film by in vitro and in vivo tests*, LWT-Food Science Technology, 2013, 50, 702-706. doi: 10.1016/j.lwt.2012.07.027.
- [43] Y. Echegoyen, C. Nerín, *Nanoparticle release from nano-silver antimicrobial food containers*, Food Chemical Toxicology, 2013, 62, 16-22. doi: 10.1016/j.fct.2013.08.014.
- [44] M. Carbone, D.T. Donia, G. Sabbatella, R. Antiochia, *Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging*, Journal of King Saud University - Science, 2016, 28, 273-279. doi: 10.1016/j.jksus.2016.05.004.
- [45] J.S. Kim, E. Kuk, K.N. Yu, J.-H. Kim, S.J. Park, H.J. Lee, S.H. Kim, Y.K. Park, Y.H. Park, C.-Y. Hwang, *Antimicrobial effects of silver nanoparticles*, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology Medicine, 2007, 3, 95-101. doi: 10.1016/j.nano.2006.12.001.
- [46] A. Emamifar, M. Kadivar, M. Shahedi, S. Soleimani-Zad, *Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice*, Innovative Food Science Emerging Technologies, 2010, 11, 742-748. doi: 10.1016/j.ifset.2010.06.003.

- [47] A. Fernández, E. Soriano, G. López-Carballo, P. Picouet, E. Lloret, R. Gavara, P. Hernández-Muñoz, *Preservation of aseptic conditions in absorbent pads by using silver nanotechnology*, Food Research International, 2009, 42, 1105-1112. doi: 10.1016/j.foodres.2009.05.009.
- [48] A. Fernández, P. Picouet, E. Lloret, *Cellulose-silver nanoparticle hybrid materials to control spoilage-related microflora in absorbent pads located in trays of fresh-cut melon*, International Journal of Food Microbiology, 2010, 142, 222-228. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.001.
- [49] Z. Zhang, H. Guo, T. Carlisle, A. Mukherjee, A. Kinchla, J.C. White, B. Xing, L. He, *Evaluation of Postharvest Washing on Removal of Silver Nanoparticles (AgNPs) from Spinach Leaves*, Journal of agricultural and food chemistry, 2016, 64, 6916-22. doi: 10.1021/acs.jafc.6b02705.
- [50] M. Cushen, J. Kerry, M. Morris, M. Cruz-Romero, E. Cummins, *Migration and exposure assessment of silver from a PVC nanocomposite*, Food Chem, 2013, 139, 389-397. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.01.045.
- [51] M. Cushen, J. Kerry, M. Morris, M. Cruz-Romero, E. Cummins, *Evaluation and simulation of silver and copper nanoparticle migration from polyethylene nanocomposites to food and an associated exposure assessment*, Journal of agricultural and food chemistry, 2014, 62, 1403-11. doi: 10.1021/jf404038y.
- [52] C. Larue, H. Castillo-Michel, S. Sobanska, L. Cécillon, S. Bureau, V. Barthès, L. Ouerdane, M. Carrière, G. Sarret, *Foliar exposure of the crop Lactuca sativa to silver nanoparticles: Evidence for internalization and changes in Ag speciation*, Journal of Hazardous Materials, 2014, 264, 98-106. doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.10.053.
- [53] C.L. Doolette, M.J. McLaughlin, J.K. Kirby, D.A. Navarro, *Bioavailability of silver and silver sulfide nanoparticles to lettuce (Lactuca sativa): Effect of agricultural amendments on plant uptake*, Journal of Hazardous Materials, 2015, 300, 788-795. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.08.012.
- [54] R. Massart, *Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media*, IEEE Transactions on Magnetics, 1981, 17, 1247-1248. doi: 10.1109/TMAG.1981.1061188.
- [55] M.S. B. Welz, Atomic Absorption Spectrometry, 3rd ed., in: W. WILEY-VCH Verlag GmbH (Ed.), Atomic Absorption Spectrometry 2007. doi: 10.1002/9783527611690.ch3.
- [56] M.H. Mashhadizadeh, Z. Karami, *Solid phase extraction of trace amounts of Ag, Cd, Cu, and Zn in environmental samples using magnetic nanoparticles coated by 3-(trimethoxysilyl)-1-propanol and modified with 2-amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole and their determination by ICP-OES*, Journal of Hazardous Materials, 2011, 190, 1023-1029. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.051.
- [57] S.M. Wirth, G.V. Lowry, R.D. Tilton, *Natural organic matter alters biofilm tolerance to silver nanoparticles and dissolved silver*, Environ Sci Technol, 2012, 46, 12687-12696. doi: 10.1021/es301521p.
- [58] B. Zhao, M. He, B. Chen, B. Hu, *Ligand-assisted magnetic solid phase extraction for fast speciation of silver nanoparticles and silver ions in environmental water*, Talanta, 2018, 183, 268-275. doi: 10.1016/j.talanta.2018.02.081.

- [59] T. Tolessa, X.-X. Zhou, M. Amde, J.-F. Liu, *Development of reusable magnetic chitosan microspheres adsorbent for selective extraction of trace level silver nanoparticles in environmental waters prior to ICP-MS analysis*, *Talanta*, 2017, 169, 91-97. doi: 10.1016/j.talanta.2017.03.064.
- [60] V.S.Y. Suvorov O.A., Balandin G.V., Frolova Yu. V., Kozlovskaya A.E., Fokina E.N., Labutina N.V. , *Antibacterial effect of colloidal solutions of silver nanoparticles on microorganisms of cereal crops.*, *Foods and Raw materials*, 2017, 5 100-107. doi: 10.21179/2308-4057-2017-1-100-107.
- [61] S.K. Mwilu, E. Siska, R.B.N. Baig, R.S. Varma, E. Heithmar, K.R. Rogers, *Separation and measurement of silver nanoparticles and silver ions using magnetic particles*, *Science of The Total Environment*, 2014, 472, 316-323. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.10.077.
- [62] M.R. Neyestani, F. Shemirani, S. Mozaffari, M. Alvand, *A magnetized graphene oxide modified with 2-mercaptobenzothiazole as a selective nanosorbent for magnetic solid phase extraction of gold(III), palladium(II) and silver(I)*, *Microchimica Acta*, 2017, 184, 2871-2879. doi: 10.1007/s00604-017-2299-8.
- [63] E. Tahmasebi, Y. Yamini, *Polythiophene-coated Fe₃O₄ nanoparticles as a selective adsorbent for magnetic solid-phase extraction of silver(I), gold(III), copper(II) and palladium(II)*, *Microchimica Acta*, 2014, 181, 543-551. doi: 10.1007/s00604-013-1144-y.

IV. 2. MICROEXTRACCIÓN DE Cr(III) Y Cr(VI) CON PARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE FERRITA Y DETERMINACION CON ETAAS

Contenido

IV.2.1. Introducción.....	209
IV.2.2. Parte experimental	217
IV.2.2.1 Aparatos.....	217
IV.2.2.2 Reactivos.....	217
IV.2.2.3 Muestras y materiales de referencia	218
IV.2.2.4 Purificación de las disoluciones de Fe(III) y Fe(II)	219
IV.2.2.5 Síntesis del material adsorbente	219
IV.2.2.6 Procedimiento propuesto para la determinación de Cr(VI)	219
IV.2.2.7 Procedimiento propuesto para la determinación de Cr total	220
IV.2.3. Resultados y discusión	220
IV.2.3.1 Ensayos preliminares	220
IV.2.3.2 Efecto del pH en la retención de Cr(III) y Cr(VI).....	221
IV.2.3.2 Efecto de la cantidad de material adsorbente.....	224
IV.2.3.3 Estrategia para la especiación	225
IV.2.3.4 Desorción de las especies del cromo del material adsorbente	228
IV.2.3.5 Programa de calentamiento	231
IV.2.3.6 Calibración	232
IV.2.3.7 Aplicación del procedimiento propuesto a muestras reales.....	233
IV.2.4. Conclusiones	234
IV.2.5. Bibliografía	237

IV.2.1. Introducción

Los óxidos metálicos a tamaño nanométrico (NMO), como son los de hierro, manganeso, aluminio, titanio, magnesio y cerio ofrecen una gran área superficial y afinidad específica para la adsorción de metales pesados presentes en sistemas acuosos. Sin embargo, a medida que los óxidos metálicos reducen su tamaño de micrómetros a nanómetros, el aumento de la energía superficial conduce inevitablemente a una disminución en su estabilidad. En consecuencia, los NMO son propensos a la aglomeración debido a las fuerzas de Van der Waals u otras interacciones [1], con lo que la alta capacidad y selectividad de los NMO se reduciría considerablemente o incluso se perdería. Además, los NMO son inutilizables en lecho fijo o en cualquier otro sistema de flujo continuo debido a la excesiva caída de presión (o la difícil separación de los sistemas acuosos) y la pobre resistencia mecánica. Para mejorar la aplicabilidad de los NMO como sistemas de tratamiento de aguas residuales reales se pueden impregnar en soportes porosos de gran tamaño para obtener adsorbentes compuestos [2, 3]. Estos soportes porosos incluyen carbón activado, materiales naturales, polímeros sintéticos, etc.

El empleo de NMO con propiedades magnéticas atrae cada vez más la atención debido a que se pueden separar fácilmente de la fase dadora mediante la acción de un campo magnético [4]. Como estas propiedades magnéticas se mantienen en el caso del empleo de materiales compuestos en donde una parte es un óxido metálico magnético, la etapa de separación resulta muy fácil, lo que es esencial para mejorar la eficiencia del trabajo y reducir los costos en el tratamiento de aguas [5].

Los óxidos de hierro a nivel nanométrico son adsorbentes de bajo costo para la retención de metales tóxicos debido, por una parte, a que el hierro es uno de los elementos más abundantes, y por otra a que su obtención es un proceso bastante sencillo. Además, puesto que el hierro es un elemento amigable con el medio ambiente, sus óxidos pueden añadirse directamente a aguas contaminadas con despreciable riesgo de contaminación secundaria [6]. En este sentido se ha estudiado intensamente el empleo de goetita (α -FeOOH), hematita (α -Fe₂O₃), maghemita (γ -Fe₂O₃) y magnetita (Fe₃O₄).

Los nanogel de maghemita se pueden preparar por un método de sol-gel, es decir, agregando disolución de NH₄OH a la mezcla de FeCl₃ y FeCl₂ en el agua purificada desoxigenada y burbujeando con gas nitrógeno. El producto formado es un nanogel marrón-rojizo que se puede retirar mediante un campo magnético externo. Estas nanopartículas de maghemita responden bien a los campos magnéticos sin ninguna magnetización permanente, debido a que el momento de saturación de las partículas sintetizadas, como se ha demostrado por medidas

del ciclo de histéresis, es similar al de las partículas voluminosas. El área superficial del producto liofilizado se ha estimado por microscopía de transmisión electrónica en 178-198 m² g⁻¹.

La retención de Cr(VI) de muestras de agua por nano maghemita ha sido estudiada previamente [7, 8] si bien desde una perspectiva (la de purificación de aguas) bien distinta de la que aquí nos ocupa. En este caso la máxima adsorción se registró a pH=2,5. La capacidad de adsorción fue de 19,2 mg/g, muy superior a la obtenida para otros materiales. Los autores concluyeron que durante la retención no hay proceso redox y por tanto el mecanismo de retención es de atracción electrostática.

La magnetita se obtiene por un proceso de coprecipitación química cuando Fe(III) y Fe(II) en relación 2:1 se mezclan en un medio alcalino proporcionado por un carbonato. El tamaño de partícula puede disminuir sustancialmente en presencia de ácido oleico pero también lo hace la saturación magnética específica [9, 10]. Para evitar la oxidación del Fe(II) por el oxígeno disuelto se han propuesto al menos dos alternativas. Una de ellas consiste en realizar la precipitación en una atmósfera de nitrógeno y sobre una disolución en la que se ha desplazado el oxígeno con este gas. Alternativamente se puede realizar la precipitación sin eliminar el oxígeno disuelto partiendo de relaciones Fe(III):Fe(II) del tipo 1:2 para que, a costa de la oxidación nos acerquemos finalmente a la relación ideal de 2:1.

Los NMOs se han estudiado desde multitud de variantes. Por una parte, se pueden utilizar tal cual para la retención de metales y contaminantes orgánicos [11]. Alternativamente, se puede recubrir su superficie con reactivos funcionalizantes para conseguir mayor estabilidad, selectividad y sensibilidad [12]. También se puede insertar en estructuras porosas para conseguir sistemas adecuados para el tratamiento de aguas en flujo continuo [13]. Adicionalmente, se pueden utilizar como germen para la creación de un material compuesto que permite alcanzar una separación más selectiva [14]. En fin, el número de manifestaciones en que nos podemos encontrar los NMOs es enorme. Más detalles sobre éste y otros similares productos pueden verse en el capítulo IV.1 de esta Memoria. En este capítulo nos vamos a centrar en su empleo para la retención de las formas Cr(III) y Cr(VI).

Como ya hemos dicho, la retención de Cr(VI) en magnetita ha sido ampliamente estudiada [7, 8] desde un punto de vista de la eliminación de los iones en agua. El pH óptimo para la adsorción se encontró en 2,5 y la retención disminuye rápidamente al aumentar el pH. Sin embargo, en estudios posteriores donde cambia ligeramente el procedimiento de síntesis del material adsorbente, el pH óptimo se encontró casi constante en el intervalo de 2 a 5 [15] o superior [16]. La otra especie química de cromo, más abundante y mucho menos tóxica, Cr(III)

también se ha estudiado en cuanto a su retención en magnetita. Se ha observado que la retención de Cr(III) resulta cuantitativa entre pH 4 y 6, máximo valor estudiado. En otro estudio el intervalo óptimo de retención para Cr(III) se amplió hasta pH=9 [17].

La magnetita contiene Fe(II) y en su superficie se pueden presentar grupos FeOH^+ , $\text{Fe}(\text{OH})_2^0$ y $\text{Fe}(\text{OH})_3^-$ al aumentar el pH [18]. Como ya hemos comentado, la carga superficial de la magnetita es positiva desde medios ácidos hasta pH en el intervalo de 7,5-8. Por encima de este pH toma carga negativa. La Figura IV.2.1 muestra el comportamiento de Cr(III) y Cr(VI) en medio acuoso dependiendo del potencial redox y del pH [19]. En medio ácido está favorecida la forma Cr(III) mientras que en medio alcalino el potencial redox decrece y la forma más estable es la de Cr(VI). Por tanto, si bien la retención de Cr(VI) puede explicarse por atracción electrostática, este argumento no sería válido para la retención de Cr(III). El mecanismo de adsorción de Cr(III) propuesto supone el intercambio de Cr(III) por Fe(III) de la magnetita, un proceso termodinámicamente favorable [20, 21] o la adsorción por campos de fuerzas de valencia [22].

Para aumentar las prestaciones de la magnetita y/o maghemita se recurre a utilizar el óxido de hierro como base para soportes de otros materiales activos. En este sentido se puede recurrir al simple recubrimiento de la ferrita con ácido decanoico [23], 2-(propilamino etil) ditiocarbamato [24] o almidón [25] o a la fijación de reactivos en su superficie mediante enlaces químicos (funcionalización) como puede ser p-nitro anilina [12]. En otros casos se recurre a la formación de materiales compuestos por óxidos de hierro, manganeso y aluminio funcionalizados con 3-(2-amino etil amino) propil trimetoxisilano [26] o no [27], óxido de circonio [28] y, sobre todo silicio, pues el tratamiento del óxido de hierro con un reactivo silanzante como puede ser tetraetilortosilicato [29] provoca un recubrimiento muy reactivo que permite la funcionalización con otros compuestos para conseguir mayor especificidad [30] en un proceso sencillo que se esquematiza en la Figura IV.2.2. No siempre se consigue el recubrimiento de las partículas individuales, sino que a veces se produce encapsulado de partículas dentro de una cubierta de sílice como se puede apreciar en la Figura IV.2.3. El decorado superficial con grupos hidroxilo, fundamental para conseguir fácilmente la funcionalización, se puede alcanzar tratando las partículas con una mezcla de ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno en ultrasonidos.

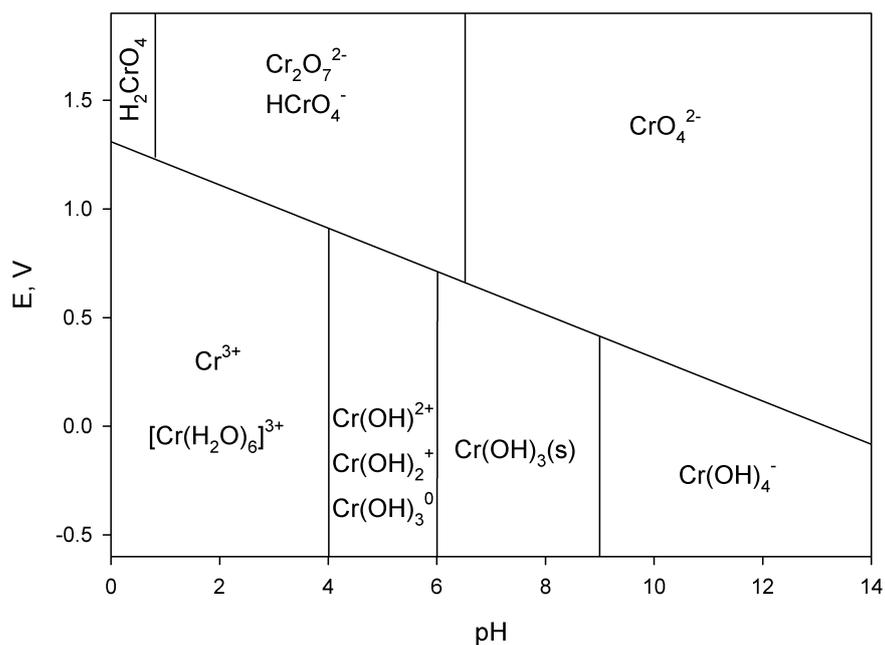


Figura IV.2.1. Efecto del pH y el potencial en la predominancia de las especies de Cr(III) y Cr(VI)

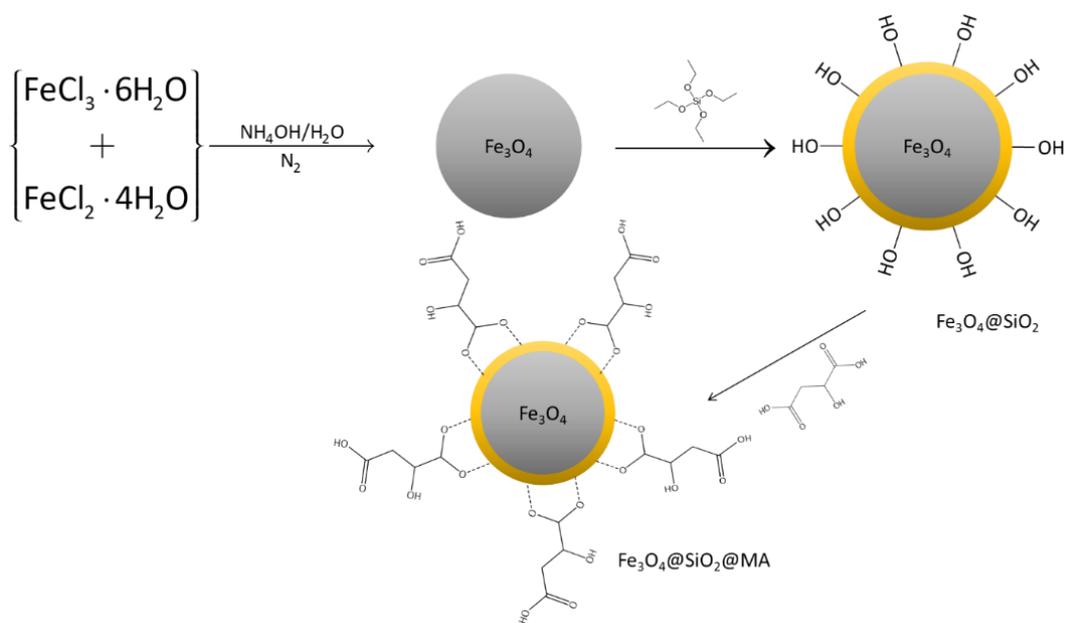


Figura IV.2.2. Síntesis del nanocompuesto de ferrita recubierta de SiO_2 y funcionalizada con ácido málico [31].

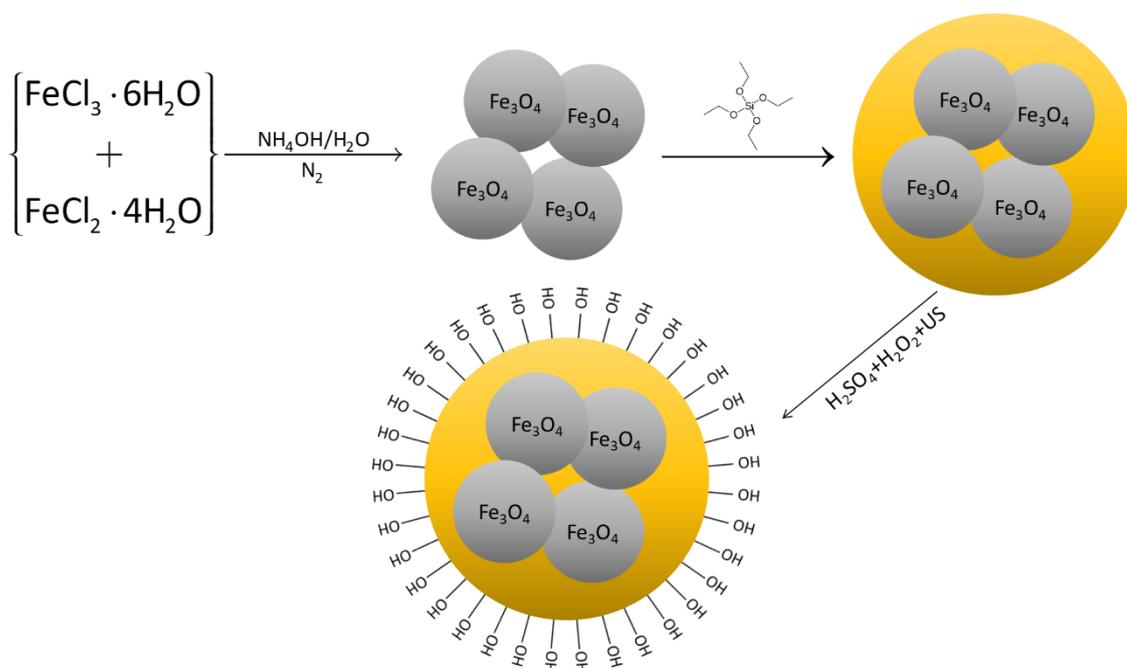


Figura IV.2.3. Síntesis del nanocompuesto de ferrita recubierta de SiO_2 y decorado con grupos hidroxilo [32].

Trabajando con recubrimientos de silicio se han propuesto procedimientos para la determinación de Cr(VI) sin funcionalizar [29] y funcionalizando con triazina [33]. En otros casos el producto formado resulta adecuado para la retención de Cr(III) , como es el que resulta del empleo como reactivo funcionalizante de N-(2-aminoetil)-3-aminopropiltrimetoxi-silano [30], ácido 3-mercapto propiónico [34] o zincón [35].

En otros materiales la cubierta de silicio ha sido sustituida por materiales de carbono que aportan una excelente base para aumentar las características adsorbentes y desarrollar procesos de funcionalización. En este sentido se han utilizado materiales compuestos formados por ferrita y celulosa para la retención de Cr(VI) [36, 37], quitosán funcionalizando con cisteína y glutaraldehído [14], nanotubos de carbono [38-40] y compuestos de la familia del grafeno como el óxido de grafeno [41, 42], óxido de grafeno funcionalizado con imidazolio [43] y grafito [44].

Para obtener materiales compuestos de nanotubos de carbono y magnetita es preciso tratar previamente los nanotubos en un medio nítrico o sulfúrico a 70°C o ultrasonidos durante 3-12 h. Así, se consigue la formación en la superficie de gran cantidad de grupos carboxilo. La síntesis de la magnetita en una suspensión de estos nanotubos conduce a un material compuesto de tipo magnético que puede funcionalizarse. En la Figura IV.2.4 se muestra un proceso de funcionalización con polietilen imina que permite la determinación de Cr(VI) a $\text{pH}=5,9$ (el pH para el potencial de carga zero de este compuesto resultó ser de 6,5).

Alternativamente, los nanotubos de carbono tratados para unirse a magnetita formando MWNT@Fe₃O₄ pueden suspenderse en un líquido iónico como tetra borato de 1-butil 3-metil imidazolio. El producto formado retiene al compuesto resultante de la reacción de Cr(VI) con difenil carbazida, difenilcarbazona de Cr(III), en medio ácido (pH=2).

El empleo de óxido de grafeno es una alternativa interesante a los nanotubos de carbono porque es más barato y/o fácil de sintetizar. Además, la decoración con partículas magnéticas es mucho más sencilla pues basta con suspender el óxido de grafeno y entonces sintetizar in situ las partículas magnéticas. La Figura IV.2.5 muestra un esquema de este proceso. A continuación se ha funcionalizado con trietilentetraamina [41] para conseguir una separación secuencial de Cr(VI) y Cr(III) a pHs 2 y 8, respectivamente, aunque Cr(III) no se retuvo cuantitativamente hasta pasados 30 min.

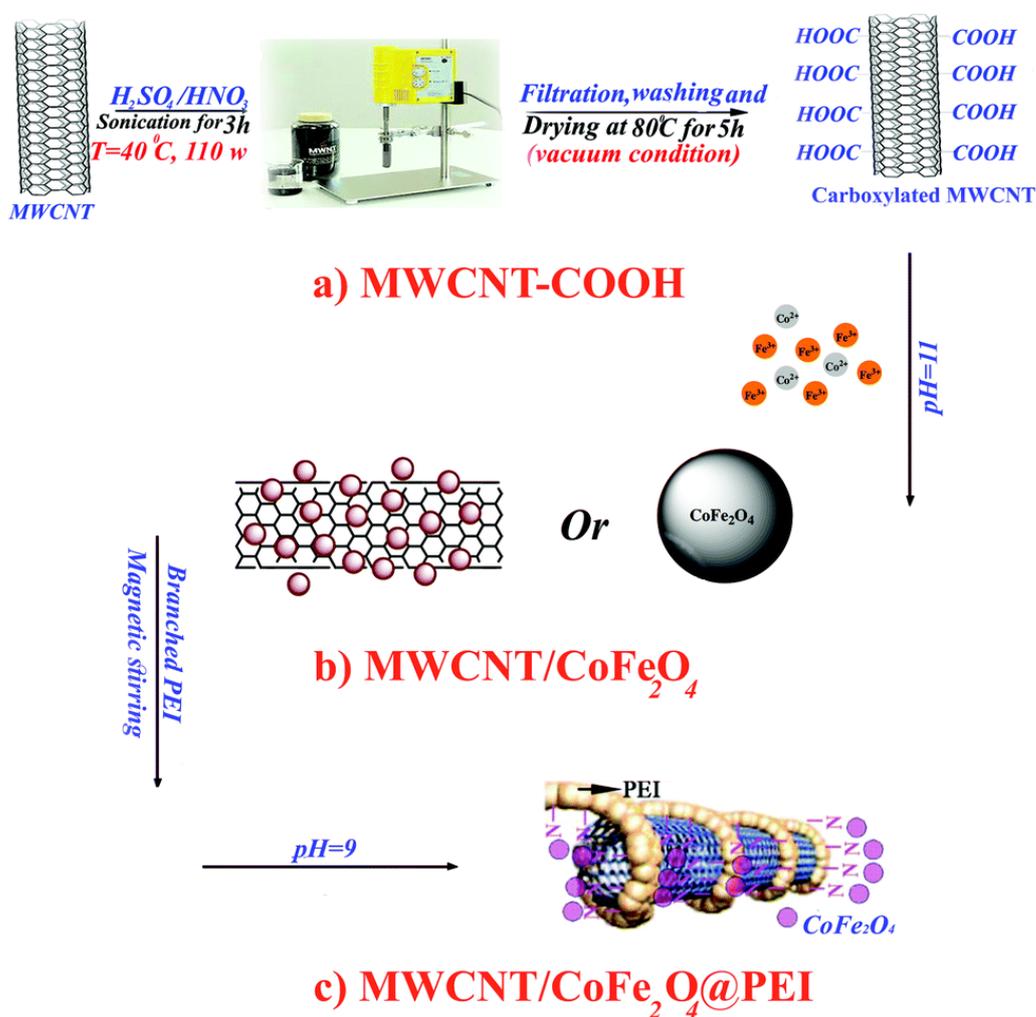


Figura IV.2.4. Síntesis del nanocompuesto de nanotubos de carbono multipared y CoFe₂O₄ funcionalizado con polietilen imina (PEI). Tomado de [38].

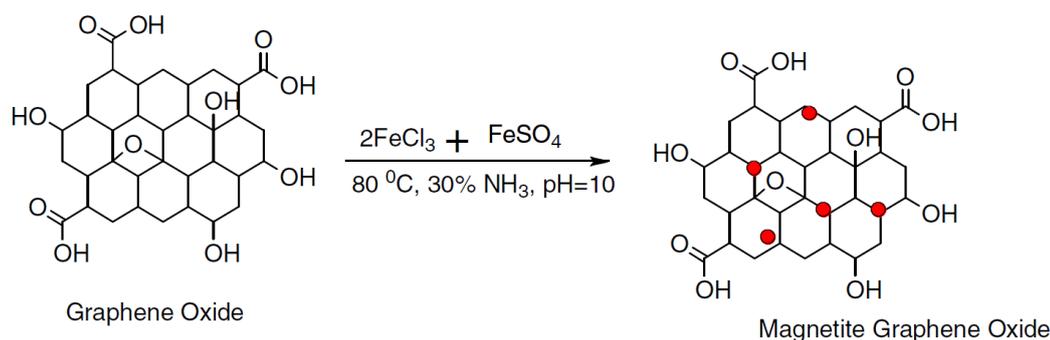


Figura IV.2.5. Síntesis del nanocompuesto de óxido de grafeno y Fe_3O_4 . Tomado de [41].

