



UNIVERSIDAD DE LEÓN

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE
NANOPARTÍCULAS CERÁMICAS CON
PROPIEDADES FOTOLUMINISCENTES.
APLICACIÓN A LA RETENCIÓN DE
ARSÉNICO**

FERNANDO JOSÉ PEREIRA GARCÍA

Tesis doctoral dirigida por D. JAVIER ALLER FERNÁNDEZ y DÑA.
MARÍA TERESA DÍEZ CABALLERO

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA Y FÍSICA APLICADAS

UNIVERSIDAD DE LEÓN. LEÓN, 2014

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE
NANOPARTÍCULAS CERÁMICAS CON
PROPIEDADES FOTOLUMINISCENTES.
APLICACIÓN A LA RETENCIÓN DE
ARSÉNICO**

Memoria presentada por Don FERNANDO JOSÉ
PEREIRA GARCÍA para optar al Grado de Doctor por
la Universidad de León

"La ciencia siempre vale la pena porque sus descubrimientos, tarde o temprano, siempre se aplican"

Severo Ochoa

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi agradecimiento principalmente a D. Javier Aller, que me ha guiado por la senda de este trabajo. Aunque este ciego anduviese a tientas y tropezase alguna que otra vez, él me devolvía al camino correcto. Si él lo hacía con la experimentación y la discusión de los resultados, mi codirectora Dña. María Teresa Díez me encaminaba con sus palabras y consejos. El común denominador que hay entre los dos es que nunca dejaban que desfalleciese. Muchas gracias.

También han sido importantes los profesores D. Luis Debán y, especialmente, Dña. María Dolores Vázquez, del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valladolid. Se han implicado y preocupado por mi tesis como si yo fuera su doctorando, haciendo posibles diferentes apartados de este trabajo, así como otros que no han sido incluidos en la tesis por problemas de extensión. Sólo tengo palabras de agradecimiento para ellos.

Al resto de profesores del Área de Química Analítica, María Jesús, Luis Carlos y José Cruz, y a los que ya no están en activo, Cuca y Alfredo, muchas gracias. He aprendido muchas cosas que me valdrán en el futuro: de Química y de docencia sobre todo, aunque las charlas de fútbol y de política han sido también muy fructíferas. Y a Pedro, que más de una vez ha tenido que estar pendiente de la estufa, de la campana, de charlar de rutas y naturaleza... Por último, mi querida compañera de despacho Geles, que siempre la tenía a mano para preguntarle dudas sobre cómo hacer tal cosa en el laboratorio, o en la vida, porque siempre me enseñaba la manera de afrontar las cosas.

Quiero mostrar mi agradecimiento a todas las personas de los Laboratorios de Técnicas Instrumentales de las Universidad de León y Valladolid, y al Servicio de Microscopía de la Universidad de León, que me han permitido emplear diversas técnicas analíticas a lo largo de estos años. También al Área de Genética, sin cuyo apoyo logístico se me hubiesen complicado las cosas. Gracias también a la Junta de

Castilla y León y al Fondo Social Europeo, que han cofinanciado este trabajo mediante un Contrato de Personal Investigador de Reciente Titulación Universitaria. Por último, gracias a todos los profesores del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valladolid, por su acogida en mis breves estancias en sus instalaciones, especialmente a D. Rafael Pardo por permitirme utilizar diferentes equipos del Laboratorio de Técnicas Instrumentales.

No he sabido en qué grupo meterla (departamento, amigos o familia), así que dedico un párrafo sólo para mi novia Marilú. Siempre ha estado ayudándome sin parar desde que la conozco, sin importarla nada más que me saliera todo bien. Siempre ha sido un ejemplo para mí y espero que todos sus consejos se reflejen en esta tesis y que se sienta tan orgullosa de mí como yo lo estuve de ella cuando defendió la suya.

Otros que me han ayudado durante todos estos años han sido mis amigos, que han aguantado lo que me gusta llamar charlas sobre nanociencia y arsénico, aunque ellos en vez de charlas las llamen “chapas”. Por eso tengo que darles las gracias a mis amigos de “Ambientólogos”, “La Quinta del Bosco”, “Palilleros” y “Rangers”, por estar ahí siempre, incluso alguno ha aportado sus habilidades para la realización de esta tesis (gracias Elsa, Julio y Santi).

Por último, y sin embargo los más importantes, tengo que agradecer su ilusión, su ánimo, su trabajo y su paciencia a mis padres, Beni y Ludi y a mi querida hermanita Beatriz. También mis abuelos me han apoyado en este largo camino. Muchas gracias a todos.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	17
1.1	Características generales de las nanopartículas.....	19
1.1.1	Definición	19
1.1.2	Procedimientos de síntesis.....	19
1.1.2.1	Enfoque <i>top-down</i>	20
1.1.2.2	Enfoque <i>bottom-up</i>	20
1.1.3	Propiedades.....	24
1.1.3.1	Óxido de circonio	25
1.1.3.2	Óxido de torio	26
1.1.4	Toxicidad	27
1.1.5	Aplicaciones.....	27
1.2	Características generales del arsénico	30
1.2.1	Toxicidad	30
1.2.1.1	Efectos del arsénico en la salud.....	31
1.2.2	Comportamiento ambiental.....	33
1.2.2.1	Fuentes	33
1.2.2.2	Dinámica ambiental.....	34
1.2.3	Determinación de arsénico	36
1.2.3.1	Técnicas espectrométricas	36
1.2.3.2	Técnicas electroanalíticas	37
1.2.4	Técnicas de eliminación de arsénico de aguas contaminadas	39
1.3	Objetivos	41
1.3.1	Generales	41
1.3.2	Particulares.....	41
2	MATERIALES Y MÉTODOS	43
2.1	Instrumentación	45
2.1.1	Difracción de Rayos X (XRD)	45
2.1.2	Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM).....	46
2.1.3	Microscopio Electrónico de Barrido con Analizador de Energías Dispersivas de Rayos X (SEM/ED-XRS)	46
2.1.4	Espectrómetro Raman.....	46
2.1.5	Espectrómetro de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)	47

2.1.6	Microscopio Confocal de fluorescencia.....	47
2.1.7	Potenciostato/galvanostato	47
2.1.8	Espectrómetro de masas por plasma de acoplamiento inducido (ICP-MS)	48
2.1.9	Otros aparatos y material de uso común	49
2.2	Reactivos y muestras	50
2.2.1	Analito	50
2.2.2	Nanopartículas	50
2.2.2.1	Estabilizantes	51
2.2.2.2	Ligando	51
2.2.3	Materiales certificados de referencia	51
2.2.4	Interferentes	52
2.2.4.1	Cationes	52
2.2.4.2	Aniones	52
2.2.5	Otras disoluciones	53
2.3	Metodología	54
2.3.1	Síntesis de nanopartículas cerámicas.....	54
2.3.1.1	Procedimientos de síntesis de nanopartículas cerámicas	54
2.3.1.2	Caracterización de las nanopartículas sintetizadas	55
2.3.1.3	Optimización de la síntesis de nanopartículas cerámicas	56
2.3.2	Caracterización espectrométrica de las nanopartículas.....	56
2.3.2.1	Espectrometría Raman	56
2.3.2.2	Espectrometría de Infrarrojo (FT-IR).....	56
2.3.2.3	Microscopía Confocal de Fluorescencia	57
2.3.3	Caracterización electroquímica de las nanopartículas.....	57
2.3.3.1	Voltamperometría Cíclica	57
2.3.4	Aplicación de las nanopartículas para retener arsénico	58
2.3.4.1	Estudio de la retención de arsénico por las nanopartículas	58
2.3.4.2	Optimización del proceso de retención.....	59
2.3.4.3	Interferentes.....	59
2.3.4.4	Muestras certificadas	59
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
3.1	Síntesis de las nanopartículas cerámicas	63
3.1.1	Difracción de Rayos X.....	63

3.1.1.1	Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	64
3.1.1.2	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	66
3.1.1.3	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K	69
3.1.1.4	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K	80
3.1.2	Microscopio Electrónico de Transmisión	87
3.1.2.1	Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	87
3.1.2.2	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	90
3.1.2.3	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K	94
3.1.2.4	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K	97
3.1.3	Microscopio Electrónico de Barrido y Energías Dispersivas de Rayos X.....	98
3.1.3.1	Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	99
3.1.3.2	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	102
3.1.3.3	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K	105
3.1.3.4	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K	109
3.2	Caracterización espectrométrica de las nanopartículas cerámicas	112
3.2.1	Espectrometría Raman.....	112
3.2.1.1	Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	115
3.2.1.2	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	119
3.2.1.3	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K	130
3.2.1.4	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K	132
3.2.2	Espectrometría FT-IR.....	135
3.2.2.1	Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	137
3.2.2.2	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	141
3.2.2.3	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K	148
3.2.2.4	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K	151
3.2.3	Microscopía Confocal	152
3.2.3.1	Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	154
3.2.3.2	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	157
3.2.3.3	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K	159
3.2.3.4	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K	161
3.3	Caracterización electroquímica de las nanopartículas cerámicas	164
3.3.1	Estudios preliminares	164
3.3.1.1	Estudio de los patrones individuales	164
3.3.1.2	Estudio de las mezclas binarias de patrones	176
3.3.2	Caracterización electroquímica de las nanopartículas.....	182
3.3.2.1	Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	182

3.3.2.2	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K	184
3.3.2.3	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K	190
3.3.2.4	Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K	193
3.3.3	Consideraciones cuantitativas.....	193
3.4	Aplicación de las nanopartículas para la retención de arsénico	199
3.4.1	Selección del sistema de retención	199
3.4.2	Optimización de las condiciones de retención.....	203
3.4.2.1	pH	203
3.4.2.2	Masa de nanopartículas	209
3.4.2.3	Tiempo de desorción	210
3.4.2.4	Concentración de <i>l</i> -cisteína	211
3.4.2.5	Estabilidad de las nanopartículas	212
3.4.3	Modelización del proceso de retención	213
3.4.3.1	Consideraciones teóricas del proceso de retención	213
3.4.3.2	Cinética de la retención	216
3.4.3.3	Equilibrio de retención	219
3.4.4	Aplicaciones analíticas.....	225
3.4.4.1	Calibración	226
3.4.4.2	Intervalo de Respuesta Lineal.....	226
3.4.4.3	Límite de detección	226
3.4.4.4	Interferencias.....	227
3.4.4.5	Otros parámetros analíticos	229
4	CONCLUSIONES.....	231
5	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	235
6	ANEXOS.....	261
6.1	Artículos publicados derivados de la Tesis.....	263

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Características generales de las nanopartículas

1.1.1 Definición

Actualmente, el desarrollo y evolución de los métodos de síntesis y de las técnicas instrumentales permiten aprovechar las posibilidades que ofrecen nuevos materiales, cuyas propiedades físicas y químicas se encuentran en el límite entre las exhibidas por los átomos y las propias de la materia a mayor escala. Estos materiales se conocen como nanopartículas (Bell 2003, Tahir *et al.* 2007). Debido a su potencial, existe un interés creciente en la investigación en nanociencia (Guzmán *et al.* 2006).

1.1.2 Procedimientos de síntesis

Existen diversas clasificaciones para agrupar los diferentes procedimientos de síntesis de nanopartículas. La más simple es la que los divide en dos grandes grupos, *top-down* y *bottom-up*, en función del material precursor empleado en la preparación de las nanoestructuras. La Figura 1 esquematiza ambos enfoques.

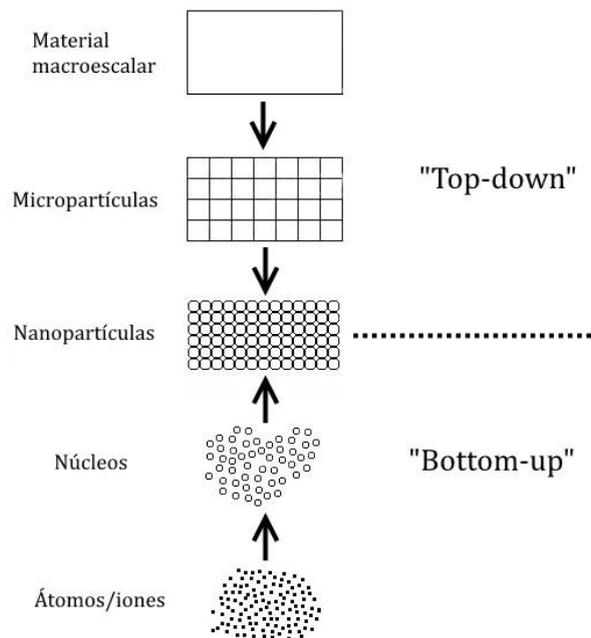


Figura 1. Esquema explicativo de los diferentes enfoques de procedimientos de síntesis

1.1.2.1 Enfoque *top-down*

El enfoque *top-down* o “de arriba hacia abajo” hace referencia a todos aquellos métodos de síntesis en los que se parte de un material voluminoso o micropartículas y se disgregan hasta obtener el tamaño deseado de nanopartículas.

Empleando el enfoque *top-down* se obtienen imperfecciones en la estructura de la superficie. Se sabe que uno de los procedimientos *top-down* más empleados, la litografía, puede causar daños cristalográficos significativos en los patrones procesados (Das *et al.* 1993) y, además, puede introducir más imperfecciones durante las etapas de grabado (Vieu *et al.* 2000). Estos defectos tienen un impacto significativo en las propiedades físicas y químicas de estas nanoestructuras, ya que la relación superficie/volumen de diferentes nanopartículas sintetizadas con el mismo método y de manera simultánea serían muy diferentes.

A pesar de estos inconvenientes, este enfoque sigue siendo muy importante en la síntesis y fabricación de nanoestructuras (Cao 2004). Por otro lado, si los precursores son materiales nanométricos o submicrométricos, nos dificulta en gran medida la obtención de nanopartículas más pequeñas, ya que las herramientas de las que disponemos no nos permiten trabajar a tan baja escala.

1.1.2.2 Enfoque *bottom-up*

En los métodos *bottom-up* o “de abajo hacia arriba”, se engloban todos los procedimientos de síntesis en los que la preparación de las nanopartículas se consigue a partir del ensamblaje de átomos o moléculas en forma de núcleos primarios de pequeño tamaño, que van creciendo. El tamaño final de las nanopartículas y la velocidad de crecimiento dependerá de tres variables: el número de núcleos, la cantidad total de precursor y su coeficiente de difusión en el medio.

El modelo básico propuesto para explicar la síntesis de nanopartículas mediante los procedimientos *bottom-up* está basado en la teoría clásica de nucleación publicada por LaMer y Dinegar en 1950. Aunque sólo es estrictamente

cierto para el sistema para el que se formuló, esta teoría arroja luz sobre los mecanismos químicos involucrados en la síntesis de nanomateriales (Salas *et al.* 2012). El proceso de formación de nanopartículas se divide en tres etapas en función del tiempo (Fig. 2). Durante la etapa I, la concentración aumenta hasta alcanzar la concentración de nucleación ($C_{mín}$). Al llegar a esta concentración, se forman los núcleos, como resultado de las colisiones de iones o moléculas en la disolución. Estos núcleos se están formando y disolviendo continuamente.

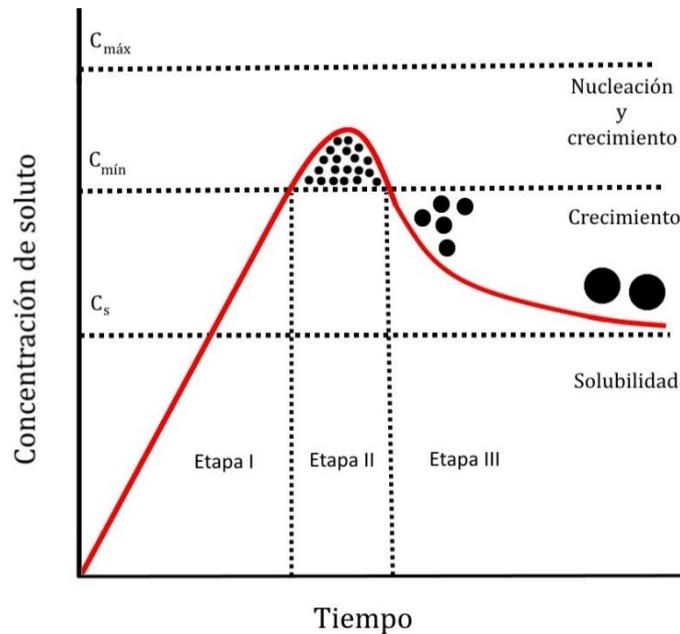


Figura 2. Evolución de una reacción de síntesis de nanopartículas con el tiempo (LaMer, Dinegar 1950)

En el estadio II, la aparición de los núcleos reduce parcialmente la sobresaturación, al menos lo suficientemente rápido para que la velocidad de nucleación caiga casi inmediatamente a cero. La nucleación continuará mientras la concentración se mantenga entre el límite superior de sobresaturación, $C_{máx}$, y $C_{mín}$. Consecuentemente, controlando las concentraciones iniciales de los precursores, el período de nucleación podría hacerse lo suficientemente corto para obtener nanopartículas monodispersas a partir del posterior crecimiento uniforme de los núcleos. Cuantos más núcleos se formen, más pequeñas serán las nanopartículas,

debido a que una misma cantidad de masa se distribuye entre un mayor número de centros.

Si disminuye la concentración, pero el sistema todavía está sobresaturado (etapa III), el crecimiento de los núcleos tiene lugar mediante la difusión de las especies en disolución a los núcleos. Sin embargo, este crecimiento también puede suceder debido al fenómeno conocido como maduración de Ostwald, en el que los núcleos de mayor tamaño crecen a expensas de los pequeños. Como los núcleos pequeños son más solubles debido a su gran curvatura, se establece una difusión de material desde estos núcleos hacia los mayores, en cuya superficie se deposita (Fig. 3). Aunque en ocasiones la maduración de Ostwald sea útil, se suele considerar un proceso indeseable, ya que limita el número de nanoestructuras formadas y hace aumentar su tamaño considerablemente. Debido a esto es necesaria una nucleación homogénea.

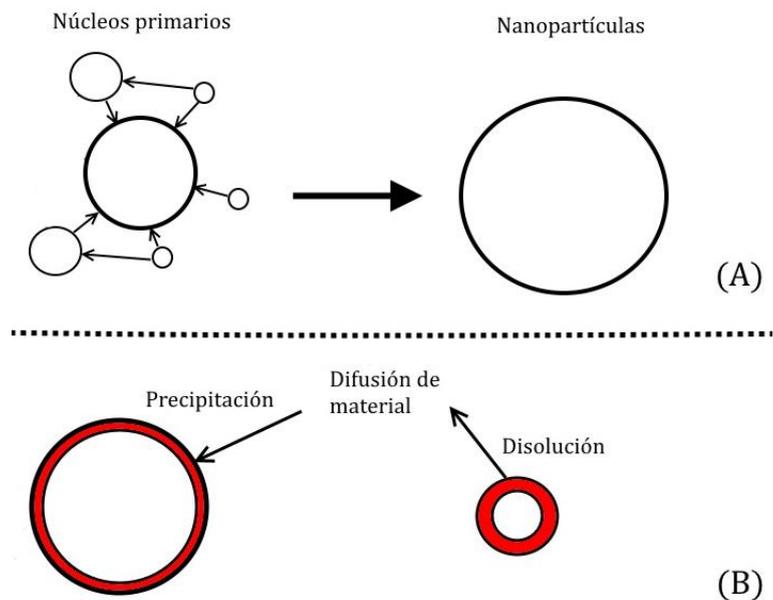


Figura 3. (A) Situación anterior y posterior al proceso de maduración de Ostwald. (B) Mecanismo de funcionamiento de la maduración de Ostwald

Al contrario que con los procedimientos de síntesis pertenecientes al enfoque *top-down*, con los procedimientos de síntesis *bottom-up* se obtienen nanoestructuras con menos defectos y con una composición química más

homogénea. Esto se debe a que este enfoque está gobernado, principalmente, por la reducción de la energía libre de Gibbs del proceso de síntesis de las nanopartículas, por lo que las nanoestructuras producidas de este modo están muy cercanas a un estado de equilibrio termodinámico (Cao 2004).

Dentro de este enfoque, se pueden encontrar diversos procedimientos de síntesis de nanopartículas dependiendo del tipo de nanopartícula que se desee fabricar. Generalmente, para sintetizar nanopartículas metálicas se puede operar reduciendo los iones metálicos precursores, ya sea por reducción química (Liang *et al.* 2007) o electroquímica (Dai, Compton 2006, Yin *et al.* 2003).

Por otro lado, para la síntesis de nanopartículas de óxidos metálicos los principales métodos son los basados en procesos de precipitación de hidróxidos. Dentro de ellos se engloban procedimientos complejos de precipitación, como el método sol-gel, que es uno de los más empleados (Shukla *et al.* 2002, Zak *et al.* 2011a). Su fundamento es la hidrólisis de los precursores, que suelen ser alcóxidos metálicos, y la condensación posterior de los alcóxidos hidroxilados, que provoca la formación de nanoclusters de hidróxidos metálicos, a menudo embebidos o unidos a grupos orgánicos.

También se pueden llevar a cabo precipitaciones en fase homogénea, a partir de la disociación de sales metálicas precursoras, especialmente inorgánicas. Comparadas con el método sol-gel, el empleo de sales inorgánicas precursoras es más económico, seguro y estable que la utilización de alcóxidos (Zhou *et al.* 2006). Sin embargo, estas sales inorgánicas son fácilmente hidrolizables, y las nanopartículas se juntan formando agrupaciones durante el proceso de síntesis, dando lugar a cristalizaciones deficientes, formas variadas o distribuciones heterogéneas de tamaño. A pesar de que se han conseguido sintetizar nanoestructuras de este modo (Guo, Chen 2005), parece necesario el control de la unión de los núcleos primarios en el proceso de síntesis mediante el empleo de diferentes métodos de estabilización. Para ello, se utilizan dos modelos:

a) Estabilización mediante la doble capa eléctrica (Grosso, Sermon 2000): implica la adsorción de varias capas de iones solvatados de disolvente en la superficie de las nanopartículas, dando lugar a un exceso de cargas eléctricas en superficie que causan repulsión electrostática entre ellas. Su principal problema es que es muy sensible al medio, lo que limita su aplicación (Zhou *et al.* 2006).

b) Dopado de las nanopartículas con ligandos orgánicos (Seo *et al.* 2003): las voluminosas corazas orgánicas mantienen alejadas a las nanopartículas unas de otras, ya que presentan fuertes impedimentos estéricos que superan las atracciones de Van der Waals entre las partículas primarias. Así, las aglomeraciones y el crecimiento de las nanopartículas están bloqueados, y se pueden obtener nanopartículas con una distribución estrecha de tamaños y uniformidad en cuanto a la forma (Cushing *et al.* 2004, Moroni *et al.* 2005).

1.1.3 Propiedades

Las nanopartículas tienen propiedades físicas y químicas que se encuentran en la frontera entre las exhibidas por los átomos y el material en micro y macroescala. Entre estas propiedades destacan sus características ópticas, mecánicas, electrónicas y magnéticas. También destacan la elevada relación superficie/volumen, la posibilidad de ensamblaje de las nanopartículas entre ellas y el elevado potencial catalítico, especificidad y reactividad (Hristovski *et al.* 2007).

El origen de estas singulares propiedades de los nanomateriales es la elevada proporción de átomos superficiales frente a átomos totales. Como ejemplo, en las nanopartículas esféricas de tamaño 3 nm, alrededor de la mitad de sus átomos son superficiales. De este modo, la relación superficie/volumen con respecto a los materiales micrométricos y macrométricos, es mayor, haciendo que las nanopartículas expongan mayor superficie a las disoluciones, por lo que aumenta su reactividad. Esto permite la manipulación de sus propiedades macroescalares por efectos de superficie (Klabunde *et al.* 1996).

A las propiedades características de las nanopartículas se les unen las propias del óxido metálico a partir del cual se han sintetizado. Esto conduce al empleo de numerosos óxidos metálicos, mezclas de óxidos o metales, dependiendo de la utilidad que se requiera. Entre los óxidos y metales más utilizados destacan los basados en SiO₂ (Malvindi *et al.* 2012), ZrO₂ (Kumari *et al.* 2009, Moroni *et al.* 2005), TiO₂ (Pena *et al.* 2005, Sun *et al.* 2009), Fe₂O₃ (Möller, Sylvester 2008), Al₂O₃ (Iorio *et al.* 2008), CuO (Martinson, Reddy 2009), Au (Daniel, Astruc 2004, Li *et al.* 2010), Ag (Yonzon *et al.* 2005), etc. A su vez, el ThO₂ también ha sido empleado, en menor medida, en la síntesis de nanopartículas (Chandramouli *et al.* 1999, Ganesan *et al.* 2004).

1.1.3.1 Óxido de circonio

Uno de los óxidos más ampliamente utilizados como base de diferentes nanomateriales es el óxido de circonio. La causa se halla en que está considerado como uno de los materiales más estables químicamente (Huangqing *et al.* 2007), y que presenta unas inmejorables propiedades ópticas, eléctricas y mecánicas, y que éstas se mantienen incluso a altas temperaturas (Munz, Fett 1999). El óxido de circonio es estabilizado en diferentes fases cristalinas, y éstas son las que determinan sus propiedades. A su vez, estas fases cristalinas están afectadas significativamente por el tamaño de nanopartícula (Aldebert, Traverse 1985). El óxido de circonio puro muestra tres fases cristalográficas en función de la temperatura, la fase monoclinica (*m*) es estable por debajo de 1170 °C, mientras que en el intervalo entre 1170 y 2370 °C existe como tetragonal (*t*), y a temperaturas entre 2370 y el punto de fusión (2706 °C), el óxido de circonio puro cristaliza en estructura cúbica (*c*) (Ackermann *et al.* 1977, Aldebert, Traverse 1985). De todos modos, las fases de alta temperatura pueden estabilizarse a bajas temperaturas mediante la inclusión de diferentes dopantes, como MgO, CaO, Al₂O₃, Y₂O₃, entre otros (Cong *et al.* 2009, Mercera *et al.* 1991), siendo uno de los ejemplos más característicos la estabilización de la fase tetragonal con iones trivalentes (Ray *et al.* 2000).

Se puede conseguir la estabilización de las diferentes fases a otros intervalos de temperatura disminuyendo el tamaño de nanopartícula por debajo de un valor crítico (Finnis *et al.* 1998) que puede describirse teóricamente usando modelos termodinámicos, como la ecuación de Gibbs-Thomson (Johnson 1965). El decrecimiento de la temperatura crítica para la transición de fase con el tamaño de partícula se considera monotónico y puede conducir a un tamaño crítico de partícula para el que la fase de “baja temperatura” no existe. De este modo, se ha mostrado teórica y experimentalmente que la transición de *t*-ZrO₂ a *m*-ZrO₂ tiene lugar a bajas temperaturas a un tamaño de partícula cercano a dos nanómetros (Tsunekawa *et al.* 2003). Además, la fase cúbica puede estabilizarse incluso a temperatura ambiente cuando se reduce a ZrO_{2-x} (Chatterjee *et al.* 1994). Por otro lado, la fase monoclinica no puede estabilizarse a temperatura ambiente por debajo de tamaños críticos cercanos a 20 nm (Chraska *et al.* 2000), debido a las contribuciones de la energía superficial (Garvie 1965).

1.1.3.2 Óxido de torio

Sin embargo, existen óxidos de diferentes metales que no se han utilizado ampliamente en la obtención de nanopartículas, y cuyas características propias aconsejan una mayor utilización, como es el caso del ThO₂ (Dash *et al.* 2002). Algunas de estas propiedades son su dureza y resistencia a altas temperaturas (Avedesian, Baker 1999), comportamiento inmejorable a la sinterización (Chandramouli *et al.* 1999) y su actividad catalítica (Wickleder *et al.* 2006). Su propiedad más importante es la baja radiactividad, que permite el desarrollo de nanomateriales basados en este óxido para la industria nuclear (IAEA 2005). Aparte de la radiactividad, presenta también propiedades fotoluminiscentes, haciendo que su aplicabilidad aumente mucho. Por lo tanto, es deseable que se estudie su aplicabilidad en medicina y en medio ambiente. Así, el uso en medicina de nanopartículas fluorescentes y/o radiactivas poco emisoras puede proporcionar ventajas, porque son fáciles de medir e identificar, y su interacción puede seguirse de manera más exacta.

1.1.4 Toxicidad

A pesar de la gran cantidad de posibilidades que presentan las nanopartículas, se debe tener en cuenta también su peligro potencial si no se emplean correctamente, ya que se ha demostrado que son altamente tóxicas, principalmente por su tamaño. Pueden penetrar en el organismo a través de la piel y los pulmones, entre otros órganos (Sun *et al.* 2009). También pueden producir radicales libres en procesos de oxidación causando daño celular que se manifiesta en un aumento en la genotoxicidad que llega a desembocar en muerte celular (Rahman *et al.* 2002). Además del efecto directo de la absorción de nanopartículas en los animales y el medio ambiente, cabe destacar la preconcentración de los contaminantes que pueden estar adsorbidos en su superficie, especialmente metales pesados y contaminantes orgánicos persistentes, lo cual aumenta la biodisponibilidad de estos compuestos que, a su vez, hace crecer considerablemente el riesgo de toxicidad (Sun *et al.* 2009, Zhang *et al.* 2007).

1.1.5 Aplicaciones

Debido a sus características químicas y físicas, las nanopartículas han sido empleadas en multitud de campos. Sirvan de ejemplo los siguientes:

- Fabricación de materiales avanzados: el uso de las nanopartículas se está generalizando en productos comerciales, como pigmentos, revestimientos, protectores solares, etc. (Zhang *et al.* 2008). También son aprovechadas en la industria para desarrollar sensores, semiconductores y almacenamientos magnéticos (Yonzon *et al.* 2005, Zhou *et al.* 2006), entre otros materiales.

- Catálisis: muchos metales nobles (Au, Pd, Pt, etc.) se han empleado como catalizadores. Sin embargo, estos metales son muy caros, por lo que es interesante obtener catalizadores activos con una elevada relación superficie/volumen para economizar el uso de estos materiales. Como ya se ha apuntado en el *Apartado 1.1.3*, ésta es una de las propiedades más destacadas de las

nanopartículas, por lo que parecen ideales para este tipo de aplicación (Maestro *et al.* 2007). Las nanopartículas proporcionan una gran superficie de contacto entre el material activo del catalizador y la fase contigua, gaseosa o líquida. Algunos autores han demostrado una mayor capacidad catalítica de las nanoestructuras amorfas frente a catalizadores nanocristalinos (Kesavan *et al.* 2001).

– Uso en medicina y biotecnología: dos de los campos con mayor volumen de investigación en nanomateriales son la medicina y la biotecnología. Teniendo en cuenta que uno de los pilares fundamentales de la medicina es la prevención de enfermedades, se han empleado métodos de análisis más eficaces basados en nanoestructuras. Tal es el caso de la monitorización de tumores (Qian *et al.* 2007) o el seguimiento de medicamentos o drogas (Li *et al.* 2010). Las nanopartículas también se han usado *a posteriori* en el tratamiento de enfermedades. En este sentido, los nanomateriales han sido ampliamente utilizados en la regeneración de tejidos (Zhang, Webster 2009).

Se han desarrollado “nanomáquinas”, materiales micrométricos rodeados de nanomateriales que se mueven inducidos por interacciones biomoleculares o por captura selectiva, transporte y eliminación de biomoléculas diana (Campuzano *et al.* 2011). Dependiendo de las moléculas que funcionalicen las nanoestructuras que recubren la nanomáquina, se captura y/o transporta ADN diana y células cancerígenas (Wang 2013).

La lucha contra el cáncer es uno de los retos de la medicina de nuestro tiempo. El empleo de medicamentos citotóxicos no es tan eficaz como debería, ya que, aunque funcione muy bien *in vitro*, dentro del cuerpo humano actúan indiscriminadamente en tejidos sanos y cancerosos (Malam *et al.* 2009). Al recubrir las nanopartículas, cargadas de medicamentos, con receptores de membrana de células cancerígenas, la unión entre las nanopartículas y las células tumorales se vuelve muy específica. Con esto, se asegura la llegada del medicamento directamente a la célula tumoral, evitando así el daño a células sanas (Zhang *et al.* 2010).

En el campo de acción de la biotecnología, las nanopartículas se han empleado en gran medida debido a la versatilidad de las opciones que ofrecen. Entre ellas se encuentra la creación de “puertas moleculares nanoscópicas”, mecanismos de control del transporte de materia que pueden ser conmutados mediante ciertas moléculas fijadas a los nanomateriales o aplicando estímulos externos (variaciones de pH o radiación electromagnética) (Aznar *et al.* 2009, Casasús *et al.* 2008). Estos sistemas pueden liberar enzimas, medicamentos y otras moléculas en el lugar que nos interese.

– Ambientales: una de las aplicaciones más importantes en el medio ambiente es la monitorización de contaminantes, ya sean organismos vivos (Ji *et al.* 2004) o agentes químicos (Aragay, Merkoçi 2012, Zhang, Fang 2010).

Por otro lado, el empleo de nanopartículas para el tratamiento de aguas de abastecimiento y residuales es uno de los campos clave dentro de la protección del medio ambiente. En este sentido, se han descrito numerosas investigaciones cuyo objetivo es la retención de metales pesados, empleando rellenos de nanopartículas en columnas de intercambio (Hristovski *et al.* 2007). Actualmente, se están llevando a cabo estudios en los que los óxidos metálicos se dopan con compuestos orgánicos poliméricos y resinas de intercambio para potenciar la capacidad de retención tanto de cationes (Su *et al.* 2009) como de aniones (Pan *et al.* 2009). Aparte de la capacidad de retención, las nanopartículas también pueden influir en la especiación del elemento que capturan, catalizando reacciones que transforman estos contaminantes, como la fotooxidación de arsenito a arseniato catalizada por nanopartículas de TiO₂ (Jegadeesan *et al.* 2010, Sun *et al.* 2009).

1.2 Características generales del arsénico

El arsénico es un metaloide pesado, tóxico y ubiquista. Sus especies predominantes son las solubles en agua, $\text{As}^{\text{(III)}}$ (arsenito) bajo condiciones reductoras y $\text{As}^{\text{(V)}}$ (arseniato) en condiciones de potencial redox moderado o alto (Ramaswami *et al.* 2001). Su importancia radica tanto en sus propiedades químicas y toxicidad como en su presencia relativamente alta en el medio ambiente, ya que es el vigésimo elemento más abundante en sistemas naturales, el decimocuarto en aguas oceánicas y el duodécimo en el cuerpo humano (Mandal, Suzuki 2002).

1.2.1 Toxicidad

Las agencias científicas internacionales han estudiado la toxicidad del arsénico. Después de comprobar los daños potenciales de una exposición continuada, redujeron los límites aceptables en aguas de abastecimiento: la US-EPA, en septiembre de 2001, pasó de una concentración de 50 ng/mL a 10 ng/mL y la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha adoptado en una guía provisional la misma restricción (Mohan, Pittman Jr 2007). La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer lo incluye como carcinógeno humano de Clase A, ya que la exposición a 50 ng/mL puede causar un 3 %, aproximadamente, de casos de cáncer (US Department of Health and Human Services 2000).