En un proceso de funcionalización mucho más elaborado, el óxido de grafeno magnético puede silinizarse en primer lugar empleando tetraetilorto silicato para formar $\text{GO@Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$. A continuación se trata con (3-cloropropil)-trietoxisilano (3-CPTS) en tolueno para formar un compuesto intermedio ($\text{GO@Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{CPTS}$) que permite la funcionalización con un tiocarbamato imidazol obtenido previamente por reacción de 1-(3-aminopropil) imidazol con sulfuro de carbono. La reacción de funcionalización transcurre en metanol:trietil amina 1:1 a reflujo durante 24 h [43]. La figura IV.2.6 muestra un esquema del proceso de síntesis de nanocompuesto $\text{GO@Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{IM}$, donde con IM se denota el recubrimiento resultado de la funcionalización. A $\text{pH}=2$ se retiene Cr(VI) , mientras que a $\text{pH}=6$ se retienen ambos.

El material compuesto $\text{GO@Fe}_3\text{O}_4$ se ha utilizado sin funcionalizar para retener Cr(VI) en el intervalo de pH entre 2 y 3, mientras que el Cr total se determina previa oxidación de Cr(III) con permanganato potásico [42].

En un intento de simplificar el material adsorbente dotándolo de mayor asequibilidad, en esta Memoria se presenta el empleo de magnetita sintetizada en un medio sometido a ultrasonidos sin el empleo de atmósfera de nitrógeno como reactivo “fresco” para la retención de Cr(III) y Cr(VI) en muestras de agua.

Como ya hemos comentado en el capítulo IV.1, el material sintetizado en estas condiciones, presenta unas excelentes características de adsorción que lo hacen muy adecuado para la retención de especies metálicas. Al contener únicamente Fe y oxígeno se trata de un material amigable con el medio ambiente y cuyo desecho no supone un problema de contaminación. Al tiempo, se trata de una síntesis muy económica y sostenible porque

solamente se genera el que se utiliza en el proceso de adsorción. Por tanto, no tiene sentido económico o de impacto ambiental plantearse aspectos como los de regeneración del material.

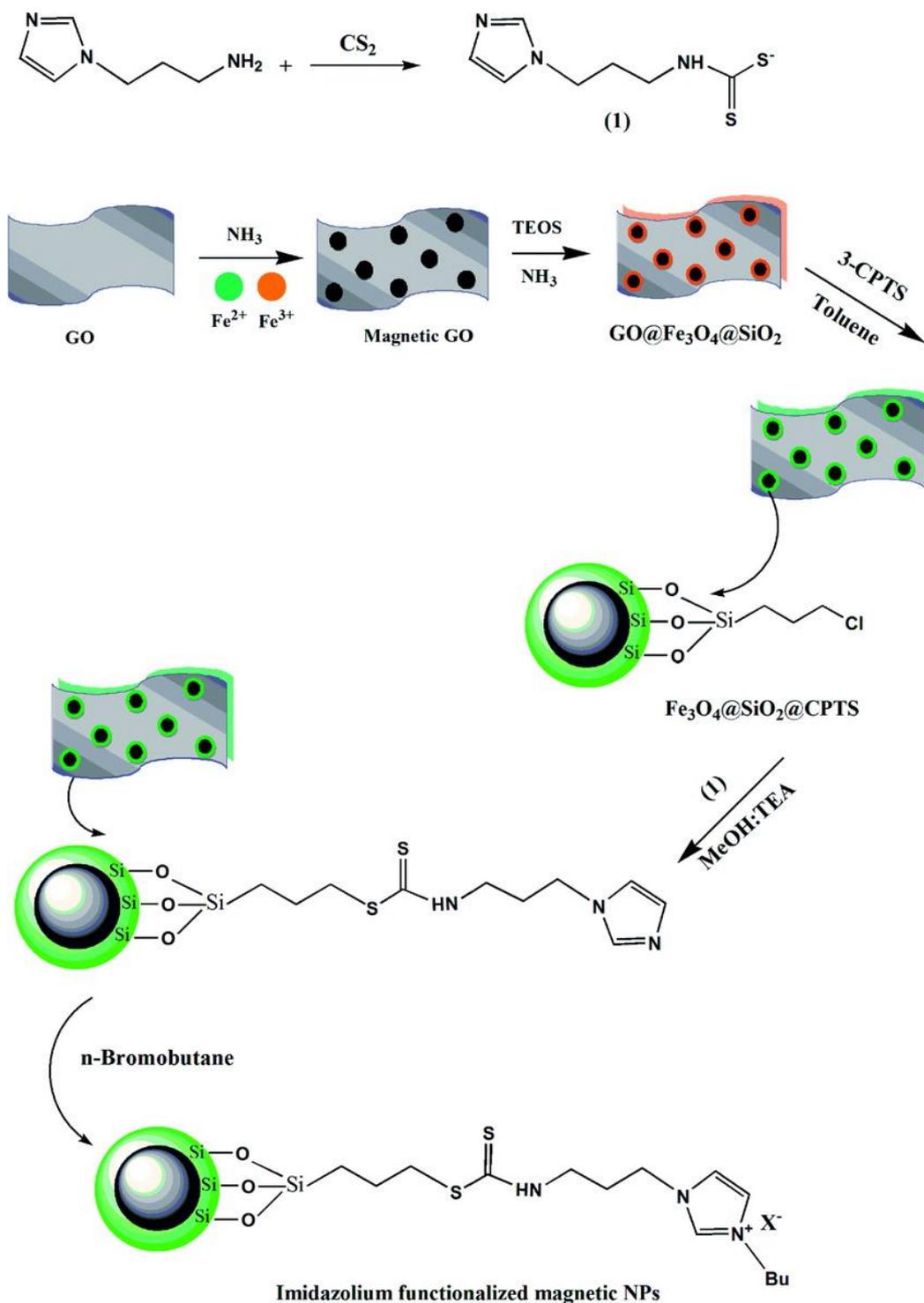


Figura IV.2.6. Síntesis del nanocompuesto de óxido de grafeno y Fe₃O₄. Tomado de [43].

IV.2.2. Parte experimental

IV.2.2.1 Aparatos

Todas las medidas se realizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 800 (Shelton, MA, USA) equipado con un atomizador de grafito de calentamiento transversal, un sistema de corrección de fondo basado en el efecto Zeeman y un muestreador de la misma marca modelo AS-800. Para la atomización se utilizaron tubos de grafito pirolítico con plataforma de L'Vov suministrados por el fabricante del equipo. El gas inerte fue argón con un caudal de 250 ml min^{-1} en todas las etapas del programa de calentamiento, excepto durante la de atomización, donde se detuvo el flujo de gas interno. Se utilizó una lámpara de cátodo hueco (PerkinElmer) a 30 mA de corriente como fuente de radiación. Los parámetros instrumentales utilizados aparecen resumidos en la Tabla IV.2.1. Para el tratamiento con ultrasonidos se utilizó un baño termostático equipado con un generador de ultrasonidos de 50W (ATU, Valencia, Spain) programable hasta $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Para la centrifugación se utilizó una centrífuga Hettich modelo EBA 200 (Tuttlingen, Germany) equipada con un rotor adecuado para tubos cónicos de 15 mL de capacidad y que puede girar hasta 6000 rpm (3461 g). Cuando fue necesario homogeneizar se empleó un vortex modelo Reax de Heidolph (Germany).

Los imanes permanentes compuestos de Nd-Fe-B fueron suministrados por Supermagnete (Gottmadingen, Alemania). Para las separaciones analíticas, el imán era un solo bloque ($50 \times 15 \times 15 \text{ mm}$ y 86 g de peso) con una resistencia de 33 kg. Para la separación de nanopartículas durante la preparación del material magnético, se utilizó un disco (35 mm de diámetro, 20 mm de espesor y 150 g de peso) con una resistencia de 38 kg. Los estudios de tamaño de partícula se realizaron con un equipo de dispersión dinámica de luz de Malvern modelo Zetasizer nano zsp (England). Para el estudio de microscopía electrónica se utilizó un equipo JEOL modelo JSM-6100 (Peabody, MA, USA).

IV.2.2.2 Reactivos

Se utilizó exclusivamente agua pura ($18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ resistividad) que se obtuvo de un sistema Millipore (Millipore, Bedford, MA). Para evitar la contaminación, el material de vidrio se lavó con ácido nítrico al 10 % (v/v) y después se aclaró con agua antes de su uso. Las disoluciones estándar de cromo (III) y (VI) (1000 mg mL^{-1}) fueron preparadas a partir de $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ y $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (Fluka, Buchs SG, Switzerland), respectivamente, en agua, y diluidas diariamente para obtener las disoluciones de trabajo adecuadas. Las disoluciones 0,2 M de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y 0,1 M de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

se utilizaron para la preparación de las disoluciones previa purificación como se indica más adelante. El resto de los productos químicos usados se obtuvieron de Sigma (St. Louis, MO, EE.UU.). El ácido nítrico (65 %) se obtuvo de Merck (Darmstadt, Alemania).

Tabla IV.2.1. Parámetros instrumentales y programa de calentamiento

Parámetro	
Corriente de la lámpara, mA	30
Longitud de onda, nm	357,9
Rendija, nm	0,7
Atomizador	Transversal con plataforma de L'Vov
Volumen de muestra inyectado, μL	20
Modificador químico	ninguno
Volumen de muestra, mL	10

Programa de calentamiento			
Paso	Temperatura, °C	Rampa, °C/s	Mantenido, s
1: Secado	110	10	20
2: Secado	130	15	30
3: Calcinación	1500	10	20
4ª: Atomización	2500	0	5
5: Limpieza	2550	1	3

^a Flujo de argón 250 mL min^{-1} en todos los pasos, excepto durante atomización, donde el flujo de gas se detuvo.

IV.2.2.3 Muestras y materiales de referencia

Las dos muestras de agua embotellada se compraron en supermercados locales, el agua potable de grifo corresponde a la que se suministra en las instalaciones de nuestro centro de trabajo. El agua de río proviene del río Segura, Murcia, España y la de mar del Mar Menor (Región de Murcia, España). El agua de manantial corresponde a una muestra tomada en el manantial "La Murta", Cieza, Murcia, España. Estas muestras se filtraron por $0,45 \mu\text{m}$ y se mantuvieron en un contenedor de plástico a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta que se analizaron (antes de 48h).

Adicionalmente, se utilizaron cinco materiales de referencia correspondientes a distintos tipos de aguas. Así se han empleado los materiales NIST 1640a (agua natural), NASS-6 (agua de mar), TMRAIN-04 (agua de lluvia sintética), TM-23.4 (agua fortificada) y TM-25.4 (agua fortificada a nivel bajo) con contenido certificado de cromo total y que se obtuvieron del National Institute of Standards and Technology, National Research Council Canada y Environment Canada (TM materials).

IV.2.2.4 Purificación de las disoluciones de Fe(III) y Fe(II)

Pese a que las disoluciones de los iones de hierro se prepararon a partir de los productos más puros existentes, la extrema sensibilidad del método estudiado hizo necesaria su purificación para disminuir el valor de los ensayos en blanco. La disolución de Fe(III) se purificó a partir de una disolución 0,1 M de la sal de Fe(III) en HCl 9 N. Se toman 2 mL de esta disolución que se agitan en un tubo de centrifuga con 2 mL de n-octanol durante 10 min. Se dejan separar las fases y se centrifuga a 4000 rpm durante 5 min. Se toma la fase orgánica que se coloca en otro tubo de centrifuga. La mayor parte del Fe(III) ha pasado a la fase orgánica. Para aumentar el rendimiento se repite el proceso. La disolución de Fe(III) restante se vuelve a tratar con otros 2 mL de n-octanol y tras el proceso de extracción se combinan ambos volúmenes de fase orgánica. Esta fase orgánica se trata con dos porciones consecutivas de 1 mL de agua. De esta forma se consigue la retroextracción del Fe(III) a la fase acuosa exento de la mayor parte de cromo.

Para la purificación de la sal de Fe(II) se recurre al empleo de la resina de intercambio iónico de tipo aniónico débil. La resina se dispone en una minicolumna y se acondiciona con agua. El Fe(II) contenido en la disolución no se retiene a su paso por la columna, pero la señal de cromo desciende al 25 %.

IV.2.2.5 Síntesis del material adsorbente

Las partículas magnéticas de ferrita se obtuvieron con el siguiente procedimiento. En un tubo de centrifuga de fondo cónico se añaden 10 mL de agua, 0,1 mL de la disolución de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,2 M y 0,1 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M. Se mezcla y se coloca en el baño termostático ajustado a 60 °C durante 5 min. A continuación, se añaden 40 μL de NH_4OH concentrado, se mezcla y se aplica ultrasonidos durante 4 min. Pasado este tiempo se separan de la fase acuosa con ayuda del imán y se lavan con dos porciones de 1 mL de agua. Las partículas así obtenidas se encuentran listas para utilizarse en el procedimiento propuesto.

IV.2.2.6 Procedimiento propuesto para la determinación de Cr(VI)

La muestra se lleva a pH cercano a la neutralidad con ayuda de hidrogeno carbonato sódico sólido o pequeños volúmenes del mismo 0,3 M. Se añade Na_2EDTA hasta una concentración 0,001 M y se calienta a 40 °C durante 15 min para conseguir la complejación de

Cr(III). La disolución resultante se trata ahora como se indica en el siguiente apartado. La señal obtenida en el detector resulta proporcional a la concentración de Cr(VI).

IV.2.2.7 Procedimiento propuesto para la determinación de Cr total

Se colocan 10 mL de la muestra con pH cercano a la neutralidad en el tubo donde se han sintetizado las partículas de ferrita. Se agita para favorecer el contacto durante 10 s y se aplica el imán para coleccionar el material adsorbente. Se desecha el líquido sobrenadante y se lavan las partículas dos veces con 1 mL de agua con ayuda del imán para la separación. Sobre el material adsorbente se añaden 100 µL de agua y con ayuda de un vortex se forma una suspensión. Se toman 20 µL que se llevan al atomizador para la medida. La señal obtenida en el detector es proporcional al contenido total de cromo.

IV.2.3. Resultados y discusión

IV.2.3.1 Ensayos preliminares

Como en el capítulo anterior utilizando ferrita, las primeras experiencias se encaminaron hacia la retención de Cr(VI) y Cr(III) en ferrita sintetizada "in situ". Para ello, sobre la muestra conteniendo alguna de las especies de cromo, se añadían Fe(III) y Fe(II) y seguidamente amoníaco para subir el pH hasta al menos 8. Cuando se trabajaba con estándares acuosos y en agua destilada la formación de las partículas magnéticas de ferrita transcurría sin problemas. Además, la retención de ambas formas de cromo era completa en las condiciones de trabajo. Sin embargo, cuando la muestra en la que se quiere determinar alguna de las especies de cromo contenía otros componentes la formación de partículas magnéticas se veía alterada. En efecto, en el caso de querer determinar el contenido de cromo en agua potable del grifo la formación de las partículas, que en disolución acuosa era perfecta, no transcurría. La presencia de otras especies en la disolución acuosa obtenida con agua destilada, tampoco permitía la formación de partículas magnéticas. Este era el caso de la adición del complejante etileno diamino tetraacetato sódico (EDTA). En presencia de la cantidad necesaria de este ligando para complejar Cr(III) y así evitar su retención en la ferrita, las partículas magnéticas no se formaban.

En todas estas experiencias se utilizó la adición de 100 µL de disoluciones 0,2 M de Fe(II) y 0,1 M de Fe(III). El pH se aumentó con la adición de 20 µL de NH₄OH concentrado. En estas condiciones se consigue la formación de 2,2 mg de partículas magnéticas de ferrita. Esto supone que si lo que se forma es Fe₃O₄, el rendimiento de la reacción sea del aproximadamente el 32 %.

Este rendimiento aumenta hasta el 52% cuando se añaden 40 μL de NH_4OH concentrado. Esto nos hizo pensar que quizás en disoluciones distintas al agua destilada se deberían utilizar los reactivos en mayor concentración. En las experiencias realizadas con agua del grifo, para que se formara el material adsorbente magnético, resultó necesario doblar las concentraciones de Fe(II) y Fe(III) y aumentar la cantidad de hidróxido amónico. En estas condiciones si se conseguía la formación in situ de las partículas magnéticas. Pero en estas condiciones se formaba más masa de material adsorbente y esto suponía un serio problema.

En efecto, una vez retenidas las especies de cromo es preciso desorberlas en un microvolumen para llevar a cabo la determinación. De esta forma conseguiremos un elevado factor de enriquecimiento. Sin embargo, como veremos más adelante, no fue posible conseguir la desorción cuantitativa y suficientemente rápida de las especies de cromo, con las distintas disoluciones empleadas. Por tanto, hubo que recurrir a la introducción de la muestra en el atomizador en forma de suspensión. En estas condiciones, la señal del ensayo en blanco resultaba demasiado elevada para lo que sería deseable. Como veremos más adelante, esto es consecuencia de la presencia de cromo, fundamentalmente Cr(VI) , en las sales de hierro utilizadas. Los problemas derivados de esta circunstancia nos hicieron desechar la formación de ferrita in situ como material adsorbente y retornamos a la síntesis previa del material en condiciones óptimas y su inmediato empleo como adsorbente en las muestras.

Como ya hemos comentado en otros capítulos y se recoge en la parte experimental de éste, la formación previa de las partículas magnéticas se realiza en 10 mL de agua añadiendo 100 μL de las disoluciones 0,2 M de Fe(II) y 0,1 M de Fe(III) . La mezcla se calienta a 60 $^\circ\text{C}$ durante 10 min y seguidamente se añaden 20 μL de NH_4OH concentrado para subir el pH, al tiempo que se aplica ultrasonidos durante 3 min. Inmediatamente aparecen unas partículas negras con fuertes características magnéticas que se separan fácilmente con el empleo de un imán de neodimio. Se lavan dos veces con porciones de 2 mL de agua y están listas para utilizarse en la determinación de cromo. Este procedimiento tiene como ventaja frente a la formación "in situ" que el proceso de adsorción se puede realizar a valores de pH diferentes de los necesarios para la formación.

IV.2.3.2 Efecto del pH en la retención de Cr(III) y Cr(VI)

Se ha estudiado el efecto del pH de la disolución en la que se encuentran las especies de cromo en la retención por parte de la ferrita recién sintetizada. Para ello se han utilizado disoluciones estándar de Cr(VI) y Cr(III) que se han ajustado a valores de pH entre 2 y 10 con

ayuda de ácido nítrico e hidróxido sódico. Al tratarse de partículas recién sintetizadas que no han sufrido tratamiento térmico y por tanto envejecimiento, como es habitual en la mayoría de los procesos de síntesis [15, 16, 45], resultan parcialmente solubles en medios ácidos. Así, encontramos que a $\text{pH} < 4$ se produce una lenta solubilización de la ferrita que se aprecia visualmente por la aparición de una ligera coloración marrón en las disoluciones. Los valores de retención obtenidos en esta zona de pH no son por tanto fiables y presentan desviaciones estándar considerables.

En la Figura IV.2.7 que muestra los resultados obtenidos, puede apreciarse que la retención de Cr(VI) es alta a cualquier pH , mientras que la de Cr(III) presenta su máximo valor a pH comprendido entre 6 y 9. Por tanto, se ha seleccionado un pH en el entorno de 7 como valor más adecuado para la retención del cromo total. Este pH se puede ajustar con la ayuda de una reguladora de hidrogenocarbonato sódico y ácido nítrico. Encontramos que la adición de 100 μL de esta reguladora 0,3 M es suficiente para ajustar el pH al valor deseado en la mayoría de las muestras sin necesidad de reajustar con ácidos o bases.

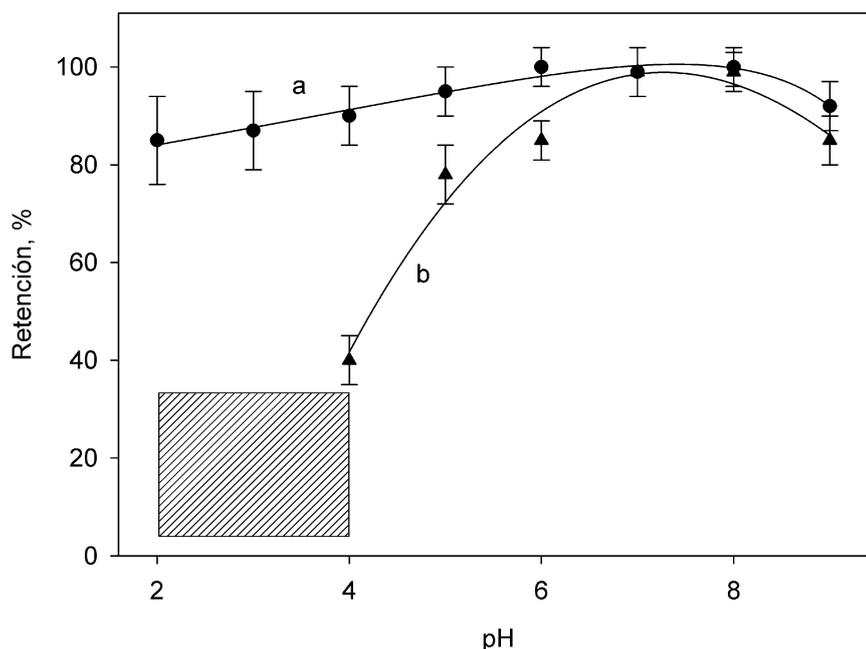
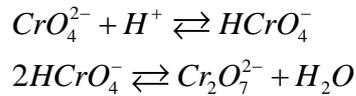


Figura IV.2.7. Efecto del pH en la retención de las formas Cr(VI) y Cr(III) (curvas a y b, respectivamente) en ferrita recién sintetizada. La zona de pH sombreada corresponde a una parcial disolución de las partículas de ferrita, por lo que los datos están afectados de una mayor variabilidad.

Como ya hemos comentado, el pH al que el potencial de carga superficial de estas partículas se hace cero es, aproximadamente 7,9. Eso indica que por debajo de este pH la

superficie se encuentra cargada positivamente. A valores de pH ligeramente ácidos (pH<6) el Cr(VI) se encuentra como HCrO_4^- y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ con los siguientes equilibrios [46]:



Los grupos hidroxilo de la ferrita estarán protonados y por tanto se ha propuesto el mecanismo de adsorción [47] que aparece en la Figura IV.2.8.

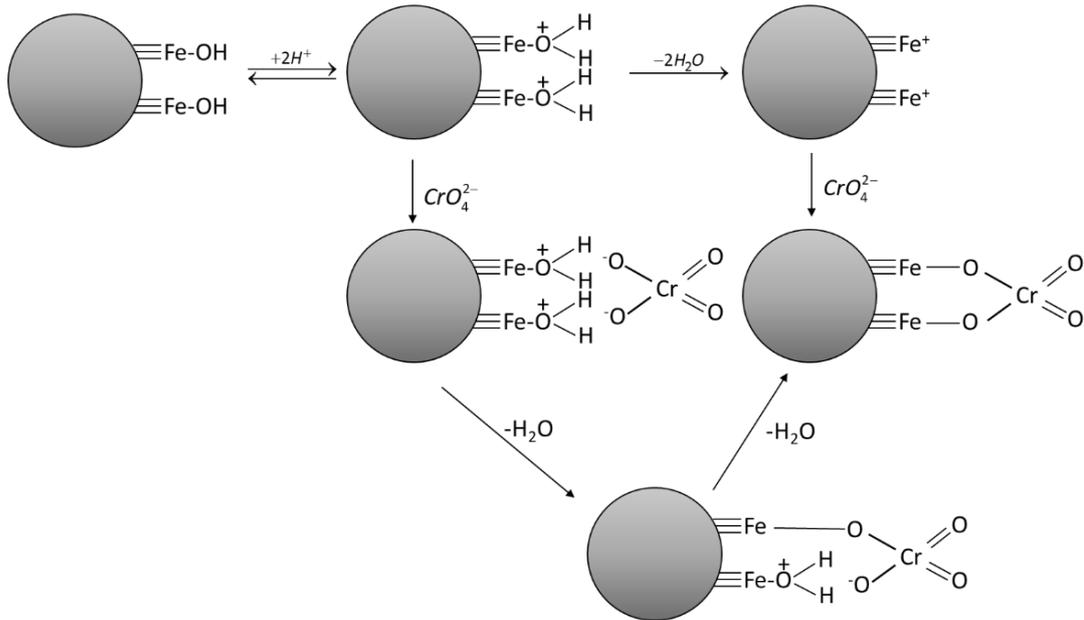


Figura IV.2.8. Mecanismo propuesto de adsorción en ferrita del Cr(VI). Tomado de [47].

Cuando aumenta el pH los sitios $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ evolucionan hasta $\equiv\text{Fe}-\text{O}^-$ que se comporta como una base de Lewis y puede coordinarse con el ion metálico M^{n+} según se aprecia en la Figura IV.2.9.

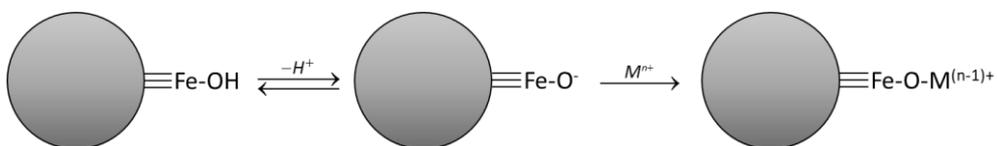
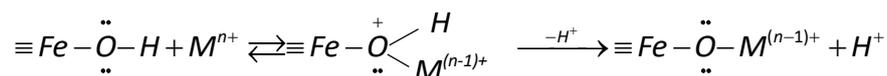


Figura IV.2.9. Mecanismo propuesto de adsorción en ferrita del Cr(III). Tomado de [47].

También es posible que el grupo $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ forme enlaces coordinados con el catión metálico adsorbido seguido de una pérdida de protones a la disolución según:



Pudiéndose formar complejos polidentados para neutralizar las cargas [11].

IV.2.3.2 Efecto de la cantidad de material adsorbente

En lo que hemos comentado hasta ahora se utilizaba todo el material obtenido en la síntesis previa in situ para la retención de las especies de cromo. Sin embargo, se estudió la cantidad de material preciso para conseguir la total retención de las especies de cromo. El estudio se realizó para una concentración de Cr(VI) de 25 µg/L. La Figura IV.2.10 muestra los resultados obtenidos. No se observaron diferencias cuando la especie a retener es Cr(III). Como puede apreciarse, basta con 1 mg de material en 10 mL de muestra (0,1 mg/mL) para conseguir la retención completa, lo que denota la excelente capacidad de retención de la ferrita recién sintetizada. Para evitar que, en muestras reales, la presencia de otras especies pudiera saturar la capacidad de adsorción de la ferrita se decidió recomendar el empleo de 0,22 mg/mL de material adsorbente, todo el que se obtiene en el proceso de síntesis recomendado en la parte experimental.

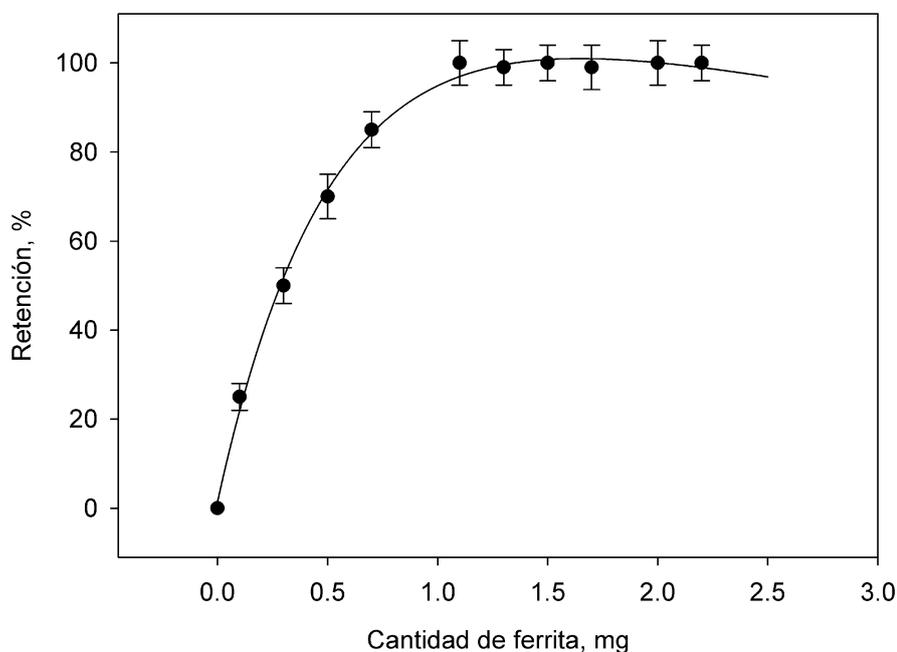


Figura 10. Efecto de la cantidad de ferrita utilizada para la retención de cromo en 10 mL de una disolución de 25 µg/L de Cr(VI). Este estudio de retención se realizó sin dejar tiempo extra de contacto entre las partículas de ferrita y la disolución.

Además, el proceso de retención es prácticamente instantáneo y no requiere de tiempo extra, basta con el que se necesita para coleccionar las partículas magnéticas con el imán de neodimio.

Es importante señalar la ventaja de utilizar el material magnético “fresco”, esto es preparado in situ, en vez de obtenerlo por la vía convencional y usarlo después para el proceso de separación. Este material “fresco” tiene mejores propiedades adsorptivas. Otros autores que utilizan un material similar de síntesis convencional, indican que es necesaria la presencia de 4 mg/mL de material para conseguir una retención del 60% de Cr(VI). Al mismo tiempo la cinética resultó muy lenta, siendo necesarios más de 15 min para alcanzar el 60% de retención [11]. Resultados similares se encuentran en la bibliografía para otros casos con el empleo de ferrita obtenida de forma convencional [15, 16], con cinéticas lentas que requieren incluso 60 min para conseguir retenciones cuantitativas. Por el contrario, la capacidad de adsorción de Cr(VI) del adsorbente magnético obtenido por el procedimiento recomendado se ha calculado en 12,5 mg/g, valor que resulta similar o superior al obtenido por otros autores [47] y la retención es muy rápida.

IV.2.3.3 Estrategia para la especiación

Para conseguir la especiación se consideró el empleo de agentes complejantes que permitieran un comportamiento diferencial entre Cr(III) y Cr(VI). Para que el procedimiento resultase lo más sencillo posible se pensó en agentes complejantes adecuados a pH próximo a la neutralidad. En este sentido se ensayaron tris(hidroximetil)aminometano hidrocloreuro (TRIS), ácido N-[Tris(hidroximetil)metil]-2-aminoetanosulfónico (TES), ácido 4-morfolinoetano sulfónico (MES), ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-(2-etanosulfónico) (HEPES), ácido salicílico, tiocianato amónico, 2-mercapto etano sulfonato de sodio y sal sódica del ácido etilendiamino tetraacético (EDTA). Los mejores resultados se obtuvieron con el empleo de EDTA.

El EDTA es, con mucho, el agente quelante más utilizado en Química Analítica. Forma complejos robustos del tipo 1: 1 con muchos iones metálicos, independientemente de la carga del metal. Varios iones de naturaleza compleja o carga alta reaccionan lentamente con EDTA. Este es el caso de los iones de Cr(III), que se unen a las moléculas de agua tan fuertemente que su desplazamiento por EDTA ocurre con lentitud, incluso durante el transcurso de varios días [48]. Se ha descrito que la velocidad de la reacción depende de la concentración de EDTA y de la presencia de catalizadores como benzoato [49] o carbonato [50]. En este último caso, a valores de pH cercanos a la neutralidad, donde la concentración de ion hidrogeno carbonato es

máxima, se consigue la mayor velocidad en la reacción de complejación. Si a ello se une un aumento de la temperatura se puede conseguir la complejación completa en apenas 10 min [51]. Aunque se ha descrito la determinación de Cr(VI) por formación de un complejo de Cr(III) con EDTA se precisa de la presencia de agentes reductores y el proceso es más favorable en medio moderadamente ácido [52]. La estructura del complejo formado está en controversia [53] ya que se han detectado estructuras pentadentadas como $[\text{Cr}(\text{HEDTA})(\text{H}_2\text{O})]$ y hexadentadas como $[\text{Cr}(\text{EDTA})]^{6-}$ [54]. La Figura IV.2.11 muestra la distribución propuesta para las distintas formas en función del pH en donde se aprecia la existencia por parte del complejo de dos constantes de acidez, $\text{pK}_{a1}=1,8$ y $\text{pK}_{a2}=7,39$. Al pH de trabajo, el complejo tendrá carga negativa y aunque la superficie de las partículas magnéticas está cargada de forma ligeramente positiva, no se produce la retención del complejo en el soporte magnético.

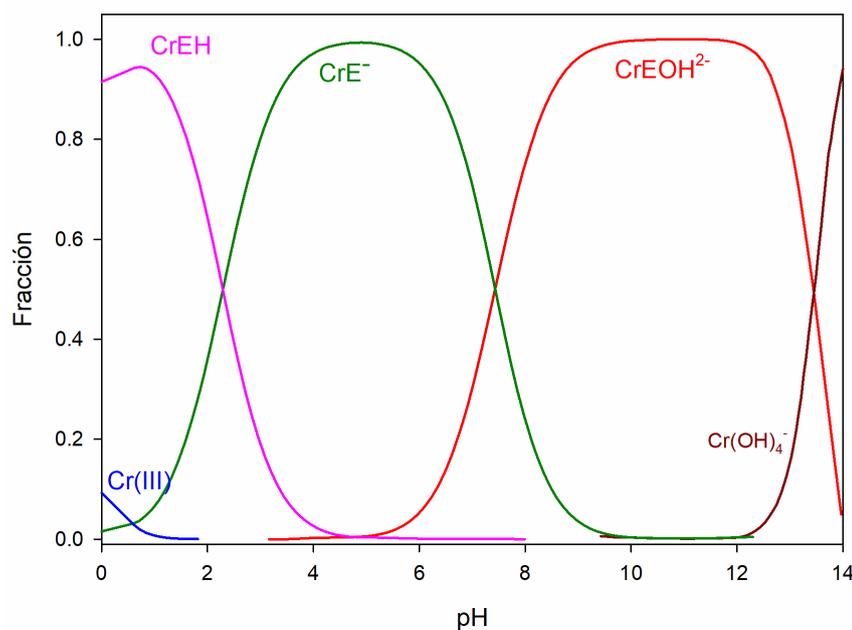


Figura IV.2.11. Distribución de las formas del complejo de EDTA con Cr(III) en función del pH. Adaptado de [51].

En nuestro caso se ha seleccionado como pH óptimo de trabajo el valor de $\text{pH}=7$, lo que se puede conseguir fácilmente con el empleo de la reguladora formada por hidrogenocarbonato y ácido nítrico. La Figura IV.2.12 muestra el efecto de la concentración de la reguladora en la retención de Cr(III) a distintos tiempos desde que se añade el agente complejante EDTA. Como puede apreciarse, al aumentar la concentración de reguladora, el tiempo necesario para evitar la retención de Cr(III) disminuye. Todos estos resultados se obtuvieron a temperatura ambiente.

Se ha seleccionado una concentración 0,03 M de reguladora que se forma a partir de la sal sódica de hidrogenocarbonato que se ajusta a pH=7 con ayuda de ácido nítrico.

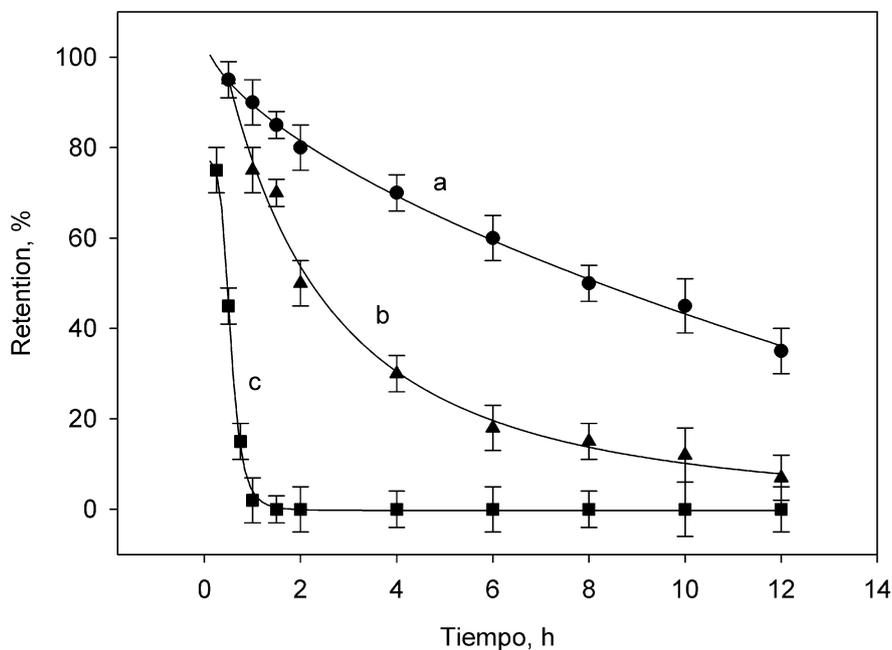


Figura IV.2.12. Efecto de la concentración de la reguladora de hidrogeno carbonato en la retención de Cr(III) en presencia de EDTA 0,001 M. Las curvas a, b y c corresponden a concentraciones de hidrogeno carbonato de 10^{-4} , 10^{-3} y $3 \cdot 10^{-2}$ M, respectivamente.

La Figura IV.2.13 muestra el efecto de la temperatura de calentamiento de la disolución de Cr(III) y EDTA antes del proceso de adsorción. Como puede comprobarse, el aumento de la temperatura reduce notablemente el tiempo necesario para la complejación completa. Hemos seleccionado una temperatura de 60 °C como la más adecuada. En estas condiciones, el complejo se forma en apenas 5-10 min. Se ha descrito que en presencia de cantidades moderadas de EDTA es posible calentar a 70 °C durante al menos 2 horas sin que haya conversión de Cr(VI) a Cr(III) a pH próximo a la neutralidad [55]. En nuestro caso hemos seleccionado una concentración de EDTA 0,5 mM. En estas condiciones, la retención de Cr(III) prácticamente desaparece al pH de trabajo recomendado, consecuencia de la formación del complejo, mientras que la de Cr(VI) se mantiene en los valores máximos.

Así pues, la especiación se realiza en dos pasos. En un primer experimento, en ausencia de EDTA, se determina el contenido total de cromo. En otro experimento, donde la muestra se ha tratado previamente con EDTA, se determina el contenido de Cr(VI). Por diferencia podemos conocer el contenido en Cr(III).

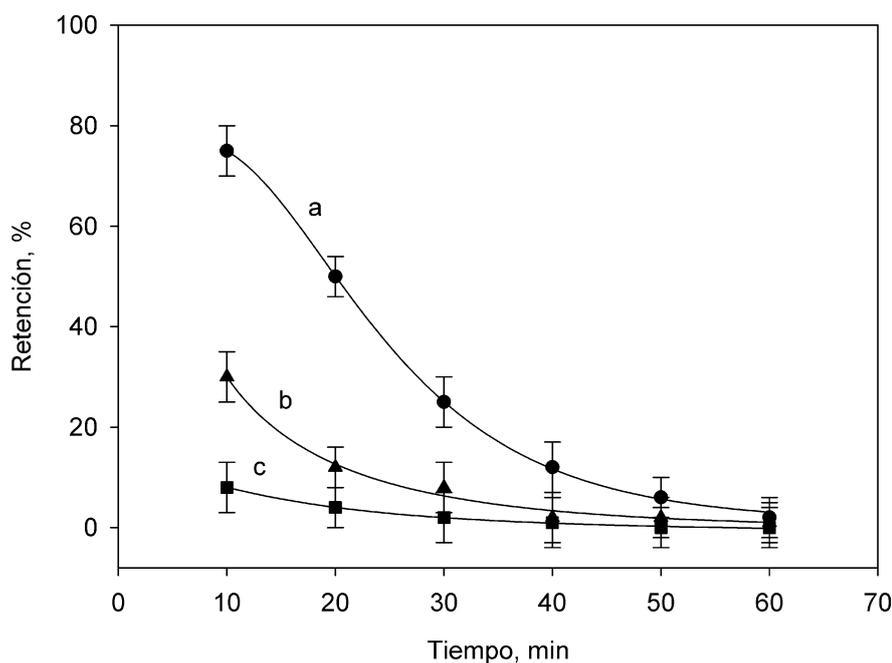


Figura IV.2.13. Efecto de la temperatura en la retención de Cr(III) en presencia de EDTA 0,001 M. Las curvas a, b y c corresponden a temperaturas de 25, 40 y 60 °C, respectivamente.

IV.2.3.4 Desorción de las especies del cromo del material adsorbente

Una vez retenidas las formas de cromo en el material adsorbente, el siguiente paso es conseguir su desorción en un volumen pequeño de una fase líquida adecuada con el fin de conseguir un elevado factor de enriquecimiento. Otros autores han conseguido elevadas desorciones con el empleo de NaOH [7, 14, 56], HCl [23, 35] o HNO₃ [34]. En la mayoría de los casos se trataba de procesos de adsorción en un material compuesto conteniendo ferrita. Por nuestra parte, el intento de trabajar con un medio alcalino no permitió obtener una desorción cuantitativa al menos en un microvolumen (100 µL). En este sentido, hemos de indicar que la extensión de la desorción es mucho mayor cuando el volumen de fase aceptora es elevado, pero estas condiciones no nos interesan porque perdemos el efecto de preconcentración.

Cuando se emplearon medios ácidos se produjo la parcial solubilización de la magnetita. En esas condiciones la señal del ensayo en blanco es muy alta. Tanto más cuanto mayor es la solubilización. Esta elevada señal para el ensayo en blanco también se aprecia cuando en el atomizador se introduce una suspensión de la ferrita.

El motivo de esta señal atómica de cromo para el ensayo en blanco proviene de la presencia de cromo como impureza en las sales de hierro utilizadas para la síntesis de la

magnetita, fundamentalmente las sales de Fe(III). Se ensayaron sales cloruros, sulfatos y nitratos de la mejor calidad de distintos proveedores y la contaminación por cromo no presentaba diferencias significativas. El empleo de FeCl₃ sublimado tampoco permitió disminuir la señal del ensayo en blanco.

Para evitar este inconveniente se decidió purificar las sales de hierro de partida. En una primera instancia se intentó eliminar el cromo de las disoluciones de hierro. Para ello se ensayaron intercambiadores catiónicos (Dowex 50 WX8, WX2-100 y WX8-400) y aniónicos (Amberlitas IRA-400, IRA-743, XAD 16N y Dowex 1X8-100, 1X8-200, M4195) y cartuchos de fase sólida compuestos de intercambiadores aniónicos y catiónicos fuertes para las disoluciones de cloruro de Fe(III) y Fe(II).

Los mejores resultados de purificación se consiguieron con el empleo del cartucho Supelco DSC-SAX para la purificación de Fe(III) y la resina de intercambio Amberlita IRA-743 para Fe(II). En el primer caso, la señal de cromo se redujo hasta el 10% de la original y en el segundo hasta el 25%. Sin embargo, durante el proceso de intercambio se retiene parte del Fe(III) y esto modifica sustancialmente las concentraciones de las disoluciones utilizadas para la síntesis, sin que además la purificación conseguida permita alcanzar un ensayo en blanco menor de 0,4 s en el área obtenida como señal atómica de cromo. Estos experimentos se realizaron a valores de pH de 2,3, 5 y 7.

En un intento de mejorar los resultados se ensayaron otras estrategias. Puesto que la ferrita recién sintetizada retiene ambas formas de cromo, se pensó en emplearla para purificar las propias disoluciones de Fe(II) y Fe(III) utilizadas para la síntesis. Sin embargo, las disoluciones resultantes no condujeron a valores bajos del ensayo en blanco. También se ensayaron otras opciones para eliminar el cromo en estas disoluciones. En ese sentido se probó la extracción del Cr(VI) por formación de un compuesto neutro con fosfato de tributilo [57] y la extracción de Cr(III) con nanopartículas de plata [58] u óxido de grafeno [59] con la metodología de punto de nube. Ninguna de ellas permitió conseguir disoluciones de Fe(III) y Fe(II) que condujeran a blancos inferiores a 0,1 s de área.

Otros adsorbentes sólidos ensayados y que no condujeron a buenos resultados fueron celulosa y carbón activo.

Los mejores resultados se consiguieron extrayendo el Fe(III), la disolución más contaminada, en octanol a partir de la formación de FeCl₃ y HFeCl₄ en medio 9 M en ácido clorhídrico [60]. La Figura IV.2.14 muestra la abundancia de las formas cloruradas de Fe(III) dependiendo de la concentración de HCl [61]. Para algunos autores, la especie extraída es

HFeCl₄·5(2-octanol), pero en cualquier caso hemos comprobado experimentalmente que dos extracciones sucesivas en 2-octanol permiten la transferencia prácticamente completa de Fe(III) a la fase orgánica, mientras que las especies de cromo permanecen en fase acuosa. Seguidamente, se puede retroextraer el Fe(III) desde la fase orgánica a la acuosa en un medio sin la presencia de HCl. En la parte experimental se detalla el proceso de purificación de la disolución de FeCl₃. Con esta disolución purificada y la que resulta de tratar la de FeCl₂ con el intercambiador aniónico débil Amberlita IRA-743, se ha conseguido preparar las partículas de ferrita de forma que el ensayo en blanco conduce a una señal de aproximadamente 0,05 s de área.

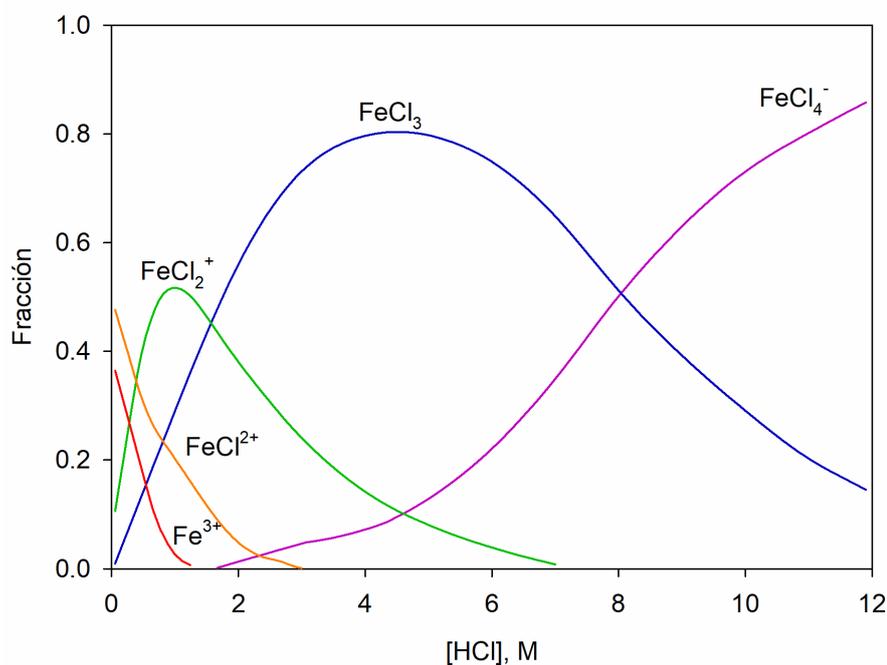


Figura IV.2.14. Especies cloruradas de Fe(III) en medios con distinta concentración de ácido clorhídrico. Adaptado de [61].

Con este pequeño valor del ensayo en blanco resulta posible introducir suspensiones de las partículas magnéticas en agua conteniendo las especies de cromo adsorbidas. Estas suspensiones contienen una concentración de ferrita de 0,22 mg/mL, lo que supone la introducción de 440 µg de material sólido por cada 20 µL de suspensión inyectados. La Figura IV.2.15 muestra la señal atómica corregida y la absorción de fondo que se obtienen aplicando el procedimiento propuesto. Como puede apreciarse, la señal de fondo es perfectamente compensada por el corrector basado en el efecto Zeeman. La cola que se observa en la señal atómica es tanto menor cuanto mejor es el recubrimiento pirolítico del atomizador debido a

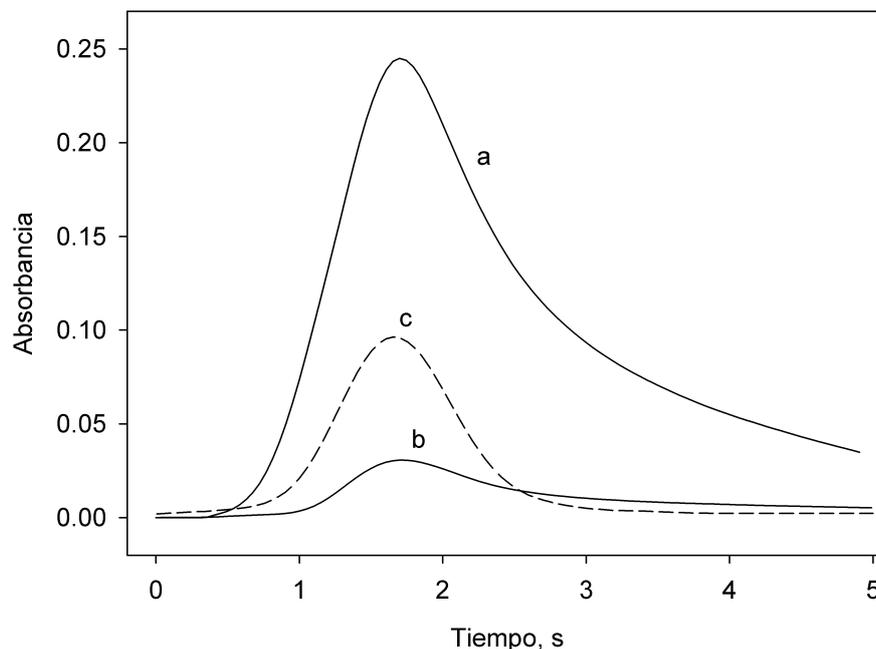


Figura IV.2.15. Perfiles de señal correspondientes a la absorbancia corregida y la absorción de fondo del ensayo en blanco (b y c, respectivamente) y la correspondiente a la introducción de una suspensión de ferrita obtenida aplicando el procedimiento propuesto a una disolución conteniendo $0,3 \mu\text{g/L}$ de cromo (a).

una menor formación de carburos estables [62]. No se observaron problemas de acumulación de material con el empleo del programa de calentamiento recomendado.

IV.2.3.5 Programa de calentamiento

En lo que sigue se detalla la optimización del programa de calentamiento para la determinación de cromo en suspensiones acuosas del material adsorbente. En primer lugar, se estudió la influencia en la señal de un modificador químico. En este sentido se ensayaron fosfato amónico [63], peróxido de hidrógeno [64], nitrato de magnesio [65] y nitrato de paladio [66, 67].

La señal atómica corregida de cromo no se vio aumentada por la presencia de estos modificadores de matriz, por lo que se decidió que su empleo era innecesario. Como se muestra en la Figura IV.2.16 la temperatura de calcinación que se puede utilizar es lo suficientemente alta como para garantizar el correcto tratamiento térmico de la muestra introducida ya que la señal del ensayo en blanco y la absorción de fondo se mantienen en unos valores fácilmente compensables por la instrumentación.

El estudio de las temperaturas óptimas de calcinación y atomización obtenido cuando se trabaja en atomizador de grafito pirolítico, calentamiento transversal y con plataforma de L'Vov aparece en la Figura IV.2.16. El comportamiento observado para suspensiones de ferrita y disoluciones acuosas es similar. Como se puede apreciar, una temperatura de calcinación de 1500 °C y la atomización a 2500 °C son adecuadas para llevar a cabo la determinación. La Tabla IV.2.1 muestra el programa de calentamiento recomendado. El proceso de secado se realiza en dos etapas para evitar salpicaduras antes de la calcinación. La etapa de limpieza se realiza a 2550 °C, máxima temperatura permitida en este atomizador.

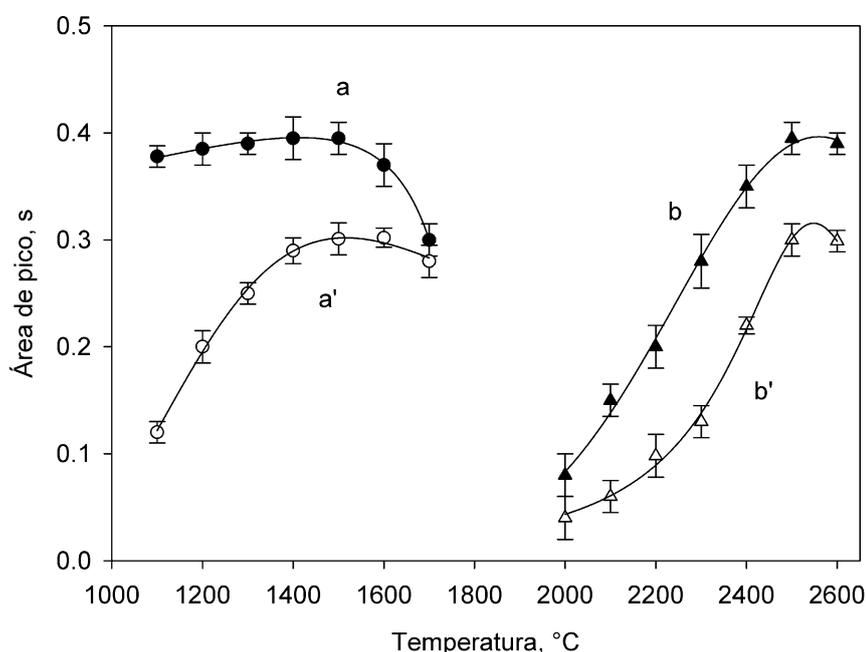


Figura IV.2.16. Señales correspondientes al estudio de las temperaturas de calcinación (a y a') y atomización (b y b'). Las señales marcadas con a y b corresponden a la inyección, aplicando el procedimiento propuesto, de la suspensión que resulta a partir de una disolución de Cr de $0,26 \mu\text{g L}^{-1}$. Las señales marcadas con a' y b' corresponden a la inyección directa de una disolución de $20 \mu\text{g L}^{-1}$.

IV.2.3.6 Calibración

El procedimiento se ha optimizado para el empleo de 10 mL de fase acuosa y suspendiendo finalmente el material adsorbente en 100 μL de agua. La inyección de 20 μL de esta suspensión condujo a rectas de calibrado de área de pico = $0,0549 + 1,3036 \cdot [\text{Cr(VI)}]$ y absorbancia = $0,0521 + 1,3142 \cdot [\text{Cr(III)}]$, con valores de R^2 de 0,9910 y 0,9989 respectivamente. El comportamiento lineal se obtuvo en ambos casos entre 0,03 y 0,4 $\mu\text{g/L}$ de cromo. El límite de detección, LOD, se ha calculado como la concentración de especie que equivale a tres veces el cociente del error estándar de la estimación y la pendiente de calibración. Los valores

encontrados de LOD han sido de 0,01 µg/L para Cr(III) y Cr(VI). El valor de desviación estándar relativa encontrada para concentraciones de estas especies a 0,1 y 0,3 µg/L (cinco determinaciones consecutivas) estuvo en el intervalo del 4,7 a 5,3%.

Las pendientes de calibración acuosas para Cr(III) y Cr(VI) fueron; área de pico = $0,0060 + 0,0130 \cdot [\text{Cr(VI)}]$ y área de pico = $0,0060 + 0,0131 \cdot [\text{Cr(III)}]$, respectivamente, con valores de R^2 de 0,9987 y 0,9978 respectivamente. A partir del cociente de los valores de las pendientes de calibración acuosa y la obtenida por el procedimiento de preconcentración podemos calcular el factor de enriquecimiento que resulta ser de aproximadamente 100, lo que coincide con la relación de volúmenes de fase acuosa inicial y final.

La validez del modelo de especiación propuesto se ha verificado estudiando la recuperación de Cr(VI) y Cr(III) desde disoluciones estándar de concentración conocida de estas especies a distintas relaciones. Hemos estudiado relaciones Cr(VI):Cr(III) desde 50:1 a 1:50. Los resultados obtenidos aparecen en la Tabla IV.2.2. Cuando la concentración de alguna especie superó el intervalo lineal de calibración, se diluyó convenientemente. Como puede apreciarse, el contenido encontrado en cada caso indica una recuperación cuantitativa.

Las características de este procedimiento de especiación de cromo por el empleo de microextracción en fase sólida dispersiva con carácter magnético se han comparado con las obtenidas por otros autores utilizando metodologías similares. La Tabla IV.2.3 muestra los resultados obtenidos. Como puede apreciarse el procedimiento propuesto presenta excelentes características con las ventajas del empleo de un material adsorbente económico y de sencilla preparación al tiempo que excelentes valores de factor de enriquecimiento para pequeños volúmenes de muestra consumidos.

IV.2.3.7 Aplicación del procedimiento propuesto a muestras reales

El procedimiento propuesto para la determinación de Cr(VI) y Cr(III) se ha aplicado a muestras de agua de distinta naturaleza. En este sentido, se ha aplicado a una muestra de agua potable tomada de las conducciones de nuestro centro de trabajo, una muestra de agua de manantial, una muestra de agua del río Segura, una muestra de agua del Mar Menor y dos muestras de agua mineral embotellada. En todos los casos se aplicó una prueba de recuperación a ambas especies. Como puede apreciarse en la Tabla IV.2.4 los resultados de recuperación son excelentes.

La validez del procedimiento se ha evaluado analizando los contenidos totales de cromo y los de las especies Cr(III) y Cr(VI) en cuatro materiales de referencia. Cuando el contenido total es superior al intervalo lineal de calibración se procedió a diluir de forma conveniente. Los resultados obtenidos aparecen en la Tabla IV.2.5. Como puede apreciarse, el contenido encontrado para cromo total no presenta diferencias significativas respecto del certificado.

Tabla IV.2.2. Recuperación de Cr(VI) Cr total a diferentes relaciones Cr(III)/Cr(VI)

Cr(III)/Cr(VI)	Cr(VI), ng L ⁻¹		Cr (total), ng L ⁻¹	
	Encontrado ^{a,b}	Recuperación, %	Encontrado ^a	Recuperación, %
100/5000 ^c	4890 ± 25	99	5102 ± 25	100
100/1000 ^d	1015 ± 20	101	1098 ± 15	101
100/100	99 ± 4	102	203 ± 4	100
1000d/100	102 ± 4	102	992 ± 4	99
5000c/100	98 ± 3	98	5097 ± 21	100

^a n=5

^b después de formar complejo con EDTA la especie Cr(III).