El arsénico experimenta una secuencia de bioacumulación en la cadena trófica, debido a su gran liposolubilidad y a su biomagnificación, especialmente en organismos filtrantes y moluscos, que serán ingeridos por los animales que ocupan los niveles más altos de las cadenas (Gil-Rodríguez 2003). En animales superiores penetra en el organismo y experimenta una serie de procesos de biotransformación, acumulándose en riñones y piel (Marín Galvín 2001). Se absorbe totalmente en el tracto digestivo, pasando al hígado donde sufre una metilación que origina compuestos menos tóxicos, para ser posteriormente eliminado principalmente por vía urinaria y, en menor grado, por heces, sudor y piel (Martínez *et al.* 2007).

Las especies inorgánicas de arsénico son más tóxicas que las organometálicas, especialmente el $\text{As}^{(-III)}$ (en forma de arsina), así como sus especies iónicas reducidas son más tóxicas que las oxidadas, lo cual no ocurre con otros metales pesados (Majid *et al.* 2006). Las especies de arsenito se consideran entre 10 y 70 veces más tóxicas que las especies de arseniato y que las especies organometálicas, respectivamente. La escala de toxicidad del arsénico se muestra a continuación (Yamauchi, Fowler 1991):

Arsina (AsH_3) > $\text{As}^{(III)}$ inorgánico > $\text{As}^{(V)}$ inorgánico > $\text{As}^{(V)}$ orgánico > compuestos arsenicales (arsenoazúcares, arsenobetaína) > arsénico elemental.

La toxicidad de las especies de $\text{As}^{(III)}$ se debe a su complejación con grupos tiol presentes en algunas biomoléculas, como las enzimas (Kumaresan, Riyazuddin 2001). Las enzimas cuyos centros activos dependen de los grupos tiol, como la piruvato oxidasa y la 2-oxoglutarato deshidrogenasa, pueden tener sus actividades metabólicas total o parcialmente afectadas por la complejación con $\text{As}^{(III)}$. El $\text{As}^{(III)}$ reacciona con los grupos tiol, pero no con grupos amino, de manera contraria al $\text{As}^{(V)}$. La toxicidad de las especies de arseniato es principalmente debida a su competencia con los grupos fosfato, ya que produce un éster de arseniato de ADP fácilmente hidrolizable que puede actuar como disruptor de la fosforilación oxidativa (Teixeira *et al.* 2007).

1.2.1.1 Efectos del arsénico en la salud

La toxicidad aguda del arsénico afecta al sistema nervioso central e hígado del ser humano llegando a provocar problemas hepáticos e incluso la muerte para dosis comprendidas entre 70 y 180 mg. La toxicidad crónica se halla relacionada con la ingestión de cantidades entre 3 y 6 mg/día y provoca diversos efectos perniciosos, entre los que destacan distintos tipos de cánceres, y alteraciones cardiacas que pueden derivar en la muerte (Igwe, Abia 2006, Morita, Kaneko 2006, Verweij 1979). En la Tabla 1 se recogen las principales enfermedades ocasionadas por una exposición crónica al arsénico.

Tabla 1. Resumen de los efectos ocasionados por una exposición prolongada al arsénico (Smith *et al.* 2000)

Sistema	Efectos
Piel	Cáncer de piel
	Hiperqueratosis
	Enfermedad del Black Foot
Circulatorio	Hipertensión
	Alteraciones cardiacas
	Enfermedades sistema vascular periférico
Nervioso	Enfermedades neurológicas
	Degeneración de los nervios periféricos
Musculatorio	Calambres
Digestivo	Cáncer de hígado
	Irritación de las mucosas digestivas
Respiratorio	Cáncer de pulmón
	Enfermedades pulmonares
Excretor	Cáncer de vejiga
Endocrino	Diabetes mellitus

La ingestión repetida de aguas contaminadas por arsénico origina el llamado "hidroarsenicismo crítico regional endémico" (HACRE), muy frecuente en numerosas regiones del planeta. Se asocia con el consumo de agua con altas concentraciones de arsénico, que se une al excesivo calor de estas zonas. Estos dos factores hacen que los adultos contraigan lesiones irreversibles debido a la degeneración de los nervios periféricos, incapacitándoles para el trabajo, pudiendo llegar a ocasionar la muerte (García *et al.* 2003).

El trágico episodio conocido como "el mayor envenenamiento masivo de la población humana en la historia" (Smith *et al.* 2000) se produjo en Bangladesh, donde un porcentaje considerable de la población (entre un 28 % y un 62 %) ingirió concentraciones tóxicas de arsénico. El arsénico fue movilizad o involuntariamente por el ser humano, ya que se abrieron pozos en acuíferos contaminados con fines humanitarios con el objetivo de proporcionar agua de abastecimiento para un

mayor número de personas (Manahan 2007). En otras regiones asiáticas (India, Vietnam, Tailandia, China), sudamericanas (Argentina, Chile) y europeas, como en la cuenca del Duero en España (Sahún *et al.* 2004) se han detectado, en aguas subterráneas, concentraciones de arsénico superiores a las permitidas.

1.2.2 Comportamiento ambiental

1.2.2.1 Fuentes

Las fuentes de liberación de arsénico son tanto naturales como antrópicas. Una parte importante del arsénico presente en el medio ambiente proviene de la contaminación natural:

1. Minerales de hierro + ambientes reductores: la erosión libera una parte del hierro de las rocas, que se acumula como óxido férrico en su superficie y adsorbe arsénico al entrar en contacto con aguas que lo transportan. Estas rocas disgregadas se entierran junto con la materia orgánica biodegradable en procesos de sedimentación. El catión férrico se transforma en catión ferroso a causa de las condiciones reductoras generadas por la descomposición de materia orgánica (Manahan 2007).

2. Minerales de sulfuro de arsénico + ambientes oxidantes: las condiciones ácidas y reductoras favorecen la precipitación de sulfuros de arsénico, como el oropimente, rejalgar, arsenopirita u otros sulfuros que puedan contener arsénico coprecipitado. Cuando se imponen las condiciones oxidantes (entrada de oxígeno en menas de azufre o presencia de $\text{Fe}^{(\text{III})}$ en drenajes ácidos de minas) los sulfuros se oxidan, movilizándolo el arsénico (Smedley, Kinniburgh 2002).

3. Intercambios con el fósforo: el fósforo es un nutriente esencial para los vegetales. Al compartir su estructura química y dinámica ambiental con los fosfatos, los arseniatos son absorbidos por las plantas (Bhattacharya *et al.* 2002).

4. Cenizas y otros tipos de partículas provenientes de erupciones volcánicas, incendios forestales, aerosoles marinos, géiseres y otras zonas geotérmicas (Bhattacharya *et al.* 2002).

Las fuentes antrópicas más importantes en la movilización del arsénico son la extracción y fundición de minerales, la combustión de carbón y el empleo masivo de pesticidas y otros compuestos basados en el arsénico (McAuley, Cabaniss 2007).

1. Las minas y fundiciones de diferentes minerales, especialmente hierro (Bhattacharya *et al.* 2002), cobre (Shih, Lin 2003), oro y plomo (Manahan 2007) presentan grandes concentraciones de arsénico que se libera de la estructura del mineral. En los procesos de extracción y tratamiento, el arsénico se moviliza al medio acuático ya que se lavan los minerales. En las fundiciones, se producen partículas ricas en arsénico que son expulsadas a la atmósfera.

2. El carbón produce cantidades importantes de cenizas volantes al quemarse. En su composición aparece arsénico (Vieira *et al.* 2002) que se incorpora a la atmósfera, precipitando después y contaminando aguas y suelos.

3. Los plaguicidas basados en el arsénico fueron utilizados de manera generalizada desde la década de 1930. Entre ellos destacan el arseniato de plomo, arsenito de sodio y arsenito cúprico (Manahan 2007). Debido a la elevada persistencia de estos compuestos, aún existe contaminación por arsénico en los suelos expuestos, a pesar del abandono de estas prácticas hace años. Por otra parte, numerosos reactivos químicos que contienen arsénico fueron empleados para el tratamiento de madera, entre los que destaca el CCA (mezcla de óxidos o sales de cobre, cromo y arsénico), que todavía se encuentra en altas concentraciones en la mayoría de los lugares de aplicación (Carabante *et al.* 2009).

1.2.2.2 Dinámica ambiental

Por todo lo expuesto anteriormente, es de innegable importancia estudiar la especiación y dinámica ambiental del arsénico para conocer los vectores de

contaminación, los posibles riesgos y las medidas correctoras que se deben aplicar para su eliminación o, si no es posible, para atenuar sus efectos nocivos.

Como ya se expuso, el arsénico puede aparecer en el medio ambiente en diferentes estados de oxidación (-3, 0, +3 y +5), pero en aguas naturales se suele encontrar en forma inorgánica como arsenito o arseniato, según se aprecia en la Figura 4. Bajo condiciones oxidantes, el H_2AsO_4^- predomina a pH menores de 6.9, mientras que a pH mayores lo hace el HAsO_4^{2-} . El H_3AsO_4 y el AsO_4^{3-} pueden aparecer en condiciones extremadamente ácidas y alcalinas, respectivamente. Bajo condiciones reductoras a pH menores de 9.2, predomina la especie neutra H_3AsO_3 .

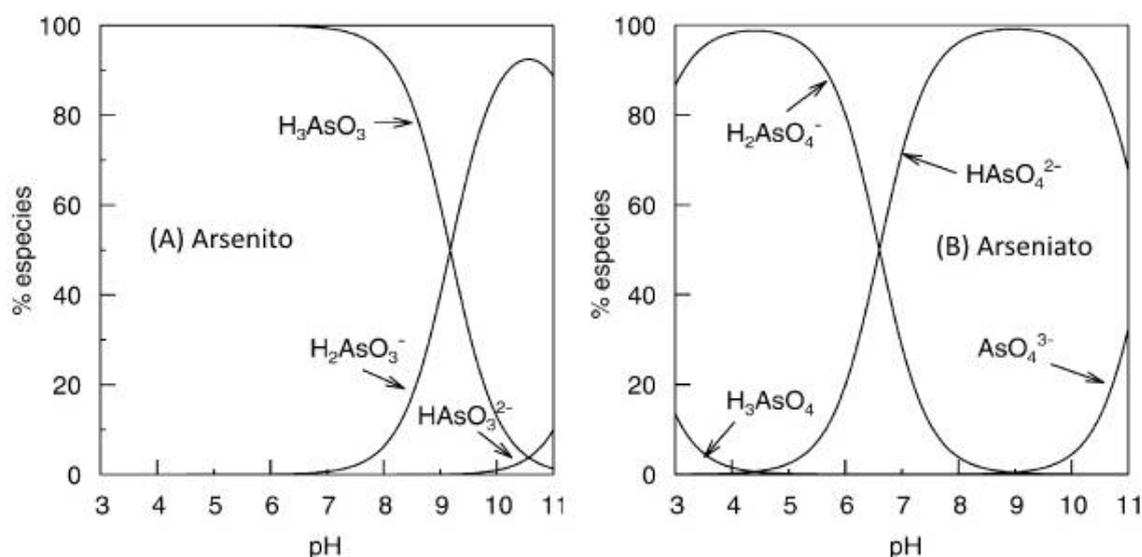


Figura 4. Distribución, en función del pH, de las especies de (A) $\text{As}^{(III)}$; y (B) $\text{As}^{(V)}$ (Smedley, Kinniburgh 2002)

El arsénico orgánico se produce por la actividad microbiana, mayoritariamente en aguas superficiales, aunque es poco importante cuantitativamente. Las formas orgánicas pueden aparecer también en aguas contaminadas por vertidos industriales (Smedley, Kinniburgh 2002).

El conocimiento de las fuentes, tanto naturales como antrópicas, y de la dinámica ambiental del arsénico permiten conformar el ciclo biogeoquímico de este metaloide (Fig. 5).

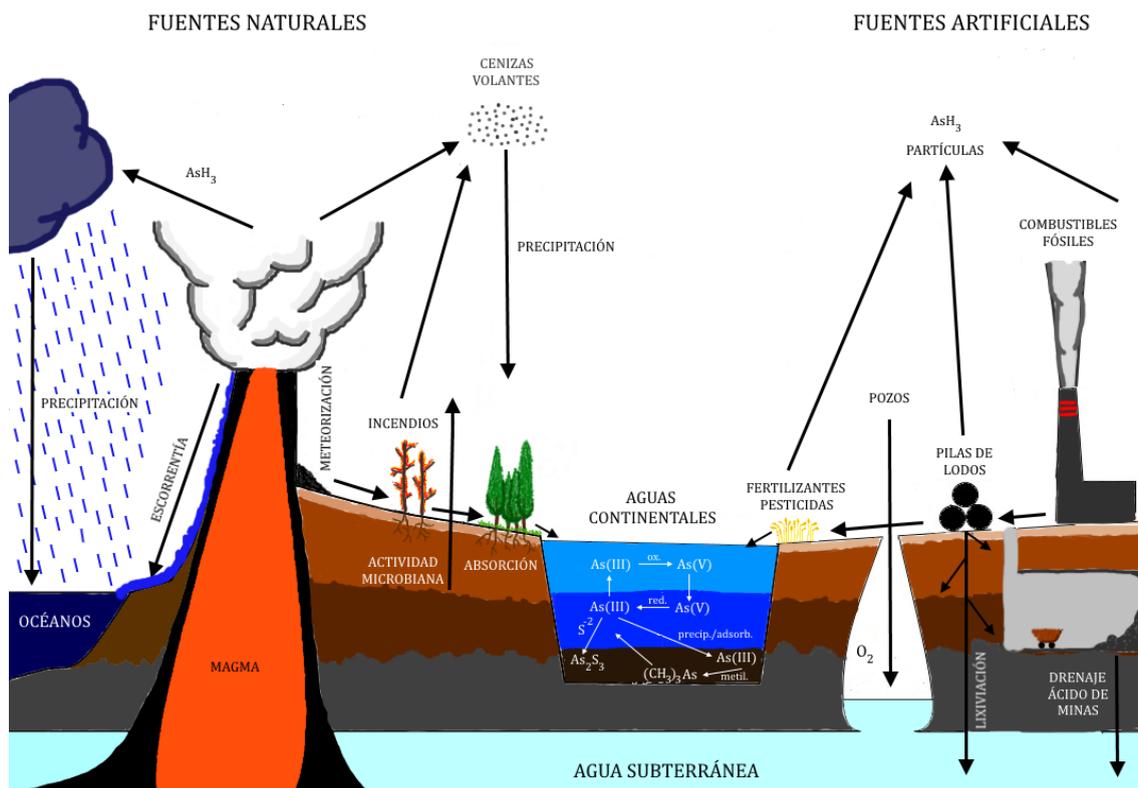


Figura 5. Ciclo biogeoquímico del arsénico

1.2.3 Determinación de arsénico

Debido a la elevada toxicidad del arsénico y a la facilidad con la que se moviliza en el medio ambiente, se hace necesaria su determinación y posterior eliminación. En consecuencia, el seguimiento de los niveles de arsénico en los campos biológicos y ambientales es un objetivo fundamental, sobre todo si se puede utilizar para ello un método simple de detección de fácil manejo, barato y sensible.

1.2.3.1 **Técnicas espectrométricas**

Para la determinación de arsénico se emplean numerosas técnicas instrumentales. Entre ellas, podemos destacar las técnicas espectroscópicas atómicas, cuyas sensibilidades son muy elevadas: Plasma Acoplado por Inducción, empleado como fuente de iones en Espectrometría de Masas (ICP-MS) (Zheng *et al.* 2003) y en Emisión Atómica (ICP-AES) (Jitmanee *et al.* 2005). Nuestro grupo de

investigación tiene una amplia experiencia en Espectroscopía de Absorción Atómica Electrotérmica (ET-AAS) en el estudio de interferentes y modificadores en la determinación de arsénico (Castro *et al.* 2002, Castro *et al.* 2004). Otra alternativa de determinación de arsénico es aprovechar su sencilla reducción a arsina (AsH_3) mediante Generadores de Hidruros acoplados a Espectrómetros de Absorción Atómica (HG-AAS) (Li *et al.* 2006, Vieira *et al.* 2002).

También se emplean técnicas vibracionales, como la Espectrometría de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR) (Guan *et al.* 2008) y la Espectrometría Raman (Quagliano 2000, Verweij 1979) para conocer qué tipos de interacciones se establecen entre el arsénico y otros compuestos.

1.2.3.2 Técnicas electroanalíticas

Sin embargo, las técnicas espectrométricas ICP-MS, ET-AAS y HG-AAS requieren una instrumentación costosa y elevados costes de operación (Story *et al.* 1992, Zheng *et al.* 2003). Por el contrario, las técnicas electroanalíticas, también empleadas en la determinación de arsénico, pueden resolver estas deficiencias, a pesar de que no están totalmente libres de problemas (Cavicchioli *et al.* 2004, Hung *et al.* 2004). Sus principales ventajas son su bajo coste, la posible portabilidad del equipo y la versatilidad para analizar otras especies (Mays, Hussam 2009). Además, al no ser necesaria la obtención de As^{III} , disminuye el riesgo de intoxicación. Proporcionan un modo simple y sensible de especiar el arsenito y el arseniato, ya que comparten diferentes comportamientos químicos: As^{V} no es electroactivo en la mayoría de las situaciones, y As^{III} puede reducirse a su estado elemental (Barra, Correia 2001). Para determinar cuantitativamente arsénico se emplean técnicas voltamperométricas de redisolución, tanto anódica como catódica (Muñoz, Palmero 2005). La redisolución anódica consiste en la preconcentración de $\text{As}^{(0)}$ en el electrodo, para posteriormente aplicarle un barrido de potenciales crecientes.

Las nuevas técnicas voltamperométricas de impulso, como la Voltamperometría Diferencial de Impulso (Hossain *et al.* 2008, Sun *et al.* 1997) y

Voltamperometría de Onda Cuadrada (Barra, Correia 2001) han mejorado la relación señal/ruido, por lo que se alcanzan límites de detección comparables a los de las técnicas espectroscópicas.

Desafortunadamente, y de manera general, las técnicas voltamperométricas con electrodos sólidos muestran algunos inconvenientes para la detección de arsénico, entre los que se encuentran una lenta transferencia de electrones, altas sobretensiones, baja estabilidad en ocasiones, y una escasa reproducibilidad de las superficies de los electrodos. Por ello, se ha tratado de subsanar estas limitaciones empleando varios electrodos modificados con carbono vítreo para la detección voltamperométrica de arsénico (Dai, Compton 2006, Hrapovic *et al.* 2007, Ivandini *et al.* 2006, Salimi *et al.* 2008, Welch, Compton 2006). Sin embargo, los electrodos modificados también han mostrado algunos inconvenientes relacionados con la baja sensibilidad y estabilidad, así como alto coste, baja reproducibilidad y pobre repetibilidad.

Otra alternativa a los electrodos sólidos convencionales es el empleo de electrodos de pasta de carbono con aglutinante electrolítico. Estos electrodos han demostrado ser una buena alternativa electroquímica, empleándose, en gran medida, para dilucidar los mecanismos de transferencia de carga (Laviron 1978). Los procesos redox electroquímicos llevados a cabo sobre estos electrodos generalmente implican alguna etapa de disolución electroquímicamente inducida, donde puede darse la transformación parcial de las especies electroactivas, dependiendo del tamaño de las partículas y de la preparación y el tratamiento de la muestra (Mouhandess *et al.* 1984). Los electrodos de pasta de carbono también se han empleado en el estudio de los mecanismos de transformación electroquímica de varias sustancias (Elouadseri *et al.* 1986), discriminando formas alotrópicas y estequiométricas (Brage *et al.* 1979, Eguren *et al.* 1988, Vitorge, Lamache 1979) y determinando el tipo de reacción electroquímica que está teniendo lugar (Mandal, Suzuki 2002). La principal ventaja del electrodo de pasta de carbono se debe, realmente, a la gran superficie del electrodo, lo cual proporciona respuestas de alta intensidad para cantidades muy pequeñas de muestra.

1.2.4 Técnicas de eliminación de arsénico de aguas contaminadas

Tras la determinación de arsénico, es imprescindible reducir su concentración en las aguas por debajo de los límites reflejados en la legislación, para lo cual se deben desarrollar y emplear métodos para su eliminación (Behari, Prakash 2006). En la actualidad, los principales procesos de eliminación de arsénico en aguas se resumen en: precipitación/coagulación empleando sales metálicas de hierro y aluminio, precipitación/adsorción, principalmente sobre alúmina activada y óxidos e hidróxidos de hierro, aunque también se emplean óxidos de manganeso y lantano, intercambio iónico y ósmosis inversa o electrodiálisis (Guan *et al.* 2008).

Hoy en día están en auge las conocidas como “tecnologías de remediación verdes”, que incluyen tanto la fitorremediación como la biorremediación. Numerosos grupos trabajan en la identificación de nuevas plantas acumuladoras de arsénico y en la comprensión de los mecanismos que han desarrollado para capturarlo (Bhattacharya *et al.* 2002). Nuestro grupo de investigación ha colaborado en el estudio de la eliminación de arsénico empleando bacterias (Feo *et al.* 2007, Ordóñez *et al.* 2012, Villadangos *et al.* 2010). Estas bacterias incorporan arsénico y lo metabolizan mediante un sistema enzimático, que ha sido desarrollado evolutivamente. Posteriormente, el arsénico es desechado en una forma menos tóxica. Empleando la ingeniería genética, se puede bloquear la expresión de los genes encargados de la eliminación, haciendo que las bacterias concentren arsénico.

Por otra parte, el método más ampliamente utilizado para eliminar arsénico es la adsorción. La cantidad retenida de una determinada especie es dependiente de la composición del sistema de retención, de dicha especie y de su concentración, así como de las condiciones bajo las cuales se lleva a cabo la retención. La correcta caracterización de los procesos de adsorción implica, al menos, un estudio del equilibrio de distribución y de las condiciones termodinámicas, así como una evaluación de las características cinéticas (Álvarez *et al.* 2003) . Estos estudios teóricos del equilibrio y de la cinética de retención se llevan a cabo empleando varios modelos matemáticos, a fin de comprobar cuál se ajusta mejor a los resultados

experimentales. Del mismo modo, el conocimiento de los aspectos termodinámicos es fundamental a la hora de establecer y describir el modo en que se desarrollan las reacciones químicas (Arias *et al.* 2009).

Se han estudiado y perfeccionado numerosos adsorbentes destinados a la eliminación de arsénico, desde materiales naturales y de bajo coste, hasta materiales sintéticos y costosos.

En esta línea, Manning y Goldberg concluyen en su estudio que el arsénico queda retenido en la superficie de las arcillas, potenciando su oxidación desde $\text{As}^{(\text{III})}$ a $\text{As}^{(\text{V})}$ (Manning, Goldberg 1997). Por su parte, Ladeira y Ciminelli demuestran que los suelos enriquecidos con una base de oxihidróxidos de $\text{Fe}^{(\text{III})}$ presentan una mayor capacidad de retención de arsénico, muy influenciada por el pH (Ladeira, Ciminelli 2004).

Otros autores han empleado, en su empeño por eliminar arsénico, materiales como óxidos metálicos (Möller, Sylvester 2008), carbón activado (Nagarnaik *et al.* 2003), cenizas volantes (Wang *et al.* 2008), zeolitas (Dávila-Jiménez *et al.* 2008), fibra de coco (Igwe, Abia 2006), residuos de las industrias cárnica (Teixeira *et al.* 2007) y de elaboración de zumos (Ho Lee *et al.* 1998).

De reciente empleo, las nanopartículas constituyen actualmente uno de los materiales adsorbentes más eficientes. Así, algunos ejemplos de nanopartículas empleadas en la adsorción de arsénico se muestran en los trabajos de Pena *et al.*, los cuales emplean dióxido de titanio nanocristalino para eliminar este metaloide. En este trabajo, el TiO_2 resultó efectivo para la eliminación de $\text{As}^{(\text{V})}$ y $\text{As}^{(\text{III})}$ a pH menores de 8. Otros ejemplos los constituyen los estudios de adsorción de arsénico en nanomateriales de óxido de circonio (Cui *et al.* 2012, Ma *et al.* 2011), nanopelículas de óxido de hierro (Carabante *et al.* 2009), nanopartículas de magnetita y hematita (Shipley *et al.* 2011), nanomateriales metálicos pulverulentos (Hristovski *et al.* 2007) o lechos de nanopartículas de óxido de cobre (Martinson y Reddy, 2009).

1.3 Objetivos

1.3.1 Generales

1. Sintetizar y caracterizar nanopartículas cerámicas de ThO₂, As-ThO₂, Cys-ThO₂, As-Cys-ThO₂, ZrO₂, As-ZrO₂, Cys-ZrO₂, As-Cys-ZrO₂, mediante métodos sencillos de precipitación de hidróxidos utilizando precursores inorgánicos.

2. Desarrollar un sistema de retención de As^(III) en aguas utilizando nanopartículas cerámicas.

1.3.2 Particulares

1. Optimizar las condiciones de cuatro métodos de síntesis de nanopartículas cerámicas.

2. Caracterizar el tamaño, composición y estructura cristalina de las nanopartículas mediante las técnicas de Difracción de Rayos X y Microscopías Electrónicas.

3. Caracterizar espectroscópicamente y electroquímicamente las nanopartículas sintetizadas, empleando las técnicas de Raman, FT-IR y Voltamperometría Cíclica.

4. Evaluar la fluorescencia de las nanopartículas sintetizadas mediante Microscopía Confocal.

5. Optimizar las condiciones de empleo de las nanopartículas para retener/preconcentrar arsénico.

6. Aplicar el sistema desarrollado a la retención de arsénico en muestras reales y certificadas de cenizas volantes de carbón y harina de arroz.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Instrumentación

En este trabajo se han empleado ocho técnicas analíticas: Difracción de Rayos X, Microscopía Electrónica de Transmisión, Microscopía Electrónica de Barrido con Analizador de energías dispersivas de Rayos X (SEM/ED-XRS), Microscopía Confocal de Fluorescencia, Espectrometría Raman, Espectrometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR), Voltamperometría Cíclica y Espectrometría de Masas por Plasma de Acoplamiento Inducido.

2.1.1 Difracción de Rayos X (XRD)

Para obtener los difractogramas, se empleó un difractómetro de rayos X de polvos Philips PW1830 (generador de alto voltaje) con Philips PW1710/00 (controlador del difractómetro), trabajando en geometría de difracción Bragg-Brentano y equipado con un aguja de muestra. La corriente y el voltaje empleados fueron 30 mA y 40 kV, respectivamente. Las muestras pulverulentas se montaron en forma de una capa fina en un fondo cero de Si(911) usando Cu(K α) como radiación incidente. Las intensidades dispersadas se grabaron en un intervalo de 2θ de 15-80°. Antes de la adquisición espectral, el instrumento se alineó apropiadamente y comprobado para su figura de mérito haciendo un barrido en α -cuarzo. Las tablas del Joint Comité on Powder Diffraction Standards (JCPDS)-Internation Center for Diffraction Data (ICDD) se emplearon para llevar a cabo la asignación espectral (Swanson *et al.* 1974). El tamaño de cristalito del material nanocristalino se determinó usando las ecuaciones de Scherrer y Williamson-Hall (Cullity 1978, Williamson, Hall 1953). En el caso presente, se asume que λ es 0.154060 nm, que es la línea Cu-K α_1 . La contribución de la línea Cu-K α_2 fue mínima bajo las condiciones usadas, aunque el perfil de pico puede ensancharse por encima de 40°. En nuestro análisis de tamaño de partícula, las contribuciones al ensanchamiento fueron sustraídas de la anchura a la mitad del pico (FWHM).

2.1.2 Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM)

Los estudios de Microscopía Electrónica de Transmisión se realizaron con un equipo JEOL 1010 operando a 100 kV. Con TEM, se obtuvieron la imagen de red así como los patrones de difracción de área seleccionada (SAED). Las muestras nanopulverulentas se pusieron directamente en una rejilla de 200 mesh (3 mm de diámetro) de cobre recubierta con una película porosa de carbono.

2.1.3 Microscopio Electrónico de Barrido con Analizador de Energías Dispersivas de Rayos X (SEM/ED-XRS)

El análisis con microsonda de electrones de la superficie de las nanopartículas fue llevada a cabo con un microscopio electrónico de barrido JEOL (Modelo JSM-6100), equipado con un sistema de detección de Energías Dispersivas de Rayos X (LINK), y operando bajo las condiciones recomendadas por el fabricante (15 kV de voltaje de aceleración, 5 nA de corriente de la sonda de electrones, 25 mm de distancia de trabajo y 300 mA de corriente del filamento).

La muestra se depositó sobre un adhesivo de grafito en una base de paladio montado sobre una rejilla de níquel.

2.1.4 Espectrómetro Raman

Todos los espectros Raman se obtuvieron usando un espectrómetro Raman portátil BWTEK, modelo i-Raman, con un detector CCD refrigerado. Las medidas de Espectrometría Raman se realizaron con una línea láser de 785 nm, modelo CleanLaze (> 300 mW) como fuente de excitación; el nivel de potencia es 100 % generalmente, pero se redujo en ocasiones debido a la saturación del detector. Las condiciones experimentales fueron 10 s de tiempo de acumulación y 1 min de tiempo de adquisición; los espectros fueron barridos de 150 a 3300 cm^{-1} .

2.1.5 Espectrómetro de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectros infrarrojos en la región 400-4000 cm^{-1} se grabaron en un espectrómetro de Transformada de Fourier Perkin Elmer System 2000 (Nowalk, CT, USA) equipado con un detector de sulfato de triglicina deuterado refrigerado por aire (DTGS). El accesorio de reflexión total atenuada (ATR) utilizado fue un compartimento Perkin Elmer HATR ACCY-FLAT (2000), con un cristal de ZnSe de 50 mm de superficie plana biselada con un ángulo de 45° que permite 25 reflexiones. Se aseguró un contacto reproducible entre el cristal y la muestra empleando una abrazadera de presión variable (2000/GX). Antes de cada análisis, se realizó un fondo del cristal a una resolución de 2 cm^{-1} para cada espectro, haciéndose la media de 400 barridos. En un esfuerzo para minimizar los problemas de ajuste de la línea base, los espectros fueron corregidos en la línea base y normalizados usando la normalización máximo-mínimo del software KnowItAll (BioRad).

2.1.6 Microscopio Confocal de fluorescencia

Las imágenes de fluorescencia se obtuvieron con un microscopio confocal de barrido espectral con láser modelo Nikon Eclipse C1si, equipado con tres láseres: diodo (408 nm), argón (488 nm) y verde He-Ne (543 nm), con tres canales de detección y un canal de luz transmitida.

2.1.7 Potenciostato/galvanostato

Las curvas voltamperométricas se registraron utilizando un potenciostato/galvanostato μ Autolab (Eco Chemie, Utrecht, NL), a través del software GPES 4.7. Se usó una celda convencional de tres electrodos, empleando como electrodo de referencia el electrodo de Ag/AgCl (KCl 3 M) (Methrom, Países Bajos), y un alambre de platino como electrodo auxiliar. El electrodo de trabajo es

un electrodo de pasta de carbono en forma de jota con aglutinante electrolítico, de fabricación casera.

Esta pasta de carbono se preparó mezclando 100 mg de polvo de grafito de pureza muy alta (UPC, grado II), 50 μL del aglutinante y 1-5 mg del material electroactivo. El material electroactivo consistió en las nanopartículas de ThO_2 o ZrO_2 . Se empleó una disolución HCl 1 M como aglutinante y electrolito de soporte.

2.1.8 Espectrómetro de masas por plasma de acoplamiento inducido (ICP-MS)

Se empleó un espectrómetro de masas por plasma de acoplamiento inducido (ICP-MS) con un sistema de reacción octopolar operando en un modo de célula He/H₂ (HP 7500c Agilent, Tokyo, Japón), para evitar interferencias del $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ con ^{75}As . Las disoluciones de muestra se bombearon con una bomba peristáltica de los tubos colocados en un autosampler ASX500 modelo 510 (CETAC, Omaha, NE) y aspirado junto con el plasma de argón. La posición de la antorcha y las lentes iónicas se optimizaron y comprobaron cada día por un test de estabilidad de término corto en el modo estándar de maximizar las señales iónicas y estabilidad. El modo de adquisición de datos de escaneo de masa se usó para optimizar y mezclar la disolución del estándar interno (5 ng/mL) de ^{89}Y y ^{74}Ge , que se empleó para una correcta desviación a corto plazo.

Para los estudios de especiación, se acopló al ICP-MS un cromatógrafo de líquidos de alta presión (HPLC) (Agilent HP1100 system series 1260 Infinity) con una bomba manual Agilent 61310 Isopump (Agilent Technologies, USA). Los parámetros empleados fueron una presión de 10^{-6} bar, un flujo de fase móvil de 1 mL/min y un volumen de muestra de 100 μL . La composición de la fase móvil fue de 2 mM de fosfato de sodio y 0.2 mM de EDTA, a pH 6.0.

2.1.9 Otros aparatos y material de uso común

- pH-metro Crison modelo Micro pH2000
- Balanza Semi-micro analítica Mettler AE 240, sensibilidad = ± 0.01 mg.
- Sonicador Branson, modelo B5.
- Centrífuga Digicen 20.
- Estufa Heraeus D-6450.
- Baño seco digital Labnet International D1100.
- Otros materiales de laboratorio: micropipetas Sigma-Aldrich de volumen ajustable, puntas de micropipeta Sigma-Aldrich, material volumétrico de vidrio (vasos de precipitados, matraces aforados, vidrios de reloj, etc.), tubos de centrifuga de 10 mL, mortero de ágata, cápsulas de teflón, jeringas de 10 mL, filtros de jeringa de nylon de $0.45 \mu\text{m}$ de poro de membrana, guantes de latex Microfles, Sigma-Aldrich.
- Software informático utilizado para procesar los espectros XRD, ED-XRS, Raman y FT-IR y, asimismo, los voltamperogramas: Microcall Origin 8.6.

2.2 Reactivos y muestras

Todos los reactivos utilizados son de calidad para el análisis (Merck, Fluka). Tanto para preparar las disoluciones como para mantener la correcta limpieza del instrumental se empleó agua desionizada Milli-Q de Millipore, 18 M Ω ·cm. Las disoluciones se prepararon inmediatamente antes de su uso mediante diluciones de las disoluciones stock.

2.2.1 Analito

Se estudiaron dos analitos, As^(III) y As^(V), a partir de los siguientes reactivos:

– Se preparó una disolución de anhídrido arsenioso (Merck, p.m. = 197.84 g/mol) en HCl 5 M, de concentración 20000 μ g/mL de As^(III). A partir de esta disolución se hicieron las diluciones correspondientes.

– Se prepararon disoluciones acuosas de metaarsenito de sodio (Merck, p.m. = 129.91 g/mol) de concentración 1000 μ g/mL de As^(III), e hidrogenoarseniato de sodio (Merck, p.m. = 311.92 g/mol), de concentración 1000 μ g/mL de As^(V). A partir de estas disoluciones se hicieron las diluciones necesarias.

2.2.2 Nanopartículas

Se sintetizaron nanopartículas de óxido de torio y de óxido de circonio, a partir de las siguientes sales:

– Nitrato de torio (Merck, p.m. = 570.13 g/mol).

– Cloruro de circonilo (Merck, p.m. = 322.12 g/mol).

Se prepararon disoluciones acuosas de ambas sales de concentración 10000 μ g/mL, disolviendo la masa de reactivo correspondiente en agua Milli-Q.