^c diluido 50 veces después de mezclar para determinar la especie mayoritaria

^d diluido 10 veces después de mezclar para determinar la especie mayoritaria

IV.2.4. Conclusiones

Las partículas de ferrita sintetizadas a pH entre 8 y 9, en caliente y con ayuda de ultrasonidos se han mostrado eficaces para la retención selectiva de Cr(VI) y Cr(III) a pH=7. En presencia de EDTA, que forma un complejo robusto con Cr(III), la adsorción de Cr(VI) es selectiva. En este caso, una vez retenidas las especies de cromo en el material sólido y separadas de la fase acuosa con el empleo de un imán de neodimio, la determinación se ha realizado mediante la formación de microsuspensiones en medio acuoso que se introducen en el atomizador como si de un líquido se tratara. Para resolver el problema de la presencia de cromo en los óxidos de hierro, que provoca un valor excesivo para el ensayo en blanco, se han propuesto procedimientos eficaces de purificación de estas disoluciones de Fe(III) y Fe(II). El procedimiento optimizado se ha aplicado a la determinación de Cr(VI) y Cr(III) en distintos tipos de muestra de agua.

Tabla IV.2.3. Comparativa de procedimientos propuestos para la determinación de Cr(VI) y/o Cr(III) utilizando soporte magnético

Especies	Adsorbente	Reactivo	Desorción	Detección	V _{Muestra} , mL	LOD, µg/L	FE, %	Muestras	Ref.
						Cr(VI)/Cr(III)	Cr(VI)/Cr(III)		
Cr(III)	CoFe ₂ O ₄	PAN	no	EDXRF	15	4	--	bioalcohol	[45]
Cr(III), Cr(VI)	MWNC-ferrita	DPC	etanol	FO-LADS	50	0.1	318	Aguas	[40]
Cr(III), Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @Amino	TAR	HCl 2,5 M	FAAS	45	1,1/3,2	16/12	Aguas	[29]
Cr(III), Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @GO@Trien	no	NH ₄ OH 2 N	FAAS	50	1,4/1,6	10	Agua naturales y residuales	[41]
Cr(III), Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @GO	no	HNO ₃ , 0,5 M en metanol + US	FAAS	100	0,1	200	Agua	[42]
Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @Cr(VI)IIPS	no	HCl 1 M	FAAS	500	0,3	98	Aguas	[68]
Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @ADMPT	DPC	no	Vis-UV	10	2	--	Aguas	[33]
Cr	Fe ₃ O ₄ @decanoico	PAN	HCl 0,25 M en propanol	ICP-OES	47	0,5	120	Aguas	[23]
Cr(III)	Fe ₃ O ₄ @En/MIL 101(Fe)	no	HNO ₃ + EDTA	FAAS	1000	0,5	238	SRM y muestras agrícolas	[69]
Cr(III)	Fe ₃ O ₄ @ZrO ₂	no	HNO ₃ , 0,5 M	FAAS	75	0,7	25	Aguas, suero y orina	[28]
Cr(III), Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @Al ₂ O ₃ @Triton X-114	PAN	HNO ₃ , 0,5 M	FAAS	200	1,4	120	Aguas y suelos	[27]
Cr(III), Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @MnO ₂ , Al ₂ O ₃ @AAPTMS	no	HNO ₃ , 2 M	ICP-OES	--	0,02	94	SRM y aguas	[26]
Cr(III), Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @En/MIL 101(Fe)/PAEDTC	no	HNO ₃ + EDTA	ETAAS	400	0,001	470	Aguas y te	[24]
Cr(III), Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @GO@Im	no	HCl 2,2 M	ETAAS	500	1,2/1,9	357	Aguas	[43]
Cr(III)	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @MPA	no	HNO ₃ , 1 M	FAAS	200	0,19	92	Aguas, plasma y orina	[34]
Cr(III), Cr(VI)	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @Zincon	no	HCl 2 M	ETAAS	100	0,016/0,011	100/150	Aguas	[35]
Cr(III), Cr(VI)	Fe ₃ O ₄	no	no (1)	ETAAS	10	0,01	100	Agua	[*]

PAN: 1-(2-piridilazo)-naftol; EDXRF: espectrofotometría de fluorescencia de Rayos-X de energía dispersiva; MWNC: nanotubos de carbono; LO-LADS: espectrofotometría de barra lineal de diodos con fibra óptica; DPC: difenil carbazida; TAR: 4-(2-tiazolilazo) resorcinol; FAAS: espectrofotometría de absorción atómica con llama; Trien: trietilentreamina; US: ultrasonidos; Cr(VI)IIPs: partículas impresas de iones cromato; ADMPT: 3-aminopropiltrióxido-silano-2,4-bis(3,5-dimetilpirazol)-triazina; Fe₃O₄@En/MIL 101(Fe): estructura metalo orgánica magnética inmovilizada con ferrita funcionalizada con etilendiamina; ICP-OES: plasma de acoplamiento inducido con detección óptica; SRM: material de referencia estándar; AAPTMS: 3-[2-aminoetilamino]propil] trimetoxisilano; PAEDTC: 2-(propil amino etil) ditiocarbamato; Im: imidazol; MPA: 2-mercaptopropiónico; (1): suspensión en agua; [*]: este trabajo

Tabla IV.2.4. Resultados analíticos obtenidos en la determinación de Cr(III) y Cr(VI) en muestras de agua

Muestra	Añadido, ng/L		Encontrado ^a , ng/L			Recuperación, %	
	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr (total)	Cr(III)	Cr(VI)
Agua del grifo	0	0	<LOD	<LOD	<LOD	-	-
	50	50	53 ± 4	47 ± 5	100 ± 5	106	94
	100	100	109 ± 5	92 ± 5	201 ± 5	109	92
Agua de manantial	0	0	<LOD	<LOD	<LOD	-	-
	50	50	51 ± 4	48 ± 4	99 ± 5	102	96
	100	100	99 ± 5	98 ± 5	197 ± 7	99	98
Agua de mar	0	0	<LOD	<LOD	<LOD	-	-
	50	50	52 ± 4	47 ± 5	99 ± 5	104	94
	100	100	106 ± 5	93 ± 5	199 ± 6	106	93
Agua de río	0	0	<LOD	<LOD	<LOD	-	-
	50	50	47 ± 4	54 ± 5	101 ± 5	94	108
	100	100	107 ± 6	94 ± 5	201 ± 6	107	94
Agua embotellada 1	0	0	<LOD	<LOD	<LOD	-	-
	50	50	57 ± 4	52 ± 5	109 ± 5	114	104
	100	100	105 ± 5	92 ± 5	197 ± 6	105	92
Agua embotellada 2	0	0	60 ± 4	35 ± 4	95 ± 4	-	-
	50	50	108 ± 5	84 ± 5	187 ± 6	96	98
	100	100	158 ± 6	132 ± 7	29 ± 7	92	97

^a Valor medio de tres determinaciones ± desviación estándar

Tabla IV.2.5. Resultados analíticos obtenidos en la determinación de Cr(III) y Cr(VI) en materiales de referencia

Muestra	Dilución	Certificado Total, µg/L	Cr encontrado ^a , µg/L		
			Cr(III)	Cr(VI)	Cr (total)
SRM 1640a	1:500	40,22 ± 0,28	16,2 ± 0,1	26,6 ± 0,2	42,8 ± 0,1
SRM TM-23.4	1:50	6,77 ± 0,63	6,11 ± 0,03	0,07 ± 0,01	6,28 ± 0,09
SRM TM-25.4	1:100	24,0 ± 1,73	23,2 ± 0,1	0,09 ± 0,01	23,3 ± 0,1
NASS-6	no	0,116 ± 0,008	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,114 ± 0,003
TMRain-04	1:4	0,866 ± 0,165	0,90 ± 0,05	0,02 ± 0,01	0,92 ± 0,05

^a Valor medio de tres determinaciones ± desviación estándar

IV.2.5. Bibliografía

- [1] T. Pradeep, Anshup, *Noble metal nanoparticles for water purification: A critical review*, Thin Solid Films, 2009, 517, 6441-6478. doi: 10.1016/j.tsf.2009.03.195.
- [2] B. Pan, B. Pan, W. Zhang, L. Lv, Q. Zhang, S. Zheng, *Development of polymeric and polymer-based hybrid adsorbents for pollutants removal from waters*, Chemical Engineering Journal, 2009, 151, 19-29. doi: 10.1016/j.cej.2009.02.036.
- [3] I.G.B. Kaya, D. Duranoglu, U. Beker, B.F. Senkal, *Development of Polymeric and Polymer-Based Hybrid Adsorbents for Chromium Removal from Aqueous Solution*, Clean-Soil Air Water, 2011, 39, 980-988. doi: 10.1002/clen.201000552.
- [4] A.R. Mandavian, M.A.-S. Mirrahimi, *Efficient separation of heavy metal cations by anchoring polyacrylic acid on superparamagnetic magnetite nanoparticles through surface modification*, Chemical Engineering Journal, 2010, 159, 264-271. doi: 10.1016/j.cej.2010.02.041.
- [5] X. Zhao, L. Lv, B. Pan, W. Zhang, S. Zhang, Q. Zhang, *Polymer-supported nanocomposites for environmental application: A review*, Chemical Engineering Journal, 2011, 170, 381-394. doi: 10.1016/j.cej.2011.02.071.
- [6] E.A. Deliyanni, N.K. Lazaridis, E.N. Peleka, K.A. Matis, *Metals removal from aqueous solution by iron-based bonding agents*, Environmental Science and Pollution Research, 2004, 11, 18-21. doi: 10.1065/espr2003.08.168.
- [7] J. Hu, G.H. Chen, I.M.C. Lo, *Removal and recovery of Cr(VI) from wastewater by maghemite nanoparticles*, Water Research, 2005, 39, 4528-4536. doi: 10.1016/j.watres.2005.05.051.
- [8] J. Hu, I.M.C. Lo, G. Chen, *Performance and mechanism of chromate (VI) adsorption by delta-FeOOH-coated maghemite (gamma-Fe₂O₃) nanoparticles*, Separation and Purification Technology, 2007, 58, 76-82. doi: 10.1016/j.seppur.2007.07.023.
- [9] Y.S. Kang, S. Risbud, J.F. Rabolt, P. Stroeve, *Synthesis and characterization of nanometer-size Fe₃O₄ and gamma-Fe₂O₃ particles*, Chemistry of Materials, 1996, 8, 2209-&. doi: 10.1021/cm960157j.
- [10] D. Maity, D.C. Agrawal, *Synthesis of iron oxide nanoparticles under oxidizing environment and their stabilization in aqueous and non-aqueous media*, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2007, 308, 46-55. doi: 10.1016/j.jmmm.2006.05.001.
- [11] S. Rajput, C.U. Pittman, D. Mohan, *Magnetic magnetite (Fe₃O₄) nanoparticle synthesis and applications for lead (Pb²⁺) and chromium (Cr⁶⁺) removal from water*, Journal of Colloid and Interface Science, 2016, 468, 334-346. doi: 10.1016/j.jcis.2015.12.008.
- [12] T. Madrakian, A. Afkhami, N. Rezvani-jalal, M. Ahmadi, *Removal and preconcentration of lead(II), cadmium(II) and chromium(III) ions from wastewater samples using surface functionalized magnetite nanoparticles*, Journal of the Iranian Chemical Society, 2014, 11, 489-498. doi: 10.1007/s13738-013-0322-5.

- [13] X. Zhang, X. Fang, J. Li, S. Pan, X. Sun, J. Shen, W. Han, L. Wang, S. Zhao, *Developing new adsorptive membrane by modification of support layer with iron oxide microspheres for arsenic removal*, Journal of Colloid and Interface Science, 2018, 514, 760-768. doi: 10.1016/j.jcis.2018.01.002.
- [14] Y.G. Abou El-Reash, *Magnetic chitosan modified with cysteine-glutaraldehyde as adsorbent for removal of heavy metals from water*, Journal of Environmental Chemical Engineering, 2016, 4, 3835-3847. doi: 10.1016/j.jece.2016.08.014.
- [15] J.G. Parsons, J. Hernandez, C.M. Gonzalez, J.L. Gardea-Torresdey, *Sorption of Cr(III) and Cr(VI) to high and low pressure synthetic nano-magnetite (Fe₃O₄) particles*, Chemical Engineering Journal, 2014, 254, 171-180. doi: 10.1016/j.cej.2014.05.112.
- [16] M.R. Lasheen, I.Y. El-Sherif, D.Y. Sabry, S.T. El-Wakeel, M.F. El-Shahat, *Removal and recovery of Cr (VI) by magnetite nanoparticles*, Desalination and Water Treatment, 2014, 52, 6464-6473. doi: 10.1080/19443994.2013.822158.
- [17] T. Shahriari, G.N. Bidhendi, N. Mehrdadi, A. Torabian, *Effective parameters for the adsorption of chromium(III) onto iron oxide magnetic nanoparticle*, International Journal of Environmental Science and Technology, 2014, 11, 349-356. doi: 10.1007/s13762-013-0315-z.
- [18] S.R. Chowdhury, E.K. Yanful, A.R. Pratt, *Chemical states in XPS and Raman analysis during removal of Cr(VI) from contaminated water by mixed maghemite–magnetite nanoparticles*, Journal of Hazardous Materials, 2012, 235-236, 246-256. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.07.054.
- [19] N. Unceta, F. Seby, J. Malherbe, O.F.X. Donard, *Chromium speciation in solid matrices and regulation: a review*, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010, 397, 1097-1111. doi: 10.1007/s00216-009-3417-1.
- [20] T. Wang, X. Jin, Z. Chen, M. Megharaj, R. Naidu, *Simultaneous removal of Pb(II) and Cr(III) by magnetite nanoparticles using various synthesis conditions*, Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2014, 20, 3543-3549. doi: 10.1016/j.jiec.2013.12.047.
- [21] S. Luther, N. Brogfeld, J. Kim, J.G. Parsons, *Study of the thermodynamics of chromium(III) and chromium(VI) binding to iron(II/III)oxide or magnetite or ferrite and manganese(II) iron (III) oxide or jacobsite or manganese ferrite nanoparticles*, Journal of Colloid and Interface Science, 2013, 400, 97-103. doi: 10.1016/j.jcis.2013.02.036.
- [22] K.-Y. Shin, J.-Y. Hong, J. Jang, *Heavy metal ion adsorption behavior in nitrogen-doped magnetic carbon nanoparticles: Isotherms and kinetic study*, Journal of Hazardous Materials, 2011, 190, 36-44. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.12.102.
- [23] M. Faraji, Y. Yamini, A. Saleh, M. Rezaee, M. Ghambarian, R. Hassani, *A nanoparticle-based solid-phase extraction procedure followed by flow injection inductively coupled plasma-optical emission spectrometry to determine some heavy metal ions in water samples*, Analytica Chimica Acta, 2010, 659, 172-177. doi: 10.1016/j.aca.2009.11.053.
- [24] A. Saboori, *A nanoparticle sorbent composed of MIL-101(Fe) and dithiocarbamate-modified magnetite nanoparticles for speciation of Cr(III) and Cr(VI) prior to their determination by electrothermal AAS*, Microchimica Acta, 2017, 184, 1509-1516. doi: 10.1007/s00604-017-2155-x.

- [25] P.N. Singh, D. Tiwary, I. Sinha, *Chromium removal from aqueous media by superparamagnetic starch functionalized maghemite nanoparticles*, Journal of Chemical Sciences, 2015, 127, 1967-1976. doi: 10.1007/s12039-015-0957-0.
- [26] T.S. Munonde, N.W. Maxakato, P.N. Nomngongo, *Preconcentration and speciation of chromium species using ICP-OES after ultrasound-assisted magnetic solid phase extraction with an amino-modified magnetic nanocomposite prepared from Fe₃O₄, MnO₂ and Al₂O₃*, Microchimica Acta, 2017, 184, 1223-1232. doi: 10.1007/s00604-017-2126-2.
- [27] H. Tavallali, G. Deilamy-Rad, P. Peykarimah, *Preconcentration and speciation of Cr(III) and Cr(VI) in water and soil samples by spectrometric detection via use of nanosized alumina-coated magnetite solid phase*, Environmental Monitoring and Assessment, 2013, 185, 7723-7738. doi: 10.1007/s10661-013-3130-6.
- [28] Y.W. Wu, J. Zhang, J.F. Liu, L. Chen, Z.L. Deng, M.X. Han, X.S. Wei, A.M. Yu, H.L. Zhang, *Fe₃O₄@ZrO₂ nanoparticles magnetic solid phase extraction coupled with flame atomic absorption spectrometry for chromium(III) speciation in environmental and biological samples*, Applied Surface Science, 2012, 258, 6772-6776. doi: 10.1016/j.apsusc.2012.03.057.
- [29] K.M. Diniz, C.R. Teixeira Tarley, *Speciation analysis of chromium in water samples through sequential combination of dispersive magnetic solid phase extraction using mesoporous amino-functionalized Fe₃O₄/SiO₂ nanoparticles and cloud point extraction*, Microchemical Journal, 2015, 123, 185-195. doi: 10.1016/j.microc.2015.06.011.
- [30] Y.-W. Wu, J. Zhang, J.-F. Liu, Z.-L. Deng, M.-X. Han, F. Jiang, D.-Z. Wang, H.-K. Wang, H.-Z. Yuan, *Determination of Chromium Species in Environmental Water and Human Serum Samples by FAAS After Magnetic Solid Phase Extraction*, Atomic Spectroscopy, 2011, 32, 41-47.
- [31] S. Ghafoor, S. Ata, *Synthesis of carboxyl-modified Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticles and their utilization for the remediation of cadmium and nickel from aqueous solution*, Journal of the Chilean Chemical Society, 2017, 62, 3588-3592.
- [32] T.K.H. Ta, M.-T. Trinh, N.V. Long, T.T.M. Nguyen, T.L.T. Nguyen, T.L. Thuoc, B.T. Phan, D. Mott, S. Maenosono, H. Tran-Van, V.H. Le, *Synthesis and surface functionalization of Fe₃O₄-SiO₂ core-shell nanoparticles with 3-glycidoxypropyltrimethoxysilane and 1,1'-carbonyldiimidazole for bio-applications*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2016, 504, 376-383. doi: 10.1016/j.colsurfa.2016.05.008.
- [33] S.K. Behzad, M.M. Amini, A. Balati, M. Ghanbari, O. Sadeghi, *Adsorption and determination of Cr(VI) in environmental samples using triazine-modified Fe₃O₄ nanoparticles: kinetics and equilibrium modeling*, Journal of Sol-Gel Science and Technology, 2016, 78, 446-456. doi: 10.1007/s10971-016-3965-8.
- [34] M.H. Mashhadizadeh, M. Amoli-Diva, *Atomic absorption spectrometric determination of Al³⁺ and Cr³⁺ after preconcentration and separation on 3-mercaptopropionic acid modified silica coated-Fe₃O₄ nanoparticles*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2013, 28, 251-258. doi: 10.1039/c2ja30286a.

- [35] H.-m. Jiang, T. Yang, Y.-h. Wang, H.-z. Lian, X. Hu, *Magnetic solid-phase extraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for speciation of Cr(III) and Cr(VI) in environmental waters*, *Talanta*, 2013, 116, 361-367. doi: 10.1016/j.talanta.2013.05.008.
- [36] S. Periyasamy, V. Gopalakannan, N. Viswanathan, *Fabrication of magnetic particles imprinted cellulose based biocomposites for chromium(VI) removal*, *Carbohydrate Polymers*, 2017, 174, 352-359. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.06.029.
- [37] A. Stoica-Guzun, M. Stroescu, S.I. Jinga, N. Mihalache, A. Botez, C. Matei, D. Berger, C.M. Damian, V. Ionita, *Box-Behnken experimental design for chromium(VI) ions removal by bacterial cellulose-magnetite composites*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 91, 1062-1072. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.06.070.
- [38] M.H. Omid, M.H.A. Azghandi, B. Ghalami-Chooabar, *Sonochemistry: a good, fast and clean method to promote the removal of Cu(II) and Cr(VI) by MWCNT/CoFe₂O₄@PEI nanocomposites: optimization study*, *New Journal of Chemistry*, 2018, 42, 16307-16328. doi: 10.1039/c8nj03277g.
- [39] G. Peng, Q. He, Y. Lu, J. Huang, J.-M. Lin, *Flow injection microfluidic device with on-line fluorescent derivatization for the determination of Cr(III) and Cr(VI) in water samples after solid phase extraction*, *Analytica Chimica Acta*, 2017, 955, 58-66. doi: 10.1016/j.aca.2016.11.057.
- [40] S.M. Yousefi, F. Shemirani, *Carbon nanotube-based magnetic bucky gels in developing dispersive solid-phase extraction: application in rapid speciation analysis of Cr(VI) and Cr(III) in water samples*, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2017, 97, 1065-1079. doi: 10.1080/03067319.2017.1381236.
- [41] A. Islam, H. Ahmad, N. Zaidi, S. Kumar, *A graphene oxide decorated with triethylenetetramine-modified magnetite for separation of chromium species prior to their sequential speciation and determination via FAAS*, *Microchimica Acta*, 2016, 183, 289-296. doi: 10.1007/s00604-015-1641-2.
- [42] E. Kazemi, A.M.H. Shabani, S. Dadfarnia, F. Izadi, *Speciation and determination of chromium ions by dispersive micro solid phase extraction using magnetic graphene oxide followed by flame atomic absorption spectrometry*, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2017, 97, 1080-1093. doi: 10.1080/03067319.2017.1381693.
- [43] Z. Sarikhani, M. Manoochehri, *Determination of Ultra Trace Cr(III) and Cr(VI) Species by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after Simultaneous Magnetic Solid Phase Extraction with the Aid of a Novel Imidazolium-Functionalized Magnetite Graphene Oxide Nanocomposite*, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2017, 90, 746-753. doi: 10.1246/bcsj.20160407.
- [44] G. Qi, W. Zhang, Y. Dai, *Synthesis of Magnetic Expanded Graphite and Its Application to Remove Cr(VI) From Wastewater*, *Synthesis and Reactivity in Inorganic Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, 2014, 44, 153-160. doi: 10.1080/15533174.2013.807288.
- [45] L.A. Meira, J.S. Almeida, F.d.S. Dias, P.P. Pedra, A.L. Costa Pereira, L.S.G. Teixeira, *Multi-element determination of Cd, Pb, Cu, V, Cr, and Mn in ethanol fuel samples using energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry after magnetic solid phase microextraction*

- using *CoFe₂O₄ nanoparticles*, *Microchemical Journal*, 2018, 142, 144-151. doi: 10.1016/j.microc.2018.06.025.
- [46] A. Debnath, M. Majumder, M. Pal, N.S. Das, K.K. Chattopadhyay, B. Saha, *Enhanced Adsorption of Hexavalent Chromium onto Magnetic Calcium Ferrite Nanoparticles: Kinetic, Isotherm, and Neural Network Modeling*, *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2016, 37, 1806-1818. doi: 10.1080/01932691.2016.1141100.
- [47] M. Kumari, C.U. Pittman, Jr., D. Mohan, *Heavy metals chromium (VI) and lead (II) removal from water using mesoporous magnetite (Fe₃O₄) nanospheres*, *Journal of Colloid and Interface Science*, 2015, 442, 120-132. doi: 10.1016/j.jcis.2014.09.012.
- [48] I.M. Kolthoff, P.J. Elving, *Treatise on Analytical Chemistry*, *Treatise on Analytical Chemistry*, 1975, Part I, vol. 11, 7119.
- [49] W.E. van der Linden, W.J.J. Ozinga, *The catalytic influence of benzoate and o-chlorobenzoate on the rate of complexation of chromium(III)*, *Microchimica Acta*, 1980, 73, 107-112. doi: 10.1007/BF01197237.
- [50] G.M. Phatak, T.R. Bhat, J. Shankar, *Catalytic effects in reactions of chromium(III) — I: Kinetics of reaction of chromium(III) with ethylenediaminetetraacetate in the presence of carbonate, nitrite and sulphite catalysts*, *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, 1970, 32, 1305-1311. doi: 10.1016/0022-1902(70)80129-4.
- [51] B. Baraj, M. Martínez, A. Sastre, M. Aguilar, *Simultaneous determination of Cr(III), Fe(III), Cu(II) and Pb(II) as UV-absorbing EDTA complexes by capillary zone electrophoresis*, *Journal of Chromatography A*, 1995, 695, 103-111. doi: 10.1016/0021-9673(94)01078-S.
- [52] D.A. Aikens, C.N. Reilly, *Rapid Chelometric Determination of Chromate as Cr(III)-EDTA by Reduction in the Presence of EDTA*, *Analytical Chemistry*, 1962, 34, 1707-1709. doi: 10.1021/ac60193a016.
- [53] J. Cerar, *Reaction between Chromium(III) and EDTA ions: An Overlooked Mechanism of Case Study Reaction of Chemical Kinetics*, 2015, 2015, 62, 8. doi: 10.17344/acsi.2015.1492.
- [54] K. Kanamori, K. Kawai, *Raman spectral study on the solution structure of the chromium(III)-EDTA complex*, *Inorganic Chemistry*, 1986, 25, 3711-3713. doi: 10.1021/ic00240a041.
- [55] H. Gürleyük, D. Wallschläger, *Determination of chromium(III) and chromium(VI) using suppressed ion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2001, 16, 926-930. doi: 10.1039/B102740A.
- [56] H. Li, Z. Li, T. Liu, X. Xiao, Z. Peng, L. Deng, *A novel technology for biosorption and recovery hexavalent chromium in wastewater by bio-functional magnetic beads*, *Bioresource technology*, 2008, 99, 6271-9. doi: 10.1016/j.biortech.2007.12.002.
- [57] I. López-García, M. Briceño, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the speciation of traces of chromium using electrothermal atomic absorption spectrometry*, *Talanta*, 2013, 115, 166-171. doi: 10.1016/j.talanta.2013.04.052.

- [58] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Non-chromatographic speciation of chromium at sub-ppb levels using cloud point extraction in the presence of unmodified silver nanoparticles*, *Talanta*, 2015, 132, 23-28. doi: 10.1016/j.talanta.2014.08.036.
- [59] I. López-García, M.J. Muñoz-Sandoval, M. Hernández-Córdoba, *Cloud point microextraction involving graphene oxide for the speciation of very low amounts of chromium in waters*, *Talanta*, 2017, 172, 8-14. doi: 10.1016/j.talanta.2017.05.017.
- [60] X. Wang, W. Liu, B. Liang, L. Lu, C. Li, *Combined oxidation and 2-octanol extraction of iron from a synthetic ilmenite hydrochloric acid leachate*, *Separation and Purification Technology*, 2016, 158, 96-102. doi: 10.1016/j.seppur.2015.11.030.
- [61] M.H.H. Mahmoud, Q. Mohsen, *Enhanced solvent extraction of cadmium and iron from phosphoric acid in chloride media*, *Physicochemical Problems of Mineral Processing*, 2011, 47, 27-40.
- [62] K. Pyrzynska, *Chemical modification of graphite surfaces for the determination of chromium by electrothermal atomic absorption spectrometry*, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 1995, 50, 1595-1598. doi: 10.1016/0584-8547(95)01406-3.
- [63] I. López-García, P. Viñas, J. Arroyo-Cortéz, M. Hernández-Córdoba, *Rapid determination of lead and cadmium in sewage sludge samples using electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction*, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 2000, 367, 727-732. doi: 10.1007/s002160000464.
- [64] N. Todorovska, I. Karadjova, S. Arpadjan, T. Stafilov, *On chromium direct ETAAS determination in serum and urine*, *Open Chemistry*, 2007, p. 230. doi: 10.2478/s11532-006-0055-8.
- [65] M.A. Álvarez, J. Hermida, *Determinación simultánea de Cr, Ni y V en orina mediante ETAAS*, *Química Nova*, 2011, 34, 940-944. doi: 10.1590/S0100-40422011000600005.
- [66] M. Vilar Farinas, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Crecente, C. Herrero Latorre, *Determination of Cr and Ni in Orujo spirit samples by ETAAS using different chemical modifiers*, *Food chemistry*, 2008, 110, 177-86. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.01.030.
- [67] M.I.C. Monteiro, A.K. Avila, R. Neumann, *Determination of chromium by electrothermal atomic absorption spectrometry in waters using a forked platform and co-injection of Mg as chemical modifier*, *Analytica Chimica Acta*, 2001, 428, 265-278. doi: 10.1016/S0003-2670(00)01249-6.
- [68] X. Qi, S. Gao, G. Ding, A.-N. Tang, *Synthesis of surface Cr (VI)-imprinted magnetic nanoparticles for selective dispersive solid-phase extraction and determination of Cr (VI) in water samples*, *Talanta*, 2017, 162, 345-353. doi: 10.1016/j.talanta.2016.10.040.
- [69] M. Babazadeh, R. Hosseinzadeh-Khanmiri, J. Abolhasani, E. Ghorbani-Kalhor, A. Hassanpour, *Solid phase extraction of heavy metal ions from agricultural samples with the aid of a novel functionalized magnetic metal-organic framework*, *Rsc Advances*, 2015, 5, 19884-19892. doi: 10.1039/c4ra15532g.