2.2.2.1 Estabilizantes

Para estabilizar el crecimiento de las nanopartículas durante su síntesis, se prepararon disoluciones acuosas 10 M de los estabilizantes, a partir de las cuales se hicieron las diluciones correspondientes:

- 1,2-etanodiol (Sigma-Aldrich, p.m. = 62.07 g/mol)
- 1,4-butanodiol (Sigma-Aldrich, p.m. = 90.12 g/mol)
- 1,6-hexanodiol (Sigma-Aldrich, p.m. = 118.17 g/mol)
- Ácido 12-hidroxidodecanoico (Sigma-Aldrich, p.m. = 230.3 g/mol)

2.2.2.2 Ligando

Se preparó una disolución 2 M en medio HCl de *L*-cisteína (Fluka Chemicals, p.m. = 121.16 g/mol). A partir de ella, se hicieron las diluciones correspondientes.

2.2.3 Materialles certificados de referencia

Para comprobar la solidez del sistema de retención se emplearon dos materiales certificados de referencia.

- Muestra de ceniza volante SRM 1633a (Instituto Nacional de Estándares y Tecnología) secada al aire, molida hasta pasar a través de un tamiz de malla 200 mesh (74 μm) e incinerada a 1023 K durante 1 hora para eliminar el material carbonoso.
- Muestra de harina de arroz SRM 1568a (Instituto Nacional de Estándares y Tecnología) secada al aire.

2.2.4 *Interferentes*

Se estudiaron posibles interferencias en la retención del arsénico por las nanopartículas sintetizadas. Para ello se prepararon disoluciones de 10000 µg/mL de los cationes Al^(III), Ca^(II), Hg^(II), Cd^(II), Cr^(VI), Cu^(II), Fe^(III), K^(I), Mg^(II), Mn^(II), Na^(I), Ni^(II), Pb^(II), Sb^(III), Sb^(V), Si^(IV), V^(IV) y Zn^(II), así como disoluciones de distinta concentración de los aniones tartrato, EDTA, fluoruro y cloruro.

2.2.4.1 **Cationes**

Los cationes se prepararon a partir de sus nitratos y cloruros correspondientes, disueltos en agua Milli-Q, excepto si se especifica otro disolvente:

– Nitrato de aluminio (III) (Merck, p.m. = 375.13 g/mol), nitrato de calcio (Merck, p.m. = 168.1 g/mol), nitrato de mercurio (II) (Merck, p.m. = 342.62 g/mol), nitrato de hierro (III) (Merck, p.m. = 403.85 g/mol), nitrato de cadmio (Merck, p.m. = 308,47 g/mol), nitrato de cobre (II) (Merck, p.m. = 241.6 g/mol), nitrato de potasio (Merck, p.m. = 101.1 g/mol), nitrato de magnesio (Merck, p.m. = 256.31 g/mol), nitrato de sodio (Merck, p.m. = 84.99 g/mol), nitrato de níquel (II) (Merck, p.m. = 290.81 g/mol), nitrato de plomo (II) (Merck, p.m. = 331.21 g/mol).

– Cloruro de manganeso (II) (Merck, p.m. = 197.91 g/mol), cloruro de cinc (Merck, p.m. = 136.28 g/mol), cloruro de antimonio (III) (Merck, p.m. = 228.1 g/mol), cloruro de antimonio (V) (Merck, p.m. = 299.01 g/mol), cloruro de vanadilo (IV) (Merck, d = 1.31 g/mL, 48.5 % w/v).

– Cromato de sodio (VI) (Merck, p.m. = 234.03 g/mol).

– Sílice (Merck, p.m. = 60.08 g/mol), disuelto en HF.

2.2.4.2 **Aniones**

Los aniones se prepararon a partir de las siguientes sales, disueltas en agua Milli-Q:

- Tartrato sódico (Panreac, p.m. = 230.087 g/mol).
- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (Merck, p.m. = 292.24 g/mol).
- Fluoruro de sodio (Merck, p.m. = 41.98 g/mol).
- Cloruro de potasio (Merck, p.m. = 74.55 g/mol).

2.2.5 Otras disoluciones

En distintas circunstancias y etapas, ya sea como disolvente, oxidante o en el ajuste de pH, se emplearon diversas disoluciones:

- Ácido clorhídrico (Merck, d = 1.19 g/mL, 37.9 % w/w).
- Ácido nítrico (Panreac, d = 1.42 g/mL, 69.8 % w/w).
- Hidróxido sódico (Panreac, p.m. = 40 g/mol).
- Nitrato amónico (Merck, p.m. = 80.05 g/mol).
- Peróxido de hidrógeno (Merck, d = 1.45 g/mL, 33 % w/w).
- Ácido fluorhídrico (Panreac, d = 1.13 g/mL, 40 % w/w)

2.3 Metodología

El estudio se llevó a cabo a través de las siguientes etapas:

2.3.1 Síntesis de nanopartículas cerámicas

Se pretendió diseñar un procedimiento de síntesis de nanopartículas mediante precipitación directa de los hidróxidos correspondientes, empleando sales inorgánicas de metales como precursores.

2.3.1.1 **Procedimientos de síntesis de nanopartículas cerámicas**

Se propusieron cuatro procedimientos de síntesis de nanopartículas:

a) Síntesis sin estabilizante orgánico con tratamiento térmico a 348 K

Se procedió a mezclar la disolución stock de Th^(IV) o Zr^(IV) con 5 mL de agua desionizada, añadiendo, en las muestras que iban a ser funcionalizadas, una disolución de *l*-cisteína hasta una concentración final de 0.25 M. Para las muestras no funcionalizadas, se adicionó el mismo volumen de agua desionizada que el añadido de *l*-cisteína en las muestras anteriores. A su vez, si se precisaba, se añadió un volumen de As^(III) hasta alcanzar una concentración de arsénico de 50 µg/mL. Se ajustó el pH de las suspensiones a 8, empleando HNO₃ (para las suspensiones de Th^(IV)), HCl (para las de Zr^(IV)) y/o NaOH y se llevaron a un volumen de 10 mL hasta una concentración final de hasta 0.02 M de Th^(IV) y 0.06 M de Zr^(IV) con agua Milli-Q.

A continuación, las muestras se sometieron a los siguientes procesos: agitación durante 30 minutos, sonicación durante 2 minutos, etapa de reposo durante 2 horas, centrifugación a 7000 rpm durante 30 minutos y lavado con agua Milli-Q empleando sonicación (estas dos últimas etapas se repitieron tres veces).

Finalmente, las nanopartículas sintetizadas permanecieron secándose en la estufa, a 348 K, durante 36 horas.

b) Síntesis empleando estabilizante orgánico y tratamiento térmico a 348 K

La función del estabilizante era mantener las nanopartículas primarias alejadas unas de otras. En este caso, a las disoluciones de torio/circonio se les añadió 1,2-etanodiol, hasta una concentración de 1 M, y se agitó la mezcla hasta observar una única fase. A continuación se procedió como se expuso en el *Apartado 2.3.1.1a*.

c) Síntesis empleando estabilizante orgánico y tratamiento térmico a 873 K

Con el proceso de calcinación a esta temperatura se trató de eliminar el etanodiol añadido, permitiendo la liberación de las nanopartículas atrapadas en la matriz orgánica. El proceso seguido en este caso fue el descrito en el *Apartado 2.3.1.1b*, añadiendo una etapa final de calcinación a la temperatura requerida.

d) Síntesis empleando estabilizante orgánico y tratamiento térmico a 1373 K

Se aumentó la temperatura de calcinación a 1373 K. El proceso empleado fue el descrito en el *Apartado 2.3.1.1c*.

2.3.1.2 Caracterización de las nanopartículas sintetizadas

Tanto el tamaño como la composición elemental de las nanopartículas se estudiaron empleando las siguientes técnicas: Difracción de Rayos X (XRD), Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Microscopía Electrónica de Barrido con analizador de Energías Dispersivas de Rayos X (SEM/ED-XRS).

Para caracterizar las nanopartículas cerámicas se secaron completamente, y se depositaron en forma pulverulenta sobre la superficie adecuada.

Al emplear los microscopios electrónicos se obtuvieron imágenes de las nanopartículas a x1000 aumentos para obtener un conocimiento *a priori* de toda la superficie de las muestras. A partir de estas imágenes, se seleccionaron distintas zonas del adhesivo a diferentes aumentos.

2.3.1.3 Optimización de la síntesis de nanopartículas cerámicas

Se realizó un estudio de las condiciones óptimas de síntesis de nanopartículas cerámicas. Se evaluaron los siguientes parámetros:

– Concentración del estabilizante orgánico (1,2-etanodiol): se determinó el efecto de la concentración del 1,2-etanodiol (desde 0.5 a 5 M) en la síntesis de las nanopartículas.

– Empleo de otros estabilizantes orgánicos: se evaluaron los comportamientos del 1,4-butanodiol, 1,6-hexanodiol y ácido 12-hidroxidodecanoico en la síntesis de las nanopartículas, y se compararon con el 1,2-etanodiol.

– Concentración de arsénico: se estudiaron concentraciones de arsénico desde 25 hasta 4000 $\mu\text{g/mL}$ de $\text{As}^{(\text{III})}$, a fin de comprobar cómo interviene en la síntesis de nanopartículas con y sin *L*-cisteína.

2.3.2 Caracterización espectrométrica de las nanopartículas

Se llevó a cabo una caracterización de las nanopartículas sintetizadas empleando las Espectrometrías Raman e Infrarrojo y Microscopía Confocal de Fluorescencia.

2.3.2.1 Espectrometría Raman

Esta técnica proporcionó información acerca de la composición molecular de las nanopartículas, así como de los cambios químicos y estructurales que podrían experimentar en función de las condiciones del proceso de síntesis.

2.3.2.2 Espectrometría de Infrarrojo (FT-IR)

En su conjunto, los espectros Raman proporcionan menos solapamientos y bandas más claramente identificables que los espectros de IR. Sin embargo, se ha empleado esta técnica ya que se han obtenido varios espectros FT-IR que aclaran las

interacciones moleculares que se dan durante la síntesis de las nanopartículas mejor que la técnica Raman.

2.3.2.3 Microscopía Confocal de Fluorescencia

Excitando a 408, 488 y 543 nm, y recogiendo la emisión de fluorescencia en los intervalos de longitudes de onda de 515 ± 15 nm, 590 ± 45 nm y >650 nm, se obtuvieron imágenes de mapas de bits que permitieron evaluar la fluorescencia del nanomaterial sólido sintetizado.

2.3.3 *Caracterización electroquímica de las nanopartículas*

2.3.3.1 Voltamperometría Cíclica

A fin de trabajar con muestras sólidas sin tratamiento previo se emplearon electrodos de pasta de carbono. Así, fue posible la discriminación de los diferentes estados de oxidación en que se encontraba el arsénico en las nanopartículas. La voltamperometría comenzó al potencial de intensidad cero, característico para cada caso. De esta manera la muestra no sufrió ninguna transformación hasta que no se llevó a cabo la medida voltamperométrica. La velocidad de barrido empleada fue de 0.5 mV/s. Con esta baja velocidad de barrido se aseguró la completa transformación de las diferentes especies electroactivas.

Se realizaron experiencias en diferentes medios, tales como HCl 2 M, 1 M y 0.5 M; KOH 2 M y 1 M.

La pasta se preparó inmediatamente antes de rellenar el electrodo, ya que se comprobó que la pasta preparada con mayor antelación proporcionaba picos con una peor relación señal/ruido y menor reproducibilidad. Todos los electrodos se prepararon pesando los componentes en la proporción óptima siguiente:

– Patrones: 100 mg polvo de grafito + 0.5-2 mg muestra + 50 μ L aglutinante (HCl 1 M).

– Nanopartículas: 100 mg polvo de grafito + 2-5 mg muestra + 50 μ L aglutinante (HCl 1 M).

En el caso de caracterizar nanopartículas, se pesó más cantidad de muestra a fin de obtener una señal apreciable, dado que el analito representa una fracción muy pequeña del total de la muestra. Todos los componentes se mezclaron homogéneamente, y una vez obtenida la pasta se introdujo en la cazoleta del electrodo, la cual se sumergió en la celda electrolítica, que contenía únicamente un electrolito de fondo idéntico al aglutinante utilizado para preparar el electrodo.

2.3.4 Aplicación de las nanopartículas para retener arsénico

El siguiente paso en este trabajo fue desarrollar un método para retener arsénico utilizando las nanopartículas sintetizadas. Este proceso se evaluó de manera progresiva en varias etapas:

2.3.4.1 **Estudio de la retención de arsénico por las nanopartículas**

Se pusieron en contacto 25 mg de las nanopartículas sintetizadas con 10 mL de varias disoluciones de arsénico, de concentraciones crecientes a partir de NaAsO₂. El tiempo de contacto empleado, sin agitación continua, fue alrededor de 45 minutos y el pH fue 8. Tras este tiempo, las suspensiones se centrifugaron a 9000 rpm durante 30 minutos. A continuación, se trató de desorber el arsénico retenido previamente para facilitar su determinación mediante ICP-MS. Para ello, se añadió al sólido obtenido de la centrifugación 10 mL de HNO₃ 0.5 M durante 45 minutos, para separar el arsénico de las nanopartículas y estabilizarlo en la disolución. La etapa final requirió del uso de filtros de jeringa de 450 nm de luz.

Paralelamente, se estudió el efecto de la funcionalización de las nanopartículas con *l*-cisteína 0.25 M en la retención de arsénico. Esta funcionalización se llevó a cabo empleando dos métodos: por un lado, se añadió la disolución de *l*-cisteína simultáneamente a la formación de las nanopartículas. Por

otro lado, se puso en contacto, *a posteriori*, la suspensión de nanopartículas recién formadas con una disolución de *L*-cisteína.

2.3.4.2 Optimización del proceso de retención

Para mejorar el proceso de retención y conseguir optimizarlo, se realizaron una serie de experimentos, manteniendo constantes todas las condiciones de síntesis de la nanopartículas y de retención de arsénico, excepto la del parámetro a estudiar en cada caso. La concentración de $\text{As}^{(\text{III})}$ elegida fue de 200 ng/mL, y las variables evaluadas fueron: pH, masa de nanopartículas, tiempo de desorción, concentración de *L*-cisteína y estabilidad en el tiempo de las nanopartículas.

2.3.4.3 Interferentes

Se estudiaron diferentes metales que podrían dar lugar a interferencias en la retención de $\text{As}^{(\text{III})}$ por parte de las nanopartículas: $\text{As}^{(\text{V})}$, $\text{Al}^{(\text{III})}$, $\text{Ca}^{(\text{II})}$, $\text{Hg}^{(\text{II})}$, $\text{Cd}^{(\text{II})}$, $\text{Cr}^{(\text{VI})}$, $\text{Cu}^{(\text{II})}$, $\text{Fe}^{(\text{III})}$, $\text{K}^{(\text{I})}$, $\text{Mg}^{(\text{II})}$, $\text{Mn}^{(\text{II})}$, $\text{Na}^{(\text{I})}$, $\text{Ni}^{(\text{II})}$, $\text{Pb}^{(\text{II})}$, $\text{Sb}^{(\text{III})}$, $\text{Sb}^{(\text{V})}$, $\text{Si}^{(\text{IV})}$, $\text{V}^{(\text{IV})}$ y $\text{Zn}^{(\text{II})}$. Además, se estudiaron los siguientes ligandos: tartrato, EDTA, cloruros y fluoruros. Para evitar la precipitación de algunos hidróxidos metálicos, se empleó una disolución de ácido tartárico, cuya concentración fue estimada a partir de una muestra sintética similar a la muestra certificada de ceniza volante de carbón SRM 1633A, muestra certificada más cargada en metales con la que se ha trabajado.

Una misma concentración de $\text{As}^{(\text{III})}$ se puso en contacto con varias concentraciones de los posibles interferentes para determinar si existía un desplazamiento del $\text{As}^{(\text{III})}$, en el caso de que ambas especies estuvieran presentes en una muestra natural de agua.

2.3.4.4 Muestras certificadas

Las muestras certificadas empleadas se disolvieron de la siguiente manera:

a) Cenizas volantes de carbón SRM 1633a

Se colocaron 0.5 g de ceniza volante en una cápsula de teflón abierta junto con 20 mL de HF (d = 1.13, 40 % w/w) y la mezcla se calentó hasta casi sequedad. Para asegurar la oxidación completa de la materia orgánica, se añadieron a la cápsula 10 mL de H₂O₂ (d = 1.45 g/mL, 33 %) y 30 mL de HNO₃ (d = 1.42, 69.8 % w/w) y la muestra se dejó evaporar hasta casi sequedad. A continuación, se añadieron 10 mL de HCl (d = 1.19, 37.9 % w/w) y 30 mL de HNO₃ (d = 1.42, 69.8 % w/w) y la muestra se calentó hasta la disolución completa del residuo. El pH se ajustó a 8.0 ± 0.2 utilizando NaOH, con tartrato de sodio suficiente, añadido a fin de evitar la precipitación.

b) Harina de arroz SRM 1568a

Las digestiones fueron obtenidas por la descomposición de 4 g de harina de arroz con 20 mL de 1:1 (v/v) de HNO₃ y 10 mL de NH₄NO₃ 1 M. Las disoluciones se evaporaron hasta casi sequedad a 155 °C y los volúmenes se llevaron a 25 mL con 0.05 M de HNO₃.

Todas las muestras certificadas se enrasaron a 25 mL en matraces aforados.

Con el fin de preparar las disoluciones aptas para la retención, al volumen requerido de muestra certificada se le añadió tartrato hasta una concentración de 0.025 M, que es la concentración mínima necesaria para evitar la precipitación, y se ajustó el pH hasta 8.0 ± 0.2 con NaOH

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Síntesis de las nanopartículas cerámicas

Se pretendió diseñar un procedimiento de síntesis de nanopartículas cerámicas mediante la precipitación directa de hidróxidos de torio y circonio, empleando sales inorgánicas de estos metales como precursores. Con ello, se trató de comprobar la viabilidad de la síntesis de las nanopartículas basadas en óxido de torio, comparándolas con las nanopartículas basadas en óxido de circonio ampliamente utilizadas en el campo de la nanotecnología (Guo, Chen 2005, Ray *et al.* 2000). A su vez, se evaluó la necesidad de funcionalizar las nanopartículas con *L*-cisteína para favorecer la unión del arsénico al nanomaterial.

De este modo, se propusieron cuatro métodos de síntesis de nanopartículas cerámicas: el primero de ellos consistió en una síntesis en ausencia de estabilizante orgánico con tratamiento térmico a 348 K. Los tres métodos restantes consistieron en una síntesis de nanopartículas empleando estabilizante orgánico y tratamiento térmico a 348 K, 873 K y 1373 K, respectivamente.

Para estudiar los procedimientos de síntesis, se emplearon tres técnicas analíticas: Difracción de Rayos X (XRD), Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Microscopía Electrónica de Barrido acoplada a un analizador de Energías Dispersivas de Rayos X (SEM/ED-XRS).

3.1.1 Difracción de Rayos X

Mediante esta técnica, se evaluaron los cuatro métodos propuestos de síntesis de nanopartículas, a fin de obtener información acerca de la estructura cristalina del nanomaterial. Además, a partir de la anchura de los picos de difracción y de las ecuaciones de Scherrer y Williamson-Hall, se pudo estimar el tamaño de cristalito de las nanopartículas.

3.1.1.1 Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

En primer lugar, y a fin de evaluar la necesidad de estabilizante orgánico en la síntesis de nanopartículas, se preparó el nanomaterial en ausencia de etanodiol y se trató térmicamente a 348 K, como se indicó en el *Apartado 2.3.1.1.a*.

Se llevó a cabo un análisis de Difracción de Rayos X de las nanopartículas basadas en ThO_2 , sintetizadas en ausencia de etanodiol (Fig. 6). Se pone de manifiesto que estas nanopartículas proporcionan unos difractogramas con tres bandas muy anchas centradas en los principales picos de los planos (111), (200) y (220) del ThO_2 cristalino. Sin embargo, se observan peculiaridades dependiendo de si se ha utilizado *L*-cisteína o no.

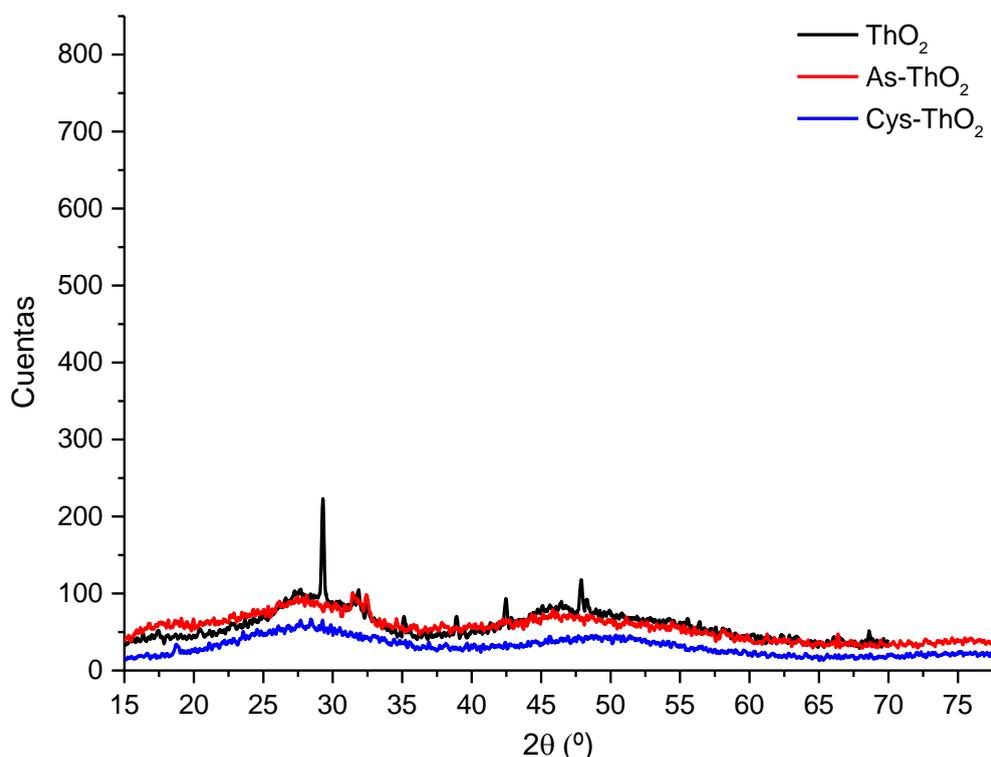


Figura 6. Difractograma de rayos X de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

En los difractogramas de las nanopartículas no funcionalizadas con *L*-cisteína (líneas negra y roja), especialmente las nanopartículas no dopadas con arsénico, se

observan picos que han sido asignados a la estructura cristalina romboédrica del nitrato (Ahtee *et al.* 1989). La presencia de nitrato en la muestra se debe al lavado insuficiente aplicado para este procedimiento. En los difractogramas de las muestras que contienen *L*-cisteína (línea azul) no se observan estos picos. Sin embargo, sí que aparecen indicios de otros picos muy débiles atribuidos a la *L*-cisteína, que serán comentados más adelante.

El ensanchamiento inusual de los picos de difracción se debe a la pobre cristalización del nanomaterial sintetizado mediante este procedimiento, llegando a aparecer bandas en lugar de picos estrechos, característicos de esta técnica. Esto nos proporciona información, no sólo del material del que está formado, sino también de la estructura cristalina amorfa que posee.

A fin de comparar las nanopartículas de óxido de torio con las de óxido de circonio, se llevó a cabo un análisis de Difracción de Rayos X de estas últimas, sintetizadas según este procedimiento, que se se recogen en la Figura 7.

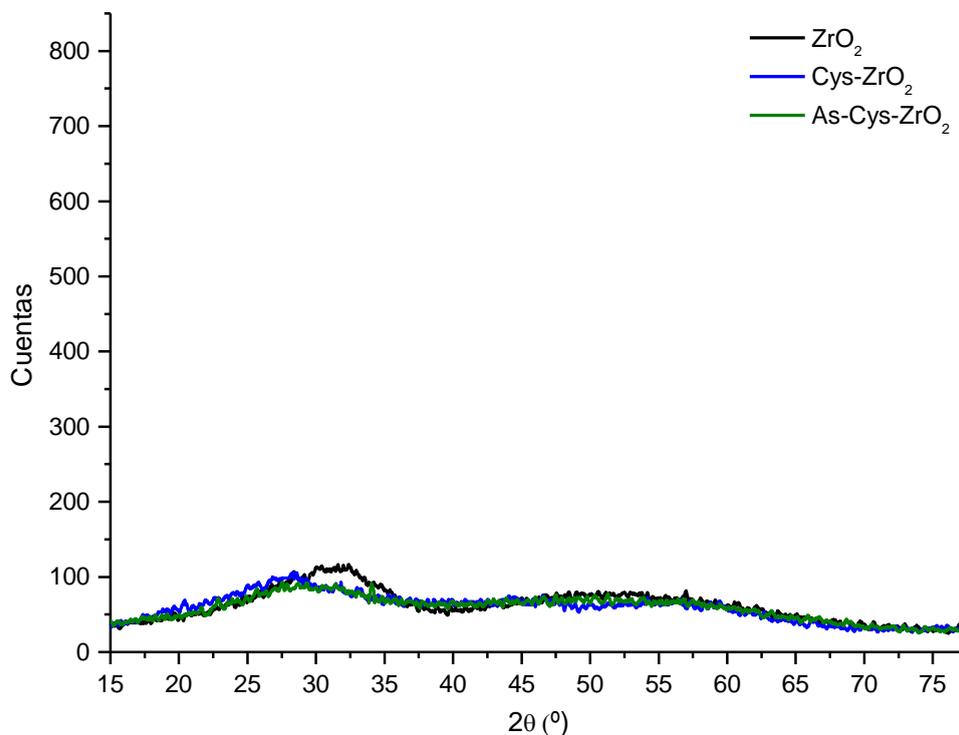


Figura 7. Difractograma de rayos X de las nanopartículas de ZrO₂, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

En el difractograma se pueden observar una serie de bandas anchas centradas en los picos principales de los planos (111), (002), (202) y (311) del ZrO_2 cristalino. Consecuentemente, la fase obtenida podría considerarse como ZrO_2 amorfo.

Los difractogramas de rayos X de las diferentes nanopartículas basadas en ZrO_2 son similares entre ellos en cuanto a las bandas anchas presentes. Sin embargo, si la *L*-cisteína está ausente, la primera banda está centrada en un intervalo de 2θ entre 30 y 32.5° (línea negra). Si las nanopartículas están funcionalizadas, está centrada en 28° (líneas azul y verde).

3.1.1.2 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

A continuación, se propuso un método de síntesis empleando 1,2-etanodiol como estabilizante orgánico y tratamiento térmico a 348 K: en la bibliografía consultada se recoge que la síntesis de nanopartículas de óxidos metálicos sin añadir un estabilizante orgánico es inefectiva (Zhou *et al.* 2006). Por ello se empleó el 1,2-etanodiol, a fin de optimizarla. La función del estabilizante es mantener las nanopartículas alejadas unas de otras, labor que se consigue gracias a la existencia de obstáculos de tipo estérico que evitan el establecimiento de fuerzas de Van der Waals entre las moléculas. De esta manera, el crecimiento de las nanopartículas está bloqueado, obteniéndose formas y distribuciones de tamaño homogéneas (Zhou *et al.* 2006). La síntesis de nanopartículas en estas condiciones se describió en el *Apartado 2.3.1.1.b*.

En la Figura 8 se recogen los difractogramas de rayos X de las nanopartículas basadas en ThO_2 sintetizadas con 1,2-etanodiol y con tratamiento térmico a 348 K. Se puede apreciar que los espectros son similares a los que se obtuvieron con el procedimiento anterior (en ausencia de estabilizante orgánico), y en ellos se observan tres bandas muy anchas, conformando una estructura amorfa.

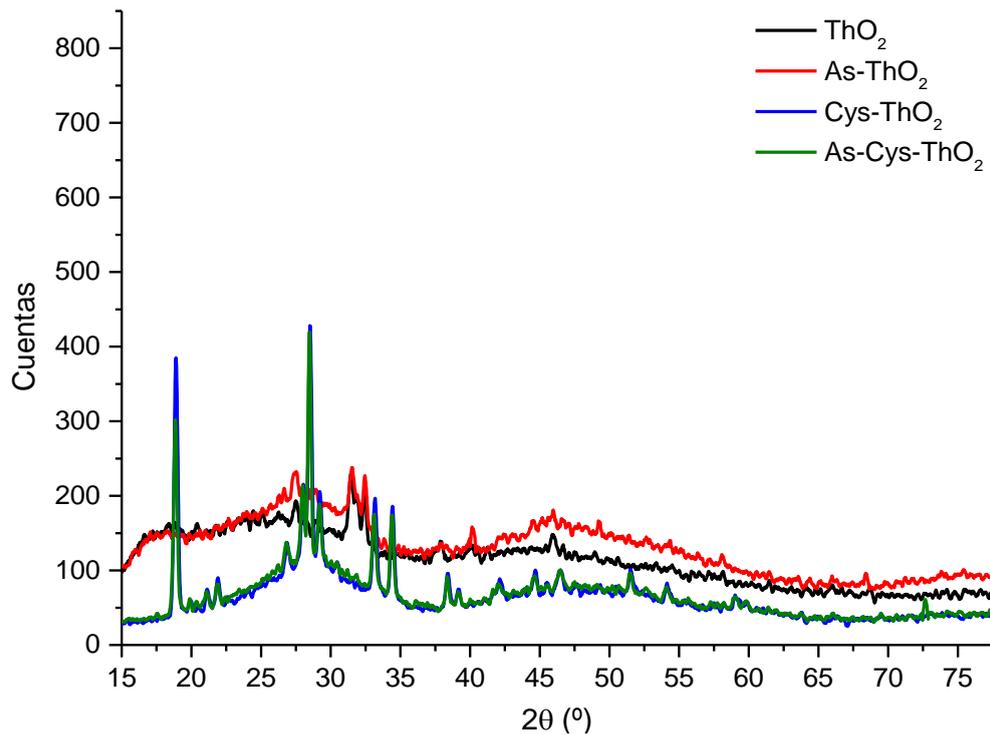


Figura 8. Difractograma de rayos X de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Al igual que en el procedimiento descrito anteriormente, los difractogramas correspondientes a las nanopartículas funcionalizadas y sin funcionalizar, dopadas con arsénico o sin dopar, presentan diferencias.

Las nanopartículas a las que no se les ha añadido *L*-cisteína mantienen el patrón XRD de las tres bandas anchas debido a la estructura amorfa del óxido de torio presente. Las nanopartículas funcionalizadas con *L*-cisteína también conservan este patrón. No obstante, en la Figura 8 se observan picos de difracción que pueden asociarse a la estructura monoclinica de la *L*-cisteína (Harding, Long 1968, Khawas 1971, Swanson *et al.* 1974). Estos resultados revelan que, a pesar de la pobre cristalización del óxido de torio, la *L*-cisteína sí ha sufrido este proceso. En la Tabla 2 se muestra una relación de los picos de la fase cristalina monoclinica de la *L*-cisteína y los índices de Miller para cada ángulo, que permiten identificar los planos cristalográficos.

Tabla 2. Relación de picos XRD de *l*-cisteína monoclinica en las nanopartículas sintetizadas con etanodiol y tratadas a 373 K. (*) (Swanson *et al.* 1974). (**) (Khawas 1971)

d (Å) ICDD(*)	2θ (°) ICDD(*)	d (Å) ICDD(**)	2θ (°) ICDD(**)	2θ (°) Cys-ThO ₂	2θ (°) As-Cys-ThO ₂	Índice de Miller
4.72	18.785			18.906	18.843	(1 1 0)
4.45	19.936			19.928	19.901	(1 1 1)
		4.21	21.086			(2 1 1)
4.21	21.086			21.138	21.084	(2 0 2)
		4.07	21.820			(2 2 0)
3.281	27.157			26.883	26.801	(2 1 2)
		3.27	27.250			(1 1 2)
3.166	28.163			28.030	28.003	(1 0 3)
		3.14	28.401			(2 0 2)
3.087	28.899			28.530	28.475	(2 0 3)
		3.08	28.967			(3 2 0)
3.046	29.297			29.217	29.190	(1 1 2)
2.712	33.002			33.182	33.127	(1 1 3)
2.605	34.399			34.440	34.413	(0 1 3)
		2.337	38.490			(2 4 0)
2.293	39.259			39.196	39.169	(1 1 2)
		1.956	46.384			(2 4 2)
		1.77	51.596			(1 0 4)

Los mismos estudios se llevaron a cabo, también, para las síntesis de nanopartículas de óxido de circonio. La Figura 9 muestra los difractogramas de rayos X de diferentes nanopartículas basadas en ZrO₂, sintetizadas en presencia de 1,2-etanodiol y tratadas térmicamente a 348 K.

Al igual que los difractogramas obtenidos a partir de las nanopartículas sintetizadas en ausencia de 1,2-etanodiol, se intuye una estructura amorfa del nanomaterial. Sin embargo, para las nanopartículas funcionalizadas, dopadas con una concentración de arsénico de 4000 µg/mL (espectro verde), se observa, además del patrón obtenido para las nanopartículas de ZrO₂ amorfo, la superposición de numerosos picos intensos y estrechos. Estos picos nuevos se deben a la *l*-cisteína monoclinica. Algunos de los picos no identificados podrían estar relacionados con la

especie $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys. Sin embargo, la ausencia de patrones para este complejo no permite una asignación precisa de estos picos.

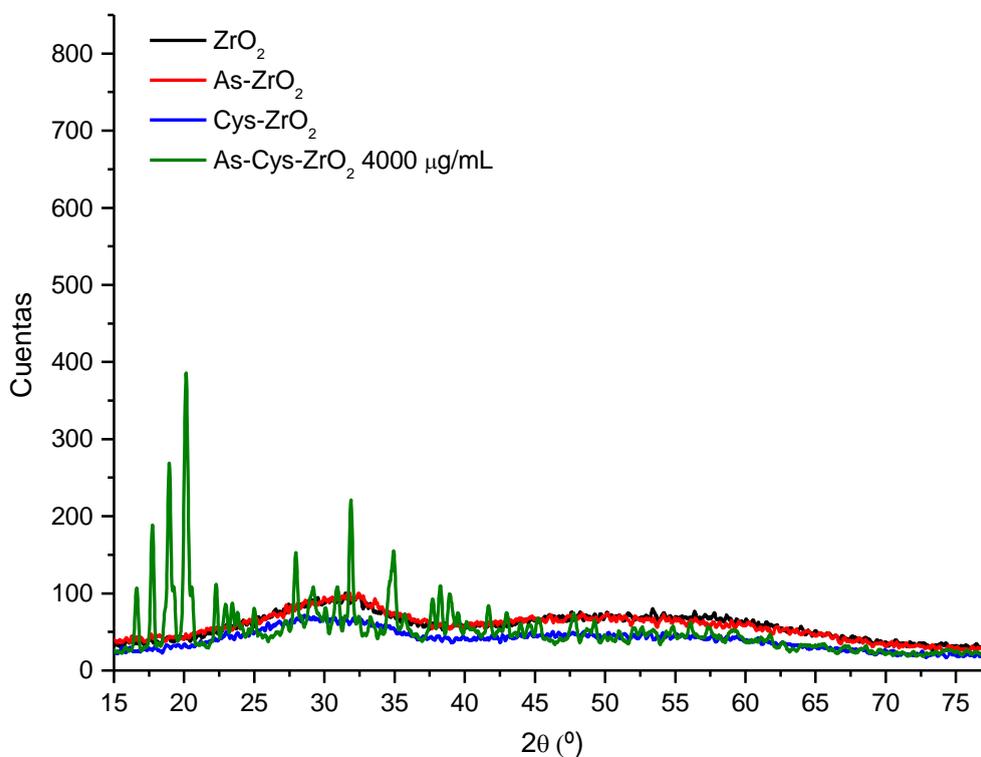


Figura 9. Diffractograma de rayos X de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

De este modo, se podría concluir que las nanopartículas basadas en ThO_2 y ZrO_2 , tratadas a 348 K, tanto en presencia como en ausencia de estabilizante orgánico, presentan una estructura cristalina amorfa. A la vista de los resultados, cabría esperar que la estructura amorfa de las nanopartículas no depende de la presencia de estabilizante orgánico. A continuación se estudió el efecto de la temperatura en la síntesis de nanopartículas.