IV.3. MICROEXTRACCIÓN Y ESPECIACIÓN DE As CON PARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE FERRITA Y DETERMINACIÓN CON ETAAS

Contenido

IV.3.1. Introducción.....	245
IV.3.2. Experimental.....	247
IV.3.2.1. Instrumentación	247
IV.3.2.2. Reactivos y muestras.....	248
IV.3.2.3. Síntesis de las nanopartículas de ferrita.....	250
IV.3.2.4. Determinación de arsénico total (As(III) + As(V) + MMA)	250
IV.3.2.5. Determinación de As(V) + MMA.....	251
IV.3.2.6. Determinación de As(III) + As(V)	251
IV.3.2.7. Preparación de las infusiones de muestras de té.....	251
IV.3.2.8. Preparación de las muestras de agua.....	252
IV.3.3. Resultados y discusión	252
IV.3.3.1. Ensayos previos y selección del material adsorbente	252
IV.3.3.2. Efecto del pH	253
IV.3.3.3. Determinación de arsénico en la fase adsorbente.....	256
IV.3.3.4. Optimización del programa de calentamiento en ETAAS	257
IV.3.3.5. Composición del medio de suspensión	259
IV.3.3.6. Efecto del 2,3-dimercapto-1-propanol (BAL)	260
IV.3.3.7. Efecto del tiosulfato como reductor	263
IV.3.3.8. Estrategia del análisis de especiación	264
IV.3.3.9. Calibración.....	266
IV.3.3.10. Determinación de As(III), As(V) y MMA en infusiones de plantas	267
IV.3.3.11. Determinación de As(III), As(V) y MMA en muestras de agua	268
IV.3.4. Conclusiones	269
IV.3.5. Bibliografía.....	273

IV.3.1. Introducción

El arsénico es un elemento que se puede encontrar en EL agua y cuya toxicidad depende mucho de su forma química [1]. Si el agua utilizada para beber, preparar y cultivar alimentos está contaminada, se presenta un problema de salud pública. La exposición prolongada a arsénico puede causar cáncer, lesiones en la piel, enfermedades cardiovasculares, neurotoxicidad y diabetes. La World Health Organization (WHO) y la U.S. Environmental Protection Agency (EPA) han establecido un contenido máximo de este elemento en agua potable de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ [2]. El arseniato predomina en ambientes aeróbicos, mientras que el arsenito lo hace en ambientes anaeróbicos. Por otro lado, los ácidos orgánicos como el ácido monometilarsénico, ácido dimetilarsénico junto con la arsenobetaína, que son metabolitos de compuestos inorgánicos, se presentan principalmente en muestras agrícolas, marinas y otras biológicas. A excepción de las muestras muy contaminadas, la determinación directa a niveles de ultratrazo de arsénico está limitada debido precisamente a que la concentración es muy baja, siendo imprescindible el empleo de alguna técnica de microextracción [3, 4].

La adsorción de estas formas de arsénico en nanomateriales finamente dispersos, puede ser una alternativa eficaz al empleo de otras técnicas de microextracción líquida y/o sólida. Es reconocido que los nanomateriales magnéticos conteniendo hierro (FNPs) poseen una gran capacidad para retener arsénico [5] con la ventaja adicional de que tras la adsorción se puede separar fácilmente el material de la disolución aprovechando sus propiedades magnéticas [6].

Las nanopartículas de ferrita (FNPs) son óxidos metálicos con estructuras de espinela que se ajustan a la fórmula general AB_2O_4 , donde A y B son iones metálicos que ocupan posiciones tetraédricas (A) y octaédricas (B) en la estructura cristalina coordinados a átomos de oxígeno [7]. Si el ion trivalente es Fe (III), su composición se ajusta a la fórmula MFe_2O_4 , donde M puede ser Mn (II), Fe (II), Co (II), Ni (II), Cu (II) y Zn (II). Dependiendo de la disposición de M y Fe en los sitios tetraédricos y octaédricos, se consiguen propiedades físicas y químicas diferentes [8]. Atendiendo a esta ocupación, la ferrita puede tener una estructura tipo espinela normal, inversa o mezcla. Si llamamos x al grado de inversión, se puede presentar la ferrita según la fórmula general $(\text{M}_{1-x}^{2+})(\text{Fe}_x^{3+})(\text{M}_x^{2+}\text{Fe}_{2-x}^{3+})\text{O}_4$. Cuando $x=0$ se dice que posee estructura del tipo espinela normal (ZnFe_2O_4), siendo inversa cuando $x=1$ (Fe_3O_4). Para valores de x intermedios entre los mencionados tenemos una estructura mixta (MnFe_2O_4). La ferrita tiene multitud de aplicaciones en distintos campos. Cuando se utiliza para la eliminación de contaminantes en

aguas, la ferrita debe mostrar una gran reactividad química, alta capacidad de adsorción y razonable saturación magnética de forma que sea fácilmente separable del medio [9].

En este sentido la síntesis de las FNP es motivo de gran interés [10]. Existen distintos procedimientos de obtención de FNP [7]. Uno de los más utilizados por su sencillez es el de coprecipitación. En este procedimiento se mezclan disoluciones acuosas de metales de transición trivalentes y divalentes en relación molar 2:1, respectivamente. La formación de las FNP se produce al incrementar el pH con disoluciones de hidróxido sódico o amoníaco en agitación vigorosa. Cuando se usa una mezcla de sales solubles de Fe (III) y Fe (II) se suele trabajar en caliente y en ocasiones en atmósfera inerte para evitar la rápida oxidación de Fe (II) a Fe (III) al pH de trabajo [11]. Las FNP sintetizadas por este procedimiento son fácilmente dispersables en disolución acuosa y presentan tamaño de partícula inferior a 40 μm , lo que ofrece gran área superficial y propiedades superparamagnéticas (son atraídas por un campo magnético pero no mantienen propiedades magnéticas si el campo no se aplica) [12]. Un adsorbente de estas características resulta muy ventajoso para la separación de los analitos deseados de la disolución en la que se encuentran. Además, esta separación está facilitada por las propiedades magnéticas que presenta el adsorbente [13]. Una descripción más detallada de este material puede encontrarse en el capítulo 4.1 de esta Memoria.

Los óxidos metálicos a nivel nanométrico se han propuesto como eficaces adsorbentes de especies tóxicas, entre ellas las distintas formas químicas de arsénico [14, 15]. Para la adsorción y determinación de As(III) y/o As(V) se han propuesto mayoritariamente FNP, donde Fe (II) ha sido total o parcialmente sustituido por otros iones divalentes como Co [16-18], Ni [18-21], Ba [22], Mn [17, 23], Mg [24, 25] y, en ocasiones, Al [21, 24], con el fin de ampliar su aplicabilidad a medios de pH ácido. Resulta menos habitual el empleo de Fe_3O_4 sin sustituyentes [26-29]. En este último grupo no siempre se han aprovechado las propiedades magnéticas de las FNP para su separación y ésta se ha llevado a cabo mediante centrifugación [26, 28]. Para aumentar su selectividad, algunos autores han recurrido a fijar sobre la superficie de las FNP reactivos orgánicos con funciones específicas [4, 30-33], lo que también se puede conseguir mediante la formación de materiales compuestos con núcleo de ferrita recubierta de sílice [34-37] o zeolita con imidazol [38], como ya hemos discutido en los capítulos anteriores.

Una muestra del gran interés que presenta el uso de FNP es el continuo intento de los investigadores de desarrollar nuevas modificaciones al núcleo de ferrita con el fin de conseguir retenciones más rápidas y cuantitativas. En este sentido se puede destacar el desarrollo de nuevos materiales adsorbentes, resultado de combinar FNP con óxido de grafeno [36, 39-41] y líquidos iónicos [42, 43]. Todos los adsorbentes desarrollados resultan sensibles a As(III) y As(V)

aunque en algunos casos no se logra la retención cuantitativa de ambos. Después de la retención al pH adecuado y la separación del material adsorbente aprovechando sus propiedades magnéticas, se recurre a la desorción de los analitos de las nanopartículas y su determinación por ICP-MS [22, 28, 36], ICP-AES [17, 20-23, 26, 29, 35, 40, 41], fluorescencia atómica [23, 25, 27, 37, 38], absorción atómica electrotrémica [4, 42, 44], espectrometría de absorción atómica previa generación de hidruros [16, 34], quimioluminiscencia [24] o voltametría de onda cuadrada [31].

Mientras que en las muestras de agua las formas más abundantes de arsénico son As(III) y As(V), en bebidas preparadas a partir de extractos de plantas como el té, se ha comprobado la presencia de otras formas metiladas, menos tóxicas como el ácido monometilarsónico [MMA(V)] y dimetilarsínico [DMA(V)]. Por tanto, la determinación del contenido total de arsénico no es suficiente para establecer el nivel de peligro de una bebida, sino que es preciso realizar la especiación de las distintas formas [45-49]. Sin embargo, esta tarea no resulta fácil pues al bajo contenido en arsénico, lo que supone que sus formas individuales se encuentran en aún menor concentración, hay que sumar la necesidad de tratar la muestra de forma que se eviten procesos de interconversión. Para la especiación de As(III) y As(V) se ha propuesto el empleo de FNP's incorporadas a un líquido iónico [43], FNP's recubiertas de ácido 3-mercaptopropiónico y 3-aminopropiltriétoxilano [4] y FNP's tratadas con hidróxido de doble capa de Mg-Al [24]. En el caso de FNP's modificadas, la especie retenida en el adsorbente es As(V), mientras que As(III) se obtiene tras su oxidación a As(V). En el caso de FNP's incorporadas en el líquido iónico se ha recurrido a la extracción en el mismo del complejo de As(III) con pirrolidinditiocarbamato de amonio [44]. El contenido de As(V) se calcula tras su reducción con una mezcla de yoduro y tiosulfato en medio ácido.

En este trabajo se presenta un procedimiento rápido para la determinación de arsénico total (As(III), As(V) y metilarsonato) y su especiación utilizando un simple adsorbente de nanopartículas de ferrita recién sintetizadas con un procedimiento de co-precipitación simplificado. Dimetilarsinato y arsenobetaína no se retienen en las FNP's.

IV.3.2. Experimental

IV.3.2.1. Instrumentación

Todas las medidas se han llevado a cabo con un espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo 800 (Waltham, MA), equipado con un atomizador de horno de grafito con calentamiento transversal, un dispositivo corrector de fondo con efecto Zeeman y un

automuestreador (modelo AS-800). Los tubos equipados con plataforma de L'Vov fueron de grafito pirolítico y se obtuvieron del mismo fabricante. Como gas inerte se ha empleado argón, con una velocidad de flujo de 250 mL min^{-1} en todas las etapas, excepto en la de atomización en que el flujo se detuvo. Se ha utilizado una lámpara de descarga sin electrodos (Perkin Elmer) operando a 300 mA como fuente de radiación. Los parámetros instrumentales seleccionados se muestran en la Tabla IV.3.1.

Las medidas en espectrometría de fluorescencia atómica por generación de hidruros (HGAFS) se llevaron a cabo con un espectrómetro Millennium Excalibur (PS Analytical, Orpington, UK) operando en modo de flujo continuo, obteniéndose la señal analítica a una longitud de onda de 197,3 nm. Para la generación de hidruros, se ha utilizado una disolución conteniendo ácido clorhídrico $3,5 \text{ mol L}^{-1}$, yoduro potásico 1 % (m/v) y ácido ascórbico 0,2 % (m/v), bombeado a $9,0 \text{ mL min}^{-1}$ y una disolución reductora de tetrahidrobórato de sodio $0,6 \text{ mol L}^{-1}$ estabilizado con hidróxido de sodio $0,075 \text{ mol L}^{-1}$ a una velocidad de flujo de $4,5 \text{ mL min}^{-1}$. El argón fue usado como gas portador.

Con fines comparativos de los resultados obtenidos, para la digestión completa de las muestras se hizo uso de un sistema de digestión por microondas (Anton Paar, Austria). Para el tratamiento con ultrasonidos se utilizó un baño de ultrasonidos ATU modelo ATM 40-0.7LC (Valencia, España) de 50 W a 40 kHz.

Los imanes permanentes compuestos de Nd-Fe-B fueron suministrados por Supermagnete (Gottmadingen, Alemania). Para las separaciones analíticas, el imán era un solo bloque ($50 \times 15 \times 15 \text{ mm}$ y 86 g de peso) con una resistencia de 33 kg. Para la separación de nanopartículas durante la preparación del material magnético, se utilizó un disco (35 mm de diámetro, 20 mm de espesor y 150 g de peso) con una resistencia de 38 kg.

IV.3.2.2. Reactivos y muestras

Todas las disoluciones se prepararon empleando agua ultrapura (resistividad $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtenida con un sistema Millipore (Millipore, Bedford, MA). Para prevenir la contaminación, todo el material de vidrio fue lavado con ácido nítrico 10 % (v/v) y enjuagado con abundante agua. Las disoluciones estándares de arsénico inorgánico ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) fueron preparadas a partir de NaAsO_2 y Na_2HAsO_4 (Fluka, Buchs, Switzerland) y conservadas en envases de PTFE a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Las disoluciones de ácido dimetilarsínico ($(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})\text{OH}$, DMA, Sigma, St. Louis, MO, USA) y de metilarsonato de sodio ($\text{CH}_3\text{AsO}(\text{ONa})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, MA, Carlo Erba, Milan, Italy) conteniendo $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ de arsénico, fueron preparadas en agua y conservadas de la misma forma. Las

disoluciones diluidas fueron preparadas a partir de las anteriores. La disolución de arsenobetaína (AB) fue obtenida del Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM). Este material de referencia (BCR CRM 626) indica en su certificado que de AB contiene $1031 \pm 6 \mu\text{g g}^{-1}$ correspondiendo a $433 \pm 3 \mu\text{g g}^{-1}$ de arsénico. Además, también se hizo uso de 2,3-dimercapto-1-propanol (BAL) y de tiosulfato de sodio de Sigma. El resto de los reactivos químicos utilizados fueron obtenidos de Fluka o Sigma.

Tabla IV.3.1: Parámetros instrumentales y programa de calentamiento.

Parámetros	Valores		
Corriente de lámpara EDL, mA	300		
Longitud de onda, nm	193,7		
Ancho de banda espectral, nm	0,7		
Tipo de atomizador	Plataforma		
Volumen de muestra inyectada, μL	20		
Modificador químico	1 $\mu\text{g Pd}$		
Volumen de muestra, mL	10		
Volumen de slurry, μL	100		
Medio de suspensión	1% v/v HNO_3 con 1% m/v Triton X-100		
Programa de calentamiento de horno			
Etapas	Temperatura, °C	Rampa, s	Mantenido, s
1: Secado	110	1	20
2: Secado	130	5	30
3: Calcinación	1200	10	30
4: Atomización	2200	0	5
5: Limpieza	2500	1	3

^a Etapa de lectura. Flujo de gas detenido.

Se compraron cinco muestras de agua embotellada en un supermercado próximo y el agua del grifo se recolectó del suministro principal de la Universidad de Murcia. La muestra de agua de mar se tomó en la orilla de una playa, cerca de un puerto en el sureste de España. Esta muestra se filtró y se mantuvo en un recipiente de plástico a 4 °C hasta que se analizó (menos de 48 h). Para la determinación de arsénico en infusiones se compraron cuatro muestras de té de distinta procedencia, dos de manzanilla, una de tila y otra de tomillo en un supermercado de la ciudad.

Además, se utilizaron siete muestras de agua certificadas, NIST 1640a (agua natural), NASS-6 (agua de mar conteniendo trazas de metales), SPS-SW2 Batch 125 (Material de referencia para la medición de elementos en aguas superficiales), ERM-CA011b (agua potable), TMRAIN-04 (agua de lluvia), TM-23.4 (agua fortificada con elementos traza) y TM-25.4 (agua fortificada a bajo nivel) cuyo certificado indica el contenido total de arsénico y fueron obtenidas del National Institute of Standards and Technology, National Research Council Canada, Spectrapure Standards, European Reference Materials and Environment Canada (TM materials).

Por otra parte, se utilizaron cuatro materiales de referencia de matriz más compleja. En este sentido, se utilizó DORM-4 (proteína de pescado), NCS DC73351 (té), NIST 1572 (hojas de cítrico) y NIST 1566a (tejido de ostra) con un contenido de arsénico total certificado por el National Research Council Canada, China National Analysis Center for Iron and Steel y National Institute of Standards and Technology, respectivamente.

Estos materiales fueron mineralizados siguiendo el procedimiento EPA 3502. Para ello, se añadieron ácido nítrico, ácido clorhídrico y peróxido de hidrógeno a 0,3 g de muestra, introduciendo la mezcla en un horno de microondas durante 30 minutos a 260 °C para obtener la mineralización total de arsenobetaina a As(V) [50, 51].

IV.3.2.3. Síntesis de las nanopartículas de ferrita

En un tubo de ensayo de 15 mL se colocan 10 mL de agua y se añaden 100 µL de una disolución de Fe (II) 0,2 mol L⁻¹ y 100 µL de una disolución 0,1 mol L⁻¹ de Fe (III). El tubo se introduce en un baño de agua caliente a 60 °C durante 5 minutos. La disolución toma un ligero color amarillo. Se añaden 40 µL de disolución concentrada de hidróxido amónico. Se agita para mezclar y se coloca en un baño de ultrasonidos durante 4 minutos a 80 °C. Se aplica el imán para recoger las partículas negras de ferrita desechando el líquido sobrenadante y se lavan con dos porciones de 1 mL de agua. Las FNP's quedan dispuestas para su empleo en alguno de los siguientes procedimientos.

IV.3.2.4. Determinación de arsénico total (As(III) + As(V) + MMA)

Se ajustó el pH de la muestra a 8 utilizando NaHCO₃. Se tomaron 10 mL de esta disolución y se añadieron sobre las FNP's recién sintetizadas (apartado IV.3.2.3). Se agitó durante 2 minutos aplicando posteriormente el imán. Las especies de As(III), As(V) y MMA quedaron retenidas en las FNP's. Se descartó la disolución sobrenadante y se lavó con dos porciones de 2 mL de agua el material adsorbente. Descartamos los líquidos de lavado con ayuda del imán y añadimos 100 µL de una mezcla de ácido nítrico y Triton X-100 al 1 %, en ambos. Se aplicó ultrasonidos durante 10 minutos para conseguir una suspensión estable. Tomamos una alícuota de 20 µL de la suspensión para llevarla al atomizador y aplicamos el programa de calentamiento que aparece en la Tabla IV.3.1.

IV.3.2.5. Determinación de As(V) + MMA

Se ajustó el pH de la muestra a 4 con la adición de ácido nítrico. Se tomaron 10 mL de esta muestra y se añadieron 25 μL de BAL 1 mol L^{-1} . Se mezcló y dejó en contacto durante 15 minutos. Se añadió esta disolución sobre FNP's sintetizadas recientemente (apartado IV.3.2.3). Se agitó durante 2 minutos y se aplicó el imán. Las especies de arsénico As(V) y MMA quedan retenidas en las FNP's. Descartamos la disolución sobrenadante y lavamos con dos porciones de 2 mL de agua el material adsorbente. Se descartaron los líquidos de lavado con ayuda del imán y añadimos 100 μL de una mezcla de ácido nítrico y Triton X-100 al 1 %, en ambos. Se aplicó ultrasonidos durante 10 minutos para conseguir una suspensión estable. Tomamos una alícuota de 20 μL de la suspensión para llevarla al atomizador y aplicamos el programa de calentamiento que aparece en la Tabla IV.3.1.

IV.3.2.6. Determinación de As(III) + As(V)

Se ajustó el pH de la muestra a 2 con la adición de ácido nítrico. Se tomaron 10 mL de muestra y se añadieron 500 μL de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 mol L^{-1} . Se mezcló y se dejó estar durante 15 minutos. Posteriormente, se ajustó el pH a 8 con ayuda de NaHCO_3 (aproximadamente 25 mg). Se añadió esta disolución sobre FNP's sintetizadas recientemente (apartado IV.3.2.3). Se agitó durante 2 minutos y se aplicó el imán. Las especies de arsénico As(III) y MMA quedan retenidas en las FNP's. Descartamos la disolución sobrenadante y lavamos con dos porciones de 2 mL de agua el material adsorbente. Se descartaron los líquidos de lavado con ayuda del imán y añadimos 100 μL de una mezcla de ácido nítrico y Triton X-100 al 1 %, en ambos. Se aplicó ultrasonidos durante 10 minutos para conseguir una suspensión estable. Tomamos una alícuota de 20 μL de la suspensión para llevarla al atomizador y aplicamos el programa de calentamiento que aparece en la Tabla IV.3.1.

IV.3.2.7. Preparación de las infusiones de muestras de té y otros materiales vegetales

Se colocaron cinco bolsitas de té (aproximadamente 10 g de material vegetal) en 40 mL de agua a 90 °C y se dejaron en contacto durante 5 minutos. El lixiviado se dejó enfriar, se microfiltró por 0,45 μm y se ajustó a un volumen final de 50 mL. Se tomaron 30 mL de esta disolución que se pasan por una resina de intercambio aniónico Amberlita® IRA-400 activada con NaOH al 2 % (m/v). Las formas de arsénico quedan retenidas y el eluido se desechó. Se lavó con 10 mL de agua. Las formas de arsénico se eluyeron con 10 mL de HNO_3 al 1% v/v y 10 mL de

agua. Estas dos fracciones se combinaron y se llevaron a 30 mL con agua. Se tomaron alícuotas de 10 mL a las que se aplicaron los procedimientos de determinación expuestos anteriormente.

IV.3.2.8. Preparación de las muestras de agua

Para la determinación de As(III) + As(V) + MMA es preciso añadir previamente a la aplicación del procedimiento propuesto, 500 μL de nitrito sódico 0,1 mol L⁻¹ y dejarlos en contacto durante 10 minutos. En el resto de las determinaciones se puede tomar la muestra tal y como se recibe.

IV.3.3. Resultados y discusión

IV.3.3.1. Ensayos previos y selección del material adsorbente

En un trabajo previo del grupo de investigación AIM, se ha propuesto la especiación de Sb (III) y Sb (V) con nanopartículas magnéticas de plata funcionalizadas con la sal 2-mercaptoetanosulfonato de sodio (MESNa) [52], haciendo uso de su diferente comportamiento a distintos valores de pH. En consecuencia, pensamos que podría ser un buen adsorbente para las distintas formas de arsénico (arsenito, arsenato, MMA y DMA). Sin embargo, las experiencias realizadas a distintos valores de pH no permitieron conseguir retenciones cuantitativas diferenciales de las formas de arsénico que condujeran a su especiación. Las diversas modificaciones ensayadas en el agente funcionalizante sustituyéndolo por L-cisteína u otros ligandos con grupos tiol no permitieron mejorar los resultados. Sin embargo, el empleo de ferrita sin recubrir con plata, especialmente si se encontraba recientemente preparada condujo a los primeros resultados prometedores.

En este sentido, los primeros ensayos se dirigieron a formar las nanopartículas de ferrita “in situ” porque tal y como han comentado otros autores [53], la capacidad de adsorción debe ser muy superior. Esta metodología de formación “in situ” conduce a resultados no reproducibles cuando se aplica a muestras reales con elevado contenido salino. En estas condiciones la formación de óxido de hierro no siempre conduce a la deseada magnetita, generándose compuestos exentos de susceptibilidad magnética. Es por ello que, como ya se discutió en 4.1, se recurrió a la formación previa de una pequeña cantidad de magnetita suficiente para la retención de las formas de arsénico con una metodología rápida, sencilla y fiable. Aunque son muchos los procedimientos propuestos para la obtención de óxidos de hierro magnéticos [7], el de coprecipitación es el más utilizado y sencillo de aplicar. La mayoría de los

autores que aplican este procedimiento para la obtención de FNPs recurren a una estequiometría Fe (III): Fe (II) 2:1, tanto si lo utilizan como punto de partida para el desarrollo de otros nanocomposites [11, 24, 36, 52, 54], óxidos modificados [4, 9, 12, 33] o como tales FNPs [5, 17]. Sin embargo, otros autores recurren a la estequiometría 1:1 [55] e incluso 1:2 [53, 56]. En los ensayos realizados encontramos que la relación estequiometría Fe (III): Fe (II) 1:2 permite la síntesis rápida de FNPs sin necesidad de eliminar el oxígeno disuelto [57].

Para la preparación del material adsorbente es habitual añadir las sales de hierro en estado sólido sobre la disolución acuosa o medio de reacción. Cuando, como es el caso, la preparación se realiza de forma rutinaria a pequeña escala (10 mL) la pesada de estas pequeñas cantidades supone un importante inconveniente. En este sentido, proponemos el empleo de disoluciones $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (preparada diariamente a $\text{pH}=2$) y $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. La adición de $100 \mu\text{L}$ de cada una de estas disoluciones a la fase acuosa a pH neutro tal y como se indica en la parte experimental, genera una disolución cuya tonalidad amarilla aumenta con el tiempo. Este proceso se acelera calentando ligeramente. En ese momento se añade un microvolumen de hidróxido amónico concentrado ($40 \mu\text{L}$), con lo que el pH de la disolución aumenta hasta el intervalo de 8-9. Inmediatamente la disolución toma color negro. Para facilitar la cinética del proceso, hemos encontrado que el tratamiento con ultrasonidos en baño a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 4 minutos genera FNPs que son atraídas con fuerza por un imán potente. La Figura IV.3.1A muestra la distribución de tamaño de las FNPs en disolución acuosa obtenidas con este tratamiento. Como puede apreciarse la mayor parte se encuentran entre 100 y 1000 nm de tamaño. Cuando las FNPs se encuentran en un medio de mayor fuerza iónica, como puede ser una reguladora, tienden a aglomerar debido a que su potencial zeta superficial se hace negativo (Figura IV.3.2B). Se aprecia en este caso una mayor fracción de partículas de elevado tamaño. No obstante, si se resuspenden con ayuda de ultrasonidos durante 4 minutos, la distribución de tamaño apenas cambia como se puede apreciar en la Figura IV.3.1-B.

IV.3.3.2. Efecto del pH

Se ha estudiado la capacidad de retención de las FNPs recién sintetizadas, como se indica en el apartado IV.3.2.3, de As(III), As(V), MMA, DMA y AB a distintos valores de pH . La síntesis previa de las FNPs posibilita el empleo de otros valores de pH para la adsorción, cosa que no ocurre cuando se produce la retención durante la formación de las FNPs. Es decir, el pH al que se realiza la síntesis de las FNPs no obliga a emplear el mismo pH para la adsorción ya que se trata de etapas separadas. Las FNPs recién sintetizadas como se acaba de comentar se separan de la disolución con ayuda de un imán potente. En ese mismo tubo de ensayo se añaden 10 mL

de disolución acuosa conteniendo las formas de arsénico objeto de estudio a distintos valores de pH. La Figura IV.3.2 muestra los resultados de retención en las FNP cuando disoluciones conteniendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As equivalente a valores de pH comprendidos entre 2 y 10 se tratan con FNP recién sintetizadas. A valores de pH inferiores a 3, zona sombreada en la Figura IV.3.2, se produce la redisolución de las FNP y los valores de retención resultan poco reproducibles. Al aumentar el pH lo hace la retención de As(III), As(V) y MMA, alcanzándose valores máximos en el intervalo de pH comprendido entre 7 y 9. Los ensayos realizados con AB mostraron que esta sustancia no se retiene a ninguno de los valores de pH ensayados, mientras que la retención de DMA en ese intervalo de pH es prácticamente nula.

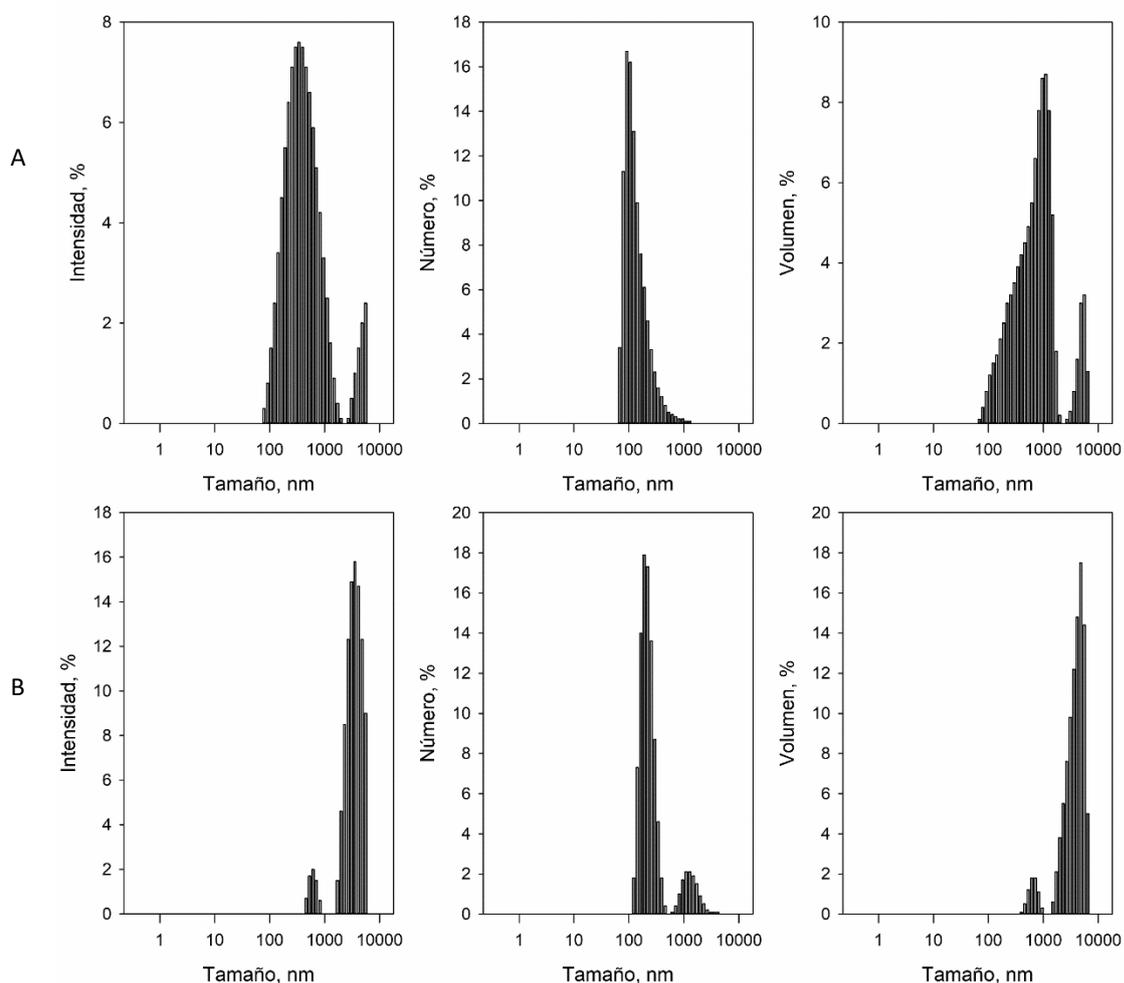


Figura IV.3.1: Estudio del tamaño de partícula de las FNP suspendidas en agua (A) o reguladora de pH=8 (B)

Se ha estudiado el efecto del pH sobre la capacidad de retención de las FNP recién preparadas a concentraciones mucho más bajas de As. Para ello, se ha medido la señal de arsénico en las suspensiones de FNP obtenidas como se indica en el apartado IV.3.2.3. En todos

los casos se partió de 10 mL de disolución conteniendo las distintas especies en cantidades equivalentes a $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de arsénico. La Figura IV.3.3 muestra los resultados obtenidos para As(III) y DMA. Como puede apreciarse, la máxima señal se consigue para As(III) a valores de pH comprendidos entre 7 y 9, lo que corresponde con la máxima retención. Similares resultados se obtuvieron para As(V) y MMA. Sin embargo, en el caso de DMA, la señal es muy baja en este intervalo de pH. Podemos por tanto concluir que a pH 8 las formas de As(III), As(V) y MMA se extraen cuantitativamente.