3.1.1.3 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K

Se complementó el procedimiento de síntesis con una etapa de calcinación a 873 K, tal como se expuso en el *Apartado 2.3.1.1c*. Se evaluó la necesidad de esta última etapa de calcinación para liberar las nanopartículas que pudieran

permanecer aglomeradas debido a la acción del estabilizante. El precipitado final estaría constituido por óxidos de torio o de circonio, ya que el proceso de calcinación habría eliminado el exceso de hidratación y los compuestos orgánicos añadidos.

En la Figura 10 se muestran los difractogramas obtenidos al estudiar la síntesis del nanomaterial basado en óxido de torio con tratamiento térmico a 873 K.

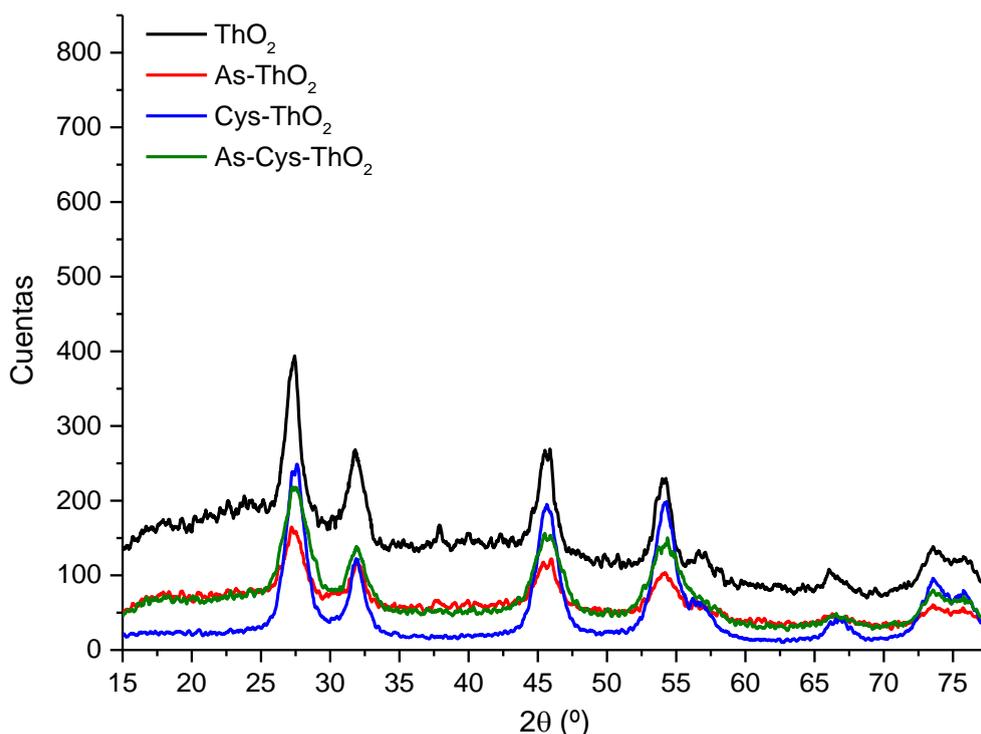


Figura 10. Difractograma de rayos X de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K.

Se ha localizado una serie de picos característicos de la estructura cristalina cúbica centrada en las caras (fcc), típica del ThO_2 . Esto implica que las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas mediante este procedimiento, poseen una estructura de tipo fluorita (Swanson *et al.* 1974). También se observa la gran anchura de las líneas de difracción, la cual revela claramente el carácter nanocristalino del material sintetizado (Weibel *et al.* 2005, Zak *et al.* 2011b). Por tanto, la etapa de calcinación favorece la formación de nanopartículas cristalinas en detrimento del nanomaterial amorfo.

La relación de los picos XRD obtenidos en los difractogramas se resume en la Tabla 3.

Tabla 3. Relación de picos de XRD de las nanopartículas de ThO₂, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K. (*) Calculado por ICSD usando POWD-12++ (1997). (**) (Whitfield *et al.* 1966)

$d(\text{Å})$ ICDD(*, **)	$2\theta(^{\circ})$ ICDD(*, **)	$2\theta(^{\circ})$ experimental	Índice de Miller
3.232	27.577	27.434	(1 1 1)
2.799	31.949	31.899	(2 0 0)
1.979	45.814	45.883	(2 2 0)
1.688	54.302	54.297	(3 1 1)
1.616	56.936	56.878	(2 2 2)
1.399	66.817	66.835	(4 0 0)
1.284	73.729	73.768	(3 3 1)
1.252	75.941	75.883	(4 2 2)

Los parámetros de red de las nanopartículas de ThO₂ se estimaron a través de la ley de Bragg, a fin de compararlos con los recogidos en la bibliografía. Para ello se empleó la siguiente ecuación:

$$\sin \theta = \frac{\lambda}{2} \sqrt{\frac{h^2 + k^2 + l^2}{a^2}} \quad (1)$$

donde λ es la longitud de onda de la radiación X incidente; h , k y l son los índices de Miller; θ es el ángulo de difracción y a es el parámetro de red. El valor de a calculado es 5.5919 Å, ligeramente inferior al encontrado para el ThO₂ puro en la bibliografía, 5.5975 Å (Swanson *et al.* 1974). Esto es debido, probablemente, a la presencia de defectos en la estructura cristalina, que se traduce en una posible desviación de la relación estequiométrica del óxido de torio puro: O/Th = 2 (Shein, Ivanovskii 2008).

Para completar el estudio de la síntesis de nanopartículas de ThO₂ calcinadas a 873 K, se emplearon concentraciones mayores de 1,2-etanodiol y se procedió a llevar a cabo una estimación más precisa del tamaño de grano de las nanoestructuras así sintetizadas. En la Figura 11 aparece el difractograma de las nanopartículas funcionalizadas y preparadas con 2.5 M de etanodiol.

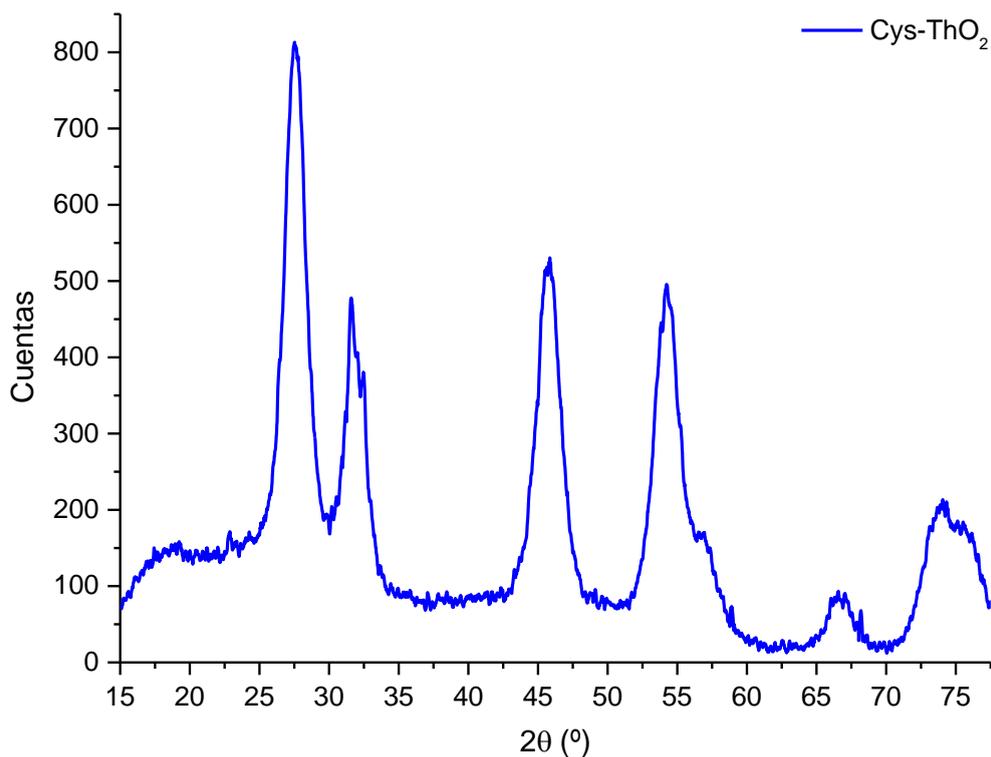


Figura 11. Difractograma de rayos X de las nanopartículas Cys-ThO₂, sintetizadas con etanodiol 2.5 M y tratadas a 873 K

La anchura a la mitad de la altura (FWHM) de los picos que aparecen en el difractograma de la Figura 11 permitió estimar el tamaño de cristalito empleando las ecuaciones de Scherrer y Williamson-Hall.

La ecuación de Scherrer es el método más ampliamente utilizado para calcular el tamaño de nanopartícula mediante XRD (Vives *et al.* 2004). El tamaño de cristalito, d , se determina a partir de la siguiente ecuación (Cullity, 1978),

$$d = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (2)$$

donde β es la medida en radianes de la anchura a la mitad de altura del pico, d es el tamaño de cristalito en nm, λ es la longitud de onda del rayo X incidente (0.15056 nm), K es una constante que depende de la forma de las partículas, cuyos valores van desde 0.89 a 1.39 (Weibel *et al.* 2005) (normalmente 0.92 para partículas esféricas) y θ indica el ángulo de Bragg (°) obtenido a intensidad máxima.

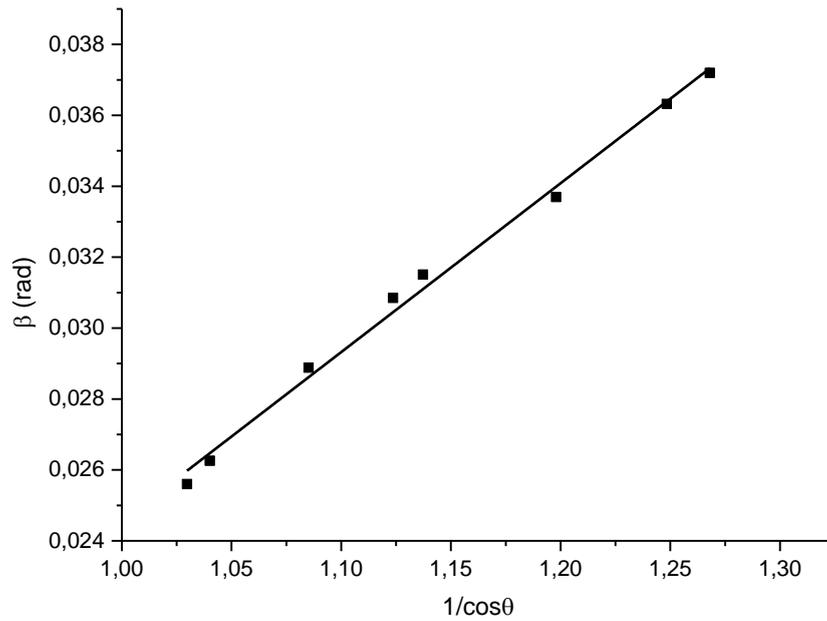


Figura 12. Representación gráfica de la ecuación de Scherrer de las nanopartículas Cys-ThO₂, sintetizadas con etanodiol 2.5 M y tratadas a 873 K

Al representar β frente a $1/\cos\theta$ (Fig. 12) se obtuvo una recta, cuya pendiente permitió estimar el tamaño de partícula. Comparando la media de los tamaños de partícula, obtenida con los tamaños calculados a partir de cada ángulo de difracción, con el tamaño extrapolado de la pendiente de la Figura 12, se obtuvieron los resultados que se recogen en la Tabla 4.

Tabla 4. Valores estimados de tamaño de partícula mediante la ecuación de Scherrer de las nanopartículas Cys-ThO₂, sintetizadas con etanodiol 2.5 M y tratadas a 873 K

2θ (°)	d (nm)	d medio (nm)	d extrapolado (nm)	r^2
27.59	5.70			
31.95	5.61			
45.70	5.32			
54.26	5.16	5.21	2.98	0.99463
56.89	5.12			
66.82	5.03			
73.54	4.87			
75.88	4.83			

Se pone de manifiesto que el tamaño medio estimado de cristalito es ligeramente superior a 5 nm, obteniéndose un tamaño menor para ángulos mayores. El tamaño extrapolado de la pendiente ($K\lambda/d$) es ligeramente inferior al tamaño medio, probablemente debido a la compensación de los errores experimentales.

Es interesante observar que los tamaños de cristalito obtenidos para las nanopartículas Cys-ThO₂ y As-ThO₂, tratadas a 873 K, son del mismo orden de magnitud. La presencia de mayores concentraciones (hasta 2.5 M) de 1,2-etanodiol favorece la formación de nanopartículas con menores tamaños.

A pesar de su precisión, la ecuación de Scherrer no considera el ensanchamiento de pico provocado por la microtensión dentro del cristalito (Gonçalves *et al.* 2012, Markmann *et al.* 2008). Los ensanchamientos provocados por el tamaño de grano y la microtensión son fenómenos aditivos, es decir:

$$\beta = \beta_D + \beta_\varepsilon \quad (3)$$

donde β_D es el ensanchamiento debido al tamaño de partícula, y β_ε es el ensanchamiento debido a las microtensiones. De acuerdo con Stokes y Wilson (Balzar 1999), el ensanchamiento debido a las microtensiones se puede expresar:

$$\beta_\varepsilon = 4\varepsilon_s \tan \theta_B \quad (4)$$

Al combinar las ecuaciones (2) y (4), los efectos de ensanchamiento pueden describirse mediante la ecuación de Williamson-Hall (Williamson, Hall 1953):

$$\beta \cos \theta_B = \frac{K\lambda}{d} + 4\varepsilon_s \sin \theta_B \quad (5)$$

Representando $\beta \cos \theta_B$ frente a $\sin \theta_B$ se obtiene la microtensión y el tamaño medio de cristalito, a partir de la pendiente y la ordenada en el origen, respectivamente. Si la pendiente es positiva o negativa, se observa una expansión o compresión de red. Si es horizontal, son cristales perfectos (Gonçalves *et al.* 2012).

La aditividad lineal del tamaño de cristalito y de la microtensión asume una forma lorentziana para la combinación de ambos efectos (deconvolución Cauchy-Cauchy). Sin embargo, se pueden considerar otros tres casos, que son las deconvoluciones de Gauss-Gauss, Cauchy-Gauss o Gauss-Cauchy, dependiendo de la contribución de la función a cada efecto (Weibel *et al.* 2005). En la Tabla 5 se recogen las aproximaciones de Williamson-Hall dependiendo de la función a la que se ajustan el tamaño de cristalito y la microtensión.

Tabla 5. Diferentes modelos a los que tienden el tamaño y la microtensión

Tendencias	Ecuaciones	Parámetros de la recta	
		m	n
Cauchy-Cauchy	$\beta \cos \theta = \frac{K\lambda}{D} + 4\varepsilon \sin \theta$	4ε	$\frac{K\lambda}{D}$
Gauss-Gauss	$\beta^2 \cos^2 \theta = \frac{K^2\lambda^2}{D^2} + 16\varepsilon^2 \sin^2 \theta$	$16\varepsilon^2$	$\frac{K^2\lambda^2}{D^2}$
Cauchy-Gauss	$\beta \cos \theta = \frac{K\lambda}{D} + 16\varepsilon^2 \frac{\sin^2 \theta}{\beta \cos \theta}$	$16\varepsilon^2$	$\frac{K\lambda}{D}$
Gauss-Cauchy	$\beta^2 \cos^2 \theta = \frac{K^2\lambda^2}{D^2} + 4\varepsilon\beta \cos \theta \sin \theta$	4ε	$\frac{K^2\lambda^2}{D^2}$

Generalmente, las aproximaciones de Williamson-Hall son más precisas que la ecuación de Scherrer (Cabrini *et al.* 1971), ya que ésta subestima el tamaño de partícula al no tener en cuenta las microtensiones. En la Figura 13, se representaron las distintas aproximaciones para las nanopartículas de ThO₂ funcionalizadas.

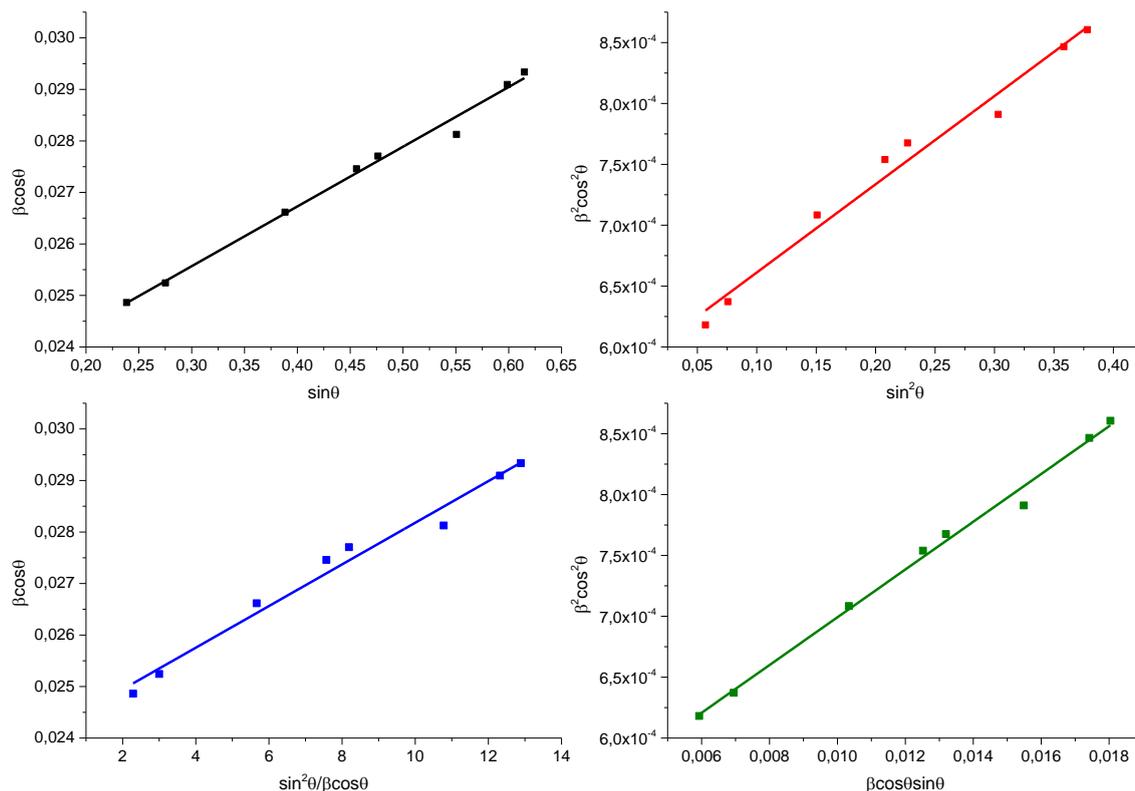


Figura 13. Representaciones de Williamson-Hall para las nanopartículas Cys-ThO₂, sintetizadas con etanodiol 2.5 M y tratadas a 873 K

Los valores calculados del tamaño de partícula y la microtensión empleando los parámetros obtenidos en las rectas de regresión se recogen en la Tabla 6.

Tabla 6. Valores estimados de tamaño de partícula y de la microtensión para las nanopartículas Cys-ThO₂, sintetizadas con etanodiol 2.5 M y tratadas a 873 K

Tendencia	d (nm)	ε (rad)	r^2
Cauchy-Cauchy	6.42	2.90×10^{-3}	0.99172
Gauss-Gauss	5.84	6.73×10^{-3}	0.98159
Cauchy-Gauss	5.87	5.03×10^{-3}	0.98105
Gauss-Cauchy	6.18	4.91×10^{-3}	0.99387

De acuerdo con el coeficiente de determinación, el mejor ajuste de los datos experimentales se obtuvo con la aproximación Gauss-Cauchy ($r^2 = 0.99387$), aunque no se encontraron diferencias importantes con otras aproximaciones. La microtensión y el tamaño de cristalito calculados a partir de la aproximación Gauss-

Cauchy fueron 4.91×10^{-3} rad y 6.18 nm, respectivamente. No obstante, la ecuación de Scherrer es también válida, con un coeficiente de determinación de 0.99463, y un tamaño de partícula cercano a 3 nm.

En conclusión, se han obtenido resultados concluyentes empleando tanto la ecuación de Scherrer como las aproximaciones de Williamson-Hall, lo que significa que la contribución de la microtensión al ensanchamiento del pico es muy pequeña. En otras palabras, la variabilidad de forma y tamaño de los cristalitos, así como la posible contribución de la anisotropía de la tensión muestran efectos leves en el perfil del ensanchamiento de la línea de difracción y, consecuentemente, en el tamaño aparente de las nanopartículas basadas en ThO_2 (Scardi *et al.* 2004).

Cuando se llevaron a cabo los análisis de Difracción de Rayos X para el caso de las nanopartículas basadas en ZrO_2 sintetizadas según este procedimiento, se obtuvieron los resultados que se representan en la Figura 14.

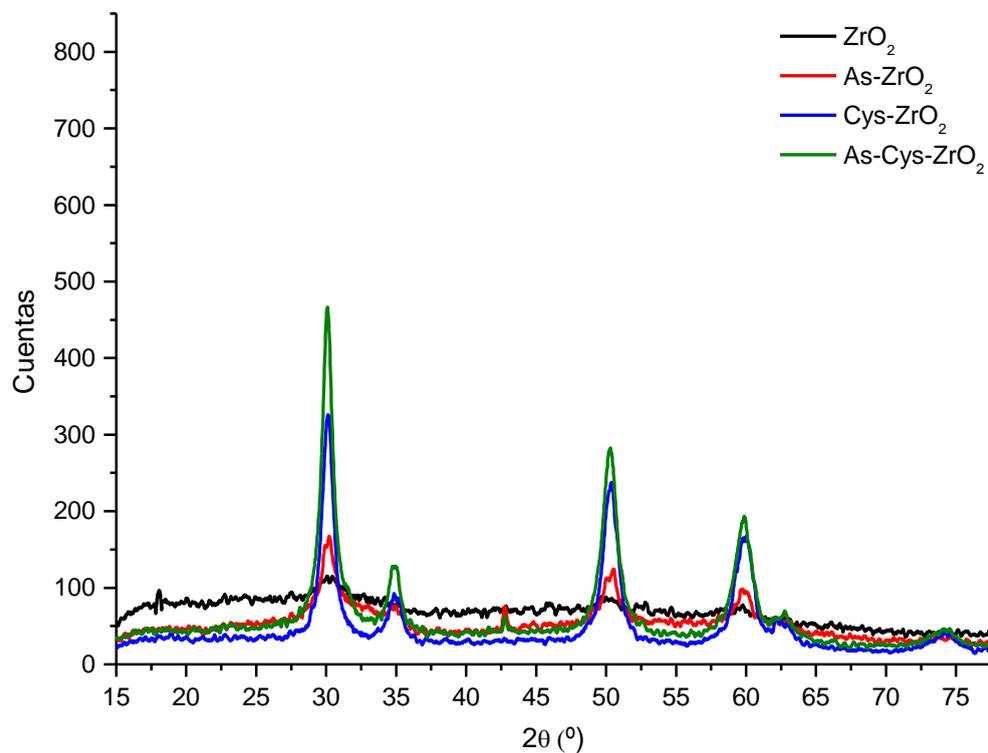


Figura 14. Difractograma de rayos X de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

En la Figura 14 se aprecia la cristalización de las nanopartículas de ZrO_2 . Al igual que para las nanopartículas basadas en ThO_2 , las líneas anchas de difracción del material tratado térmicamente a 873 K ponen de manifiesto que, efectivamente, los polvos sintetizados son nanoestructurados.

Todos los picos encontrados son característicos de la fase tetragonal ($t-ZrO_2$) del óxido de circonio, por lo que se demuestra la pureza de fase cristalina del nanomaterial así sintetizado. No se confirmaron picos de especies de arsénico.

Los principales picos del nanomaterial basado en ZrO_2 fueron identificados empleando la base de datos del ICDD, y se les asignaron varios planos cristalográficos de la fase tetragonal del ZrO_2 (Tabla 7).

Tabla 7. Relación de picos de XRD del nanomaterial de ZrO_2 , sintetizado con etanodiol y tratado a 873 K. (*) Base de datos del ICDD del $t-ZrO_2$. (**) (Howard *et al.* 1990)

$d(\text{Å})$ ICDD(*,**)	$2\theta(^{\circ})$ ICDD(*,**)	$2\theta(^{\circ})$ experimental	Índice de Miller
2.953	30.245	30.238	(1 0 1)
2.592	34.580	34.665	(0 0 2)
2.540	35.305	35.240	(1 1 0)
2.102	42.997	42.995	(1 0 2)
1.814	50.250	50.280	(1 1 2)
1.796	50.789	50.665	(2 0 0)
1.557	59.300	59.404	(1 0 3)
1.535	60.259	60.159	(2 1 1)
1.476	62.903	62.920	(2 0 2)
1.296	72.942	73.041	(0 0 4)
1.270	74.672	74.613	(2 2 0)

La Figura 15 muestra el difractograma de rayos X obtenido a partir de las nanopartículas de ZrO_2 dopadas con una concentración de arsénico de 25 $\mu\text{g/mL}$. Este difractograma se ha empleado para estimar el tamaño de cristalito del nanomaterial de óxido de circonio. Para ello se aplicaron la ecuación de Scherrer y las aproximaciones de Williamson-Hall. No se utilizaron los picos más débiles, ya que el ruido de fondo podría dificultar la medición de la anchura de pico.

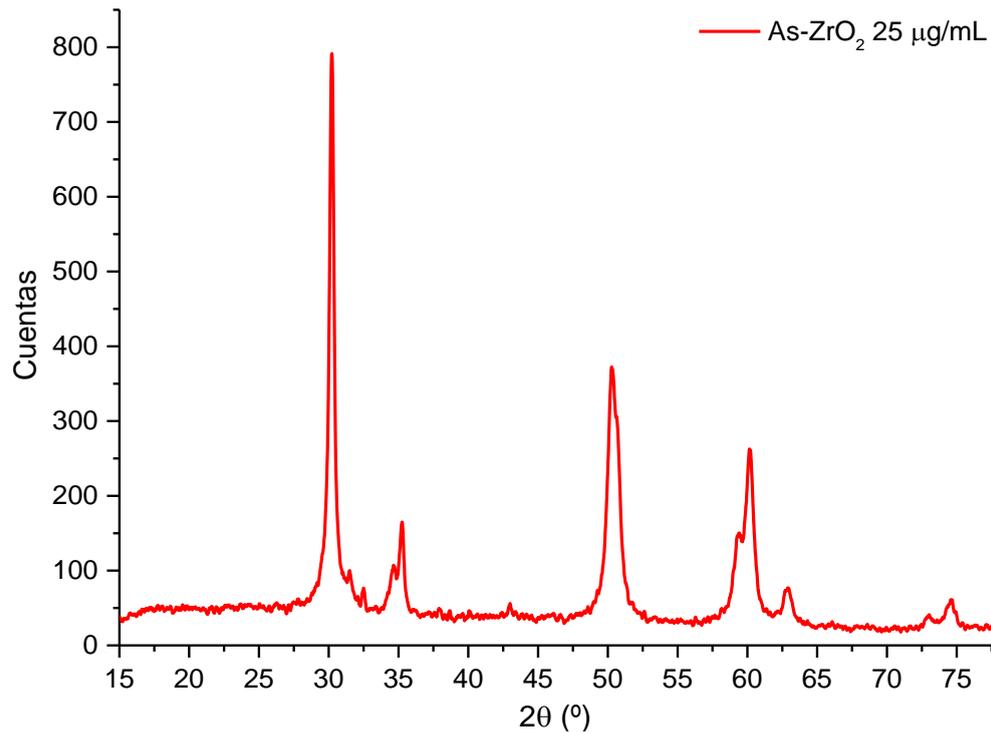


Figura 15. Difractograma del nanomaterial As-ZrO, sintetizado con etanodiol y tratado a 873 K, dopado con 25 µg/mL de arsénico

De este modo, los tamaños estimados de grano se recogieron en la Tabla 8. Se comprueba que los datos experimentales se ajustan bien a la ecuación de Scherrer.

Tabla 8. Valores estimados de tamaño de partícula mediante la ecuación de Scherrer del nanomaterial As-ZrO₂, sintetizado con etanodiol y tratado a 873 K, dopado con 25 µg/mL de arsénico

2θ (°)	d (nm)	d medio (nm)	d extrapolada (nm)	r^2
30.23	22.11	17.19	3.70	0.99357
34.64	20.57			
35.26	20.10			
50.28	16.18			
50.64	15.89			
59.35	14.57			
60.19	14.39			
62.90	13.90			

Comparando los valores de tamaño de cristalito medio y extrapolado, se observa que el valor medio es mucho mayor (17.19 nm) que el extrapolado (3.70

nm). El argumento para explicar esta discrepancia podría basarse en un proceso de compensación de errores, como ya ocurrió cuando se estudiaron las nanopartículas basadas en óxido de torio.

Las cuatro aproximaciones de Williamson-Hall se han representado también para el caso de las nanopartículas basadas en óxido de circonio. Para determinar el mejor ajuste lineal, se han empleado los coeficientes de determinación. Los valores de tamaño de grano y microtensión se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9. Valores estimados de tamaño de partícula y microtensión para el nanomaterial As-ZrO₂, sintetizado con etanodiol y tratado a 873 K, dopado con 25 µg/mL de arsénico

Tendencia	D (nm)	ε (rad)	r^2
Cauchy-Cauchy	53.28	3.60×10^{-3}	0.99870
Gauss-Gauss	30.66	4.36×10^{-3}	0.99740
Cauchy-Gauss	35.52	3.80×10^{-3}	0.99638
Gauss-Cauchy	39.54	4.28×10^{-3}	0.99926

Aunque no se observan diferencias importantes entre los valores de r^2 de las diferentes ecuaciones de Williamson-Hall, el mejor ajuste a los datos experimentales fue proporcionado por la aproximación Gauss-Cauchy, como en el caso de las nanopartículas de ThO₂. Los valores de tamaño de cristalito y de microtensión extrapolados del ajuste lineal para esta ecuación son 39.54 nm y 4.28×10^{-3} rad, respectivamente, frente a los 6.18 nm y 4.91×10^{-3} rad obtenidos para las nanopartículas de ThO₂. Los menores tamaños de cristalito y mayores valores de microtensión fueron proporcionados por la deconvolución Gauss-Gauss. Contrariamente, la aproximación Cauchy-Cauchy proporciona los tamaños mayores y la menor microtensión.

3.1.1.4 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K

Una vez comprobada la efectividad del empleo de 1,2-etanodiol y del tratamiento térmico a 873 K en la síntesis de nanopartículas cerámicas de óxidos de torio y circonio, se trató de evaluar si el aumento de temperatura en la calcinación

del nanomaterial era conveniente a la hora de favorecer el proceso de liberación de las partículas.

Los difractogramas de las nanopartículas basadas en óxido de circonio, sintetizadas con 1,2-etanodiol 1 M y tratadas a 1373 K se muestran en la Figura 16. En esta figura se pone de manifiesto la anchura de los picos, la cual revela el carácter nanocrystalino de las nanopartículas.

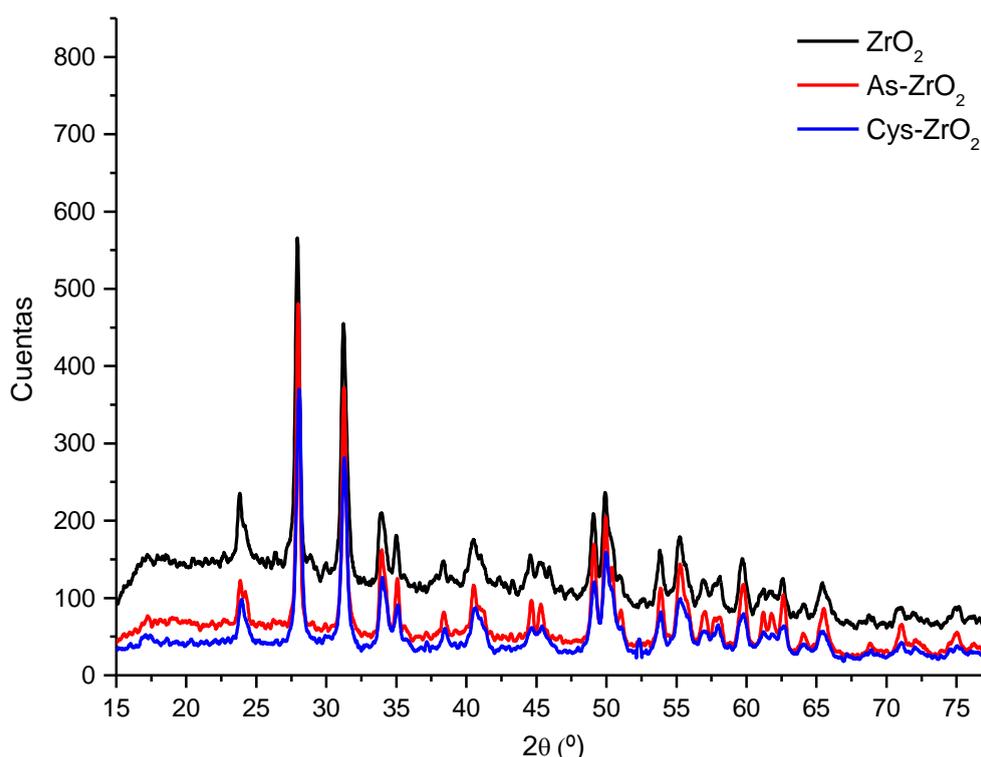


Figura 16. Difractograma de rayos X de las nanopartículas de ZrO₂, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 1373 K

Sin embargo, los picos obtenidos no son los característicos de la estructura tetragonal del ZrO₂, sino los asociados a la estructura monoclinica, *m*-ZrO₂ (Bondars *et al.* 1995). Estos picos se recogen en la Tabla 10. Como se puede comprobar, todos los picos se atribuyen a la estructura cristalina monoclinica del ZrO₂, por lo que podría deducirse que este nanomaterial es *m*-ZrO₂ puro, no estando formado por una mezcla de fases cristalinas.

Tabla 10. Relación de picos de XRD de ZrO₂, sintetizado con etanodiol y tratado a 1373 K. (*) Calculado por ICSD usando POWD-12++ (1997). (**) (Bondars *et al.* 1995)

$d(\text{Å})$ ICDD (*,**)	$2\theta(^{\circ})$ ICDD (*,**)	$2\theta(^{\circ})$ exper.	Índice de Miller	$d(\text{Å})$ ICDD (*,**)	$2\theta(^{\circ})$ ICDD (*,**)	$2\theta(^{\circ})$ exper.	Índice de Miller
5.076	17.457	17.363	(1 0 0)	1.589	57.995	57.947	($\bar{1}$ 3 1)
36.919	24.086	24.033	(0 1 1)	15.799	58.361	58.218	($\bar{2}$ 2 2)
36.323	24.487	24.403	(1 1 0)	15.429	59.901	59.931	(1 3 1)
31.598	28.220	28.163	($\bar{1}$ 1 1)	15.381	60.108	60.287	($\bar{3}$ 0 2)
28.375	31.504	31.421	(1 1 1)	15.087	61.404	61.38	(1 1 3)
26.213	34.179	34.117	(0 0 2)	14.948	62.038	62.028	($\bar{2}$ 1 3)
2.6	34.467	34.389	(0 2 0)	14.764	62.898	62.759	(3 1 1)
2.538	35.337	35.231	(2 0 0)	14.503	64.164	64.263	(0 2 3)
24.976	35.928	35.858	($\bar{1}$ 0 2)	14.462	64.368	64.598	($\bar{1}$ 2 3)
23.292	38.624	38.573	(0 2 1)	14.462	64.368		(0 3 2)
23.141	38.886	38.929	(1 2 0)	14.313	65.12	65.022	(2 3 0)
22.808	39.478	39.326	(2 1 0)	1.424	65.495	65.294	($\bar{1}$ 3 2)
22.514	40.015	40.189	($\bar{1}$ 1 2)	14.187	65.771	65.649	(2 2 2)
2.211	40.778	40.691	($\bar{2}$ 1 1)	14.187	65.771		(3 2 0)
21.906	41.175	41.088	(1 0 2)	13.592	69.045	69.012	(1 3 2)
21.764	41.456	41.339	($\bar{1}$ 2 1)	1.348	69.701	69.563	(1 2 3)
20.187	44.863	44.785	(1 1 2)	13.381	70.293	70.085	($\bar{2}$ 2 3)
19.893	45.563	45.440	(2 1 1)	13.238	71.167	71.172	($\bar{3}$ 2 2)
19.893	45.563		($\bar{2}$ 0 2)	13.212	71.328	71.318	(1 0 4)
18.459	49.329	49.263	(0 2 2)	13.106	71.994	71.86	(0 0 4)
18.161	50.194	50.127	(2 2 0)	13.068	72.237	72.132	($\bar{2}$ 3 2)
18.012	50.638	50.524	($\bar{1}$ 2 2)	1.3	72.675	72.446	(0 4 0)
17.803	51.276	51.151	($\bar{2}$ 2 1)	1.3	72.675		(2 1 3)
1.693	54.129	54.012	(2 0 2)	1.285	73.662	73.553	($\bar{3}$ 1 3)
1.693	54.129		(3 0 0)	1.269	74.748	74.827	(4 0 0)
16.752	54.752	54.489	(1 2 2)	12.617	75.255	75.273	(0 4 1)
16.565	55.423	55.461	(0 1 3)	12.593	75.423	75.545	(1 4 0)
16.503	55.649	55.67	($\bar{1}$ 1 3)	12.488	76.17	76.172	($\bar{2}$ 0 4)
16.457	55.818	55.879	(0 3 1)	12.439	76.525	76.421	($\bar{4}$ 1 1)
16.403	56.018	56.151	(1 3 0)	12.357	77.125	77.111	($\bar{1}$ 4 1)
16.083	57.234	57.111	(3 1 0)	12.328	77.341	77.446	(4 1 0)
16.083	57.234		($\bar{3}$ 1 1)				

El difractograma de la Figura 17 se empleó para estimar el tamaño de cristalito de las nanopartículas de ZrO₂, dopadas con 25 µg/mL de arsénico, de modo análogo a como ya se hizo para 873 K. Se eligió un número suficiente de picos intensos, y poco solapados, para minimizar los errores. Al igual que para las estimaciones anteriores, se emplearon las ecuaciones de Scherrer y Williamson-Hall.

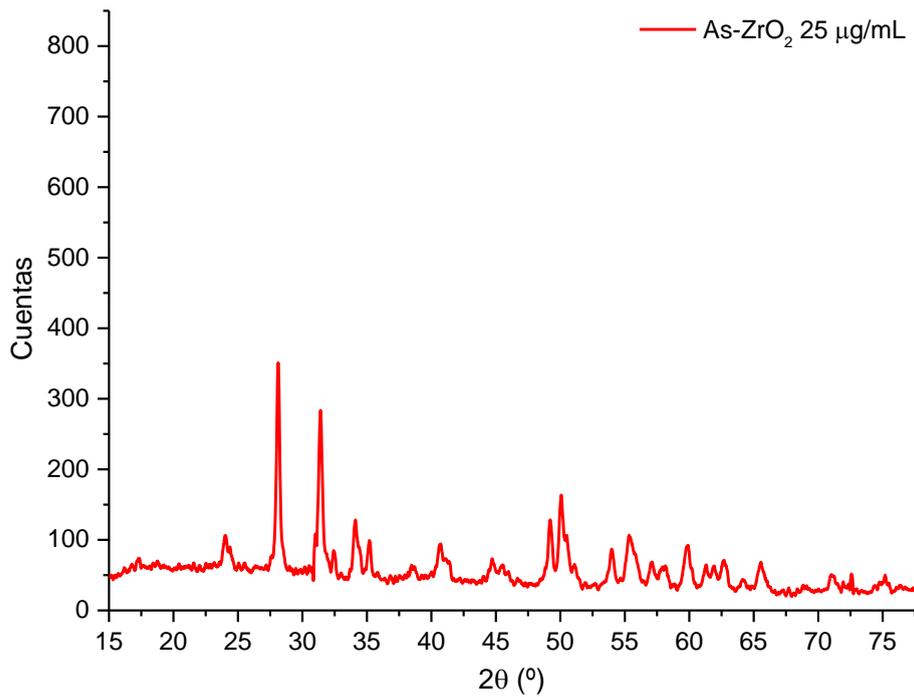


Figura 17. Diffractograma del nanomaterial As-ZrO₂, sintetizado con etanodiol y tratado a 1373 K, dopado con 25 µg/mL de arsénico

Los valores de tamaño de grano estimados mediante la ecuación de Scherrer y el extrapolado de la gráfica que enfrenta β con $1/\cos\theta$ se recogen en la Tabla 11.

Tabla 11. Tamaños de partícula estimados con la ecuación de Scherrer del nanomaterial As-ZrO₂, sintetizado con etanodiol y tratado a 1373 K, dopado con 25 µg/mL de arsénico

2θ (°)	d (nm)	d medio (nm)	d extrapolado (nm)	r^2
24.03	26.80			
24.39	28.31			
28.12	28.76			
31.41	26.97			
35.19	26.80			
38.57	23.45			
44.71	23.08	23.25	4.41	0.97717
45.45	19.52			
49.22	21.02			
50.07	19.51			
51.09	19.26			
53.98	19.73			
59.91	17.56			
62.69	17.29			

Al igual que para los anteriores análisis de tamaño, el tamaño medio de cristalito es mucho mayor que el extrapolado, 23.25 nm y 4.41 nm, respectivamente.

En la Tabla 12 se muestran los valores obtenidos del tamaño de partícula y la microtensión, calculados a partir de las representaciones de Williamson-Hall.

Tabla 12. Tamaños de partícula y de microtensión del nanomaterial As-ZrO₂, sintetizado con etanodiol y tratado a 1373 K, dopado con 25 µg/mL de arsénico

Tendencia	d (nm)	ε (rad)	r^2
Cauchy-Cauchy	56.24	2.71×10^{-3}	0.94850
Gauss-Gauss	36.96	3.52×10^{-3}	0.96877
Cauchy-Gauss	39.81	2.95×10^{-3}	0.91390
Gauss-Cauchy	46.66	3.43×10^{-3}	0.98575

Al igual que para las nanopartículas de *t*-ZrO₂, los datos experimentales siguen una función de Gauss para el tamaño de partícula y una función de Cauchy para la microtensión. El tamaño de partícula y la microtensión son 46.66 nm y 3.43×10^{-3} rad, respectivamente.

Comparando los tamaños de partícula, obtenidos mediante las ecuaciones de Scherrer y de Williamson-Hall, para las nanopartículas tratadas térmicamente a 873 y 1373 K, se observa que el tamaño de las nanopartículas calcinadas a 873 K es menor que el estimado para las nanopartículas calcinadas a 1373 K. Por lo tanto, parece que el tamaño de grano de las nanopartículas de *t*-ZrO₂ es menor que el hallado para las nanopartículas de *m*-ZrO₂. De este modo, la eliminación de los hidroxilos residuales y el crecimiento del grano parecen desencadenar una transformación de la fase tetragonal a monoclinica.

Los mismos estudios se llevaron a cabo cuando se doparon las nanopartículas con 4000 µg/mL de arsénico. En la Figura 18 se recoge el difractograma de las nanopartículas funcionalizadas y dopadas con esta concentración de arsénico.

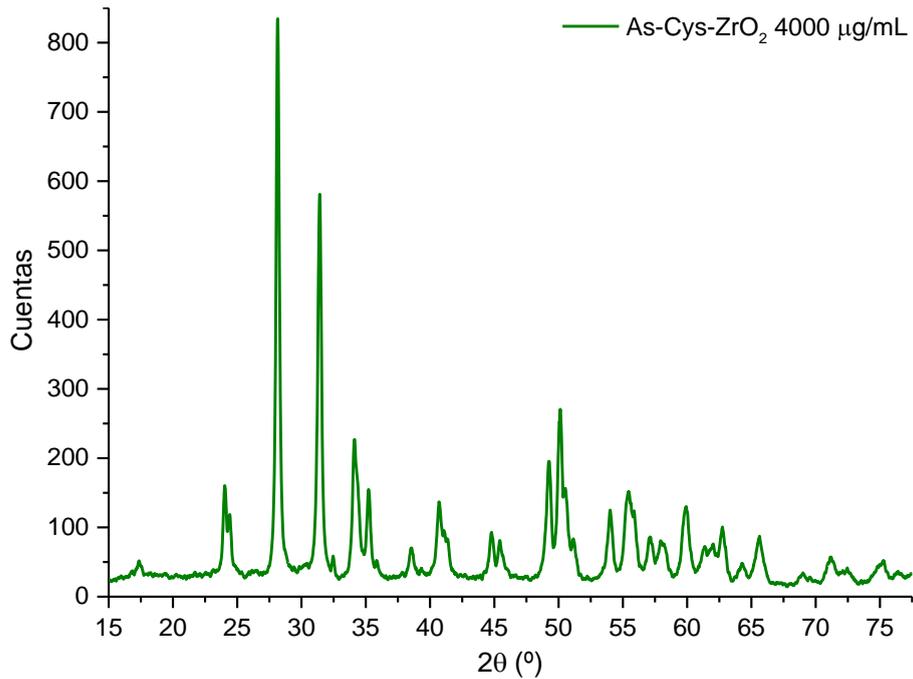


Figura 18. Diffractograma del nanomaterial As-Cys-ZrO₂, sintetizado con etanodiol y tratado a 1373 K, dopado con 4000 µg/mL de arsénico

Los tamaños de grano estimados mediante la ecuación de Scherrer se recogen en la Tabla 13.

Tabla 13. Tamaños estimados de partícula con la ecuación de Scherrer, de nanomaterial As-Cys-ZrO₂, sintetizado con etanodiol y tratado a 1373 K, dopado con 4000 µg/mL de arsénico

2θ (°)	d (nm)	d promedio (nm)	d extrapolada (nm)	r^2
24.03	27.28			
24.42	26.82			
28.15	26.18			
31.43	25.44			
35.22	24.50			
38.53	23.63			
44.79	21.27	22.50	4.92	0.99385
45.43	21.04			
49.26	20.29			
50.13	20.12			
51.15	20.20			
54.01	20.45			
59.93	18.18			
62.75	17.62			

En la Tabla 14, se muestran los valores obtenidos del tamaño de partícula y microtensión derivados de las aproximaciones de Williamson-Hall.

Tabla 14. Valores de tamaño de partícula y de la microtensión para el nanomaterial As-Cys-ZrO₂, sintetizado con etanodiol y tratado a 1373 K, dopado con 4000 µg/mL de arsénico

Tendencia	d (nm)	ε (rad)	r^2
Cauchy-Cauchy	44.43	2.28×10^{-3}	0.98718
Gauss-Gauss	32.17	3.22×10^{-3}	0.99500
Cauchy-Gauss	33.91	2.73×10^{-3}	0.98637
Gauss-Cauchy	39.10	3.05×10^{-3}	0.99670

Si se comparan las representaciones de Williamson-Hall, se observa que los datos obtenidos se ajustaron mejor a la tendencia Gauss-Cauchy, como en los casos anteriormente descritos. Por lo tanto, empleando esta aproximación, observamos que el tamaño de partícula y la microtensión disminuyen con el aumento de la concentración del semimetal. Sin embargo, las diferencias encontradas son tan pequeñas que el resultado observado no puede considerarse concluyente.

Conclusiones sobre los resultados de la técnica XRD

Mediante XRD se ha comprobado que las nanopartículas preparadas tanto en ausencia como en presencia de estabilizante orgánico, tratadas térmicamente a 348 K, proporcionan difractogramas típicos de estructuras cristalinas amorfas. Por otra parte, la calcinación a 873 K favorece la cristalización de las nanoestructuras sintetizadas en las fases cúbica y tetragonal para el ThO₂ y ZrO₂, respectivamente. En el caso de aumentar la temperatura de calcinación a 1373 K, se observa, en las nanopartículas de ZrO₂, una transición de la fase tetragonal a la fase monoclinica.

Se ha determinado, mediante XRD, que el tamaño de partícula para el nanomaterial de ThO₂ calcinado a 873 K es de 3 nm, empleando la ecuación de Scherrer, y de 5 nm, en el caso de la aproximación Gauss-Cauchy. Simultáneamente, se ha apreciado un aumento del tamaño de grano en las nanopartículas de ZrO₂ con la temperatura de calcinación, para la misma concentración de arsénico.

3.1.2 Microscopio Electrónico de Transmisión

Se obtuvieron una serie de imágenes de Microscopía Electrónica de Transmisión de las nanopartículas basadas en ThO_2 y en ZrO_2 , sintetizadas mediante los procedimientos anteriormente expuestos. Con esta técnica se pretendió conocer el tamaño y la morfología de las nanopartículas.

3.1.2.1 Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

En la Figura 19 aparecen una serie de micrográficas de los distintos tipos de las nanopartículas basadas en ThO_2 , sintetizadas en ausencia de etanodiol y tratadas térmicamente a 348 K.

Se observa que las nanopartículas no funcionalizadas no dopadas y dopadas (Fig. 19.A y 19.B), están formadas por una población poco numerosa de nanopartículas y partículas submicrométricas. Además, se aprecian diferencias de tamaño muy acusadas, por lo que cabe pensar que la distribución de tamaños de las nanopartículas no funcionalizadas es muy heterogénea.

En la Figura 19.C y 19.D aparecen las micrográficas TEM de las nanopartículas funcionalizadas. Se puede apreciar que estas nanopartículas tienen tamaños comprendidos entre 50 y 200 nm, y siempre por debajo de 100 nm en el caso de las nanopartículas funcionalizadas no dopadas, las cuales son monodispersas. Se pone de manifiesto, además, que la distribución de tamaños es más uniforme en las nanopartículas funcionalizadas que en las no funcionalizadas.

En cuanto a la forma, en las micrográficas se aprecia que la mayor parte de las nanopartículas tienden a la esfericidad, si bien algunas nanopartículas funcionalizadas también son cúbicas, especialmente en el caso de las nanopartículas funcionalizadas y dopadas (Fig. 19.D). Cuando la cantidad de nanopartículas cúbicas es relativamente alta, parecen observarse nanopartículas prismáticas, presumiblemente debido a defectos en la cristalización.

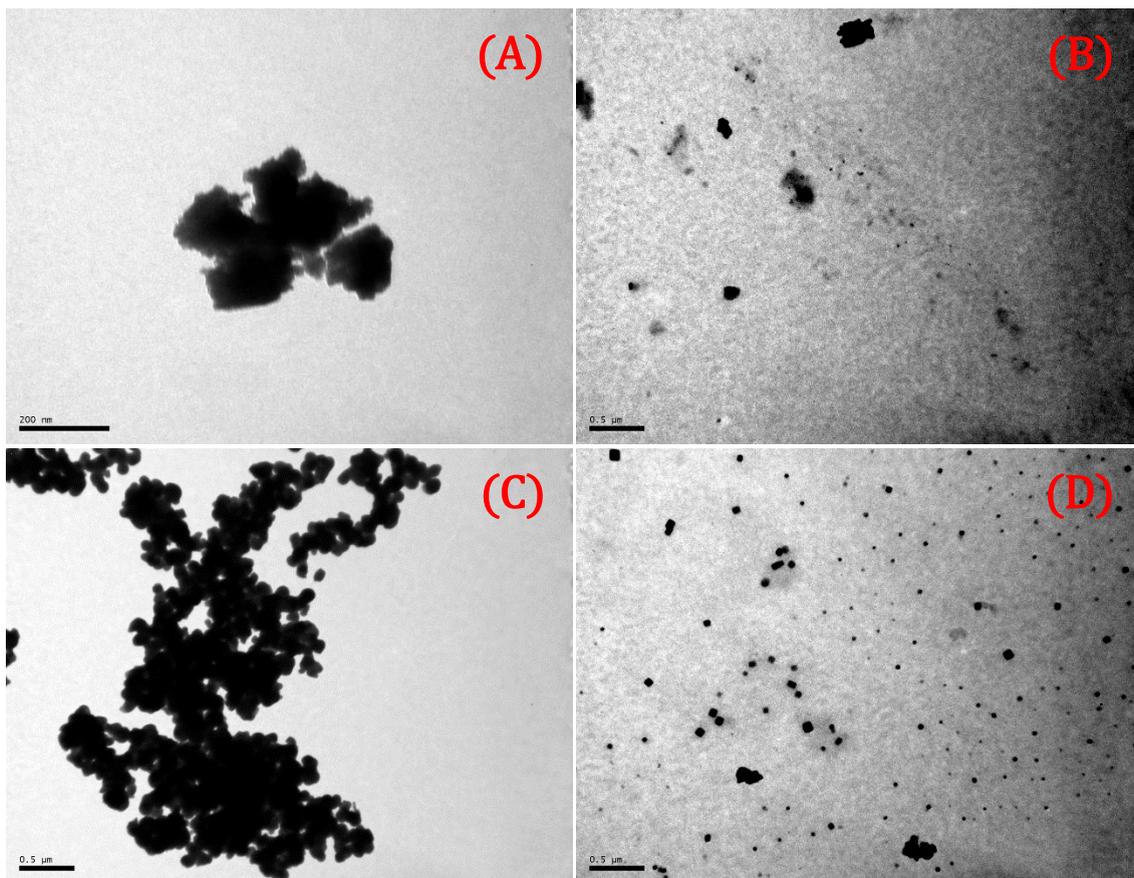


Figura 19. Micrografías TEM de las nanopartículas (A) ThO_2 , (B) As-ThO_2 , (C) Cys-ThO_2 , (D) As-Cys-ThO_2 , sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

Por último, en las micrografías se pone de manifiesto la presencia de agregados de nanopartículas. Si están funcionalizadas, el número de agregados es mayor, debido probablemente a que la cisteína actúa como estabilizante, aglutinando las nanopartículas y evitando que las mayores crezcan a expensas de las pequeñas.

De esta forma, los resultados invitan a pensar que la síntesis de nanopartículas de ThO_2 mediante un método de precipitación de hidróxidos es dificultosa en ausencia de un estabilizante orgánico que evite que los núcleos crezcan excesivamente. Además, se comprueba que la *L*-cisteína puede actuar como estabilizante, ya que el tamaño de las nanopartículas disminuye y la distribución de tamaños es más uniforme.

Para comprobar estos resultados, también se evaluó la síntesis de nanopartículas basadas en óxido de circonio. La Figura 20 muestra las imágenes de TEM correspondientes a los nanomateriales basados en ZrO_2 . A primera vista, para el nanomaterial de ZrO_2 no funcionalizado y no dopado (Fig. 20.A) se aprecian numerosas nanopartículas libres, que presentan una distribución heterogénea de tamaños, que van desde los 25 a los 250 nm. Para el resto de los nanomateriales sintetizados mediante este procedimiento, se observan agrupaciones de nanopartículas.

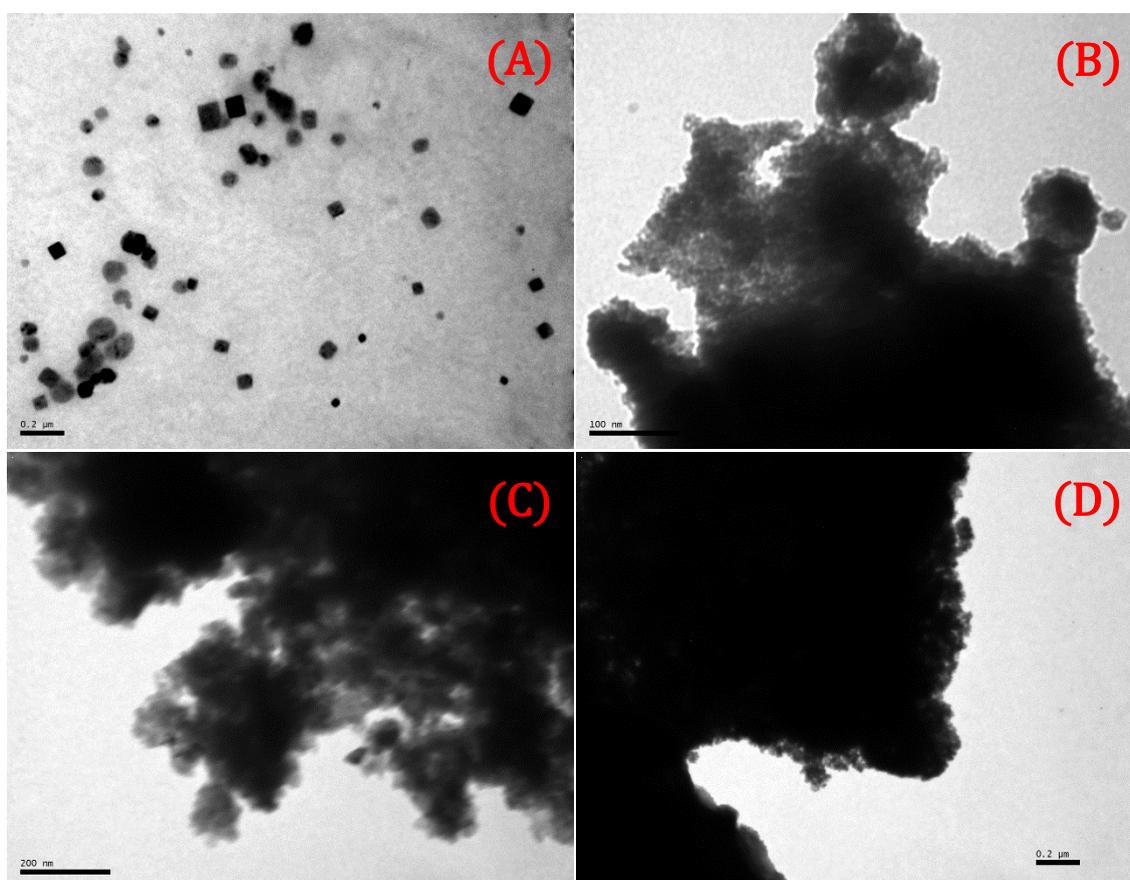


Figura 20. Micrografías TEM de las nanopartículas (A) ZrO_2 , (B) $As-ZrO_2$, (C) $Cys-ZrO_2$, y (D) $As-Cys-ZrO_2$, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

En cuanto a la forma, la mayor parte de las nanopartículas son esféricas. Sin embargo, en la Figura 20.A se observa que el nanomaterial de ZrO_2 sin funcionalizar ni dopar presenta una fracción importante de nanopartículas cúbicas.

Se aprecian numerosas agrupaciones de nanopartículas en todas las muestras, especialmente en presencia de cisteína (Fig. 20.C y 20.D). Parece ser, por tanto, como ya se expuso para el caso de las nanopartículas de ThO_2 , que la cisteína actúa como estabilizante, rodeando la superficie de las nanopartículas y aglutinándolas, impidiendo de este modo su crecimiento. Por otra parte, se pone de manifiesto que, mediante este procedimiento, la síntesis de nanopartículas de ZrO_2 es más eficiente que la de nanopartículas de ThO_2 .

3.1.2.2 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

En el apartado anterior se evidenció que las nanopartículas sintetizadas en ausencia de un estabilizante orgánico poseen una distribución de tamaños heterogénea. Por tanto, se propuso comprobar el efecto del 1,2-etanodiol en la homogeneidad de tamaños.

En la Figura 21 se muestran imágenes micrográficas de las nanopartículas basadas en óxido de torio sintetizadas empleando 1,2-etanodiol y tratadas a 348 K.

Si se compara la distribución de tamaños correspondiente a las nanopartículas sintetizadas en ausencia de etanodiol (Fig. 19) con la distribución de tamaños en su presencia, se aprecia que ha pasado de un intervalo desde 50 a 200 nm a un intervalo desde 10 a 100 nm. Se podría concluir, por tanto, que la adición del etanodiol reduce el tamaño de las partículas sintetizadas, siendo el material de menor tamaño sintetizado de 10 nm.

En cuanto a la forma, en las micrográficas se pone de manifiesto la predominancia de las nanopartículas esféricas. Aparecen también formas cúbicas, especialmente en nanopartículas de ThO_2 , y, en menor grado, en las nanopartículas funcionalizadas no dopadas.

En las imágenes se aprecia una gran cantidad de agrupaciones de nanopartículas, tanto funcionalizadas como no. Se podría deducir, por tanto, que el

1,2-etanodiol favorece la adhesión de las nanopartículas, que no se liberan de la matriz orgánica.

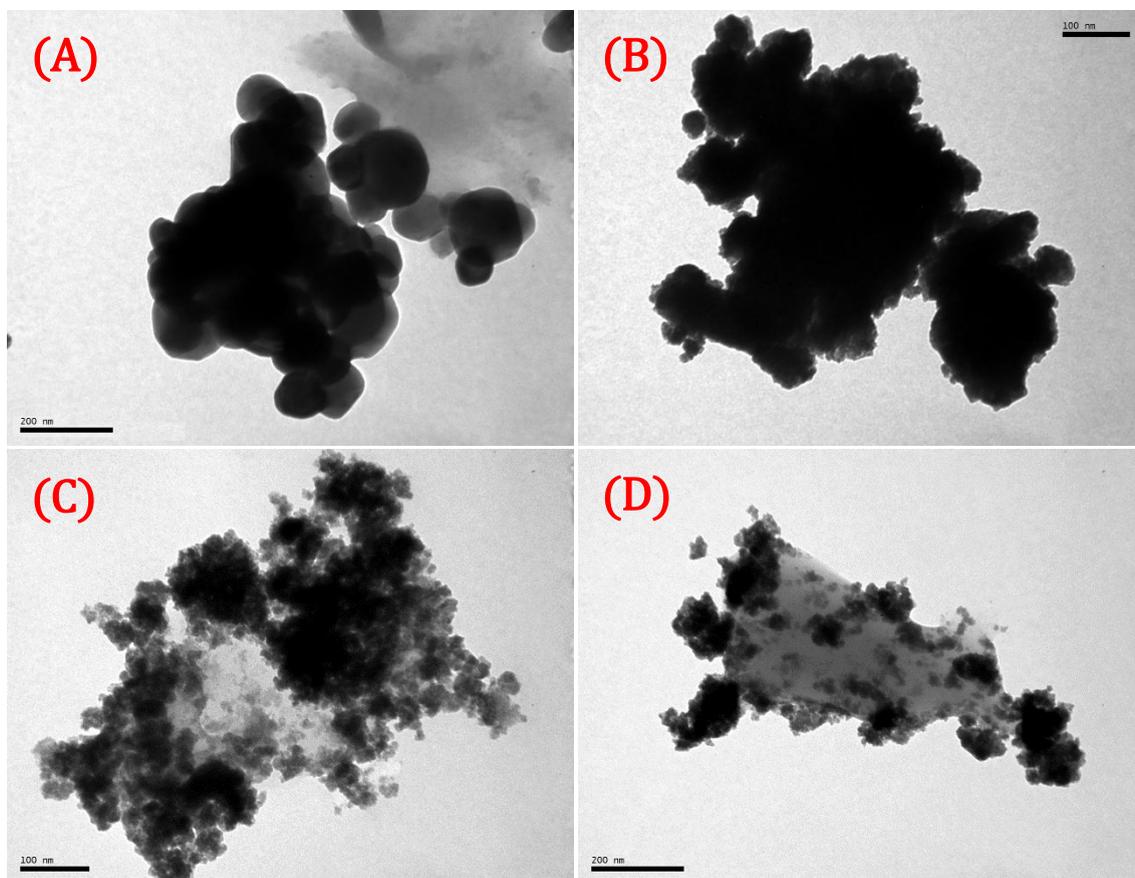


Figura 21. Micrografías TEM de las nanopartículas (A) ThO_2 , (B) As-ThO_2 , (C) Cys-ThO_2 , (D) As-Cys-ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Para el caso de las nanopartículas basadas en óxido de circonio, en la Figura 22 se recogen las micrografías de transmisión de las nanopartículas basadas en este óxido y sintetizadas con 1,2-etanodiol y con tratamiento térmico de 348 K. En la Figura 22.A se puede observar que las nanopartículas de ZrO_2 presentan una distribución estrecha de tamaños, entre 20 y 35 nm, al contrario que sus homólogas sintetizadas en ausencia de estabilizante orgánico. Esta diferencia parece deberse a la inclusión del 1,2-etanodiol en el proceso de síntesis, que actúa como estabilizante orgánico, tapizando la superficie de las nanopartículas y bloqueando, así, el

crecimiento de los nanocristales primarios. Para los casos restantes, las diferencias con respecto a la ausencia/presencia de etanodiol, no son significativas.

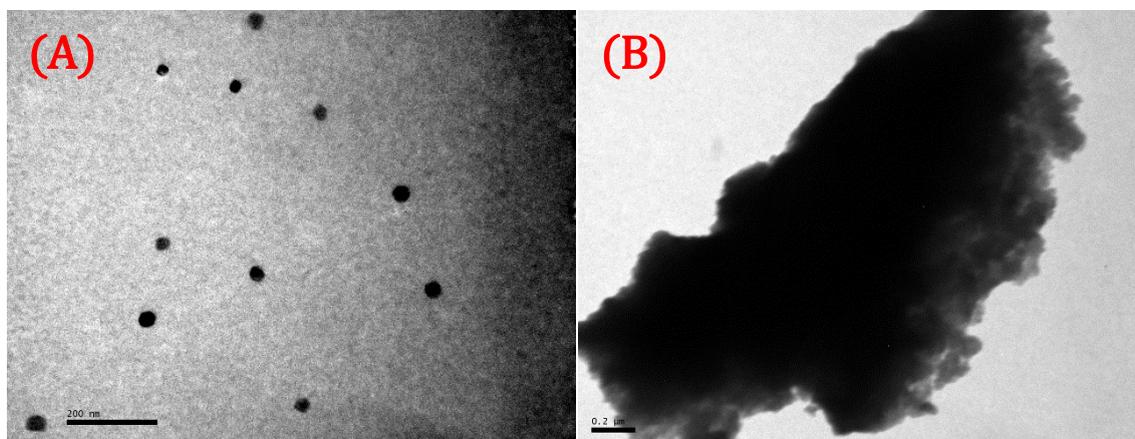


Figura 22. Micrográficas TEM de las nanopartículas (A) ZrO_2 , y (B) $As-ZrO_2$, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

En la Figura 22.A se puede observar que las nanopartículas de ZrO_2 presentan una distribución estrecha de tamaños, entre 20 y 35 nm, al contrario que sus homólogas sintetizadas en ausencia de estabilizante orgánico. Esta diferencia parece deberse a la inclusión del 1,2-etanodiol en el proceso de síntesis, que actúa como estabilizante orgánico, tapizando la superficie de las nanopartículas y bloqueando, así, el crecimiento de los nanocristales primarios. Para los casos restantes, las diferencias con respecto a la ausencia/presencia de etanodiol, no son significativas.

En cuanto a la forma, predominan las nanopartículas esféricas en todas las muestras. Aparecen también formas cúbicas en las nanopartículas no funcionalizadas.

Llegado a este punto, y comprobada la eficacia del estabilizante orgánico a la hora de sintetizar las nanopartículas, se trató de comparar el comportamiento del 1,2-etanodiol con otros compuestos orgánicos: 1,4-butanodiol, 1,6-hexanodiol y ácido 12-hidroxidodecanoico. En la Figura 23 se muestran micrográficas TEM de las nanopartículas basadas en ThO_2 preparadas con los diferentes estabilizantes.

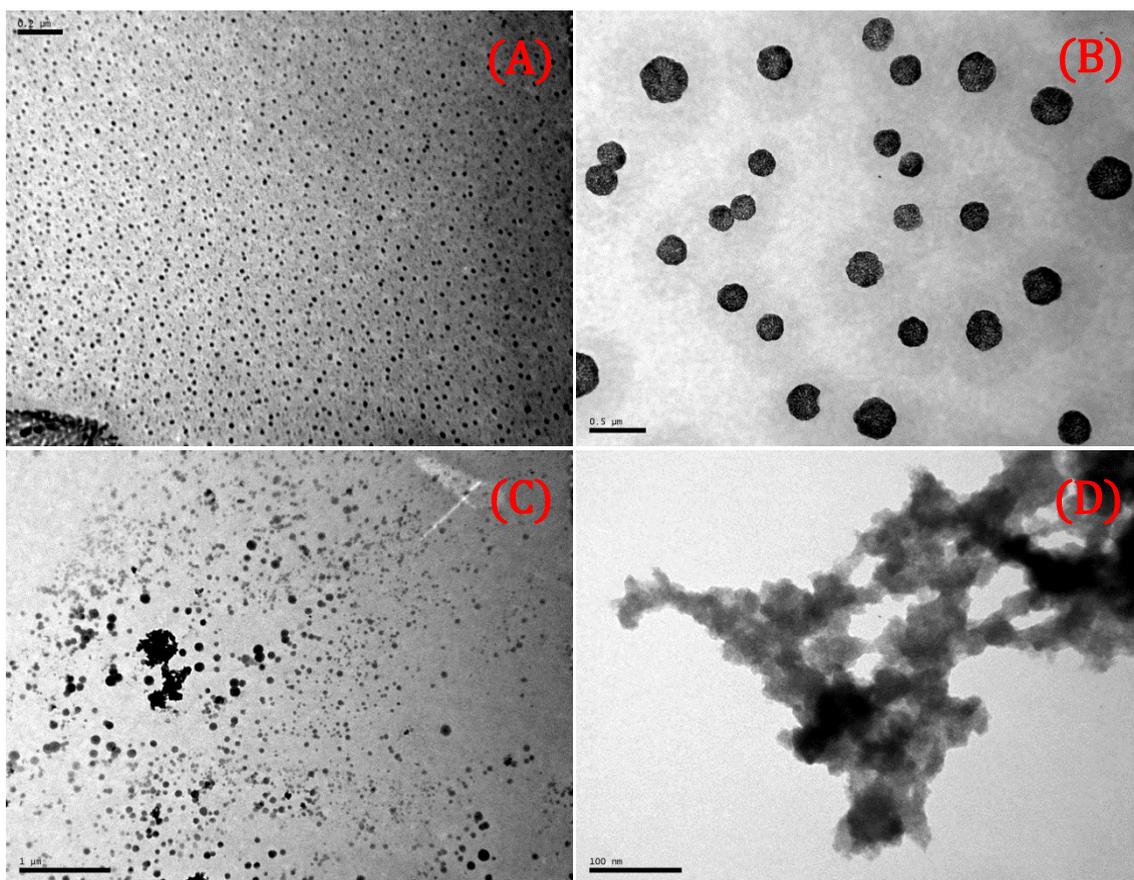


Figura 23. Micrograffías TEM de las nanopartículas de ThO_2 sintetizadas con: (A) 1,2-etanol, (B) 1,4-butanodiol, (C) 1,6-hexanodiol, y (D) ácido 12-hidroxidodecanoico

Se puede observar que las nanopartículas sintetizadas con 1,2-etanol (Fig. 23.A) y 1,4-butanodiol (Fig. 23.B) presentan una distribución de tamaños muy homogénea, si bien en el caso del 1,2-etanol, el tamaño del nanomaterial sintetizado es más pequeño. Por otra parte, las nanopartículas preparadas con 1,6-hexanodiol muestran una distribución amplia de tamaños. Finalmente, cuando se emplea ácido 12-hidroxidodecanoico, las nanopartículas parecen no separarse correctamente, sino que se encuentran formando un material no nanoestructurado.