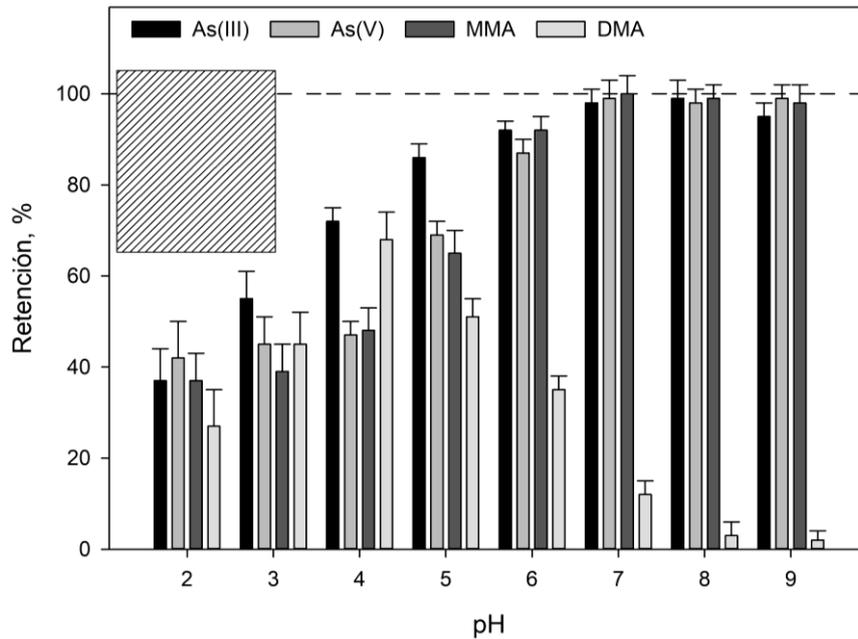


Figura IV.3.2: Efecto del pH en la retención de las distintas especies de arsénico en FNPs recién sintetizadas.

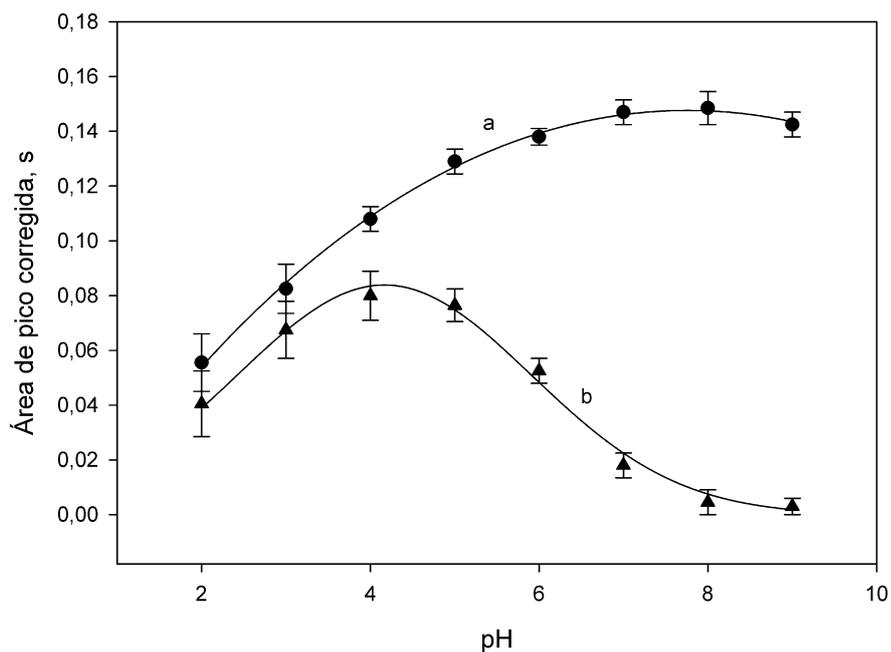


Figura IV.3.3: Efecto del pH sobre la señal medida cuando a 10 mL de una disolución conteniendo As(III) o DMA (curvas a y b, respectivamente) se aplica el procedimiento propuesto. En ambos casos el contenido de arsénico fue de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

IV.3.3.3. Determinación de arsénico en la fase adsorbente

Una vez retenidas las especies de arsénico en las FNP, se puede llevar a cabo la separación rápidamente con ayuda de un potente imán. Tras desechar el líquido sobrenadante y lavar con dos porciones de 2 mL de agua, se dispone de las FNP con los analitos retenidos. El siguiente paso sería desorber estas formas de arsénico de las FNP para transferirlas a un pequeño volumen de fase acuosa, que posteriormente se muestrea para su introducción en el atomizador. La relación de volúmenes entre la fase dadora inicial y el utilizado en este proceso de desorción, determina el factor de enriquecimiento del proceso. En nuestro caso, hemos seleccionado como volumen para la desorción el de 100 μL , más que suficiente para realizar inyecciones por triplicado de 20 μL en el atomizador al tiempo que conseguir un factor de enriquecimiento suficientemente elevado (aproximadamente 100).

Se ensayaron un buen número de disoluciones conteniendo medios de distinta acidez, agentes complejantes, agentes redox, etc., para conseguir la desorción de los analitos. No fue posible conseguir desorciones selectivas y tampoco cuantitativas. En consecuencia, optamos por generar una suspensión con las FNP en un medio ácido e introducir las como tal en el atomizador. Se encontró que el empleo de una mezcla de HNO_3 al 1 %, que favorece en parte la redisolución de las FNP, y un tensioactivo no iónico como Triton X-100 al 1 % (m/v), que estabiliza la suspensión, resultan muy adecuados para la formación de suspensiones estables. Además, encontramos que la aplicación de ultrasonidos durante 10 minutos en presencia de estos reactivos, permite conseguir una suspensión lo suficientemente estable como para muestrear con seguridad. Hay que hacer constar que, la matriz de hierro introducida en el atomizador no tiene consecuencias ni espectrales (la absorción de fondo resulta muy baja) ni en cuanto a modificación de prestaciones del atomizador con la realización de inyecciones consecutivas. La Figura IV.3.4B muestra la señal atómica y la corregida obtenidas tras la inyección de 20 μL de la suspensión de FNP conteniendo arsénico adsorbido. La línea continua corresponde al perfil atómico y la de puntos a la absorción de fondo. La señal obtenida en fase acuosa para $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) (Figura IV.3.4A) equivale, teniendo en cuenta el factor de enriquecimiento, a la obtenida por la inyección de la suspensión de FNP que han retenido el arsénico presente en 10 mL de disolución de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) (Figura IV.3.4-B). Como puede apreciarse, la presencia de la matriz de FNP provoca la estabilización del analito disminuyendo su altura de pico y ensanchando la señal. Sin embargo, no se detectó cambio en la sensibilidad

ni acumulación de residuo en el atomizador tras al menos 100 inyecciones consecutivas de suspensiones preparadas en la forma comentada.

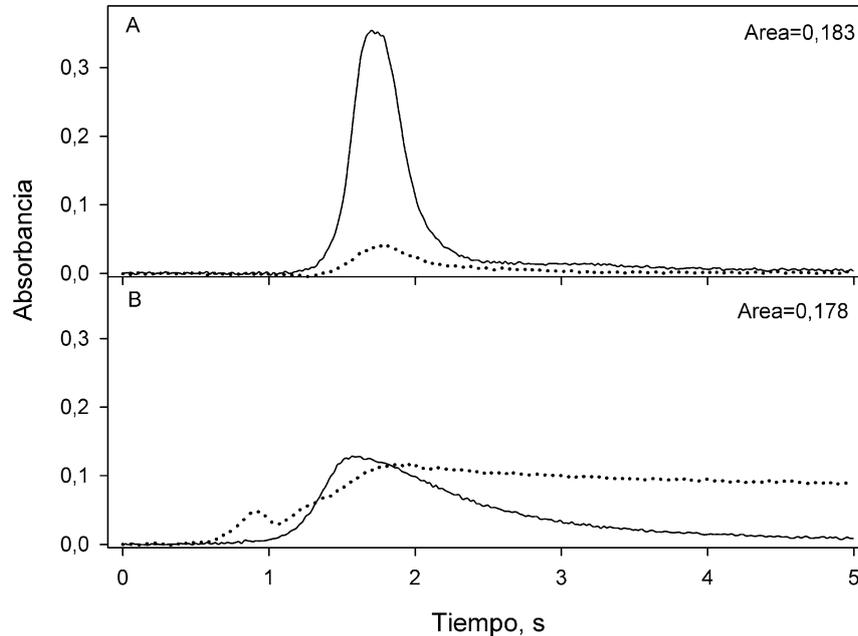


Figura IV.3.4: Perfiles atómicos (línea continua) y de background (línea de puntos) correspondientes a la inyección de 20 μL de As(III) de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ en disolución acuosa (A) y suspensión de FNPs (B) tras la retención de 10 mL de As(III) de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Áreas de pico 0,182 y 0,179, respectivamente.

IV.3.3.4. Optimización del programa de calentamiento en ETAAS

La sensibilidad de esta técnica de detección cambia según la especie de arsénico que se encuentra en el atomizador [58]. En efecto, las formas de arsénico tienen sensibilidades distintas en medio ácido, que tienden a igualarse en medio alcalino con la presencia de abundante materia orgánica que aporte carbono. El empleo de nitrato de Pd (II) como modificador químico también permite igualar las sensibilidades.

El perfil que se observa en la Figura IV.3.4-A (área de pico= 0,182) se ha obtenido en presencia de $5 \mu\text{g}$ de paladio. En su ausencia, la señal decae un 60 %. Por tanto, es claro que su presencia resulta obligatoria en la determinación de las formas de arsénico en disolución acuosa. El estudio de la influencia de la cantidad de paladio en la señal de arsénico en fase acuosa concluyó que la señal aumenta con la presencia de paladio, manteniéndose constante a partir de $1 \mu\text{g}$ de paladio añadido, siendo la sensibilidad para As(III), As(V), MMA y DMA idéntica.

Sin embargo, cuando el arsénico, en cualquiera de sus formas, se encuentra en suspensión, la señal (Figura IV.3.4B) se encuentra muy estabilizada aún en ausencia de paladio

debido a la presencia de la matriz compuesta por una importante cantidad de hierro y materia orgánica (proveniente del Triton X-100) en medio ácido.

La Figura IV.3.5 muestra los resultados obtenidos al estudiar la influencia de la cantidad de paladio añadida tanto sobre disoluciones acuosas de As(III) como suspensiones de FNPs. Como puede apreciarse, si bien para As(III) acuoso la señal experimenta un importante incremento con la presencia de paladio, en el caso de suspensiones la adición de paladio apenas tiene efecto sobre la señal. Se ha seleccionado, por tanto, la adición de tan solo 1 μg de paladio como modificador químico. Los resultados obtenidos al estudiar las otras especies de arsénico (As(V), MMA y DMA) mostraron que la sensibilidad en presencia de la cantidad recomendada de paladio es idéntica.

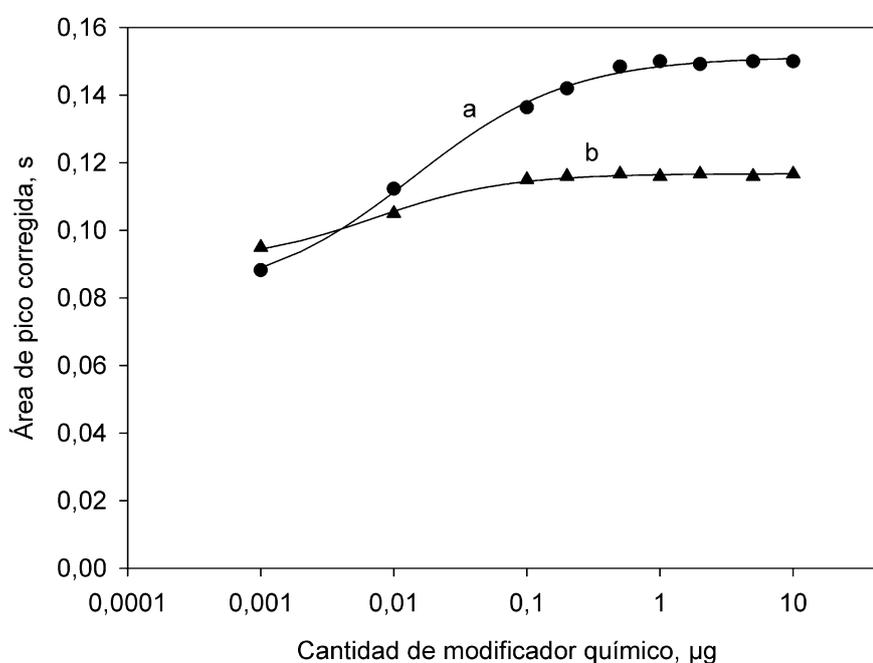


Figura IV.3.5: Efecto de la cantidad de paladio añadido como modificador químico en la señal debida a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) acuoso (curva a) y la suspensión de FNPs tras la adsorción de 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III).

Se han optimizado las temperaturas de calcinación y atomización cuando lo que se inyecta en el detector es una suspensión de FNPs. La Figura IV.3.6 muestra los resultados obtenidos. Se han seleccionado los valores de 1200 $^{\circ}\text{C}$ y 2200 $^{\circ}\text{C}$ como los valores óptimos para las temperaturas de calcinación y atomización, respectivamente.

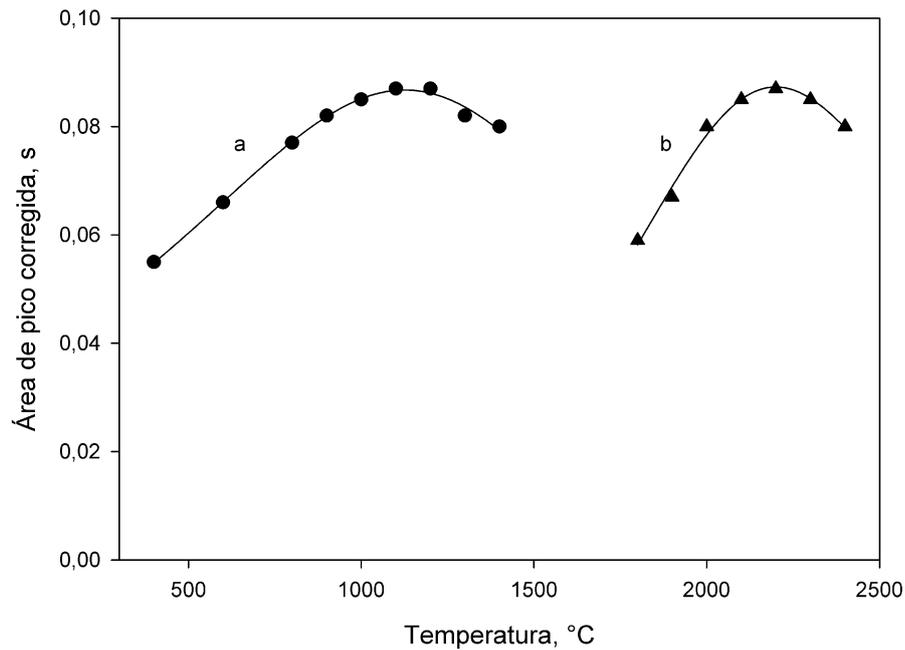


Figura IV.3.6: Efecto de la temperatura de calcinación (a) y atomización (b) en la señal debida a una suspensión de FNPs tras la adsorción de $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III).

La Tabla IV.3.1 muestra el programa de calentamiento recomendado. En estas condiciones, la sensibilidad del detector es la misma para las especies As(III), MMA y DMA y, por tanto, la calibración puede realizarse aplicando el procedimiento propuesto a disoluciones estándar de As(III).

IV.3.3.5. Composición del medio de suspensión

Tras la retención de las especies de arsénico en las FNPs y el lavado de éstas con dos porciones de 2 mL de agua, se intentó su desorción empleando distintos reactivos (medios de distinta acidez, agentes complejantes, redox, etc.). En ningún caso fue posible conseguir la desorción completa de alguno de los analitos. Por tanto, se recurrió a generar una suspensión homogénea de las FNPs en un pequeño volumen, lo que garantiza un elevado factor de enriquecimiento. Los resultados se obtuvieron con el empleo de ácido nítrico al 1 % (v/v). En este medio se consigue la parcial redisolución de las FNPs. Para aumentar la estabilidad de las partículas en la suspensión, se consideró la adición de un tensioactivo. En este sentido se encontró que la adición de Triton X-100 hasta una concentración del 1 % (m/v) cumple este cometido sin introducir problemas de absorción de fondo en el detector.

El volumen de este medio de suspensión se ha seleccionado en 100 μL . Para conseguir reproducibilidad en el volumen de la suspensión es preciso eliminar los restos de agua de lavado que pueden quedar entre las partículas después de la separación física de fases con ayuda del imán. Para ello, se pasa durante 5 minutos una suave corriente de aire seco. De esta forma mejora sustancialmente la reproducibilidad de los resultados.

La masa de FNP obtenida en la síntesis de previa se ha estimado en 2,2 mg, por tanto, el tratamiento con 100 μL de este medio conduce a una suspensión al 2,2 % en material de ferrita. La inyección de 20 μL de esta suspensión en el atomizador no produce efectos de absorción de fondo indeseables como se puede apreciar en la Figura IV.3.4B. Esta cantidad de material adsorbente resulta adecuada para retener cantidades importantes de arsénico. Se ha estimado que la capacidad de retención de As(III) en las FNP es de 21 mg g^{-1} . Por tanto, resulta viable realizar procesos de retención en donde el volumen de la fase dadora sea superior a 10 mL. Se ha encontrado un comportamiento lineal entre la señal medida en la suspensión y el volumen de fase acuosa (fase dadora) en el intervalo de 5 a 40 mL. Aunque el volumen recomendado para los trabajos de rutina es de 10 mL de fase dadora, cuando se desee mayor sensibilidad se puede recurrir a emplear hasta 40 mL y, en estas condiciones, el factor de enriquecimiento es próximo a 400. Volúmenes superiores no resultan prácticos porque el tiempo necesario para conseguir la separación magnética es elevado.

IV.3.3.6. Efecto del 2,3-dimercapto-1-propanol (BAL)

El 2,3-dimercapto-1-propanol (BAL) es un agente quelatante que fue desarrollado por bioquímicos ingleses en la Universidad de Oxford durante la Segunda Guerra Mundial [59]. El BAL tiene una estructura de tres átomos de carbono con dos grupos sulfhidrilo y un grupo hidroxilo (Figura IV.3.7). Se ha utilizado desde 1949 como antídoto en los casos de envenenamiento por arsénico, cadmio y mercurio. Este compuesto, como otros tioles y ditioles, presenta una interesante reactividad con los compuestos de arsénico.

Como es sabido, tioles y ditioles (Figura IV.3.7) se utilizan ampliamente en espectrometría de fluorescencia atómica porque tienen un efecto nivelante en la sensibilidad de la técnica de generación de hidruros (AsH_3) para la determinación de las especies As(III), As(V), MMA y DMA [60]. En cromatografía de gases y líquidos también se utilizan como agentes derivatizantes para la formación de compuestos volátiles neutros de las formas de arsénico mencionadas [61]. Quizás los más ampliamente utilizados sean los monotioles como el ácido tioglicólico y el tioglicol metilato, aunque los ditioles también se han utilizado con frecuencia.

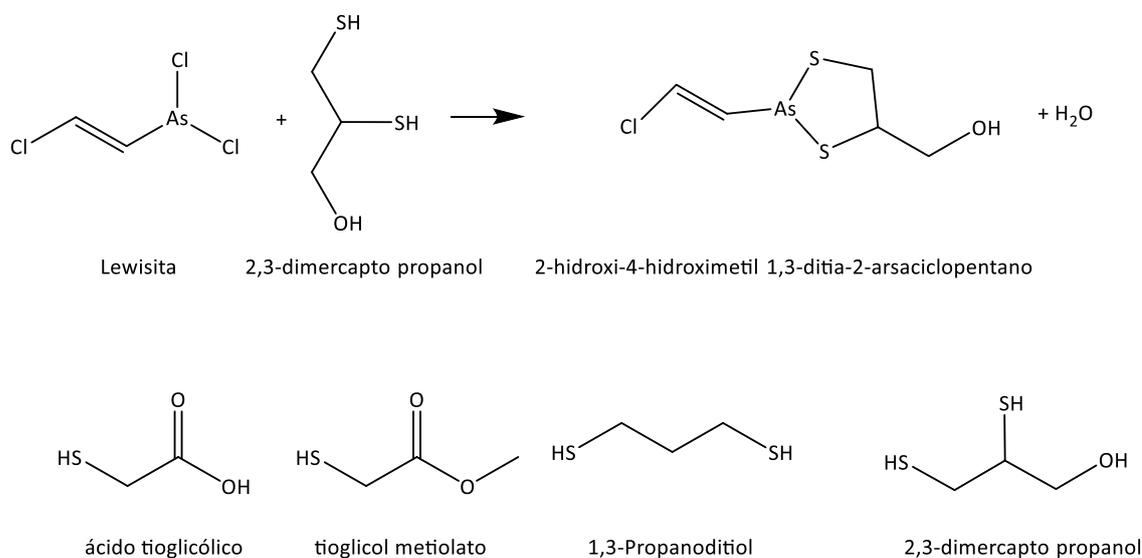
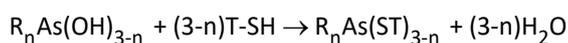
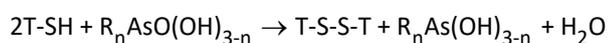


Figura IV.3.7: Reacción del BAL con Lewisita y algunas estructuras de otros tioles y ditioles.

La hipótesis más ampliamente aceptada, al menos en el caso de los monotioles es que primero As(V), MMA y DMA se reducen a As(III) por acción del tiol y seguidamente se forma un compuesto neutro. En general, As(V), MMA y DMA reaccionan según:



donde T-SH es el ácido tioglocólico, y n varía entre 2 (para DMA) y 0 (para As(V)).

En el caso de empleo de ditioles como el BAL, los espectros de masas obtenidos en HPLC con electrospray no evidencian la presencia de especies MA-BAL ni DMA-BAL [62], solamente se han observado señales debidas a As(III)-BAL, As(V)-BAL y aductos de estas formas con el disolvente (metanol). No obstante, los autores proponen estructuras similares a las comentadas anteriormente en el caso de que no se produjera la reducción a As(III) (Figura IV.3.8).

En otras publicaciones se habla de una reacción de complejación entre As(III), As(V) y MMA donde el ligando BAL origina especies extraíbles en disolventes orgánicos [63]. No se conoce con exactitud la reacción entre BAL y As(V), MMA o DMA. En el caso de la reacción de As(III) con BAL, el ditiol actúa como un agente complejante, lo que concuerda con los resultados obtenidos previamente en donde el BAL se utiliza para la elución selectiva de As(III) de una columna de intercambio iónico en la que se encontraban As(III) y As(V) retenidos [64] y como

agente derivatizante selectivo para As(III) en cromatografía de gases [65]. En ambos casos no se han descrito reacciones entre BAL y As(V).

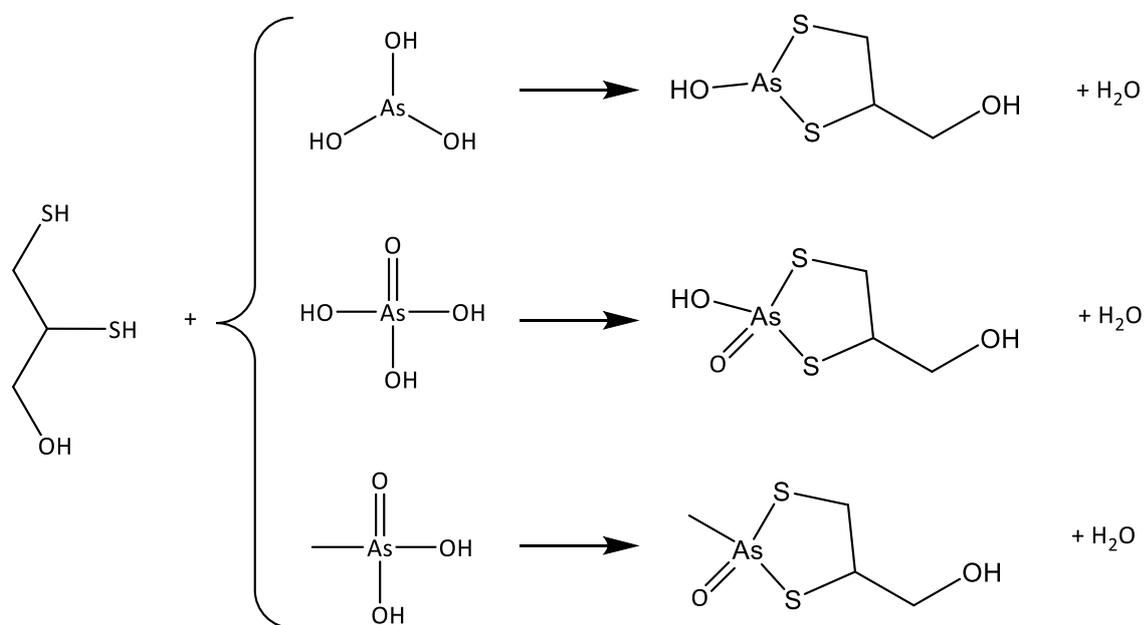


Figura IV.3.8: Reacción del BAL con As(III), As(V) y MMA.

En este trabajo hemos estudiado el efecto del BAL en la retención de As(III), As(V), MMA y DMA en las FNPs a distintos valores de pH en el intervalo de 4 a 9. Las mayores diferencias se apreciaron en medio ácido. Para superar el inconveniente de la disolución de las FNPs a valores de pH inferiores a 3, se fijó como pH óptimo de trabajo el de pH 4. Se realizó un estudio por separado del comportamiento de BAL con estas especies de arsénico. Se encontró que en presencia de BAL, As(III) no se retiene en las FNPs. Sin embargo, As(V) y MMA lo hacen de forma cuantitativa. Se encontró que un tiempo de contacto entre las formas de arsénico y el BAL de 15 minutos es suficiente para conseguir resultados estables. El estudio del efecto de la concentración de BAL en el proceso, condujo a que es suficiente la presencia de una pequeña concentración de BAL ($2,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

La no retención de la especie As(III) la atribuimos a la formación de un quelato con BAL. Mientras que la retención, ahora cuantitativa, de As(V) y MMA en las FNPs se puede explicar suponiendo que se produce una funcionalización de las FNPs con BAL de modo similar a lo que ocurre con este material cuando se trata con el ácido 2,3-dimercapto succínico [66, 67]. Posiblemente, la funcionalización de la superficie incrementa la afinidad de estas especies de

arsénico por el adsorbente y la retención que en ausencia de BAL a ese pH estaría próxima al 50 % aumenta hasta el 100 %.

Por tanto, según nuestros datos la aplicación del procedimiento propuesto en presencia de BAL significa que la señal medida en la suspensión final es proporcional a la suma de As(V) y MMA.

IV.3.3.7. Efecto del tiosulfato como reductor

En la bibliografía se recoge ampliamente el empleo de tiosulfato como agente reductor de As(V) a As(III). Así, su aplicación se demostró muy eficaz en la determinación de estas dos especies ya que permite la conversión completa en medio ácido [68], como un paso previo a la preconcentración utilizando pirrolidinditiocarbamato (PDC) con el que el arsénico forma quelatos muy estables. De esta forma, a partir de experimentos en ausencia y presencia de PDC se ha descrito la especiación del arsénico inorgánico [69].