Por tanto, se decidió emplear 1,2-etanol como estabilizante orgánico en el procedimiento de síntesis de las nanopartículas, puesto que proporcionó tamaños más pequeños y uniformes del nanomaterial, en comparación con el resto de compuestos orgánicos estudiados.

3.1.2.3 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K

Una vez comprobado que el empleo de un estabilizante orgánico en la síntesis de nanopartículas favorecía la reducción del tamaño de las nanoestructuras y su distribución homogénea de tamaños, se complementó este procedimiento con una etapa de calcinación a 873 K. Se obtuvieron una serie de micrografías, que se recogen en la Figura 24.

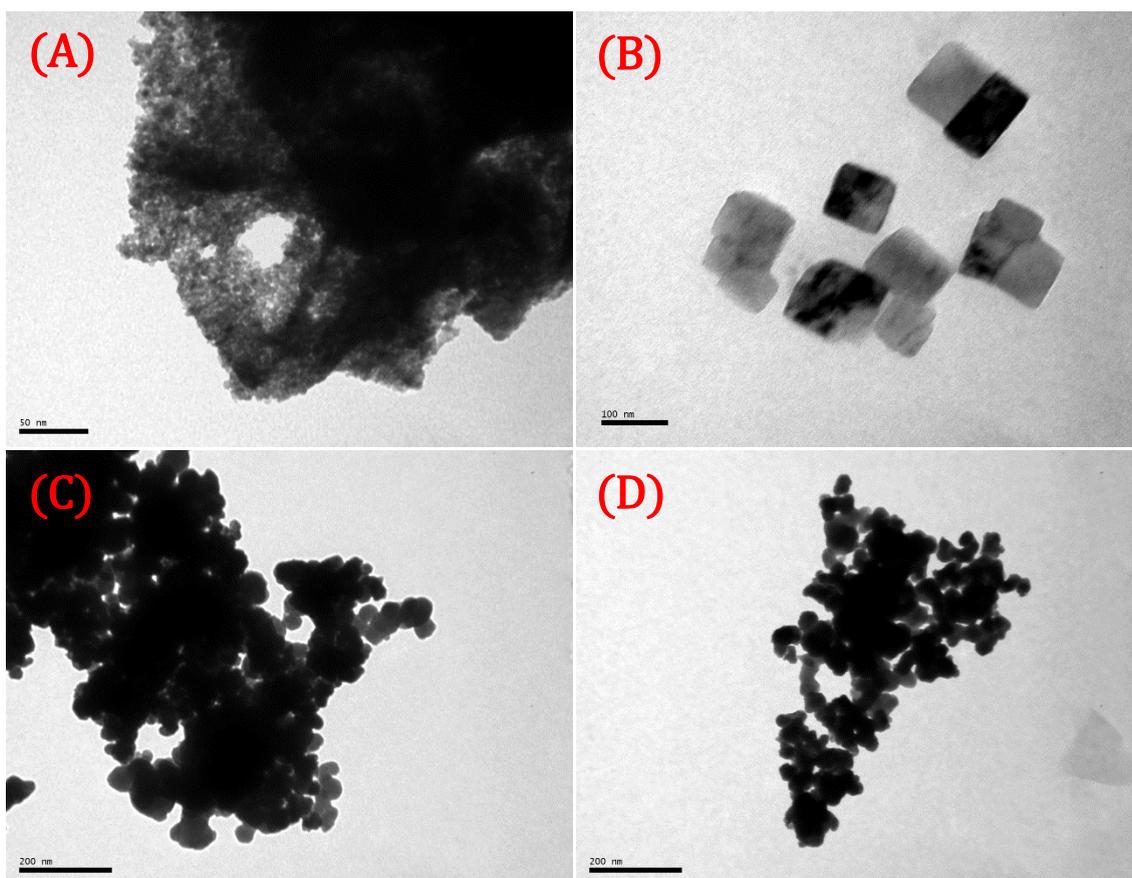


Figura 24. Micrografías TEM de las nanopartículas (A) ThO_2 , (B) As-ThO_2 , (C) Cys-ThO_2 , (D) As-Cys-ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

La distribución de tamaños de nanopartícula encontrada es, como norma general, de 10 a 50 nm, más estrecha que en las otras metodologías de síntesis propuestas. Se pone de manifiesto la presencia de pequeñas nanopartículas, con tamaños cercanos a 20 nm, especialmente en el nanomaterial funcionalizado.

Se puede comprobar que las nanopartículas funcionalizadas son esféricas, siendo imposible distinguir morfológicamente el nanomaterial dopado del que no lo está (Fig. 24.C y 24.D). Además de las partículas esféricas, también aparecen nanopartículas cúbicas (Fig. 24.B).

En la Figura 25 se muestran las micrografías de las nanopartículas basadas en ThO_2 , sintetizadas empleando distintas concentraciones de 1,2-etanodiol.

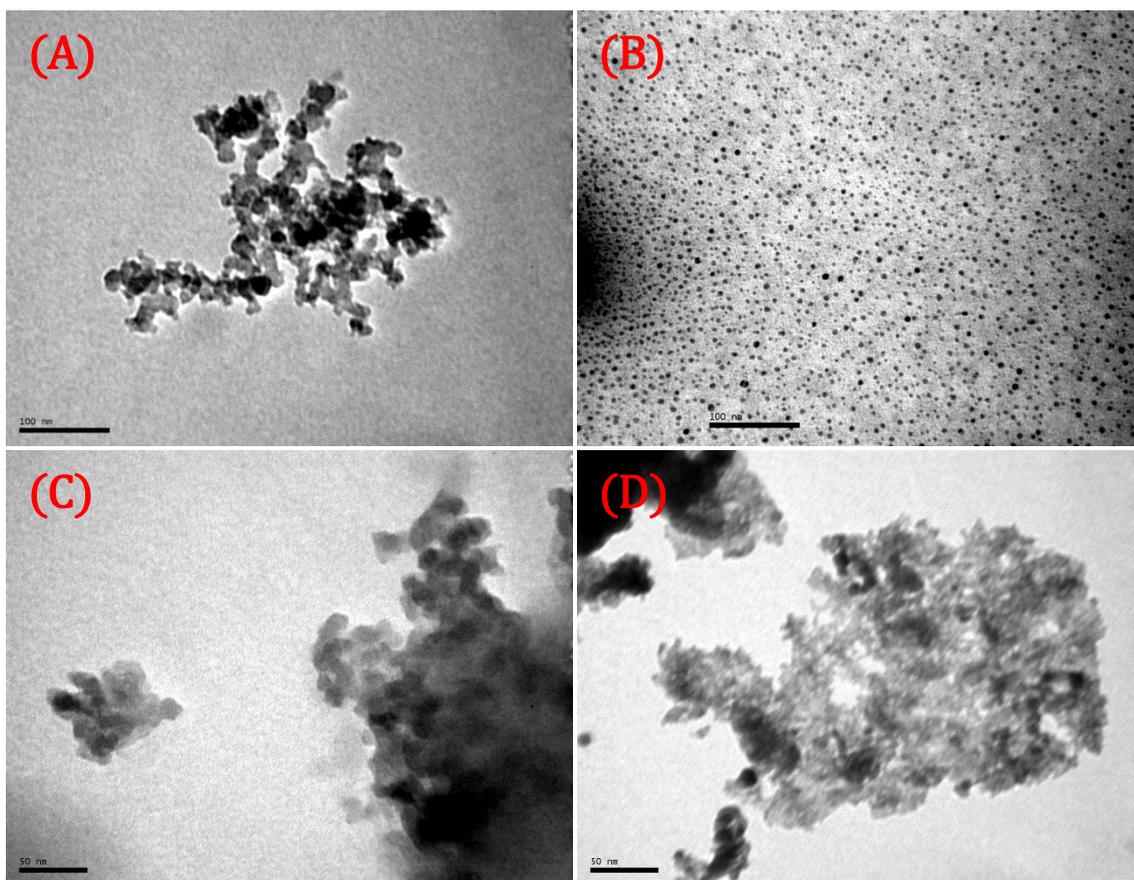


Figura 25. Micrografías TEM de las nanopartículas sintetizadas con etanodiol 2.5 M: (A) As- ThO_2 , (B) As-Cys- ThO_2 ; y con etanodiol 5 M: (C) As- ThO_2 , (D) As-Cys- ThO_2 , y tratadas a 873 K

Se observa que una concentración de 1,2-etanodiol 2.5 M (Fig. 25.A y 25.B) favorece la presencia de nanopartículas muy pequeñas (inferiores a 5 nm). Estos tamaños están en consonancia con los estimados a partir de las ecuaciones de Scherrer y Williamson-Hall (*Apartado 3.1.1.3*). Sin embargo, concentraciones

mayores (Fig. 25.C y 25.D) parecen no influir en el tamaño del nanomaterial. Por tanto, la concentración óptima sería 2.5 M.

Por otra parte, en la Figura 26 se observan las imágenes TEM para el caso de las nanopartículas basadas en ZrO_2 .

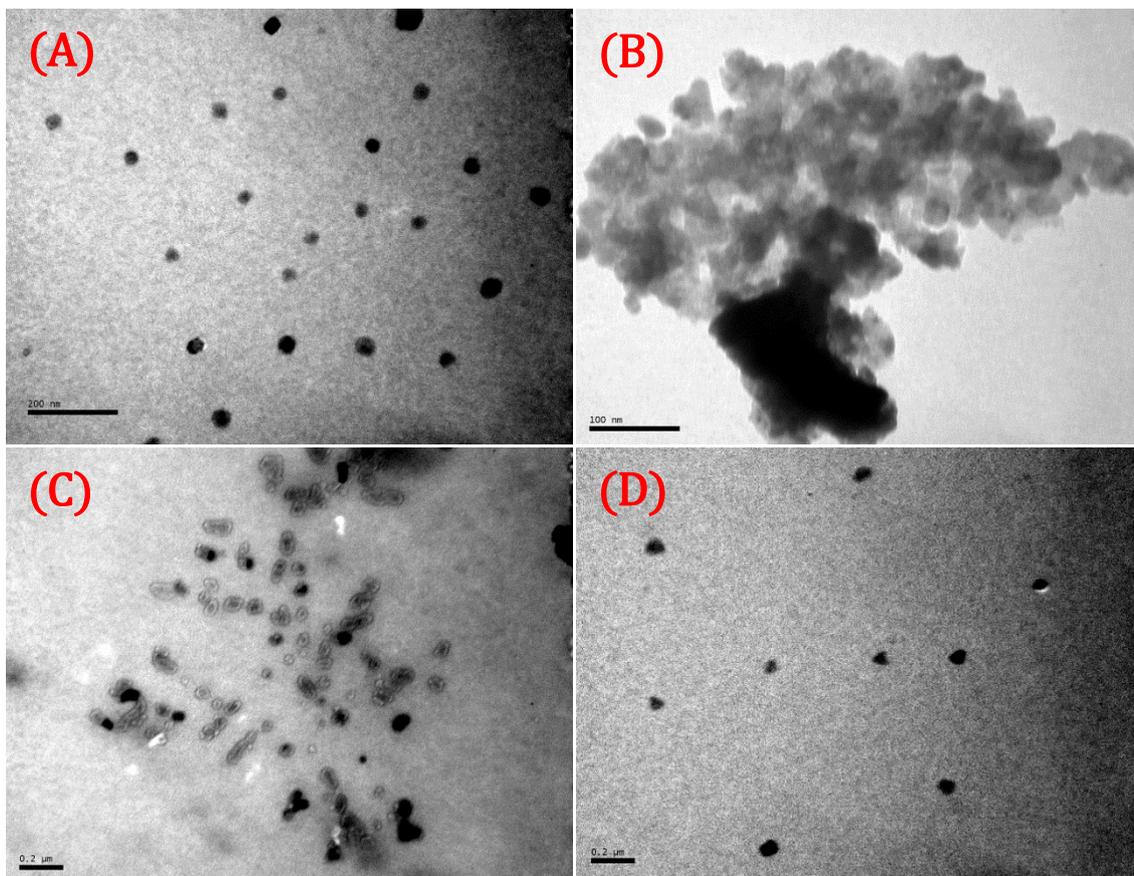


Figura 26. Micrografías TEM de las nanopartículas (A) ZrO_2 , (B) $As-ZrO_2$, (C) $Cys-ZrO_2$, y (D) $As-Cys-ZrO_2$, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

En la Figura 26.A, 26.C y 26.D se pueden observar nanopartículas individuales, de tamaños cercanos a 20 nm. La Figura 26.B muestra nanopartículas de tamaños similares, aunque éstas se encuentran agrupadas. La mayor parte de las nanopartículas son esféricas, sin embargo, en las nanopartículas funcionalizadas dopadas con arsénico aparecen formas triangulares (Fig. 26.D). Este fenómeno puede que se deba a una cristalización diferente del óxido de circonio.

A la vista de estos resultados, se aprecia que el efecto del etanodiol es, como ya se ha expuesto, el de bloquear el crecimiento de las partículas, proporcionando una distribución homogénea de tamaños. Por otro lado, el tratamiento térmico a 873 K permite la liberación de las nanopartículas de la matriz orgánica.

3.1.2.4 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K

Una vez estudiados los anteriores procedimientos de preparación de nanopartículas, se decidió evaluar el efecto de una temperatura superior de calcinación, 1373 K. La Figura 27 muestra las micrográficas TEM características de las nanopartículas basadas en ZrO_2 , sintetizadas con 1,2-etanodiol y tratadas térmicamente a 1373 K.

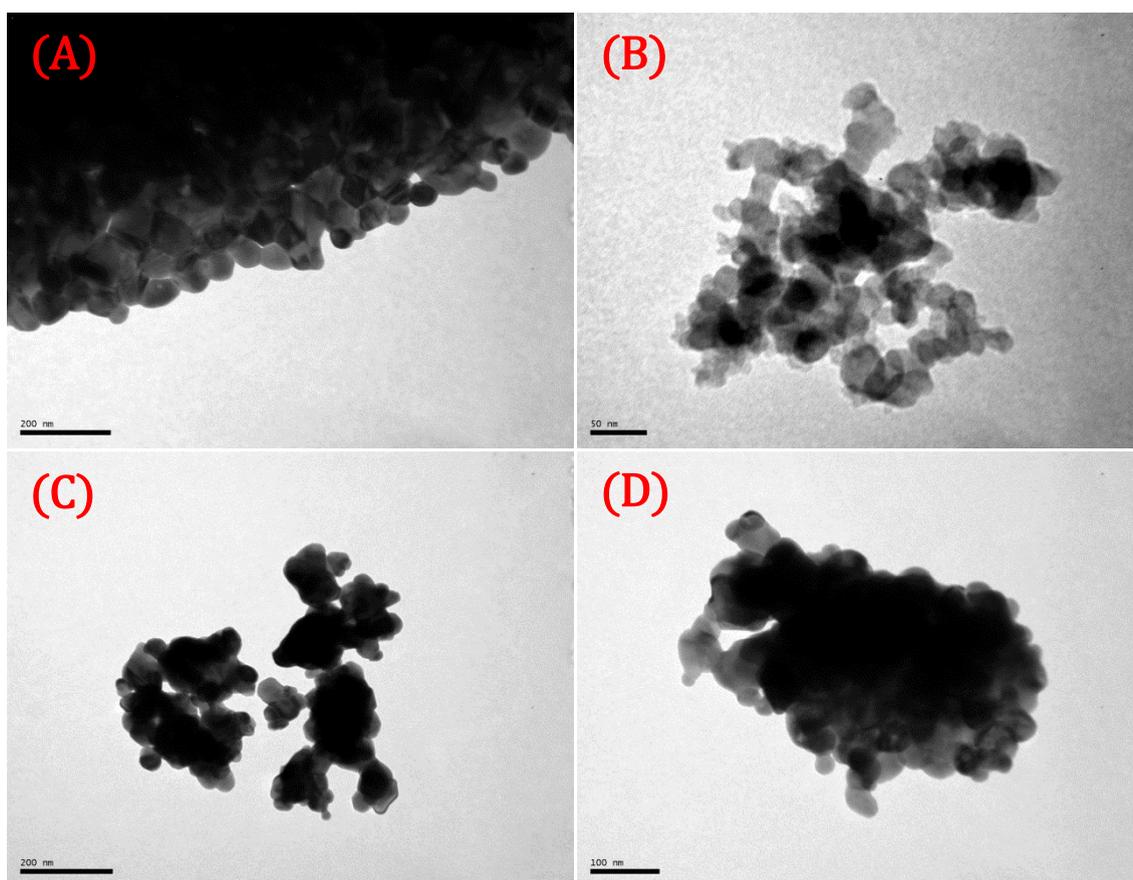


Figura 27. Micrográficas TEM de las nanopartículas (A) ZrO_2 , (B) $As-ZrO_2$, (C) $Cys-ZrO_2$, y (D) $As-Cys-ZrO_2$, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 1373 K

En estas imágenes se observan agrupaciones de nanopartículas acomodadas las unas a las otras. Se puede deducir que las nanopartículas han sufrido un proceso de sinterización. A temperaturas elevadas, aunque menores que el punto de fusión del óxido, se produce una difusión atómica entre las superficies de las nanopartículas, quedando unidas entre sí. De este modo, se establecen uniones muy fuertes entre ellas, mejorando ostensiblemente sus propiedades mecánicas.

Conclusiones sobre los resultados de la técnica TEM

Por tanto, una vez evaluados mediante TEM todos los métodos de síntesis de nanoestructuras, se podría concluir que la presencia de 1,2-etanodiol favorece la reducción del tamaño de nanopartícula. A su vez, la distribución de tamaños parece ser más homogénea en presencia del estabilizante orgánico.

En ausencia de 1,2-etanodiol, la cisteína parece estabilizar el tamaño de las nanopartículas sintetizadas, especialmente en el caso del nanomaterial basado en ThO₂. Las nanopartículas más pequeñas (tamaño menor de 5 nm) resultaron ser las basadas en ThO₂, funcionalizadas con cisteína, estabilizadas con 1,2-etanodiol 2.5 M y calcinadas a 873 K.

Por su parte, la etapa de calcinación ha resultado ser eficaz a la hora de liberar las nanopartículas de la matriz orgánica en la que se encontraban embebidas. El nanomaterial calcinado a 1373 K sufrió un proceso de sinterización.

3.1.3 Microscopio Electrónico de Barrido y Energías Dispersivas de Rayos X

Al igual que se hizo con las técnicas XRD y TEM, se caracterizó la síntesis de nanopartículas mediante un Microscopio Electrónico de Barrido acoplado a un detector de Energías Dispersivas de Rayos X. De este modo se evaluaron los diferentes procedimientos de síntesis, a fin de determinar la morfología de las nanopartículas, así como su composición elemental.

3.1.3.1 Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

La Figura 28 recoge dos imágenes de electrones secundarios de las nanopartículas basadas en ThO₂ no funcionalizadas.

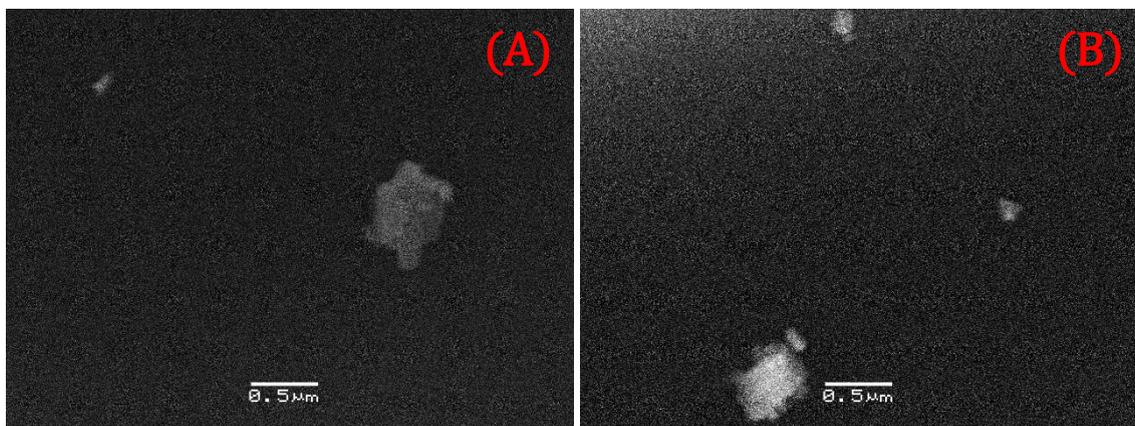


Figura 28. Micrográficas de electrones secundarios de las nanopartículas (A) ThO₂, y (B) As-ThO₂, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Se puede apreciar que, al igual que se observó con el TEM, la síntesis de nanoestructuras de ThO₂ no funcionalizadas mediante este procedimiento no es adecuada, ya que en las imágenes aparecen pocas partículas de gran tamaño. Es probable que estas partículas sean aglomerados de nanopartículas.

Los espectros ED-XRS obtenidos de las nanopartículas basadas en ThO₂ se muestran en la Figura 29. En estos espectros se pone de manifiesto la presencia de los picos correspondientes al oxígeno y al torio, a parte del relativo al carbono, procedente del adhesivo de grafito empleado en el soporte del SEM. El pico del oxígeno se debe, principalmente, a las nanopartículas, si bien también podría derivar de algún residuo del disolvente en la superficie del nanomaterial. Si se observan los espectros correspondientes a las nanopartículas funcionalizadas (azul y verde) y a las nanopartículas dopadas (rojo y verde), se aprecia la presencia de un pico de azufre, en el primer caso, y de arsénico, en el segundo. Para las nanoestructuras funcionalizadas y dopadas con arsénico (línea verde), aparecen ambos picos.

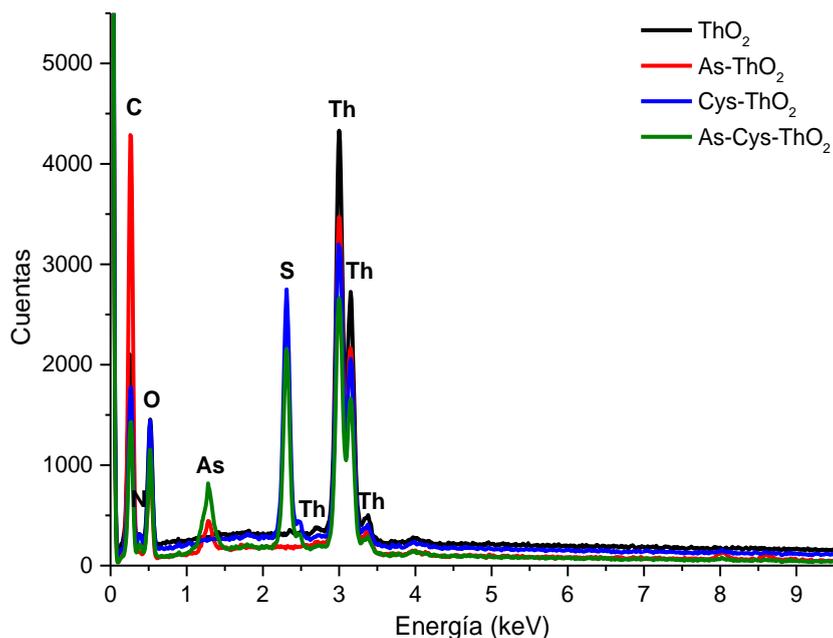


Figura 29. Espectros ED-XRS de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas sin etanodiol y tratadas térmicamente a 348 K

Por otra parte, si se atiende a la intensidad del pico de torio, proporcional al número de cuentas, se observa que éste decrece en presencia de arsénico y/o cisteína, de acuerdo con la siguiente secuencia:

$$I_{Th}(\text{ThO}_2) > I_{Th}(\text{As} - \text{ThO}_2) > I_{Th}(\text{Cys} - \text{ThO}_2) > I_{Th}(\text{As} - \text{Cys} - \text{ThO}_2)$$

En cuanto a los picos de azufre y de arsénico, podemos determinar que el pico del arsénico es más intenso en presencia de cisteína, lo cual podría indicar que la capacidad de retención de las nanopartículas funcionalizadas es mayor que la de las nanopartículas de ThO_2 no funcionalizadas.

En la Figura 30 se observan dos imágenes SEM de las nanopartículas de ZrO_2 dopadas con arsénico, sin funcionalizar y funcionalizadas. Se aprecian numerosas partículas submicrométricas formadas por aglomeraciones de nanopartículas. En la Figura 30.B se observan mejor estas agrupaciones, las cuales presentan formas irregulares y tamaños medios similares a los encontrados mediante el TEM. Por otro lado, también se aprecian manchas blanquecinas en el adhesivo de grafito: cuanto

más refractario sea el material a los electrones, más claro aparecerá en la imagen. Debido a esto, se intuye que estas manchas se deben a numerosas nanoestructuras libres, ya que son más refractarias a los electrones que el grafito.

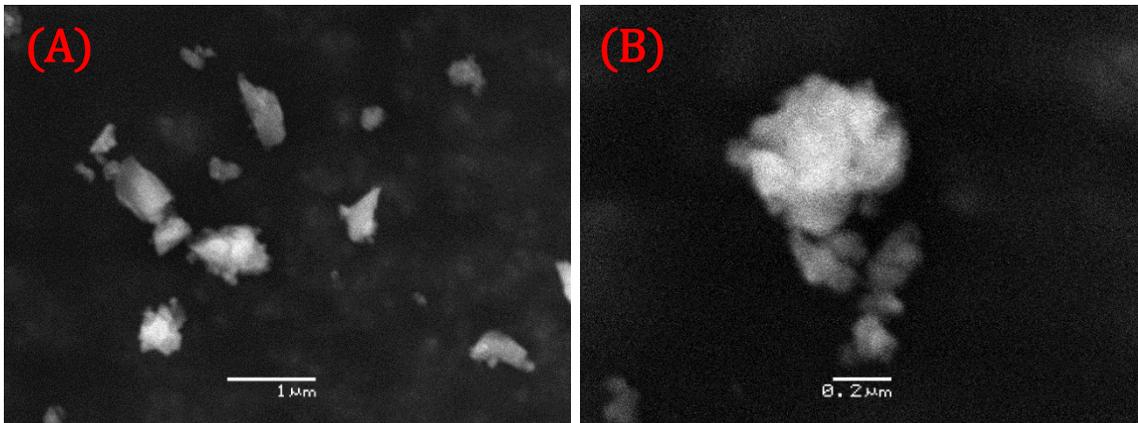


Figura 30. Micrográficas de electrones secundarios de las nanopartículas (A) As-ZrO₂, y (B) Cys-ZrO₂, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

Los espectros ED-XRS de las nanopartículas basadas en ZrO₂, sintetizadas mediante este procedimiento se recogen en la Figura 31.

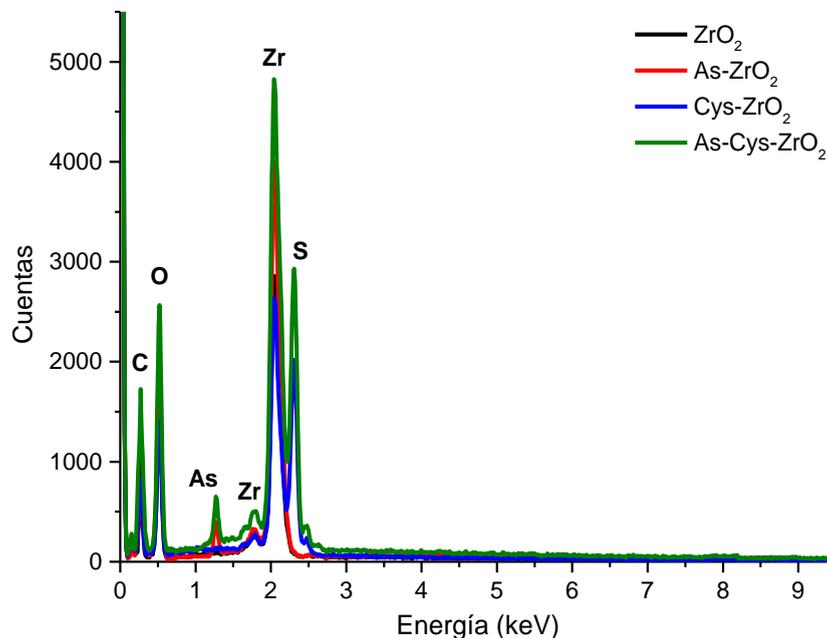


Figura 31. Espectros ED-XRS de las nanopartículas de ZrO₂, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

Además, se observan los picos característicos de otros elementos, como el arsénico (líneas roja y verde) y azufre (azul y verde). De este modo, se confirma la presencia de cisteína y arsénico en la superficie de las nanopartículas de ZrO_2 . Teniendo en cuenta estos picos, se comprueba que el de arsénico es mayor si la *L*-cisteína está presente, indicando una retención favorable de arsénico por el nanomaterial funcionalizado, como ocurría en el caso de las nanopartículas de ThO_2 .

Finalmente, si se compara la intensidad de los picos de arsénico de las nanopartículas de ThO_2 (Fig. 29) y de ZrO_2 (Fig. 31), se puede comprobar que en el caso de las primeras los picos son mayores.

3.1.3.2 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

En la Figura 32 se observa una imagen de electrones secundarios de las nanopartículas basadas en ThO_2 , sintetizadas con 1,2-etanodiol y tratadas a 348 K. En ella se aprecian agregados de nanopartículas. Estos resultados están en consonancia con las imágenes TEM, anteriormente descritas.

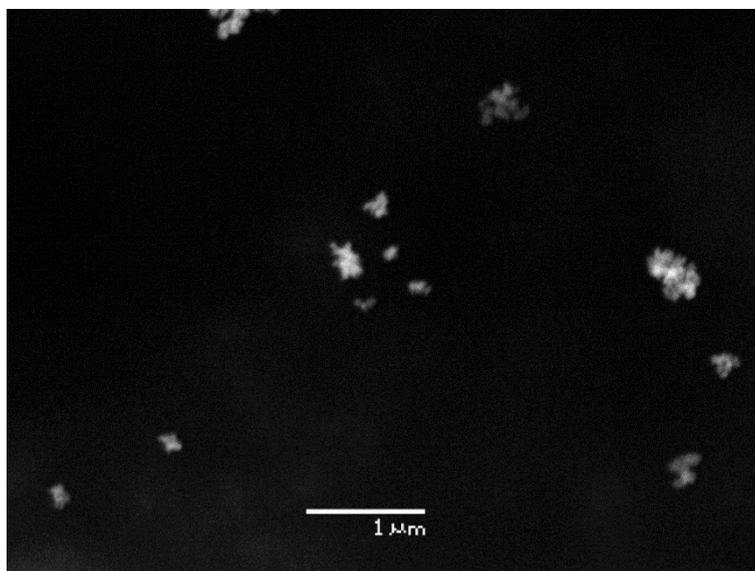


Figura 32. Micrografía de electrones secundarios de las nanopartículas As-Cys- ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Mediante la técnica de SEM-ED/XRS, se ha obtenido una serie espectros de rayos X correspondientes a las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas empleando 1,2-etanodiol. Estos espectros se recogen en la Figura 33.

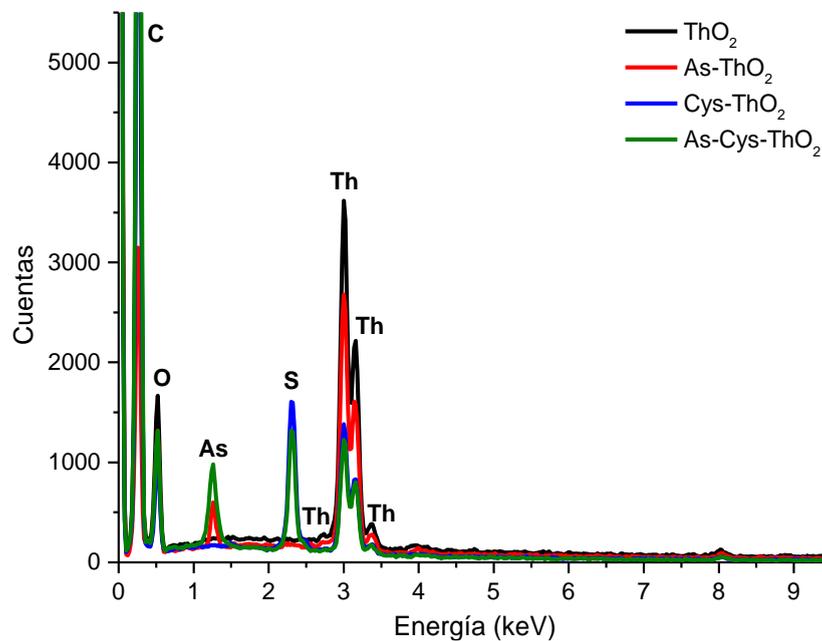


Figura 33. Espectros ED-XRS de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Se puede observar que los picos de azufre y torio decrecen si se comparan con los obtenidos para las nanopartículas sintetizadas sin etanodiol (Fig. 29), debido probablemente a que éste ocupa parte de la superficie de las nanopartículas, haciendo que su proporción disminuya. En cuanto al arsénico:

1. En presencia del estabilizante, hay un reparto más homogéneo del arsénico en las nanopartículas. Esto puede deberse a una mayor concentración de arsénico, o a que el proceso de dopado es más uniforme.

2. La intensidad del pico del arsénico es mayor para las nanopartículas sintetizadas con estabilizante que sin él. Puede deberse al menor tamaño de las nanopartículas sintetizadas de este modo, permitiendo una mayor fijación, tanto de arsénico (si las nanopartículas no están funcionalizadas) como de cisteína.

Para el caso de las nanopartículas basadas en ZrO_2 , la Figura 34 muestra varias imágenes SEM. En ellas se distinguen principalmente agrupaciones de nanopartículas, por lo que la información útil es limitada en este caso.

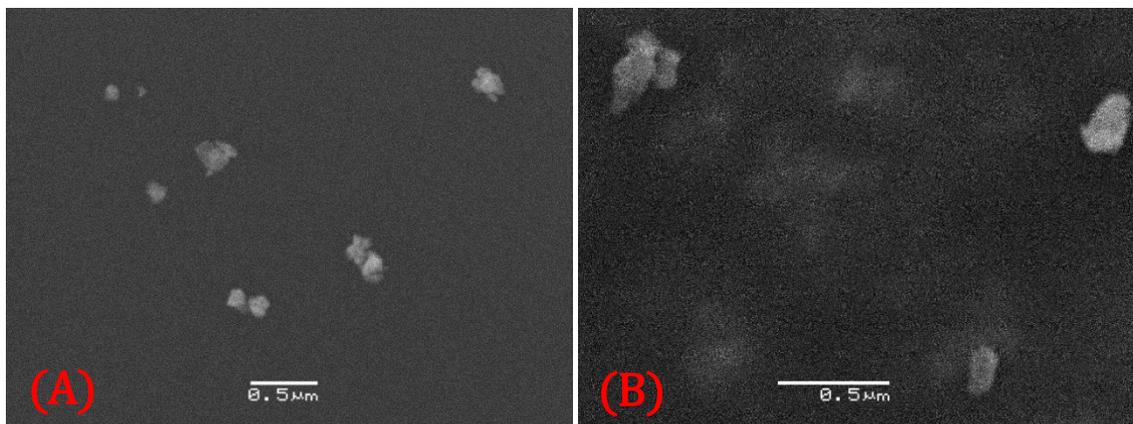


Figura 34. Micrografía de electrones secundarios de las nanopartículas A) $As-ZrO_2$, y B) $Cys-As-ZrO_2$, sintetizadas con 1,2-etanodiol y tratadas a 348 K

La Figura 35 recoge los espectros ED-XRS de las diferentes nanoestructuras basadas en ZrO_2 .

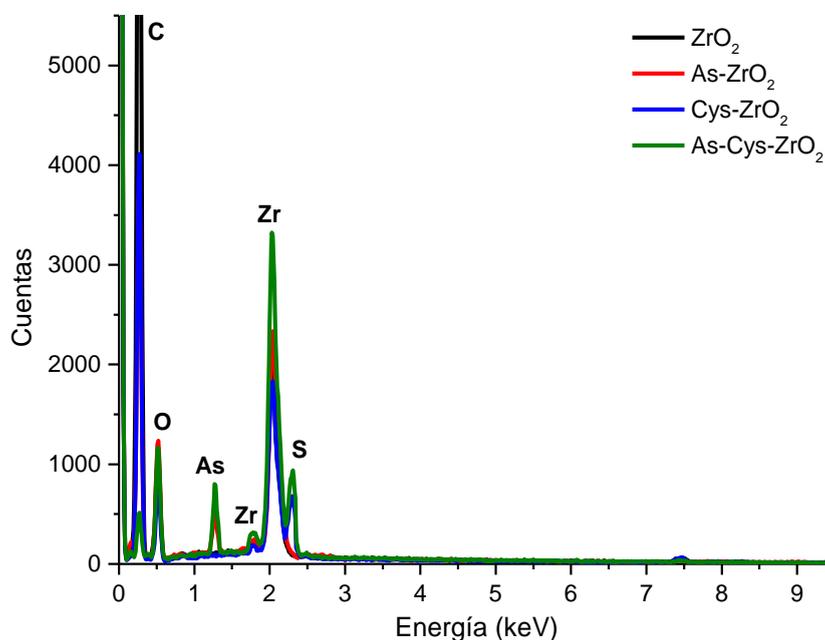


Figura 35. Espectros ED-XRS de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Entre los espectros de esta figura y los obtenidos a partir de las nanopartículas sintetizadas sin 1,2-etanodiol (Fig. 31) se establecen algunas diferencias:

1. Los picos correspondientes al circonio decrecen respecto a los observados para las nanoestructuras sintetizadas sin etanodiol. Esto puede deberse a que la cantidad de circonio es menor en este caso debido a la inclusión del etanodiol.

2. Debido a la misma razón, los picos de azufre también disminuyen.

3. Las señales de arsénico son mayores que en el anterior procedimiento, probablemente debido al menor tamaño de las nanopartículas.

3.1.3.3 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K

La Figura 36 recoge las micrografías SEM de las nanopartículas de ThO_2 calcinadas a 873 K. En ellas se pueden observar distintas agrupaciones de nanopartículas, las cuales están formadas por nanoestructuras de pequeño tamaño.

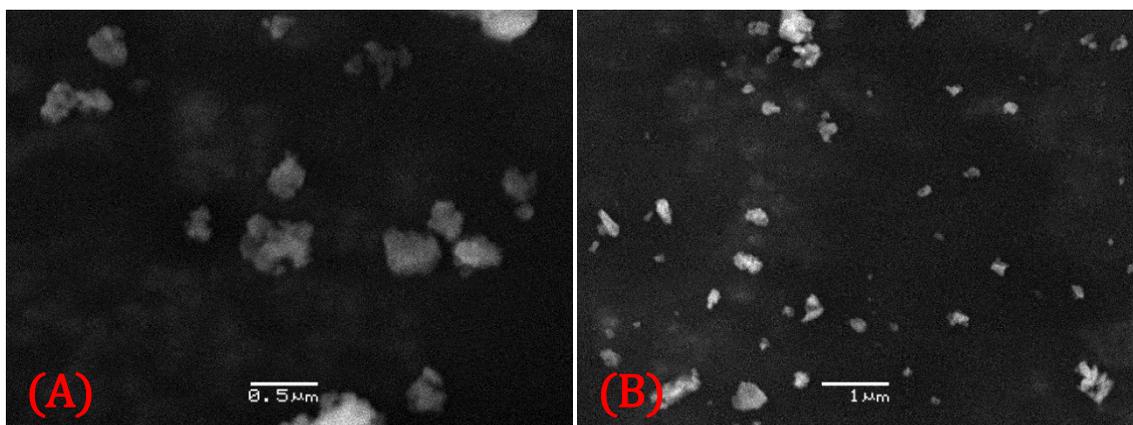


Figura 36. Micrografías de electrones secundarios de las nanopartículas A) ThO_2 , y B) As-ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

También se obtuvieron los espectros de rayos X de las nanopartículas de ThO_2 calcinadas a 873 K (Fig. 37).

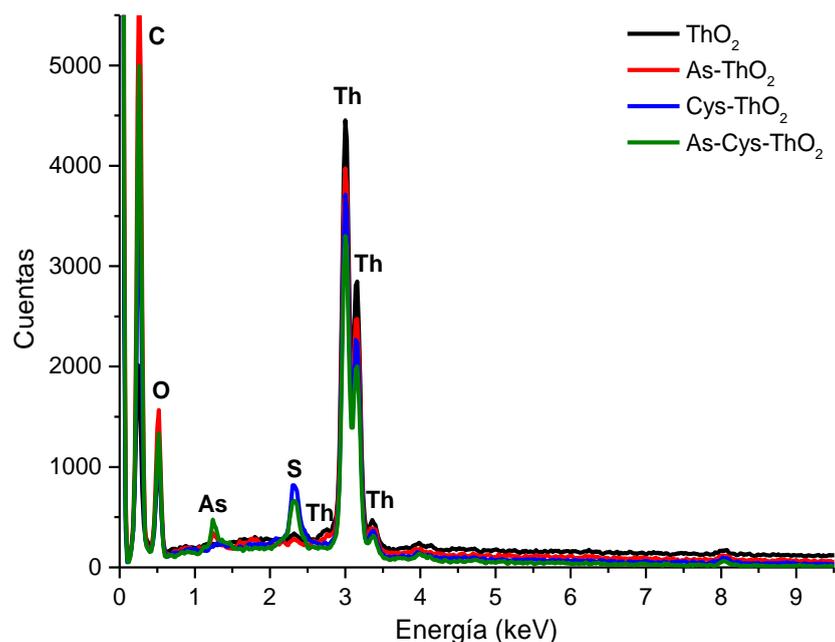


Figura 37. Espectros ED-XRS de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

Se observan los picos del oxígeno y del torio, además del de azufre, en el caso de nanopartículas funcionalizadas, y de arsénico, en el caso de nanopartículas dopadas.

Los análisis de ED-XRS ponen de manifiesto que las nanopartículas preparadas mediante este procedimiento muestran picos de azufre más pequeños que los obtenidos con los métodos anteriores. Esto podría explicarse por la acción de la temperatura, que produce óxidos de azufre, alguno de los cuales son volátiles a esas temperaturas. A su vez, el pico de arsénico aparece tanto en nanopartículas funcionalizadas como en las no funcionalizadas. Se comprueba que este pico es más débil en los espectros de las nanopartículas calcinadas a 873 K que en los obtenidos para las nanoestructuras preparadas mediante el resto de los procedimientos.

Finalmente, también se evaluó el efecto de la concentración del estabilizante orgánico en la síntesis de nanopartículas de ThO_2 (Fig. 38).

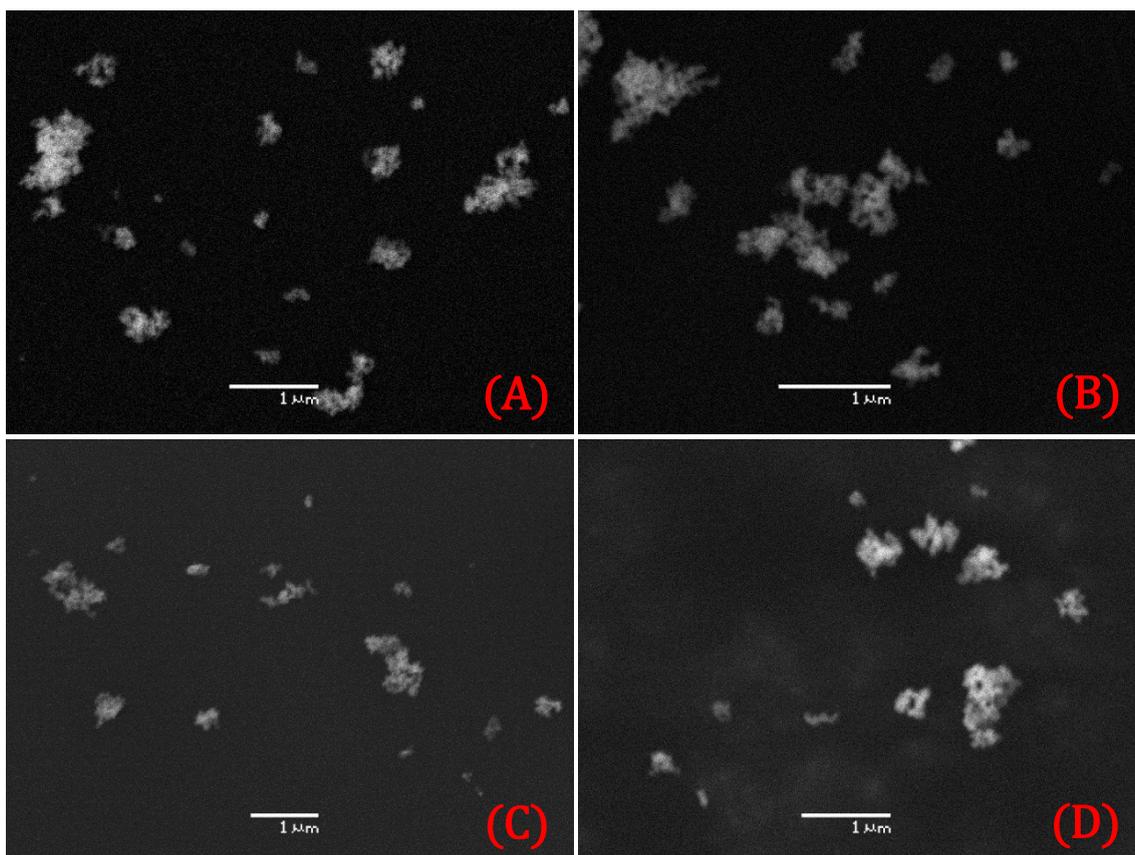


Figura 38. Micrografías de las nanopartículas sintetizadas con etanodiol 2.5 M: (A) As-ThO₂, (B) As-Cys-ThO₂; y con etanodiol 5 M: (C) As-ThO₂, (D) As-Cys-ThO₂, y tratadas a 873 K

Los resultados obtenidos empleando el SEM no son concluyentes en este sentido, si bien, con la técnica TEM ya se pudo determinar que concentraciones mayores de 2.5 M de 1,2-etanodiol eran innecesarias a la hora de disminuir el tamaño de partícula.

Cuando se evaluaron las nanopartículas de óxido de circonio sintetizadas con 1,2-etanodiol y tratadas térmicamente a 873 K, se puso de manifiesto el pequeño tamaño del nanomaterial sintetizado, como muestra la Figura 39. La calcinación eliminó gran parte de la materia orgánica, aunque se siguen apreciando aglomeraciones de nanopartículas a estas temperaturas.

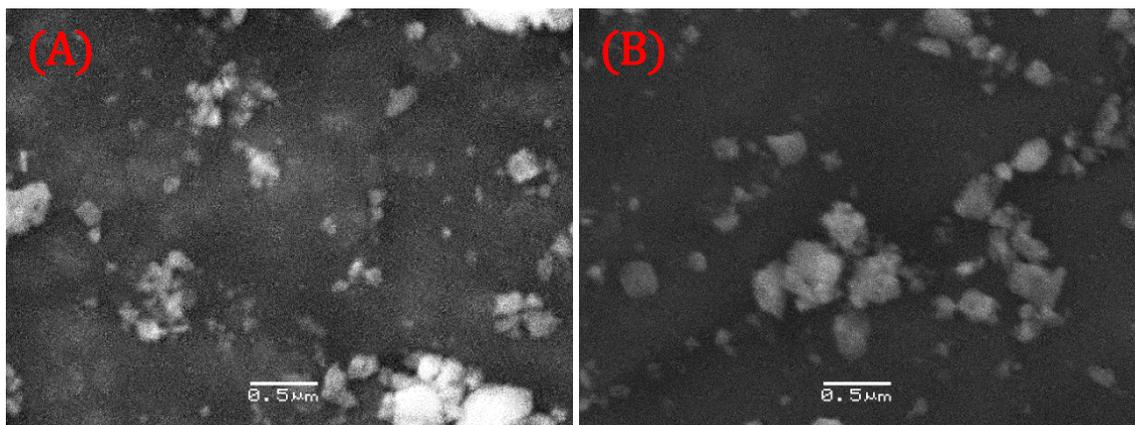


Figura 39. Micrográficas de electrones secundarios de las nanopartículas (A) ZrO_2 , y (B) $As-ZrO_2$, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

Simultáneamente, se obtuvieron una serie de espectros ED-XRS, que se recogen en la Figura 40. Comparando los espectros de estas nanopartículas tratadas a 873 K con las tratadas a 348 K se observa que:

1. Los picos de circonio crecen respecto a los obtenidos a partir de las nanopartículas preparadas con etanodiol y tratadas térmicamente a 348 K. La calcinación a esta temperatura parece reducir considerablemente la carga orgánica de las nanopartículas, aumentando la proporción de ZrO_2 .

2. Las señales de azufre descienden, como se observó para el caso de las nanopartículas de ThO_2 .

3. Las señales de arsénico disminuyen respecto a las obtenidas para las nanopartículas preparadas mediante el método anterior de síntesis. Es probable que la calcinación retire arsénico de las nanopartículas, ya que muchos compuestos de arsénico son volátiles. Además, si el arsénico se encontrase unido al azufre, la disminución de éste repercutiría en la del arsénico.

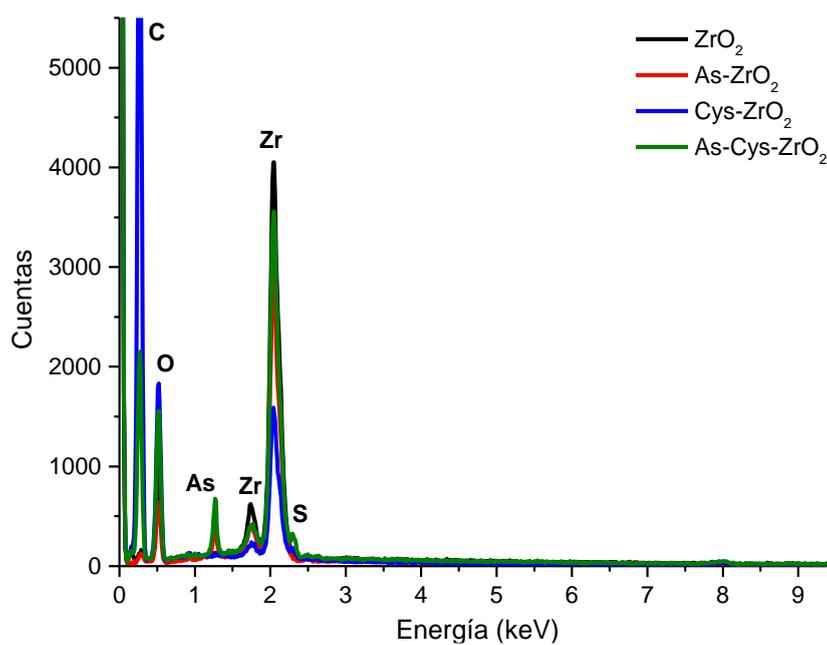


Figura 40. Espectros ED-XRS de los nanomateriales de ZrO_2 , sintetizados con etanodiol y tratados a 873 K

3.1.3.4 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K

La Figura 41 muestra una imagen de electrones secundarios del nanomaterial basado en ZrO_2 , sintetizado con 1,2-etanodiol y tratado térmicamente a 1373 K.

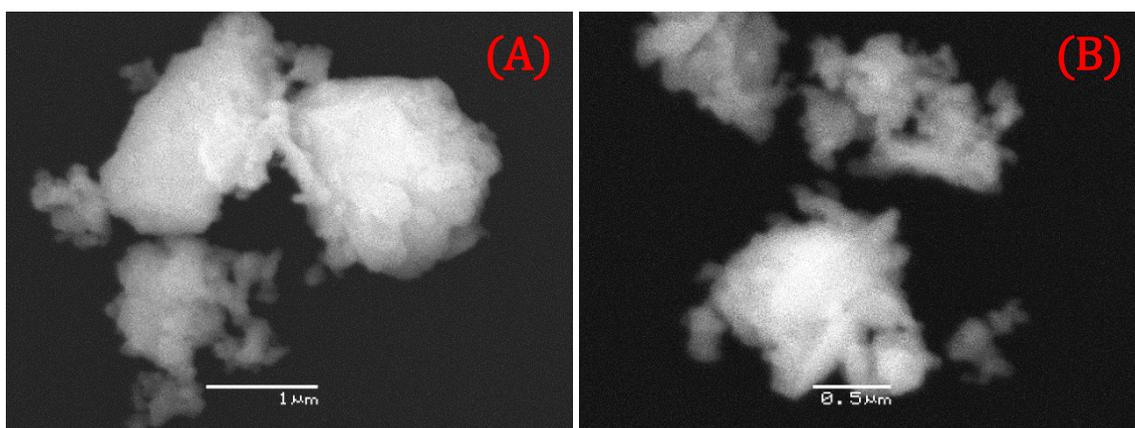


Figura 41. Micrografía de electrones secundarios de las nanopartículas (A) ZrO_2 y (B) $As-ZrO_2$, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 1373 K

Al contrario que en las imágenes de electrones secundarios proporcionadas por las nanopartículas sintetizadas mediante otros métodos, con este procedimiento se pueden distinguir las nanoestructuras que componen las aglomeraciones.

La Figura 42 recoge los espectros ED-XRS de las nanoestructuras sintetizadas mediante este procedimiento. En contraste con los espectros obtenidos para los procedimientos de síntesis anteriores, no se observan picos de azufre y arsénico aunque se hayan empleado los reactivos necesarios.

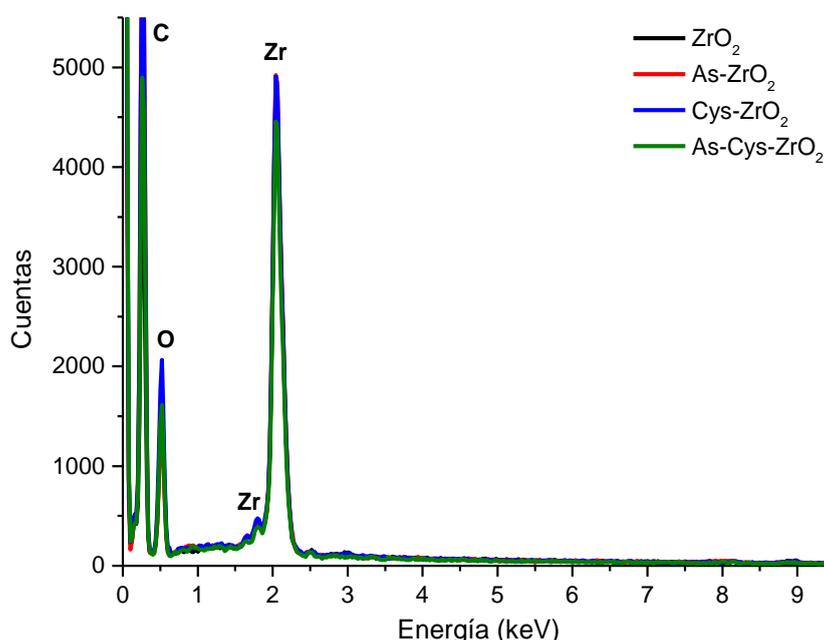


Figura 42. Espectros ED-XRS de los nanomateriales de ZrO_2 , sintetizados con etanodiol y tratados a 1373 K

La intensidad relativa de los picos de circonio es la mayor de los diferentes procedimientos de síntesis estudiados. Esta elevada altura de pico podría deberse a que se ha eliminado totalmente la materia orgánica, haciendo que la práctica totalidad del nanomaterial sea ZrO_2 . Esta misma razón podría aplicarse a la ausencia de los picos de azufre y de arsénico, si el nanomaterial ha sido tratado térmicamente a 1373 K. Estos resultados ponen de manifiesto que la calcinación a temperaturas tan elevadas elimina completamente dichos elementos.

Conclusiones sobre los resultados de la técnica SEM/ED-XRS

Por tanto, mediante las imágenes de electrones secundarios, se podría determinar que el empleo del estabilizante orgánico permite la obtención de un mayor número de nanopartículas. Sin embargo, esta técnica no permitió obtener información acerca del tamaño ni de la morfología de las nanopartículas, puesto que sólo se observaron agregados de éstas.

Por otra parte, mediante los espectros ED-XRS se ha puesto de manifiesto que la calcinación consigue liberar el nanomaterial de la matriz orgánica. A su vez, estas altas temperaturas han reducido la cantidad de azufre y arsénico presente en las nanopartículas, probablemente debido a la volatilización de distintas especies de los mismos. Además, se ha comprobado la relación existente entre la presencia de cisteína y la unión del arsénico a las nanopartículas, ya que el pico del arsénico en las nanoestructuras funcionalizadas es mayor que en sus homólogas no funcionalizadas.

3.2 Caracterización espectrométrica de las nanopartículas cerámicas

Tras haber determinado, mediante Difracción de Rayos X, Microscopía Electrónica de Transmisión y Microscopía Electrónica de Barrido acoplada a un analizador de Energías Dispersivas de Rayos X, que el mejor procedimiento de síntesis de nanopartículas cerámicas consistió en la adición de estabilizante orgánico y un posterior tratamiento térmico a 873 K, se trató de caracterizar espectrométricamente las nanopartículas así sintetizadas. A su vez, se evaluaron las características vibracionales y luminiscentes del nanomaterial sintetizado con el resto de procedimientos, con fines comparativos.

3.2.1 Espectrometría Raman

Previamente a la caracterización de las nanopartículas mediante Espectrometría Raman, se efectuaron una serie de análisis de tres estándares sólidos de *L*-cisteína (compacto, triturado y tratado a 348 K) y de una muestra sólida del complejo As^(III)-Cys, sintetizada en el laboratorio, a fin de obtener los espectros de la composición básica de las nanopartículas.

Se efectuó el análisis de la *L*-cisteína sin tratar, tanto triturada como compacta, obteniendo el mismo espectro para ambos. Por ello, en la Figura 43 se muestra el espectro Raman del reactivo sólido sin tratar y el del tratado a 348 K.

En esta figura se aprecia que los espectros Raman de los estándares sólidos obtenidos en este trabajo son similares a los publicados por el grupo de Pawlukojć (Pawlukojć *et al.* 2005), ya que en ambos casos se emplearon las mismas muestras de *L*-cisteína. Sin embargo, se han observado dos pequeñas diferencias, relacionadas ambas con el grupo NH₃⁺. Por un lado, aparecieron dos picos a 1143 y 1526 cm⁻¹, que han sido atribuidos a las vibraciones de balanceo (Rajkumar *et al.* 1998) y flexión simétrica en el plano (Stoica *et al.* 2009) del grupo NH₃⁺. Por otro lado, el pico Raman

a 3190 cm^{-1} , que se ha asignado a la vibración de tensión asimétrica de este grupo (Pawlukojć *et al.* 2005), no aparece en este trabajo.

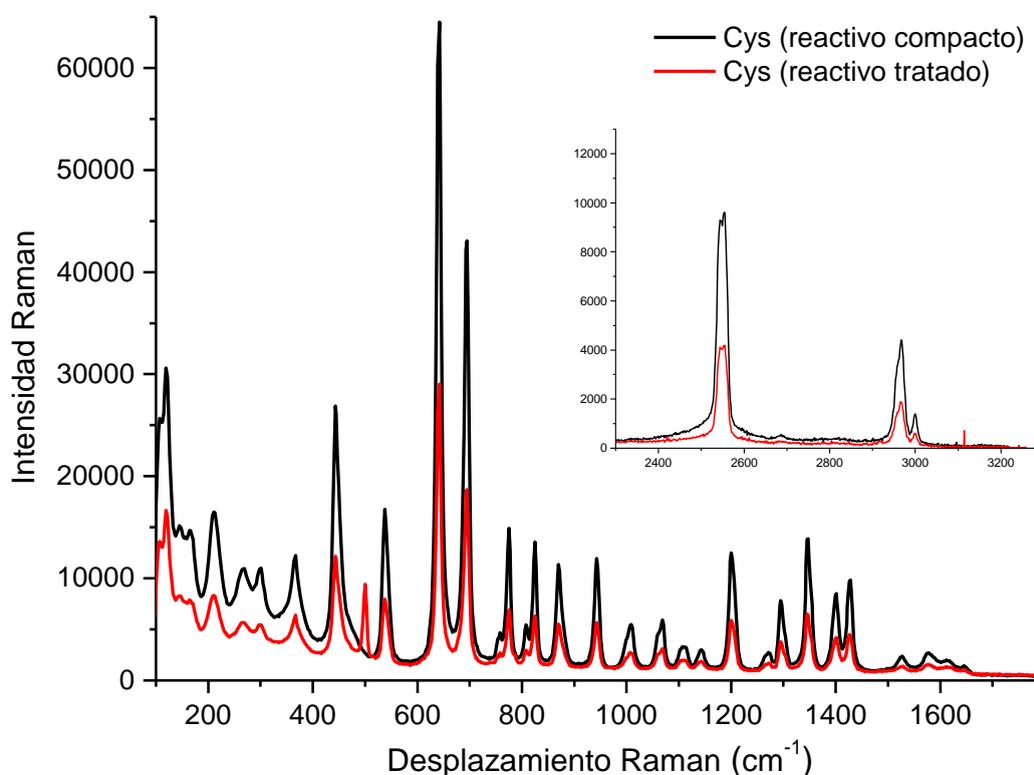
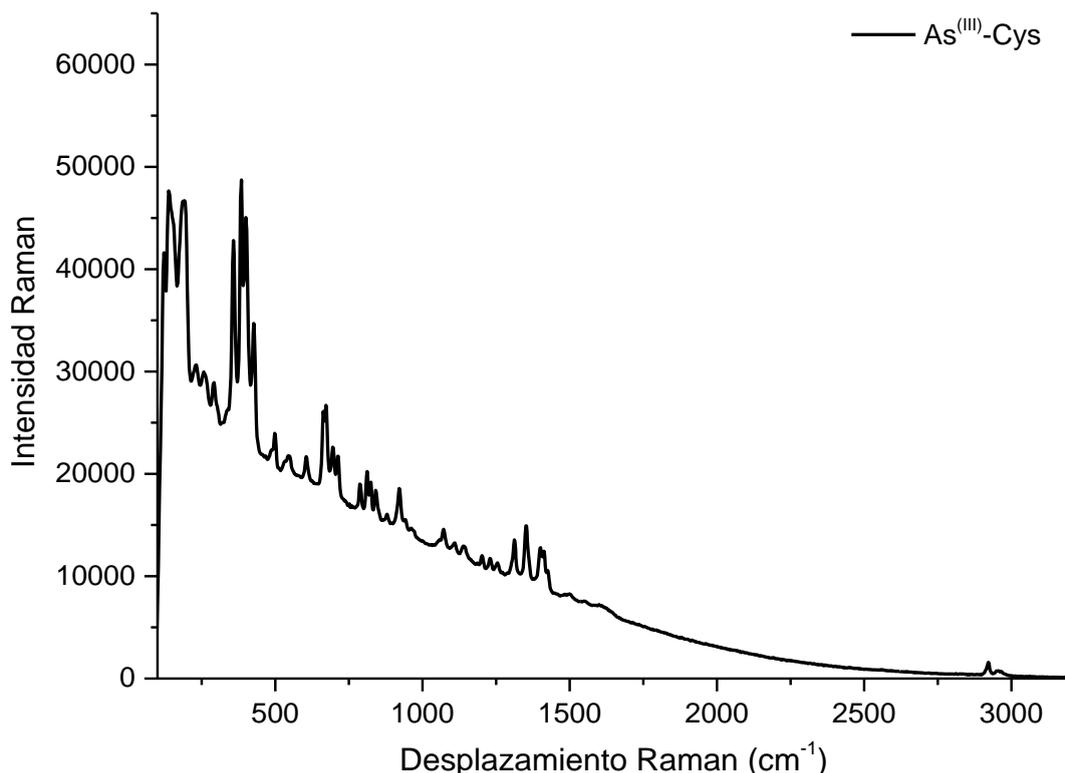


Figura 43. Espectros Raman del reactivo de *L*-cisteína sin tratamiento y tratado a 348 K

Al comparar los espectros Raman del reactivo comercial y de la *L*-cisteína tratada a 348 K, se observó como única diferencia la presencia de un pico a 500 cm^{-1} , atribuido a la vibración de tensión simétrica del enlace de puente disulfuro (SS) de la cistina (Edwards *et al.* 1998, Teixeira *et al.* 2007). Esto podría significar que, en disolución, la *L*-cisteína se oxida parcialmente a cistina. A su vez, se han encontrado picos a $146, 164, 943, 2547$ y 2553 cm^{-1} , todos ellos relacionados con la vibración del grupo tiol libre (Pawlukojć *et al.* 2005), lo que indica la presencia tanto de cistina como de cisteína de manera simultánea en el reactivo tratado.

En cuanto al complejo sólido $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys, en la Figura 44 se muestra el espectro Raman obtenido cuando se pusieron en contacto $2500\text{ }\mu\text{g/mL}$ de $\text{As}^{(\text{III})}$ con 0.25 M de *L*-cisteína.

Figura 44. Espectro Raman del complejo sólido $\text{As}^{\text{(III)}}\text{-Cys}$

Se puede observar que las mayores diferencias entre los espectros Raman del complejo sólido $\text{As}^{\text{(III)}}\text{-Cys}$ y los obtenidos de los estándares de *L*-cisteína se localizan en la región de frecuencias menores de 900 cm^{-1} , donde aparecen los modos vibracionales del grupo As-S. La banda Raman a 138 cm^{-1} se ha asignado, generalmente, a los modos de flexión del enlace As-S (Elgren, Wilcox 1989). Sin embargo, los principales modos de vibración del grupo As-S se localizaron a 357 , 385 , 400 y 427 cm^{-1} (Teixeira *et al.* 2007). La presencia del pico débil a 290 cm^{-1} , atribuida a la vibración de tensión asimétrica del AsS_3 (Kondrat *et al.* 2010), junto con otra banda Raman a 184 cm^{-1} , que generalmente se ha asignado al grupo $\alpha\text{-As}_4\text{S}_4$ (Němec *et al.* 2005), sugiere que el arsénico se ha complejado trivalentemente (Teixeira, Ciminelli 2005) en el complejo sólido $\text{As}^{\text{(III)}}\text{-Cys}$. Aunque parece que la principal unión del arsénico tiene lugar mediante el grupo sulfhidrilo, se asume que algunos enlaces AsO también están presentes, al observarse pequeños picos Raman a 842 y 922 cm^{-1} , atribuidos a los modos de tensión simétrica y asimétrica del grupo AsO, respectivamente (Frost *et al.* 2007).

Aparecen nuevos picos a 318, 662 y 675 cm^{-1} , que se asignaron a las vibraciones del enlace CS (Nandy *et al.* 1973), lo cual sugiere la presencia de homodímeros Cys-Cys (Podstawka *et al.* 2004). Por otra parte se ha identificado un pico a 196 cm^{-1} , relativo a la vibración de flexión del grupo CCS (Liu *et al.* 2011). La existencia de un pico muy débil a 500 cm^{-1} , correspondiente a la vibración del enlace S-S, corroboraría la formación de homodímeros Cys-Cys en el complejo As^{III} -Cys.

Una vez que se llevaron a cabo los estudios preliminares para caracterizar los estándares sólidos de *L*-cisteína y del complejo As^{III} -Cys, se procedió a caracterizar las nanopartículas sintetizadas empleando los cuatro procedimientos estudiados.

3.2.1.1 Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

En la Figura 45 se muestran los espectros Raman de las nanopartículas basadas en ThO_2 , funcionalizadas y sin funcionalizar, así como en presencia y ausencia de arsénico. Se encuentra presente en todos ellos un pico a 467 cm^{-1} , que ha sido asignado, según la bibliografía, a la vibración del enlace Th-O, único pico activo en Raman de este enlace (Castro *et al.* 2007, Dash *et al.* 2002). En los espectros de las nanopartículas no funcionalizadas (líneas roja y negra) aparece una banda ancha en el intervalo de desplazamiento Raman de 320 a 470 cm^{-1} , debida probablemente a la estructura amorfa de las nanopartículas. En los espectros del nanomaterial funcionalizado, la vibración del enlace Th-O se pone de manifiesto como un pequeño pico, mucho menos pronunciado que en los espectros de las nanopartículas no funcionalizadas. Esto podría deberse a que la cisteína recubre toda la superficie del nanomaterial, dificultando la dispersión del óxido de torio.

En los espectros de las nanopartículas de ThO_2 funcionalizadas aparecen los picos a 170 y 499 cm^{-1} , asignados a los enlaces S-H y S-S, respectivamente. Además, en el espectro del nanomaterial funcionalizado no dopado aparece un pico a 540 cm^{-1} , que la bibliografía asigna a la vibración del enlace S-S (Teixeira *et al.* 2007). Estos picos evidenciarían que la funcionalización con *L*-cisteína se ha llevado a cabo correctamente, y que se ha producido un proceso de oxidación de ésta a cistina.