En nuestro caso, se trataron disoluciones de MMA con tiosulfato en medio ácido y, tras ajustar a pH 8, se adicionaron las FNP no observándose retención de MMA en las partículas sólidas. Este comportamiento se debe probablemente a la reducción de MMA (V) a MMA (III) [70]. Puesto que MMA no forma complejos con PDC mientras que sí lo hace MMA (III), estudiamos la preconcentración de esta especie tras formar complejo con PDC mediante la metodología de microextracción dispersiva líquido-líquido DLLME. Con esta metodología se consigue la extracción cuantitativa del complejo As(III)-PDC [69]. Los resultados obtenidos mostraron que cuando se trata MMA con PDC no se produce la extracción, pero si el MMA se ha tratado previamente con tiosulfato, sí se consigue extraer completamente la especie metilada de arsénico.

A raíz de estos resultados, entendemos que la hipótesis de que el tratamiento con tiosulfato conduzca a la formación de MMA (III) debe ser más plausible que la formación de ácido monometilarsónico MMTA [71], ya que esta forma no se extrae con PDC en disolventes orgánicos.

Se estudiaron tanto el efecto del pH como la concentración de tiosulfato para conseguir la transformación cuantitativa de As(V) a As(III) y MMA (V) a MMA (III). La Figura IV.3.9 muestra los resultados obtenidos cuando se modificó el pH de la disolución en presencia de una concentración $0,004 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Para seguir la evolución de la reducción se ha utilizado un procedimiento previamente desarrollado por el grupo AIM que consiste en la formación de un complejo neutro de As(III) con pirrolidinditiocarbamato amónico (APDC) y su microextracción

en tetracloruro de carbono en fase dispersa [69]. El parámetro medido es la concentración de arsénico en la fase orgánica. Las especies As(V) y MMA no forman complejos con APDC y, por tanto, no se extraen. Como puede apreciarse, tras 15 minutos de contacto, la reducción de As(V) es prácticamente cuantitativa a pH 3, mientras que MMA requiere al menos pH= 2 para conseguir el paso de MMA (III). Finalmente hemos seleccionado un pH=2 para llevar a cabo la reducción. La Figura IV.3.10 muestra el efecto de la concentración de tiosulfato en la extracción de las especies de As(III), As(V) y MMA. Como puede apreciarse, su presencia no afecta a la extracción del complejo de As(III)-APDC y se requiere la presencia de al menos una concentración 0,005 mol L⁻¹ de tiosulfato para conseguir la reducción cuantitativa.

Tras este proceso de reducción que se realiza a pH 2 y en presencia de tiosulfato sódico 0,005 mol L⁻¹ se eleva el pH hasta 8. En estas condiciones se retienen en la ferrita As(III) y As(V) pero no MMA porque se ha transformado en MMA (III).

IV.3.3.8. Estrategia del análisis de especiación

De lo expuesto anteriormente se deduce que, modificando las condiciones experimentales, podemos determinar el contenido de As(III), As(V) y MMA. Así, del tratamiento de la muestra a pH 8 con las FNP recientemente sintetizadas se obtiene el contenido en arsénico inorgánico y MMA. Esta concentración de arsénico ([As₁]) equivale a la suma de las tres especies: [As₁]=[As(III)]+[As(V)]+[MMA]. El tratamiento a pH 2 con tiosulfato y posterior adsorción en las FNP a pH 8 conduce a un contenido de arsénico, [As]₂, equivalente al contenido total de arsénico inorgánico (As(III) + As(V)) según: [As]₂=[As(III)]+[As(V)]. Por diferencia entre ambas concentraciones se conoce el contenido de MMA. Finalmente, del tratamiento de la muestra con BAL y la retención de los productos de la reacción con las FNP a pH 4 se consigue una señal de arsénico, As₃, que resulta equivalente a la presencia de As(V) y MMA según: [As]₃=[As(V)]+[MMA]. A partir de estas expresiones se pueden calcular las concentraciones individuales de las tres especies:

$$\begin{aligned} [\text{As(III)}] &= [\text{As}_1] - [\text{As}_3] \\ [\text{As(V)}] &= [\text{As}_2] + [\text{As}_3] - [\text{As}_1] \\ [\text{MMA}] &= [\text{As}_1] - [\text{As}_2] \end{aligned}$$

La Tabla IV.3.2 muestra los valores de recuperación encontrados para mezclas sintéticas de estas tres especies a las que se han aplicado los procedimientos propuestos.

Como puede observarse, los valores de recuperación resultan cuantitativos en todos los casos, incluso para relaciones de 10/1 entre las especies.

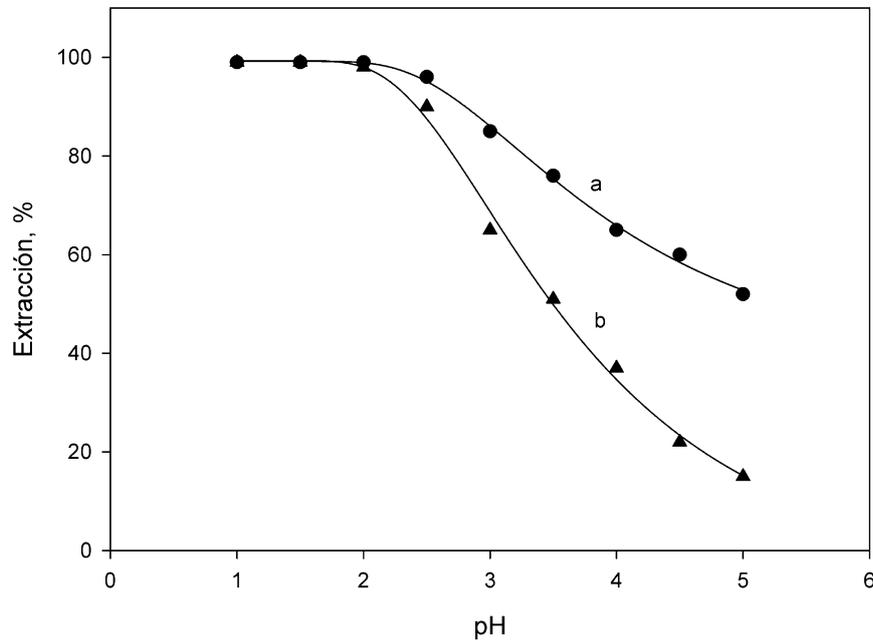


Figura IV.3.9: Efecto del pH en la extracción del complejo As(III)-APDC (curva a) y MMA (III)-APDC (curva b) generados previa reducción con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

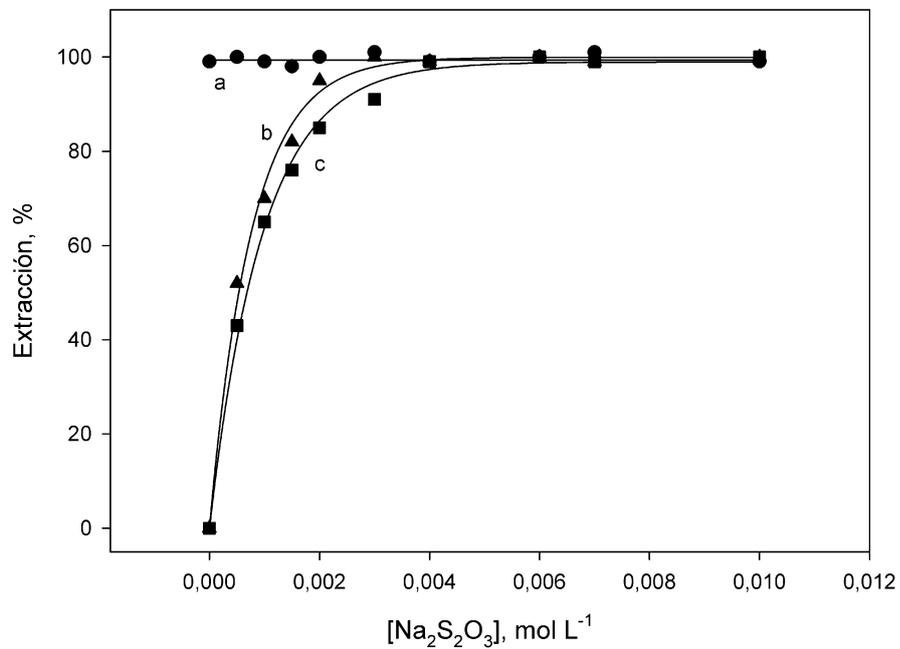


Figura IV.3.10: Efecto de la concentración de tiosulfato en la reducción de As(V) y MMA (curvas b y c, respectivamente). Se ha incluido el comportamiento con As(III) con fines comparativos (curva a). El aumento del porcentaje de extracción se corresponde con la formación de un complejo neutro con APDC.

Tabla IV.3.2. Estudio de recuperación de las formas de arsénico

As tomado, $\mu\text{g L}^{-1}$			As encontrado*, $\mu\text{g L}^{-1}$		
As(III)	As(V)	MMA	As(III)	As(V)	MMA
0,5	0	0	0,49 \pm 0,01 (98%)	<LOD	<LOD
0,5	0,5	0	0,51 \pm 0,01 (102%)	0,48 \pm 0,01 (96%)	<LOD
0,5	0,5	0,5	0,50 \pm 0,01 (100%)	0,51 \pm 0,02 (102%)	0,50 \pm 0,01 (100%)
1	0,1	0	0,97 \pm 0,02 (97%)	0,11 \pm 0,01 (110%)	<LOD
0,1	1	0	0,09 \pm 0,01 (90%)	1,02 \pm 0,01 (102%)	<LOD
0,1	0,1	1	0,11 \pm 0,01 (110%)	0,10 \pm 0,01 (100%)	1,01 \pm 0,02 (101%)

* Valor promedio de tres determinaciones \pm desviación estándar; Entre paréntesis aparece el porcentaje de recuperación.

IV.3.3.9. Calibración

Trabajando en las condiciones recomendadas, se ha encontrado un comportamiento lineal entre la señal en área de pico y la concentración de las especies de arsénico en disolución en el intervalo de 0,05 y 2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Las pendientes de las rectas de calibrado obtenidas para As(III), As(V) y MMA fueron 0,291 \pm 0,002, 0,290 \pm 0,002 y 0,292 \pm 0,002 s μg^{-1} L, respectivamente. Es evidente que, no existen diferencias significativas entre las pendientes al 95 % de nivel de confianza, por lo que resulta posible realizar la calibración con una sola de las formas de arsénico. El límite de detección se ha calculado a partir de tres veces el error estándar de la regresión, resultando un valor de 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$. La desviación estándar relativa de las medidas dentro del intervalo de calibración se encontró entre 5,4 y 3,7 %.

La calibración acuosa, sin proceso de microextracción, condujo a pendientes de calibrado para las formas As(III), As(V) y MMA de 0,0031 \pm 0,0002, 0,0029 \pm 0,0001 y 0,0029 \pm 0,0001 s μg^{-1} L, respectivamente. El factor de enriquecimiento se ha calculado a partir del cociente entre las pendientes promedio en la medida tras el proceso de microextracción y las que se obtienen de forma directa, resultando ser de 98, lo que se corresponde de forma aproximada a la relación de volúmenes de fase dadora a aceptora. La Tabla IV.3.3 muestra una comparativa de procedimientos de microextracción publicados con especiación de arsénico. Como puede verse, en la mayoría de los casos la técnica ETAAS es la seleccionada por su excelente compatibilidad con el empleo de microvolúmenes. Además, son muy pocos los procedimientos que permiten distinguir entre las especies inorgánicas de arsénico y las orgánicas. En algunos casos, los factores de enriquecimiento son muy altos porque así lo son las relaciones de volúmenes de fase dadora a aceptora.

IV.3.3.10. Determinación de As(III), As(V) y MMA en infusiones de plantas

En este trabajo se ha determinado el contenido de As(III), As(V) y MMA en la infusión formada cuando las bolsitas de té, manzanilla, tila o tomillo se tratan como se indica en la parte experimental para conseguir un lixiviado del material vegetal. Los resultados experimentales previos mostraron recuperaciones no cuantitativas de las formas de arsénico añadidas cuando las infusiones se trataban directamente con las FNPs, probablemente como consecuencia de la saturación de las FNPs por la matriz de la muestra. Para evitar este problema se recurrió a la separación previa de las formas de arsénico por retención en una columna de intercambio aniónico.

De los distintos soportes estudiados, los mejores resultados se obtuvieron con Amberlita® IRA-400 en la forma cloruro, una resina básica fuerte con grupo funcional de amonio cuaternario sobre soporte de gel de estireno/divinilbenceno. La resina intercambiadora se acondiciona con agua e hidróxido sódico al 2 % (m/v) con el fin de configurarla en la forma hidroxilo. Finalmente se lava con agua hasta pH neutro antes de pasar la muestra. Al pasar la muestra por la columna, quedan retenidas las especies de arsénico y los interferentes son desechados. A continuación, se procede a la elución de las formas de arsénico utilizando HNO₃ al 1% (v/v). Seguidamente se aplicaron los procedimientos de determinación que aparecen en la parte experimental.

La Tabla IV.3.4 muestra los resultados obtenidos para infusiones obtenidas de distintas plantas siguiendo los procedimientos propuestos. Se incluyen, con fines comparativos, los contenidos totales de arsénico en los lixiviados encontrados por HG-AFS previa mineralización de éstos en microondas. Solamente se detectó la presencia de especies de arsénico en las muestras de té. Las infusiones de manzanilla, tila y tomillo condujeron a un contenido de arsénico en el lixiviado por debajo del LOD. No obstante, se realizaron pruebas de recuperación de los analitos en todas las muestras. Para ello, las muestras se adulteraron con cantidades conocidas de las especies de arsénico en el momento de preparar la infusión y fueron sometidas al procedimiento completo de tratamiento de la muestra. Como puede apreciarse, los resultados de recuperación son cuantitativos.

Como es sabido, el porcentaje de arsénico que se libera a la fase acuosa desde la muestra, varía dependiendo del tipo de planta y de las partes de la planta (flor, hoja, tallo, raíz) presentes en las bolsitas infusionadas. En un estudio sobre esta materia realizado con distintas flores de hierbas se obtuvieron lixivaciones de entre el 2 y 20 % del total de arsénico en las muestras [72].

Para comparar el contenido de arsénico lixiviado al preparar la infusión con el contenido total de las muestras, se recurrió a la digestión por vía húmeda en microondas, como se indica en la parte experimental, del material que se encuentra dentro de las bolsitas de té. La Tabla IV.3.4 muestra, en el caso de las infusiones de té, el porcentaje de extracción de arsénico total desde la muestra a la infusión. Como puede observarse, en las cuatro muestras de té estudiadas el porcentaje de arsénico que pasa a la fase acuosa al preparar la infusión se encuentra en el intervalo del 15 al 27 %.

La exactitud y precisión del método utilizado para la determinación de arsénico se confirmó mediante el análisis del mismo en un material de referencia estándar certificado de té (NCS DC 73351) adquirido de China National Analysis Centre for Iron and Steel. El contenido certificado de arsénico total para este material es de $0,28 \pm 0,03 \mu\text{g g}^{-1}$. La mineralización del material con el empleo de microondas y el posterior tratamiento con el procedimiento propuesto para evaluar el contenido total (As(III) + As(V) + MMA) condujo a un valor de $0,30 \pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$. Al preparar las infusiones de este material se utilizaron bolsitas similares a las que se comercializan con el resto de las muestras analizadas. El tratamiento para formar infusiones condujo a un porcentaje de extracción de arsénico del 82 %. Este valor resultó mucho más elevado que en el resto de las muestras y quizás se deba a que este material se encuentra muy finamente molido, lo que facilita la extracción. Los contenidos encontrados de As(III), As(V) y MMA fueron inferiores a LOD, 0,23 y $0,07 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

IV.3.3.11. Determinación de As(III), As(V) y MMA en muestras de agua

Se estudió la aplicabilidad de los procedimientos propuestos a la determinación de las formas de arsénico en muestras de agua de distinta procedencia, como se detalla en la parte experimental. Al mismo tiempo se utilizaron siete materiales de referencia (SRM) correspondientes a aguas de distinta procedencia tal y como aparece en la Tabla IV.3.5. Los contenidos certificados para estos materiales son exclusivamente de contenido de arsénico total, pero resultan adecuados con fines comparativos. De las primeras experiencias con las muestras de agua y los SRMs se derivó una concentración de MMA inferior al LOD en todas las muestras de agua analizadas. Por otra parte, la determinación del contenido total de As(III) + As(V) empleando el procedimiento que supone el uso de tiosulfato, condujo a valores acordes con los certificados para los SRMs. Sin embargo, cuando se determina el contenido total mediante el procedimiento propuesto que supone la estimación de As(III) + As(V) + MMA, se consiguen resultados por defecto respecto del valor del certificado en el intervalo del 15 al 25 %. El hecho de que este efecto no se aprecie cuando la muestra se trata con tiosulfato, nos hizo

pensar en que su origen debe estar en alguna o algunas sustancias que se desactivan en presencia de tiosulfato. En este sentido se ensayaron distintos reductores suaves de los que el nitrito condujo a los mejores resultados. En efecto, comprobamos que la adición de 500 μL de nitrito sódico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a la muestra antes de ajustarla a pH 8 para proceder a la retención, resuelve el problema. Para ello resulta aconsejable dejar en contacto durante 10 minutos el nitrito con la muestra antes de hacer la microextracción en las FNPs. Trabajando en estas condiciones los resultados obtenidos en la determinación de As(III) + As(V) + MMA coinciden con los que se obtienen en las As(III) + As(V) y a su vez con los certificados.

En un intento de encontrar la causa de este comportamiento, estudiamos diversas sustancias que pudieran provocarlo, encontrando que muy pequeñas concentraciones ($10^{-4} \%$) de ácidos húmicos [73] tienen un efecto inhibitor parcial en la retención de As(III) a pH 8 sobre las FNPs. Este efecto no se produce sobre As(V) y desaparece con el empleo de nitrito como hemos indicado.

La Tabla IV.3.5 muestra los resultados obtenidos tanto en las muestras de agua potable, embotelladas y de mar de nuestro entorno como en los materiales de referencia. Como puede apreciarse, en el caso de los SRMs, la concordancia con los valores certificados es excelente y en el caso de las otras muestras, los valores de recuperación resultan cuantitativos.

IV.3.4. Conclusiones

Las nanopartículas de ferrita recién sintetizadas utilizando una relación Fe (III) : Fe (II) de 1:2 han mostrado una gran capacidad de retención de las formas de arsénico As(III), As(V) y MMA a pH 8. Modificando las condiciones experimentales es posible conseguir la retención selectiva de las distintas especies, posibilitándose la especiación. Las nanopartículas se separan fácilmente de la disolución con ayuda de un imán potente y se pueden suspender en un pequeño volumen ($100 \mu\text{L}$) de una mezcla de ácido nítrico y Triton X-100. La determinación se realiza por ETAAS utilizando paladio como modificador por introducción directa de la suspensión en el atomizador. Los procedimientos propuestos se han mostrado eficaces para la especiación de arsénico en muestras de agua e infusiones de té.

Tabla IV.3.3: Comparación de algunos procedimientos propuestos para la especiación de arsénico no cromatográfica

Técnica de microextracción	Fase aceptora	Análitos	Detector	EF ^a	LOD, ng L ⁻¹	Referencia
SPME	Nanotubos de carbono	As(III), As(V)	ETAAS	250	20	[74]
DLLME	Tetracloruro de carbono	As(III), As(V)	ETAAS	115	10	[69]
MIL-AALLME	Líquido iónico magnético	As(III), As(V)	ETAAS	--	29	[44]
MSPE	Estructura orgánica magnética	As(III), As(V)	ETAAS	240	1,2	[75]
DLLME	Tetracloruro de carbono	As(III), As(V)	HG-AFS	--	1200	[70]
SPME	Óxido de aluminio funcionalizado	As(III), As(V)	ETAAS	750	1,81	[76]
USASS-ME	Ácido decanoico y tetrahydrofurano	As(III), As(V)	ETAAS	60	200	[77]
LLME	Líquido iónico	As(III), As(V), MMA, DMA	ETAAS	125	2	[78]
SPME	Carbón activado	As(III), As(V)	ETAAS	200	4	[47]
SFDME	1-undecanol	As(III), As(V)	ETAAS	1000	9,2	[79]
SPE+CPE	Triton X-114	As(III), As(V), As orgánico	ETAAS	--	40	[80]
DSLLME	1-dodecanol	As(III), As(V)	ETAAS	135	20	[81]
CPE	Ácido decanoico	As(III), As(V)	ETAAS	64	40	[82]
SPME	Ferrita	As(III), As(V), MMA	ETAAS	98	20	Este trabajo

DLLME: Microextracción líquido-líquido en fase dispersa; MIL-AALLME: Microextracción líquido-líquido en base a un líquido iónico magnético; MSPE: Extracción en fase sólida magnética; USASS-ME: Microextracción con disolventes supramoleculares asistida con ultrasonidos; LLME: Microextracción líquido-líquido; SFDME: Microextracción mediante solidificación de una gota flotante; SPE: Extracción en fase sólida; CPE: Extracción por punto de nube; DSLLME: Microextracción líquida-líquida dispersiva por solidificación

Tabla IV.3.4: Contenidos de arsénico encontrados en las infusiones de té y otras plantas

Muestra	As añadido	As lixiviado ^a , ng g ⁻¹						As ^b , ng g ⁻¹		Lixiviación, % As
		As total ^c	As(III)+As(V)+MMA	As(V)+MMA	As(III)+As(V)	As(III)	As(V)	MMA	As total	
Té 1	0	0,37±0,01	0,36±0,01	0,35±0,02	0,15±0,01	<LOD	0,15±0,01	0,20±0,01	2,1±0,1	18
	0,1 As(III)	0,48±0,02	0,47±0,02	0,36±0,02	0,24±0,02	0,09±0,02	0,16±0,01	0,20±0,01		
Té 2	0	1,32±0,01	1,33±0,01	1,32±0,01	0,60±0,02	<LOD	0,59±0,01	0,72±0,02	6,3±0,2	21
	0,1 As(V)	1,43±0,01	1,43±0,02	1,42±0,01	0,69±0,01	<LOD	0,70±0,01	0,73±0,01		
Té 3	0	1,12±0,01	1,12±0,01	1,13±0,01	<LOD	<LOD	<LOD	1,12±0,02	4,1±0,1	27
	0,1 MMA	1,22±0,01	1,21±0,02	1,22±0,01	<LOD	<LOD	<LOD	1,22±0,01		
Té 4	0	0,21±0,01	0,22±0,01	0,21±0,01	0,07±0,01	<LOD	0,07±0,01	0,15±0,01	1,4±0,1	15
	0,5 MMA	0,70±0,02	0,71±0,02	0,73±0,01	0,06±0,01	<LOD	0,06±0,01	0,66±0,02		
Manzanilla 1	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-
	0,5 As(III)	0,50±0,02	0,48±0,02	0,51±0,01	0,52±0,01	0,52±0,01	<LOD	<LOD	<LOD	-
Manzanilla 2	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-
	0,5 As(V)	0,48±0,02	0,50±0,02	0,51±0,01	0,50±0,02	<LOD	0,50±0,02	<LOD	<LOD	-
Tila	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-
	0,5 As(III)	0,51±0,02	0,49±0,02	<LOD	0,48±0,02	0,50±0,02	<LOD	<LOD	<LOD	-
Tomillo	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-
	1 As(V)	0,99±0,02	1,01±0,02	0,99±0,01	0,99±0,02	<LOD	0,99±0,01	<LOD	<LOD	-

^a valor medio ± desviación estándar (n=3)^b por digestión ácida del producto y HG-AFS^c por digestión ácida del lixiviado y HG-AFS

Tabla IV.3.5: Resultados obtenidos en la determinación de arsénico en distintos tipos de aguas y materiales de referencia

Muestras	Contenido en arsénico ^a , µg L ⁻¹						
	Total, certificado	As(III)+As(V)+MMA	As(V)+MMA	As(III)+As(V)	As(III)	As(V)	MMA
Agua mineral embotellada 1	-	0,41±0,02	0,41±0,02	0,41±0,02	<LOD	0,41±0,02	<LOD
Agua mineral embotellada 2	-	0,44±0,02	0,32±0,02	0,44±0,02	0,12±0,02	0,32±0,02	<LOD
Agua mineral embotellada 3	-	0,56±0,03	0,56±0,02	0,56±0,03	<LOD	0,56±0,02	<LOD
Agua mineral carbonatada embotellada	-	0,63±0,03	0,48±0,02	0,63±0,03	0,15±0,02	0,48±0,02	<LOD
Agua de red	-	0,51±0,02	0,51±0,02	0,51±0,02	<LOD	0,51±0,02	<LOD
Agua de red tratada por sistema de osmosis inversa	-	0,40±0,02	0,40±0,02	0,40±0,02	<LOD	0,40±0,02	<LOD
Agua de mar	-	0,63±0,03	0,63±0,03	0,38±0,02	<LOD	0,38±0,02	0,25±0,02
NIST 1640a	8,01±0,07	8,18±0,05	6,93±0,04	8,19±0,05	1,24±0,02	6,94±0,05	<LOD
NASS-6	1,43±0,12	1,45±0,05	1,12±0,06	1,41±0,05	0,35±0,03	1,06±0,04	0,05±0,01
SPS-SW2 batch 125	50,0±0,3	49,7±0,7	37,8±0,4	49,6±0,5	11,5±0,4	37,9±0,6	<LOD
ERM-CA011b	10,15±0,34	10,22±0,04	4,15±0,02	10,23	6,08±0,05	4,15±0,03	<LOD
TMRAIN-04	1,14±0,17	1,10±0,04	0,99±0,02	1,09±0,03	0,12±0,02	0,98±0,03	<LOD
TM-23.4	8,12±0,63	8,18±0,05	6,14±0,04	8,19±0,06	2,04±0,04	6,15±0,05	<LOD
TM-25.4	27,1±2,56	26,4±0,1	19,9±0,1	20,7±0,1	6,48±0,05	14,2±0,1	5,73±0,04
DORM-4	6,80±0,64 ^b	6,78±0,06	6,17±0,06	6,79±0,06	0,62±0,03	6,17±0,06	<LOD
NCS DC73351	0,28±0,03 ^b	0,30±0,02	0,30±0,02	0,23±0,02	<LOD	0,23±0,02	0,07±0,02
NIST 1572	3,1±0,3 ^b	3,05±0,06	2,27±0,06	3,05±0,06	0,78±0,03	2,27±0,06	<LOD
NIST 1566a	14,0±1,2 ^b	13,9±0,1	12,6±0,1	13,9±0,1	1,32±0,05	12,6±0,1	<LOD

^a valor medio ± desviación estándar (n=3)

^b contenido expresado en µg g⁻¹

□

IV.3.5. Bibliografía

- [1] G. Ungureanu, S. Santos, R. Boaventura, C. Botelho, *Arsenic and antimony in water and wastewater: Overview of removal techniques with special reference to latest advances in adsorption*, Journal of Environmental Management, 2015, 151, 326-342. doi: 10.1016/j.jenvman.2014.12.051.
- [2] S. Zhang, H. Niu, Y. Cai, X. Zhao, Y. Shi, *Arsenite and arsenate adsorption on coprecipitated bimetal oxide magnetic nanomaterials: MnFe₂O₄ and CoFe₂O₄*, Chemical Engineering Journal, 2010, 158, 599-607. doi: 10.1016/j.cej.2010.02.013.
- [3] I. López-García, M. Briceño, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Rapid screening of water soluble arsenic species in edible oils using dispersive liquid-liquid microextraction*, Food Chemistry, 2015, 167, 396-401. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.06.121.
- [4] K. Pourghazi, M. Amoli-Diva, A. Beiraghi, *Speciation of ultra-trace amounts of inorganic arsenic in water and rice samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after solid-phase extraction with modified Fe₃O₄ nanoparticles*, International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2015, 95, 324-338. doi: 10.1080/03067319.2015.1016014.
- [5] C.-H. Liu, Y.-H. Chuang, T.-Y. Chen, Y. Tian, H. Li, M.-K. Wang, W. Zhang, *Mechanism of Arsenic Adsorption on Magnetite Nanoparticles from Water: Thermodynamic and Spectroscopic Studies*, Environmental Science & Technology, 2015, 49, 7726-7734. doi: 10.1021/acs.est.5b00381.
- [6] M. Kokate, K. Garadkar, A. Gole, *One pot synthesis of magnetite-silica nanocomposites: applications as tags, entrapment matrix and in water purification*, Journal of Materials Chemistry A, 2013, 1, 2022-2029. doi: 10.1039/C2TA00951J.
- [7] K.K. Kefeni, T.A.M. Msagati, B.B. Mamba, *Ferrite nanoparticles: Synthesis, characterisation and applications in electronic device*, Materials Science and Engineering: B, 2017, 215, 37-55. doi: 10.1016/j.mseb.2016.11.002.
- [8] T.F. Marinca, I. Chicinaş, O. Isnard, *Structural and magnetic properties of the copper ferrite obtained by reactive milling and heat treatment*, Ceramics International, 2013, 39, 4179-4186. doi: 10.1016/j.ceramint.2012.10.274.
- [9] M.E. Mahmoud, M.S. Abdelwahab, E.M. Fathallah, *Design of novel nano-sorbents based on nano-magnetic iron oxide-bound-nano-silicon oxide-immobilized-triethylenetetramine for implementation in water treatment of heavy metals*, Chemical Engineering Journal, 2013, 223, 318-327. doi: 10.1016/j.cej.2013.02.097.
- [10] A. Akbarzadeh, M. Samiei, S. Davaran, *Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine*, Nanoscale Research Letters, 2012, 7, 144. doi: 10.1186/1556-276x-7-144.
- [11] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Determination of ultratrace mercury species using separation with magnetic core-modified silver*

- nanoparticles and electrothermal atomic absorption spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2015, 30, 1980-1987. doi: 10.1039/c5ja00213c.
- [12] W. Yantasee, C.L. Warner, T. Sangvanich, R.S. Addleman, T.G. Carter, R.J. Wiacek, G.E. Fryxell, C. Timchalk, M.G. Warner, *Removal of heavy metals from aqueous systems with thiol functionalized superparamagnetic nanoparticles*, Environmental Science & Technology, 2007, 41, 5114-5119. doi: 10.1021/es0705238.
- [13] S. Mura, L. Malfatti, G. Greppi, P. Innocenzi, *Ferrates for water remediation*, Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2017, 16, 15-35. doi: 10.1007/s11157-016-9416-8.
- [14] E.R. Bandala, M.A.Q. Alfaro, M. Cerro-López, M.A. Méndez-Rojas, *Nanostructured Metal Oxides for Wastewater Disinfection*, Nanomaterials for Environmental Protection, John Wiley & Sons, Inc2014, pp. 27-40. doi: 10.1002/9781118845530.ch2.
- [15] Y. Zhang, X. Zhou, Z. Liu, B. Li, Q. Liu, X. Li, *Monodispersed hierarchical [gamma]-AlOOH/Fe(OH)₃ micro/nanoflowers for efficient removal of heavy metal ions from water*, RSC Advances, 2016, 6, 6695-6701. doi: 10.1039/C5RA23915J.
- [16] C.M. Davidescu, R. Dumitru, A. Negrea, L. Lupa, M. Ciopec, P. Negrea, *Arsenic Removal Through Adsorption on Cobalt Nanoferrite*, Revista De Chimie, 2015, 66, 1742-1746.
- [17] S. Martinez-Vargas, A.I. Martinez, E.E. Hernandez-Beteta, O.F. Mijangos-Ricardez, V. Vazquez-Hipolito, C. Patino-Carachure, H. Hernandez-Flores, J. Lopez-Luna, *Arsenic adsorption on cobalt and manganese ferrite nanoparticles*, Journal of Materials Science, 2017, 52, 6205-6215. doi: 10.1007/s10853-017-0852-9.
- [18] N.D. Phu, P.C. Phong, N. Chau, N.H. Luong, L.H. Hoang, N.H. Hai, *Arsenic removal from water by magnetic Fe_{1-x}CoxFe₂O₄ and Fe_{1-y}NiyFe₂O₄ nanoparticles*, Journal of Experimental Nanoscience, 2009, 4, 253-258. doi: 10.1080/17458080802590474.
- [19] Z.K. Karakas, R. Boncukcuoglu, I.H. Karakas, *Adsorptive properties of As(III) from aqueous solution using magnetic nickel ferrite (NiFe₂O₄) nanoparticles: Isotherm and kinetic studies*, Separation Science and Technology, 2017, 52, 21-34. doi: 10.1080/01496395.2016.1240693.
- [20] R.J. Liu, Y. Lu, X.Q. Shen, X.C. Yang, X.W. Cui, Y.Y. Gao, *Adsorption Kinetics and Isotherms of Arsenic(V) from Aqueous Solution Onto Ni_{0.5}Zn_{0.5}Fe₂O₄ Nanoparticles*, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2013, 13, 2835-2841. doi: 10.1166/jnn.2013.7392.
- [21] Y.K. Penke, G. Anantharaman, J. Ramkumar, K.K. Kar, *Aluminum substituted nickel ferrite (Ni-Al-Fe): a ternary metal oxide adsorbent for arsenic adsorption in aqueous medium*, Rsc Advances, 2016, 6, 55608-55617. doi: 10.1039/c6ra06332b.
- [22] H.A. Patel, J. Byun, C.T. Yavuz, *Arsenic removal by magnetic nanocrystalline barium hexaferrite*, Journal of Nanoparticle Research, 2012, 14. doi: 10.1007/s11051-012-0881-x.
- [23] W.H. Xu, L. Wang, J. Wang, G.P. Sheng, J.H. Liu, H.Q. Yu, X.J. Huang, *Superparamagnetic mesoporous ferrite nanocrystal clusters for efficient removal of arsenite from water*, Crystengcomm, 2013, 15, 7895-7903. doi: 10.1039/c3ce40944a.

- [24] H. Abdolmohammad-Zadeh, Z. Talleb, *Speciation of As(III)/As(V) in water samples by a magnetic solid phase extraction based on Fe₃O₄/Mg-Al layered double hydroxide nano-hybrid followed by chemiluminescence detection*, *Talanta*, 2014, 128, 147-155. doi: 10.1016/j.talanta.2014.04.070.
- [25] W.S. Tang, Y. Su, Q. Li, S.A. Gao, J.K. Shang, *Superparamagnetic magnesium ferrite nanoadsorbent for effective arsenic (III, V) removal and easy magnetic separation*, *Water Research*, 2013, 47, 3624-3634. doi: 10.1016/j.watres.2013.04.023.
- [26] S. Garcia, S. Sardar, S. Maldonado, V. Garcia, C. Tamez, J.G. Parsons, *Study of As(III) and As(V) oxoanion adsorption onto single and mixed ferrite and hausmannite nanomaterials*, *Microchemical Journal*, 2014, 117, 52-60. doi: 10.1016/j.microc.2014.06.008.
- [27] Y. Jia, H.M. Yu, L. Wu, X.D. Hou, L. Yang, C.B. Zheng, *Three Birds with One Fe₃O₄ Nanoparticle: Integration of Microwave Digestion, Solid Phase Extraction, and Magnetic Separation for Sensitive Determination of Arsenic and Antimony in Fish*, *Analytical Chemistry*, 2015, 87, 5866-5871. doi: 10.1021/acs.analchem.5b00712.
- [28] J.G. Parsons, M.L. Lopez, J.R. Peralta-Videa, J.L. Gardea-Torresdey, *Determination of arsenic(III) and arsenic(V) binding to microwave assisted hydrothermal synthetically prepared Fe₃O₄, Mn₃O₄, and MnFe₂O₄ nanoadsorbents*, *Microchemical Journal*, 2009, 91, 100-106. doi: 10.1016/j.microc.2008.08.012.
- [29] S.X. Wu, Z. Xing, H.B. Chen, J. Wang, L. Feng, *Nanomagnetic Material Ferriferrous Oxide Separation/Enrichment and Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry for Determination of Arsenic*, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2009, 37, 711-714.
- [30] S. Agrawal, N.B. Singh, *Removal of arsenic from aqueous solution by an adsorbent nickel ferrite-polyaniline nanocomposite*, *Indian Journal of Chemical Technology*, 2016, 23, 374-383.
- [31] H. Cui, W.Y. Yang, X.J. Li, H. Zhao, Z.B. Yuan, *An electrochemical sensor based on a magnetic Fe₃O₄ nanoparticles and gold nanoparticles modified electrode for sensitive determination of trace amounts of arsenic(III)*, *Analytical Methods*, 2012, 4, 4176-4181. doi: 10.1039/c2ay25913c.
- [32] A.R. Sadrolhosseini, M. Naseri, H.M. Kamari, *Surface plasmon resonance sensor for detecting of arsenic in aqueous solution using polypyrrole-chitosan-cobalt ferrite nanoparticles composite layer*, *Optics Communications*, 2017, 383, 132-137. doi: 10.1016/j.optcom.2016.08.065.
- [33] M.T. Tran, T.H.T. Nguyen, Q.T. Vu, M.V. Nguyen, *Properties of poly(1-naphthylamine)/Fe₃O₄ composites and arsenic adsorption capacity in wastewater*, *Frontiers of Materials Science*, 2016, 10, 56-65. doi: 10.1007/s11706-016-0320-5.
- [34] M. Hasanzadeh, F. Farajbakhsh, N. Shadjou, A. Jouyban, *Mesoporous (organo) silica decorated with magnetic nanoparticles as a reusable nanoadsorbent for arsenic removal from water samples*, *Environmental Technology*, 2015, 36, 36-44. doi: 10.1080/09593330.2014.934744.
- [35] C. Magoda, P.N. Nomngongo, N. Mabuba, *Magnetic iron-cobalt/silica nanocomposite as adsorbent in micro solid-phase extraction for preconcentration of arsenic in*

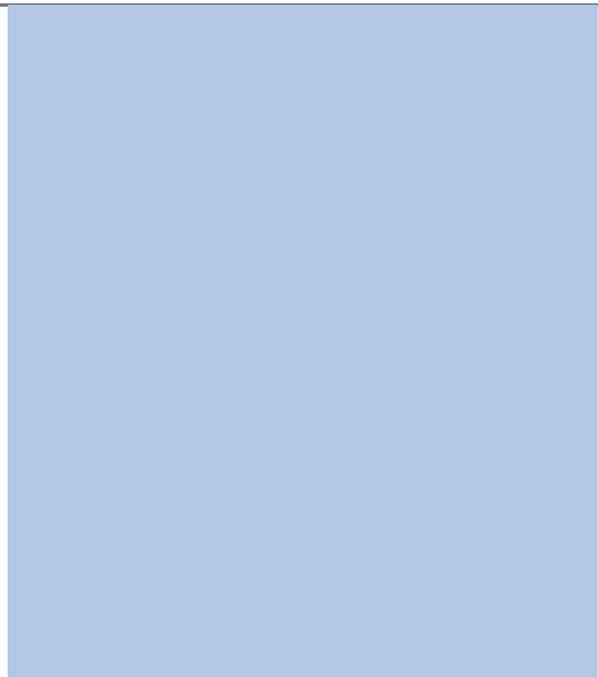
- environmental samples*, Microchemical Journal, 2016, 128, 242-247. doi: 10.1016/j.microc.2016.05.005.
- [36] H.R. Nodeh, W.A.W. Ibrahim, I. Ali, M.M. Sanagi, *Development of magnetic graphene oxide adsorbent for the removal and preconcentration of As(III) and As(V) species from environmental water samples*, Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23, 9759-9773. doi: 10.1007/s11356-016-6137-z.
- [37] Q.X. Zhou, Z.W. Zheng, J.P. Xiao, H.L. Fan, *Sensitive determination of As (III) and As (V) by magnetic solid phase extraction with Fe@polyethyleneimine in combination with hydride generation atomic fluorescence spectrometry*, Talanta, 2016, 156, 196-203. doi: 10.1016/j.talanta.2016.05.024.
- [38] Z.R. Zou, S.L. Wang, J. Jia, F.J. Xu, Z. Long, X.D. Hou, *Ultrasensitive determination of inorganic arsenic by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry using Fe₃O₄@ZIF-8 nanoparticles for preconcentration*, Microchemical Journal, 2016, 124, 578-583. doi: 10.1016/j.microc.2015.10.005.
- [39] P.T.L. Huong, L.T. Huy, V.N. Phan, T.Q. Huy, M.H. Nam, V.D. Lam, A.T. Le, *Application of Graphene Oxide-MnFe₂O₄ Magnetic Nanohybrids as Magnetically Separable Adsorbent for Highly Efficient Removal of Arsenic from Water*, Journal of Electronic Materials, 2016, 45, 2372-2380. doi: 10.1007/s11664-015-4314-3.
- [40] S. Kumar, R.R. Nair, P.B. Pillai, S.N. Gupta, M.A.R. Iyengar, A.K. Sood, *Graphene Oxide-MnFe₂O₄ Magnetic Nanohybrids for Efficient Removal of Lead and Arsenic from Water*, Acs Applied Materials & Interfaces, 2014, 6, 17426-17436. doi: 10.1021/am504826q.
- [41] L.P. Lingamdinne, Y.L. Choi, I.S. Kim, Y.Y. Chang, J.R. Koduru, J.K. Yang, *Porous graphene oxide based inverse spinel nickel ferrite nanocomposites for the enhanced adsorption removal of arsenic*, Rsc Advances, 2016, 6, 73776-73789. doi: 10.1039/c6ra10134h.
- [42] M. Shirani, A. Semnani, S. Habibollahi, H. Haddadi, *Ultrasound-assisted, ionic liquid-linked, dual-magnetic multiwall carbon nanotube microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for simultaneous determination of cadmium and arsenic in food samples*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2015, 30, 1057-1063. doi: 10.1039/c4ja00481g.
- [43] X. Wang, G. Xu, P. Chen, X. Liu, Y. Fang, S. Yang, G. Wang, *Arsenic speciation analysis in environmental water, sediment and soil samples by magnetic ionic liquid-based air-assisted liquid-liquid microextraction*, RSC Advances, 2016, 6, 110247-110254. doi: 10.1039/C6RA21199B.
- [44] X.J. Wang, G.L. Xu, P. Chen, X.Y. Liu, Y. Fang, S.Y. Yang, G.Z. Wang, *Arsenic speciation analysis in environmental water, sediment and soil samples by magnetic ionic liquid-based air-assisted liquid-liquid microextraction*, Rsc Advances, 2016, 6, 110247-110254. doi: 10.1039/c6ra21199b.
- [45] L. Cai, C. Xu, M. Zhong, Y. Wu, S. Zheng, *Arsenic Speciation in Drinking Tea Samples by Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry*, Asian Journal of Chemistry, 2013, 25, 8169-8172. doi: 10.14233/ajchem.2013.15437.
- [46] S.Z. Chen, J.F. Li, D.B. Lu, Y. Zhang, *Dual extraction based on solid phase extraction and solidified floating organic drop microextraction for speciation of arsenic and its*

- distribution in tea leaves and tea infusion by electrothermal vaporization ICP-MS*, Food Chemistry, 2016, 211, 741-747. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.05.101.
- [47] A.C. Grijalba, E.M. Martinis, G.E. Lascalea, R.G. Wuilloud, *Activated carbon-modified knotted reactor coupled to electrothermal atomic absorption spectrometry for sensitive determination of arsenic species in medicinal herbs and tea infusions*, Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy, 2015, 103, 49-56. doi: 10.1016/j.sab.2014.11.007.
- [48] T. Karak, O. Abollino, P. Bhattacharyya, K.K. Das, R.K. Paul, *Fractionation and speciation of arsenic in three tea gardens soil profiles and distribution of As in different parts of tea plant (Camellia sinensis L.)*, Chemosphere, 2011, 85, 948-960. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.06.061.
- [49] I. Koch, J. Dee, K. House, J. Sui, J. Zhang, A. McKnight-Whitford, K.J. Reimer, *Bioaccessibility and speciation of arsenic in country foods from contaminated sites in Canada*, Science of the Total Environment, 2013, 449, 1-8. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.01.047.
- [50] M.M. Gómez, M. Kövecs, M.A. Palacios, I. Pizarro, C. Cámara, *Effect of the Mineralization Method on Arsenic Determination in Marine Organisms by Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectroscopy*, Microchimica Acta, 2005, 150, 9-14. doi: 10.1007/s00604-005-0318-7.
- [51] Z. Šlejkovec, J.T. van Elteren, U.D. Woroniecka, *Underestimation of the total arsenic concentration by hydride generation techniques as a consequence of the incomplete mineralization of arsenobetaine in acid digestion procedures*, Analytica Chimica Acta, 2001, 443, 277-282. doi: 10.1016/S0003-2670(01)01223-5.
- [52] I. López-García, S. Rengevicova, M.J. Muñoz-Sandoval, M. Hernández-Córdoba, *Speciation of very low amounts of antimony in waters using magnetic core-modified silver nanoparticles and electrothermal atomic absorption spectrometry*, Talanta, 2017, 162, 309-315. doi: 10.1016/j.talanta.2016.10.044.
- [53] V. Romero, I. Costas-Mora, I. Lavilla, C. Bendicho, *In situ ultrasound-assisted synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles with simultaneous ion co-precipitation for multielemental analysis of natural waters by total reflection X-ray fluorescence spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2013, 28, 923-933. doi: 10.1039/c3ja50067e.
- [54] Y. Xing, Y.-Y. Jin, J.-C. Si, M.-L. Peng, X.-F. Wang, C. Chen, Y.-L. Cui, *Controllable synthesis and characterization of Fe₃O₄/Au composite nanoparticles*, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2015, 380, 150-156. doi: 10.1016/j.jmmm.2014.09.060.
- [55] M.N. Islam, P. Le Van, J.-R. Jeong, C. Kim, *A facile route to sonochemical synthesis of magnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles*, Thin Solid Films, 2011, 519, 8277-8279. doi: 10.1016/j.tsf.2011.03.108.
- [56] J.A. Lopez, F. González, F.A. Bonilla, G. Zambrano, M.E. Gómez, *Synthesis and characterization of Fe₃O₄ magnetic nanofluid*, Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, 2010, 30, 60-66.
- [57] W. Jiang, K.L. Lai, H. Hu, X.B. Zeng, F. Lan, K.X. Liu, Y. Wu, Z.W. Gu, *The effect of Fe³⁺/Fe²⁺ molar ratio and iron salts concentration on the properties of superparamagnetic iron*

- oxide nanoparticles in the water/ethanol/toluene system*, Journal of Nanoparticle Research, 2011, 13, 5135-5145. doi: 10.1007/s11051-011-0495-8.
- [58] I. López-García, M. Briceño, M. Hernández-Córdoba, *Non-chromatographic screening procedure for arsenic speciation analysis in fish-based baby foods by using electrothermal atomic absorption spectrometry*, Analytica Chimica Acta, 2011, 699, 11-17. doi: 10.1016/j.aca.2011.05.005.
- [59] A.B. Carleton, R.A. Peters, L.A. Stocken, R.H.S. Thompson, D.I. Williams, *Clinical uses of 2,3-dimercaptopropanol (bal) .6. The treatment of complications of arseno-therapy with BAL (british anti-lewisite)*, Journal of Clinical Investigation, 1946, 25, 497-527. doi: 10.1172/jci101733.
- [60] A.G. Howard, C. Salou, *Arsenic speciation by cryogenic trap hydride generation atomic absorption spectroscopy: performance enhancement by pre-derivatization*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 1998, 13, 683-686. doi: 10.1039/a802342e.
- [61] N. Campillo, R. Peñalver, P. Viñas, I. López-García, M. Hernández-Córdoba, *Speciation of arsenic using capillary gas chromatography with atomic emission detection*, Talanta, 2008, 77, 793-799. doi: 10.1016/j.talanta.2008.07.028.
- [62] M. Huang, Y.T. Wang, P.C. Ho, *Quantification of arsenic compounds using derivatization, solvent extraction and liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2008, 48, 1381-1391. doi: 10.1016/j.jpba.2008.09.018.
- [63] S.J. Cathum, C.E. Brown, A. Obenauf, M. Punt, *Speciation of arsenic using chelation solvent extraction and high performance liquid chromatography*, Clean-Soil Air Water, 2007, 35, 71-80. doi: 10.1002/clen.200600016.
- [64] L.F. Brana, F. Sanchez, M.A. Palacios, M.M. Bonilla, R. Torralba, *Inorganic arsenic speciation using BAL in natural waters*, Quimica Analitica, 2002, 20, 181-186.
- [65] K.W.M. Siu, S.Y. Roberts, S.S. Berman, *Derivatization and determination of arsenic in marine samples by gas-chromatography with electron-capture detection*, Chromatographia, 1984, 19, 398-400. doi: 10.1007/bf02687775.
- [66] O.F. Odio, L. Lartundo-Rojas, P. Santiago-Jacinto, R. Martinez, E. Reguera, *Sorption of Gold by Naked and Thiol-Capped Magnetite Nanoparticles: An XPS Approach*, Journal of Physical Chemistry C, 2014, 118, 2776-2791. doi: 10.1021/jp409653t.
- [67] M.A.G. Soler, E.C.D. Lima, E.S. Nunes, F.L.R. Silva, A.C. Oliveira, R.B. Azevedo, P.C. Morais, *Spectroscopic Study of Maghemite Nanoparticles Surface-Grafted with DMSA*, Journal of Physical Chemistry A, 2011, 115, 1003-1008. doi: 10.1021/jp1109916.
- [68] K. Minakata, M. Suzuki, O. Suzuki, *Simple and selective determination of arsenite and arsenate by electrospray ionization mass spectrometry*, Analytica Chimica Acta, 2009, 631, 87-90. doi: 10.1016/j.aca.2008.10.016.
- [69] R.E. Rivas, I. López-García, M. Hernández-Córdoba, *Speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry*, Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2009, 64, 329-333. doi: 10.1016/j.sab.2009.03.007.

- [70] G.X. Lai, G.Y. Chen, T.W. Chen, *Speciation of As-III and As-V in fruit juices by dispersive liquid-liquid microextraction and hydride generation-atomic fluorescence spectrometry*, Food Chemistry, 2016, 190, 158-163. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.05.052.
- [71] S.K.V. Yathavakilla, M. Fricke, P.A. Creed, D.T. Heitkemper, N.V. Shockey, C. Schwegel, J.A. Caruso, J.T. Creed, *Arsenic speciation and identification of monomethylarsonous acid and monomethylthioarsonic acid in a complex matrix*, Analytical Chemistry, 2008, 80, 775-782. doi: 10.1021/ac0714462.
- [72] F. Zhu, X. Wang, W. Fan, L. Qu, M. Qiao, S. Yao, *Assessment of potential health risk for arsenic and heavy metals in some herbal flowers and their infusions consumed in China*, Environmental monitoring and assessment, 2013, 185, 3909-16. doi: 10.1007/s10661-012-2839-y.
- [73] Y. Jin, F. Liu, M. Tong, Y. Hou, *Removal of arsenate by cetyltrimethylammonium bromide modified magnetic nanoparticles*, Journal of Hazardous Materials, 2012, 227, 461-468. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.05.004.
- [74] I. López-García, R.E. Rivas, M. Hernández-Córdoba, *Use of carbon nanotubes and electrothermal atomic absorption spectrometry for the speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters*, Talanta, 2011, 86, 52-57. doi: 10.1016/j.talanta.2011.07.105.
- [75] A. Abbaszadeh, A. Tadjarodi, *Speciation analysis of inorganic arsenic in food and water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after magnetic solid phase extraction by a novel MOF-199/modified magnetite nanoparticle composite*, Rsc Advances, 2016, 6, 113727-113736. doi: 10.1039/c6ra21819a.
- [76] S. Hassanpoor, G. Khayatian, A.R.J. Azar, *Ultra-trace determination of arsenic species in environmental waters, food and biological samples using a modified aluminum oxide nanoparticle sorbent and AAS detection after multivariate optimization*, Microchimica Acta, 2015, 182, 1957-1965. doi: 10.1007/s00604-015-1532-6.
- [77] R. Kashanaki, H. Ebrahimzadeh, M. Moradi, *Ultrasound-assisted supramolecular solvent microextraction coupled with graphite furnace atomic absorption spectrometry for speciation analysis of inorganic arsenic*, Analytical Methods, 2017, 9, 3121-3127. doi: 10.1039/c7ay00738h.
- [78] R.P. Monasterio, R.G. Wuilloud, *Ionic liquid as ion-pairing reagent for liquid-liquid microextraction and preconcentration of arsenic species in natural waters followed by ETAAS*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2010, 25, 1485-1490. doi: 10.1039/c000040j.
- [79] M. Ghambarian, M.R. Khalili-Zanjani, Y. Yamini, A. Esrafil, N. Yazdanfar, *Preconcentration and speciation of arsenic in water specimens by the combination of solidification of floating drop microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry*, Talanta, 2010, 81, 197-201. doi: 10.1016/j.talanta.2009.11.056.
- [80] J.A. Baig, T.G. Kazi, M.B. Arain, A.Q. Shah, G.A. Kandhro, H.I. Afridi, S. Khan, N.F. Kolachi, S.K. Wadhwa, *Inorganic Arsenic Speciation in Groundwater Samples Using Electrothermal Atomic Spectrometry Following Selective Separation and Cloud Point Extraction*, Analytical Sciences, 2011, 27, 439-445. doi: 10.2116/analsci.27.439.

- [81] M. Asadollahzadeh, H. Tavakoli, M. Torab-Mostaedi, G. Hosseini, A. Hemmati, *Response surface methodology based on central composite design as a chemometric tool for optimization of dispersive-solidification liquid-liquid microextraction for speciation of inorganic arsenic in environmental water samples*, *Talanta*, 2014, 123, 25-31. doi: 10.1016/j.talanta.2013.11.071.
- [82] M. Amjadi, J.L. Manzoori, Z. Taleb, *Reverse micelle coacervate-based extraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of arsenic in water and oyster tissue samples*, *Microchimica Acta*, 2010, 169, 187-193. doi: 10.1007/s00604-010-0343-z.



CONCLUSIONES



En cada uno de los capítulos se incluyen conclusiones, que se resumen aquí con una perspectiva global. Todos ellos presentan el denominador común de emplear una técnica de preconcentración de analitos basada en microextracción dispersiva de material sólido seguida de medida final mediante absorción atómica con calentamiento electro-térmico (ETAAS). La primera etapa mejora la sensibilidad. Si a ello se le une la sensibilidad y selectividad propias de ETAAS, se tienen nuevos procedimientos analíticos de muy favorables características:

1. El tratamiento del óxido de grafeno en presencia de nitrato de plata con citrato o borohidruro sódico conduce a la obtención de nanopartículas de óxido de grafeno reducido decoradas con plata. La microextracción en punto de nube (CPE) en presencia de este material consigue la separación cuantitativa de pequeñas cantidades de cadmio y plomo, quedando estos analitos concentrados en el coacervado formado. Esta fase condensada puede introducirse directamente en el atomizador electrotérmico, sin necesidad de dilución, con la única condición de calentar suavemente para disminuir la viscosidad y facilitar su manejo. La ventaja práctica de emplear CPE en vez de extracción convencional es evidente, pues se reemplaza un disolvente orgánico tóxico por un detergente no volátil. La fiabilidad del procedimiento optimizado está avalada por el análisis de materiales certificados de referencia.
2. La microextracción en punto de nube en presencia de óxido de grafeno permite la preconcentración de pequeñas cantidades de vanadio, que permanece concentrado en el coacervado formado. Éste se introduce a temperatura moderada en el atomizador electrotérmico para medir el contenido del metal. La metodología se ha aplicado a la especiación de V(IV) y V(V) en muestras de agua de distinta procedencia y cervezas.
3. Se propone la celulosa microcristalina como un adsorbente adecuado para Cr (III) a fines de su preconcentración seguida de medida por ETAAS. También en este caso la metodología CPE facilita la separación. El procedimiento analítico optimizado consigue la especiación del cromo a muy bajos niveles de concentración. La asequibilidad de la celulosa y su bajo precio hacen el empleo de este material particularmente

interesante. Al igual que en el resto de los procedimientos, la fiabilidad de los resultados se ha verificado mediante materiales de referencia certificados

4. El empleo de óxidos mixtos de Fe(II) y Fe(III) con propiedades magnéticas, sintetizados justo antes de su empleo como material adsorbente, presenta interesantes propiedades, pues la separación de fases se alcanza con facilidad por medio de un imán en vez de por centrifugación. Utilizando este material (partículas de ferrita de tamaño nano-micro), ha sido posible la especiación de Ag(0) y Ag(I) en diversos tipos de muestras (aguas, lixiviados de materiales enriquecidos con estas especies y líquidos de lavado de vegetales comestibles). En este caso, el material sólido con los analitos concentrados se disuelve, y la disolución resultante se introduce en el atomizador.
5. Las partículas de ferrita recién obtenidas se han mostrado eficaces para la retención selectiva de Cr(VI) y Cr(III) a pH neutro. En presencia de EDTA, que compleja Cr(III), la adsorción es selectiva de Cr(VI). Una vez retenidas las especies de cromo en el material sólido y separadas de la fase acuosa con el empleo del imán de neodimio, la determinación se hace formando microsuspensiones en medio acuoso que se introducen en el atomizador como si de un líquido se tratara. El procedimiento propuesto se ha aplicado a la determinación de Cr(VI) y Cr(III) en distintos tipos de muestra de agua.
6. Las partículas de ferrita recién obtenidas tienen una gran capacidad de retención de las formas de arsénico As(III), As(V) y MMA a pH 8. Modificando las condiciones experimentales es posible conseguir la retención selectiva de las distintas especies, possibilitándose la especiación a concentraciones muy bajas. Los procedimientos propuestos se demostró su utilidad para la especiación de arsénico en muestras de agua e infusiones obtenidas de material vegetal.

Trabajos publicados sobre algunos de los resultados que aparecen en esta Memoria

PUBLICACIONES

Parte de los resultados mostrados en esta Memoria ha sido publicados en los siguientes artículos:

I. Lopez-Garcia, J. Jose Marin-Hernandez, M. Hernandez-Cordoba, *Solid-phase dispersive micro-extraction using reduced graphene oxide for the sensitive determination of cadmium and lead in waters*, Analytical Methods, 2019, 11, 635-641. doi: 10.1039/c8ay02495b.

I. Lopez-Garcia, J. Jose Marin-Hernandez, M. Hernandez-Cordoba, *Graphite furnace atomic absorption spectrometric determination of vanadium after cloud point extraction in the presence of graphene oxide*, Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy, 2018, 143, 42-47. doi: 10.1016/j.sab.2018.02.013.

I. Lopez-Garcia, J. Jose Marin-Hernandez, M. Hernandez-Cordoba, *Microcrystalline cellulose for the dispersive solid-phase microextraction and sensitive determination of chromium in water using electrothermal atomic absorption spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2018, 33, 1529-1535. doi: 10.1039/c8ja00215k.

I. Lopez-Garcia, J. Jose Marin-Hernandez, M. Hernandez-Cordoba, *Magnetic ferrite particles combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the speciation of low concentrations of arsenic*, Talanta, 2018, 181, 6-12. doi: 10.1016/j.talanta.2017.12.086.