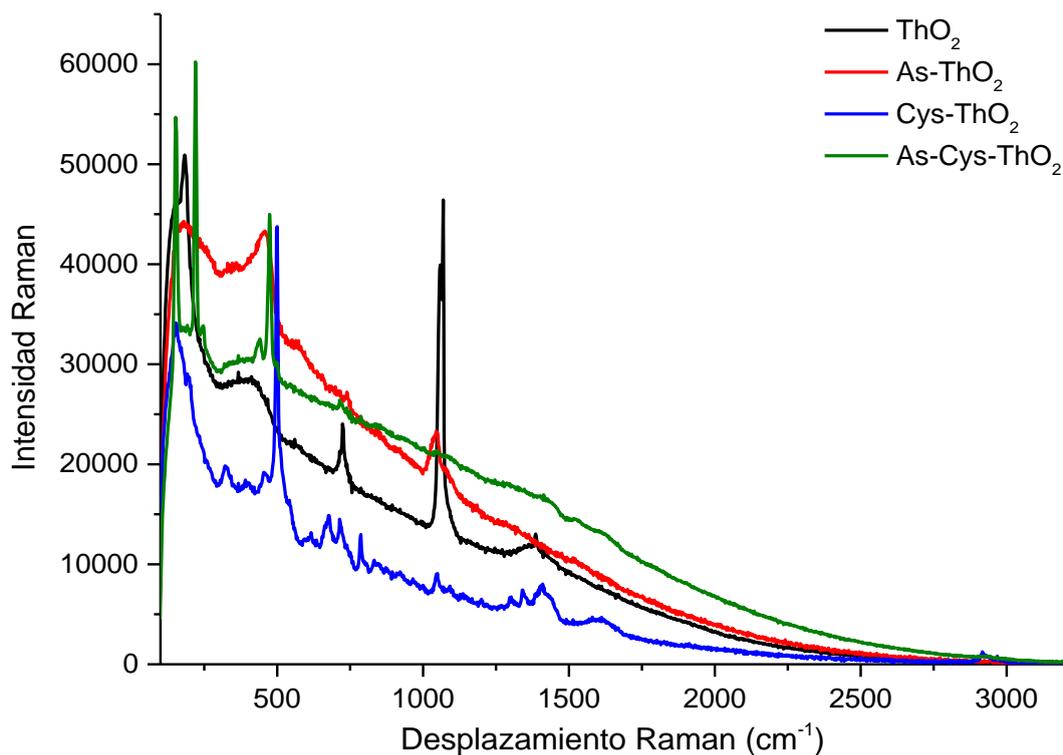


Figura 45. Espectros Raman de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

Se ha comprobado la presencia de arsénico en los espectros de las nanopartículas dopadas (líneas roja y verde). En el espectro de las nanopartículas dopadas y no funcionalizadas aparecen picos a 366 cm^{-1} , asignado a la vibración de la molécula de As_2O_3 (Quagliano 2000), a 571 y a 740 cm^{-1} , debidos ambos a la vibración del enlace As-O-As (Verweij 1979) o del enlace As-OH (Goldberg, Johnston 2001). En el espectro de las nanopartículas funcionalizadas y dopadas con arsénico también aparece este último pico, desplazado hacia 715 cm^{-1} . Además, se observa un pico a 244 cm^{-1} , relativo a la vibración As-O-As (Verweij 1979).

Los espectros Raman de las nanopartículas no funcionalizadas muestran un pico a 1067 cm^{-1} , correspondiente a la vibración del enlace OH . Por otra parte, los picos a 725 , 1055 y 1385 cm^{-1} se relacionan con la vibración de la molécula de nitrato (Petrosyan, Sukiasyan 2008). En el caso de las nanopartículas funcionalizadas, estos picos podrían asignarse a las vibraciones de tensión del grupo CS (Nandy 1973), tensión del CO (Nandy 1973) y tensión simétrica del COO^- (Jehlicka 2006),

respectivamente, puesto que la técnica XRD ya reveló la ausencia de nitrato en las nanopartículas funcionalizadas.

En la Tabla 15 se recogen los picos encontrados en los espectros de la Figura 45 y su asignación, de acuerdo con la bibliografía existente.

Tabla 15. Asignaciones Raman de las nanopartículas de ThO₂, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

ThO ₂		As-ThO ₂	
Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación	Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación
183			
		366	As ₂ O ₃
320-470	ThO ₂	467	ThO ₂
		571	v _s (AsOAs)
725	δ _{as} (NO ₃ ⁻)		
		740	v _s (As-OH)/v _{as} (AsOAs)
1055	v _s (NO ₃ ⁻)	1046	v _s (NO ₃ ⁻)
1067	δ(OH)	1083	δ(OH)
1385	v _{as} (NO ₃ ⁻)		

Cys-ThO ₂		As-Cys-ThO ₂	
Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación	Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación
170	torsión (SH)	170	torsión (SH)
		220	δ(CCS)/δ(AsOAs)
		244	δ(AsOAs)
322	δ(CCN)		
455	ThO ₂	474	ThO ₂
499	v _s (S-S)	498	v _s (S-S)
540	v(S-S)		
678	v(CS)		
725	v(CS)	720	v(CS)
787	COOH	787	COOH
1047	v(CO)	1047	v(CO)
1301	ω(CH ₂)		
1341	v _s (COO)/δ(CH)/δ _s (NH ₃)		
1385	v _s (COO ⁻)		
1408	δ(CH)/δ(CH ₃)	1414	δ(CH)/δ(CH ₃)
1430	COO		
1608	δ _{as} (NH ₃)	1614	δ _{as} (NH ₃)
2917	v _{as} (CH ₂)	2917	v _{as} (CH ₂)
2934	v _s (CH ₃)	2931	v _s (CH ₃)
2968	v(CH)		

Una vez que se llevó a cabo el estudio Raman de las nanopartículas basadas en ThO_2 , sintetizadas mediante este procedimiento, se trató de realizar, con fines comparativos, un análisis vibracional de las nanopartículas basadas en ZrO_2 . La Figura 46 muestra estos espectros Raman, los cuales presentan una fluorescencia intensa que dificulta la extracción de información mediante esta técnica Raman.

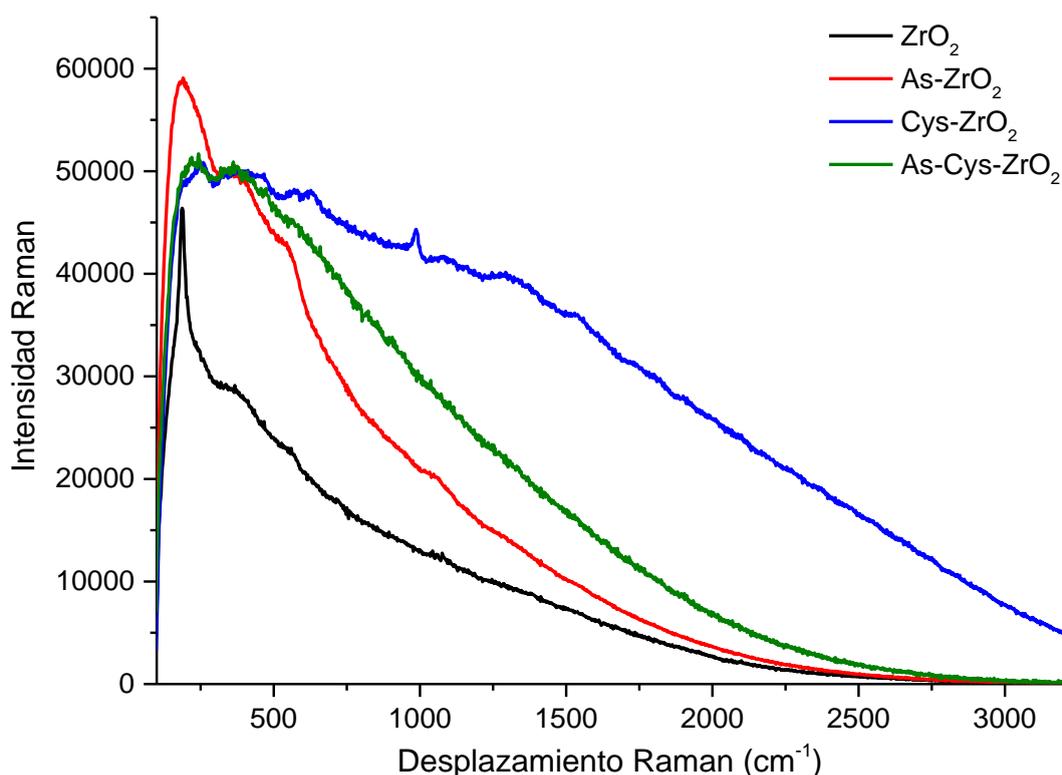


Figura 46. Espectros Raman de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

En el espectro de las nanopartículas de ZrO_2 (línea negra) aparece un pico intenso y agudo a 187 cm^{-1} , relacionado con la presencia de la fase monoclinica del ZrO_2 (Barberis *et al.* 1997, Castro *et al.* 2005). Este pico, en el caso de las nanopartículas de ZrO_2 dopadas con arsénico, se transforma en una banda, debido probablemente a la superposición de diversas señales de flexión del grupo As-O-As (Verweij 1979). También se observan dos bandas entre 370 y 460 cm^{-1} y entre 500 y 600 cm^{-1} , que pueden deberse a la pobre cristalización de las nanopartículas o a una mezcla de diferentes estructuras cristalinas de ZrO_2 .

En la Tabla 16 se recogen los principales picos Raman y su asignación.

Tabla 16. Asignaciones de las vibraciones Raman de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

ZrO_2		$As-ZrO_2$	
Frecuencia (cm^{-1})	Asignación	Frecuencia (cm^{-1})	Asignación
187	$m-ZrO_2$	190-260	$m-ZrO_2/\delta(AsOAs)$
370-460	$m-ZrO_2/t-ZrO_2$	350-450	$m-ZrO_2/t-ZrO_2/\delta(O-As-O)/\delta_{as}(As-O)$
500-600	$m-ZrO_2/c-ZrO_2$	500-600	$m-ZrO_2/c-ZrO_2/As_2O_3/\nu_s(AsOAs)$

$Cys-ZrO_2$		$As-Cys-ZrO_2$	
Frecuencia (cm^{-1})	Asignación	Frecuencia (cm^{-1})	Asignación
187-290	$m-ZrO_2$	187	$m-ZrO_2$
		218	$m-ZrO_2/\delta(CCS)/\delta(AsOAs)$
		243	$\delta(AsOAs)/As_2O_3$
		264	$t-ZrO_2/\rho(CCC)$
320-490	$m-ZrO_2/t-ZrO_2/\delta(CCO)/\tau(NH_3^+)$	320-470	$m-ZrO_2/t-ZrO_2/\delta(CCO)/\tau(NH_3^+)/\nu(As-S)/\delta_s(AsO_4)$
568	$m-ZrO_2$		
989	$\rho(NH_3)$		

3.2.1.2 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

Los espectros Raman de las nanopartículas basadas en ThO_2 y sintetizadas mediante este procedimiento se muestran en la Figura 47. Se observa que, al igual que en el método anterior de síntesis, aparece la banda correspondiente a la vibración del ThO_2 (Castro *et al.* 2007, Dash *et al.* 2002), desplazada hacia el azul.

Los picos relativos al nitrato (Petrosyan, Sukiasyan 2008) siguen apareciendo en los espectros de las nanopartículas no funcionalizadas, a pesar del empleo del estabilizante orgánico.

La presencia del etanodiol se pone de manifiesto con la aparición de dos picos débiles a 1452 y 2875 cm^{-1} , identificados según la bibliografía como vibraciones de flexión simétrica (Rajkumar *et al.* 1998) y tensión (Huang *et al.* 1986) del grupo CH_2 .

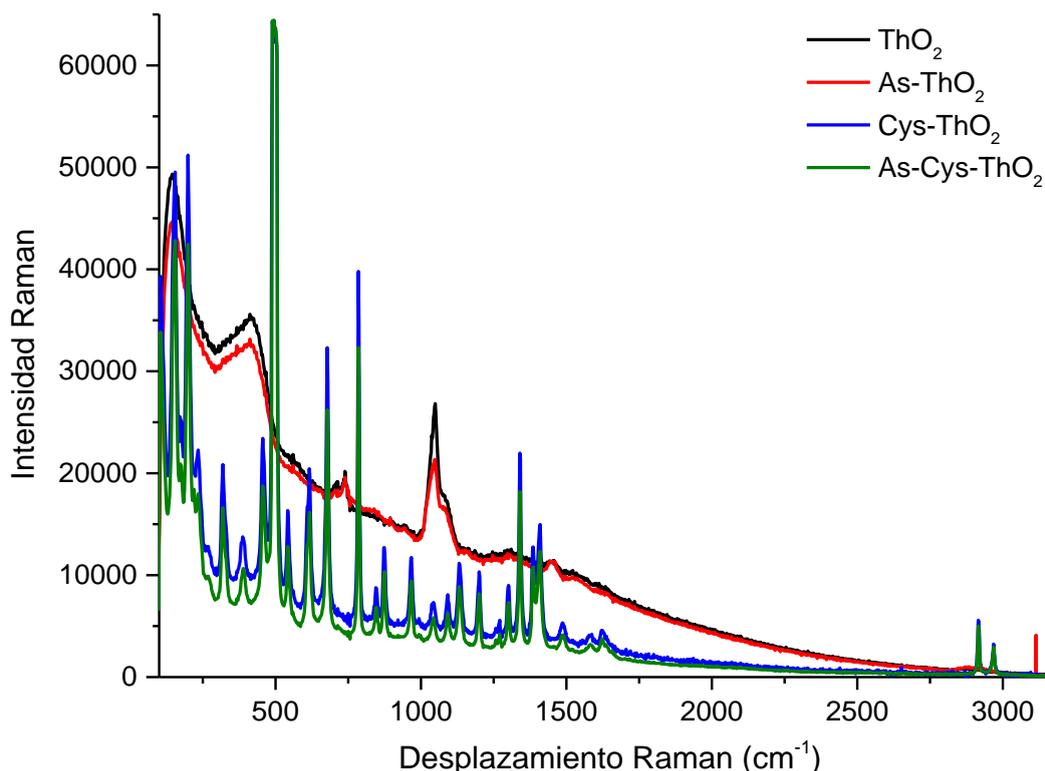


Figura 47. Espectros Raman de nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Los espectros de las nanopartículas funcionalizadas muestran un número relativamente grande de picos. Como en la anterior metodología propuesta, sigue apareciendo el pico atribuido al enlace S-S a 499 cm^{-1} , lo cual sugiere que el $\text{Th}(\text{IV})$ no se une al grupo tiol. Aparte de este pico, aparecen señales Raman a 155 y 175 cm^{-1} , atribuidos al modo de torsión del grupo SH (Pawlukojć *et al.* 2005).

Cabe destacar que, presumiblemente, la unión del arsénico a la molécula de cisteína tiene lugar gracias al grupo tiol, ya que se han relacionado dos picos Raman relativamente débiles con el grupo As-S a 357 y 400 cm^{-1} , los cuales aparecían en el espectro del complejo sólido $\text{As}(\text{III})$ -Cys. Por otra parte, también se observa la presencia de un pico a 220 cm^{-1} , asignado a la vibración $\delta(\text{As-O-As})$ (Verweij 1979).

La presencia del grupo carboxílico en los espectros Raman de las nanopartículas funcionalizadas se puso de manifiesto por la aparición de varios picos a 846 (Pawlukojć *et al.* 2005) y 976 cm^{-1} (Martens *et al.* 2004), atribuidos a las

vibraciones de tensión del grupo COO⁻, y un pequeño pico a 1480 cm⁻¹, también relacionado con las vibraciones $\nu_s(\text{COO}^-)$ (Baia *et al.* 2008). Por otra parte, se observó otra señal a 1408 cm⁻¹, correspondiente a las vibración de tensión simétrica del grupo O-C-O, con alguna contribución del grupo OH.

Por otra parte, también están presentes dos picos débiles a 1585 y 1622 cm⁻¹, atribuidos a la vibración de flexión asimétrica de NH₃⁺ (Pawlukojć *et al.* 2005). La presencia del mismo indica que la cisteína se encuentra, principalmente, en forma zwitteriónica.

Los picos a 2916 y 2969 cm⁻¹, hacen referencia a las vibraciones de tensión simétrica y asimétrica, respectivamente, del grupo CH (Pawlukojć *et al.* 2005). Por otro lado, aparece un hombro relativo al grupo CH₂ a 2953 cm⁻¹ (Cheng *et al.* 2002).

En definitiva, estos resultados sugieren que la cisteína está unida al ThO₂ principalmente a través del grupo carboxilato, pero también al arsénico a través del azufre. Por lo tanto, comparando los resultados de las nanopartículas tratadas a 348 K, se aprecia que el torio tiene preferencia por la cisteína. En la Tabla 17 se recogen las asignaciones de las vibraciones Raman más destacadas.

Tabla 17. (A) Asignaciones Raman de las nanopartículas de ThO₂ no funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

ThO ₂		As-ThO ₂	
Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación	Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación
413	$\delta(\text{CCO})$	400-490	ThO ₂ / $\delta(\text{CCO})$ / $\delta(\text{AsO}_2)$ / $\delta(\text{O-As-O})$ / $\delta_{\text{as}}(\text{As-O})$
711	$\delta_{\text{as}}(\text{NO}_3^-)$	711	$\delta_{\text{as}}(\text{NO}_3^-)$
740	$\rho(\text{CH}_2)$	740	$\rho(\text{CH}_2)$ / $\nu_s(\text{As-OH})$ / $\nu_{\text{as}}(\text{AsOAs})$
1046	$\nu(\text{CO})$	1046	$\nu(\text{CO})$
1070	$\delta(\text{OH})/\nu(\text{CC})$	1070	$\delta(\text{OH})/\nu(\text{CC})$
1452	$\delta(\text{CH}_2)$	1452	$\delta(\text{CH}_2)$
2875	$\nu(\text{CH}_2)$	2875	$\nu(\text{CH}_2)$

Tabla 17. (B) Asignaciones Raman de las nanopartículas de ThO₂ funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Cys-ThO ₂		As-Cys-ThO ₂	
Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación	Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación
155	SH	155	SH
175	SH	175	SH
200	δ(CCS)	200	δ(CCS)
		218	δ(AsOAs)
265	ρ(CCC)	258	ρ(CCC)/δ(AsOAs)
320	δ(CCN)	338	δ(CCN)
		357	As-S
387	δ(CCO)	387	δ(CCO)/δ(AsO ₂)
		400	As-S
460	ThO ₂ /τ(NH ₃ ⁺)	460	ThO ₂ /τ(NH ₃ ⁺)
499	v _s (S-S)	499	v _s (S-S)
544	v(S-S)	544	v(S-S)
614	v(CS)	614	v(CS)
677	v(CS)	669	v(CS)/v(As-OH)
786	ρ(CH ₂)/COOH	787	ρ(CH ₂)/COOH/As ₂ O ₃
846	v(COO)	846	v(COO)/v' _s (AsO ₃)
872	δ(CSH)	872	δ(CSH)/v' _s (AsO ₂)
976	v(COO)	976	v(COO)
1050	v(CO)	1050	v(CO)
1092	δ(OH)/v _s (CN)/CC	1092	δ(OH)/v _s (CN)/CC
1132	v(CC)	1132	v(CC)
1200	v(C-OH)/τ(CH ₂)	1200	v(C-OH)/τ(CH ₂)
1306	ω(CH ₂)	1304	ω(CH ₂)
1340	v _s (COO)/δ(CH)/δ _s (NH ₃)	1346	v _s (COO)/δ(CH)/δ _s (NH ₃)
1384	v _s (COO)	1384	v _s (COO)
1412	v _s (COO)	1412	v _s (COO)
1488	v _s (COO)	1488	v _s (COO)
1585	δ _{as} (NH ₃ ⁺)	1585	δ _{as} (NH ₃ ⁺)
1622	δ _{as} (NH ₃ ⁺)	1622	δ _{as} (NH ₃ ⁺)
2916	v _s (CH)	2916	v _s (CH)
2953	v(CH ₂)	2953	v(CH ₂)
2969	v _s (CH)	2969	v _s (CH)

Una vez evaluada la información anterior, se procedió a estudiar el efecto de la concentración de arsénico en el dopado de las nanopartículas, a fin de comprobar si ésta era relevante en el método de síntesis del nanomaterial. En las Figuras 48 y 49 se muestran los espectros Raman de las nanopartículas basadas en ThO₂ sin funcionalizar y funcionalizadas, respectivamente. Las concentraciones empleadas de arsénico fueron 1000 y 4000 µg/mL.

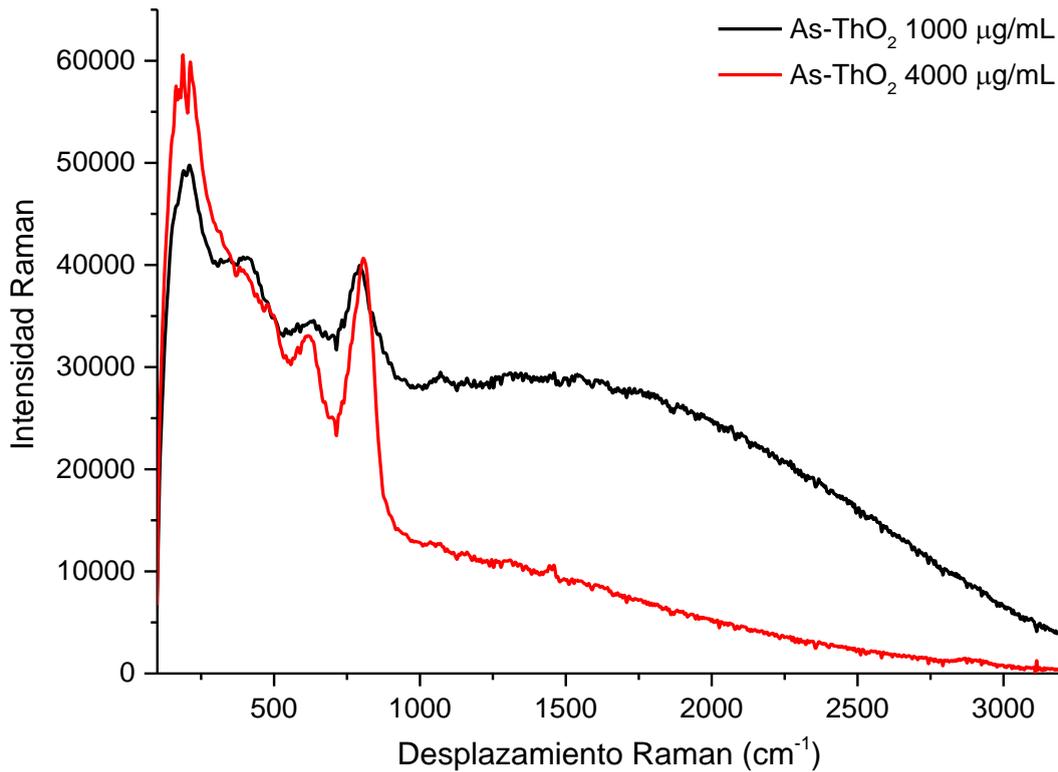


Figura 48. Espectros Raman de las nanopartículas de ThO_2 no funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, dopadas con arsénico, desde 25 hasta 4000 $\mu\text{g/mL}$

En los espectros de la Figura 48, correspondientes a las nanopartículas sin funcionalizar, se aprecian tres bandas, centradas en 410, 618 y 806 cm^{-1} . Por un lado, la banda centrada en 410 cm^{-1} es más intensa si la concentración de arsénico es menor. Esto puede deberse a la presencia de un grupo cuya vibración se ve afectada por la existencia de arsénico. La bibliografía asigna dicho pico a la vibración del enlace CCO (Nandy *et al.* 1973). Por otro lado, las bandas centradas en 618 y 806 cm^{-1} son más intensas cuanto mayor es la concentración de arsénico. A la vista de los resultados, estas dos bandas estarían constituidas, principalmente, por vibraciones de enlaces de arsénico. La banda centrada en 618 cm^{-1} puede deberse a la vibración de tensión asimétrica del grupo HO-As-OH (Goldberg, Johnston 2001). La banda observada a 806 cm^{-1} podría derivar de las vibraciones atribuidas a diversos grupos, como el enlace As-O (Castro *et al.* 2007, Goldberg, Johnston 2001). Por otro lado, caben destacar los picos a 187 y 214 cm^{-1} , correspondientes, según la bibliografía, a

las vibraciones del grupo As_2O_3 (Quagliano 2000) y flexión del grupo As-O-As (Verweij 1979), respectivamente.

Los espectros de las nanopartículas funcionalizadas se muestran en la Figura 49. Se observa que también existen diferencias dependiendo de la concentración añadida de arsénico. Por lo general, el espectro Raman correspondiente a una concentración de $1000 \mu\text{g As/mL}$ presenta picos menos definidos que el espectro de las nanopartículas dopadas con $4000 \mu\text{g As/mL}$.

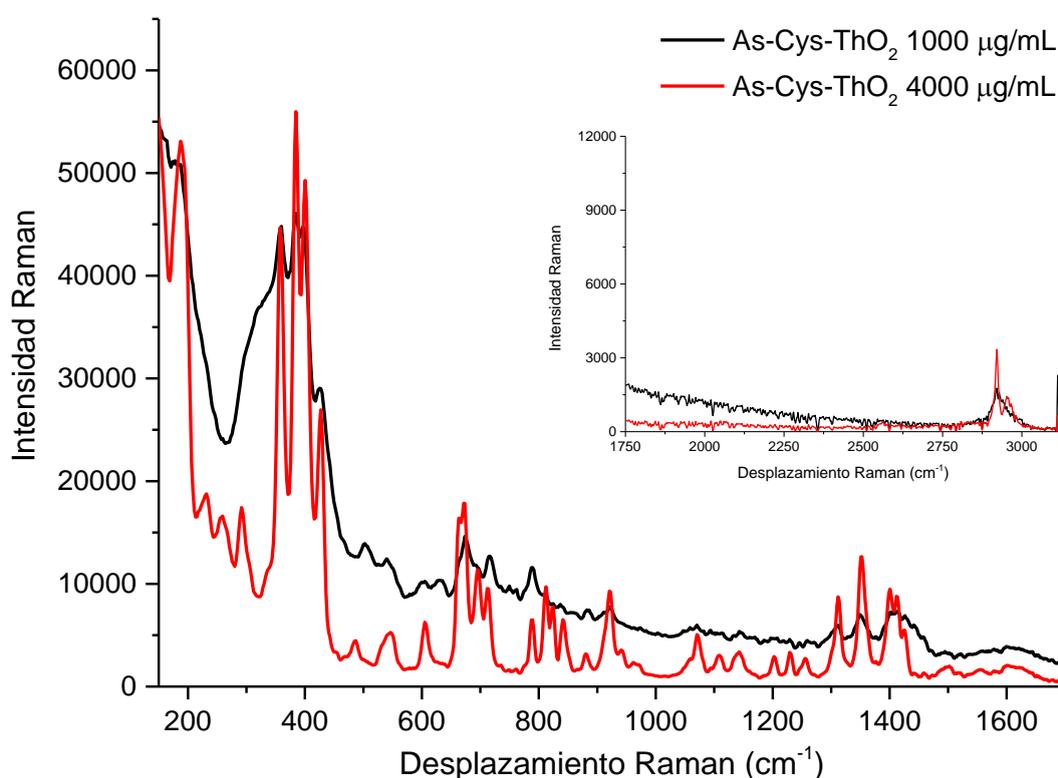


Figura 49. Espectros Raman de las nanopartículas de ThO_2 funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, dopadas con arsénico, desde 25 hasta $4000 \mu\text{g/mL}$

No obstante, los picos a 501 , 629 y 752 cm^{-1} sólo aparecen en el espectro de las nanopartículas dopadas con $1000 \mu\text{g/mL}$. La desaparición del pico a 501 cm^{-1} (S-S) cuando la concentración de arsénico aumenta podría deberse a que éste se une por el grupo -SH a prácticamente toda la *l*-cisteína disponible, haciendo que la concentración del dímero cistina originado sea menor. La ausencia de los picos a 629 y 752 cm^{-1} , atribuidos a la vibración de tensión del enlace C-S (Nandy *et al.* 1973,

Teixeira *et al.* 2007), implica que la unión de arsénico, en elevadas concentraciones, al azufre de la cisteína hace variar las frecuencias de vibración del enlace C-S.

Tanto en el espectro de las nanopartículas dopadas con 1000 $\mu\text{g/mL}$ como con 4000 $\mu\text{g/mL}$ de arsénico, aparece una banda en el intervalo desde 290 a 450 cm^{-1} , si bien los picos están mejor formados cuando la concentración del metaloide es mayor. En esta banda se distinguen claramente los picos a 291, 358, 385, 403 y 427 cm^{-1} , asignados a la vibración de tensión del grupo As-S, como ya se observó para el complejo $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys. También se han atribuido a las diferentes vibraciones del enlace As-O los siguientes picos: 486 y 546 cm^{-1} ($\nu_s(\text{As-O-As})$) (Verweij 1979), 672 y 921 cm^{-1} ($\nu(\text{As-OH})$) (Goldberg, Johnston 2001), 713 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}(\text{As-O-As})$) (Verweij 1979), 787 cm^{-1} (As_2O_3) (Quagliano 2000) y 942 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}(\text{AsO}_2)$) (Verweij 1979).

El resto de picos identificados en los espectros corresponden a las vibraciones de los enlaces de la *L*-cisteína.

Simultáneamente, se llevaron a cabo los estudios Raman de las nanopartículas basadas en ZrO_2 (Fig. 50). En los espectros de la Figura aparecen multitud de picos, relacionados con el óxido de circonio, superponiéndose a las bandas Raman de la molécula de cisteína y/o etanodiol.

Los picos más intensos que aparecen en los espectros Raman de la Figura 50, a 154 y 474 cm^{-1} , podrían corresponder a las fases cristalinas tetragonal y monoclinica del ZrO_2 (Barberis *et al.* 1997, Kumari *et al.* 2009, Ngaosuwan *et al.* 2010). A pesar de que, según los análisis teóricos de grupo, los espectros Raman del *t*- ZrO_2 contienen seis modos ópticos fundamentales, sólo se observaron dos, a 154 y 474 cm^{-1} . Además se han identificado los picos a 187, 221, 439 y 499 cm^{-1} como vibraciones de la fase monoclinica (Li, Li 2002), aunque este último también mostraría una pequeña contribución de las vibraciones de tensión de S-S. El pico a 249 cm^{-1} se relaciona con la vibración de tensión asimétrica de la fase cúbica (Davidson 1998) de ZrO_2 . A la vista de estos resultados, se puede asumir la

existencia de una mezcla de las fases m -ZrO₂ y t -ZrO₂ junto a pequeñas cantidades de la fase c -ZrO₂.

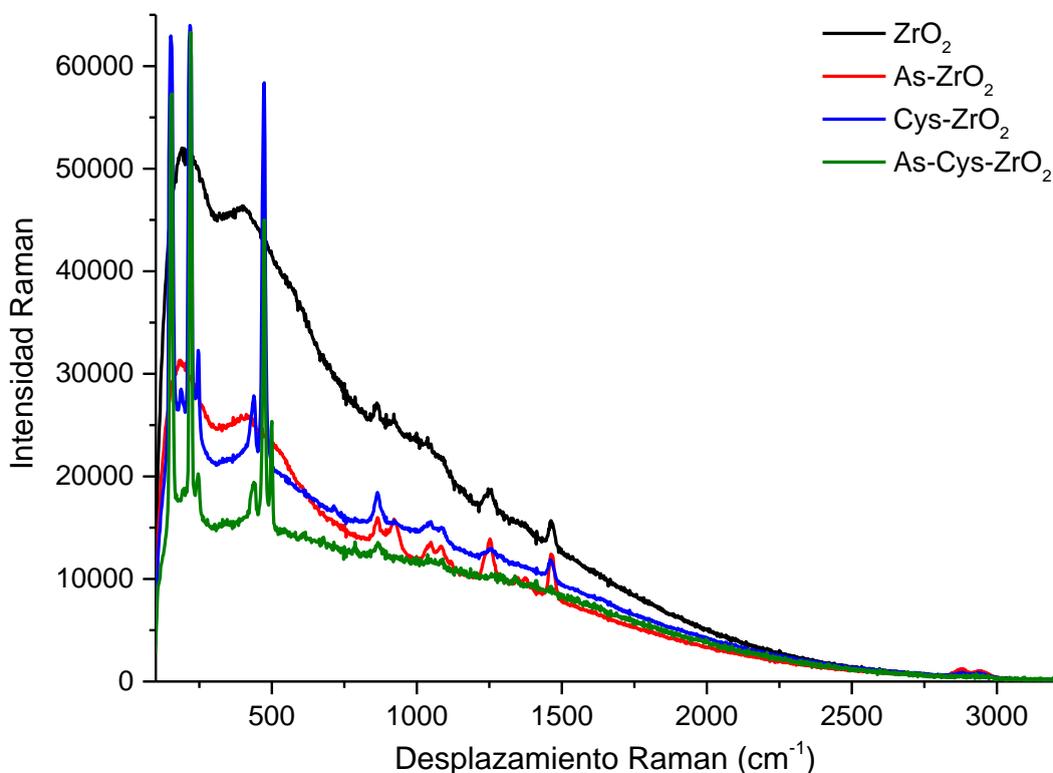


Figura 50. Espectros Raman de las nanopartículas de ZrO₂, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Para todos los espectros de las nanopartículas sintetizadas mediante este procedimiento, los picos que aparecen entre 800 y 1500 cm⁻¹ se adscribieron a las vibraciones de los enlaces del 1,2-etanodiol (Nandy *et al.* 1973). Por otra parte, en el caso de las nanopartículas funcionalizadas (espectros azul y verde) se observan picos débiles debidos a la *L*-cisteína, lo que confirma que está enlazada al óxido de circonio y al arsénico, cuando éste se encuentra presente.

Teniendo en cuenta que en estos espectros Raman se hace evidente la predominancia de los picos de ZrO₂ se podría deducir que, bajo las condiciones empleadas, la unión de la *L*-cisteína a las nanopartículas basadas en ZrO₂ se lleva a cabo a través de la interacción entre el circonio y los átomos de oxígeno del carboxilato.

La Tabla 18 recoge los picos Raman más destacados.

Tabla 18. Asignaciones de las vibraciones Raman de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

ZrO_2		$As-ZrO_2$	
Frecuencia (cm^{-1})	Asignación	Frecuencia (cm^{-1})	Asignación
150-270	$m-ZrO_2/t-ZrO_2$	150-270	$m-ZrO_2/t-ZrO_2$
350-480	$m-ZrO_2/t-ZrO_2$	350-480	$m-ZrO_2/t-ZrO_2/As_2O_3/v_s(AsOAs)$
500-600	$m-ZrO_2/c-ZrO_2$	500-600	$m-ZrO_2/c-ZrO_2/v_{as}(HO-As-OH)$
864	$\nu(C-OH)/\nu(CC)$	864	$\nu(C-OH)/\nu(CC)/\nu_s(As-O)$
923	$\nu(CC)$	921	$\nu(CC)/\nu_s(AsO_2)$
1048	$\nu(CO)$	1049	$\nu(CO)$
1088	$\delta(OH)/CC$	1085	$\delta(OH)/CC$
1253	$\tau(CH_2)$	1251	$\tau(CH_2)$
1347	$\delta(CH)$	1349	$\delta(CH)$
1375	$\delta(OH)$	1373	$\delta(OH)$
1462	$\delta_s(CH_2)$	1462	$\delta_s(CH_2)$
2882	$\nu_3(CH_2)$	2881	$\nu_3(CH_2)$
2945	$\nu_s(CH_2)$	2946	$\nu_s(CH_2)$

$Cys-ZrO_2$		$As-Cys-ZrO_2$	
Frecuencia (cm^{-1})	Asignación	Frecuencia (cm^{-1})	Asignación
153	$t-ZrO_2$	154	$t-ZrO_2$
187	$m-ZrO_2$	195	$m-ZrO_2$
218	$m-ZrO_2/\delta(CCS)$	220	$m-ZrO_2/\delta(CCS)$
		245	$\delta(AsOAs)/As_2O_3$
439	$\delta(CCN)$	438	$\delta(CCN)/\nu(As-S)$
472	$m-ZrO_2/\delta(CCO)$	474	$m-ZrO_2/\delta(CCO)/As_2O_3$
		500	$m-ZrO_2/\nu_s(S-S)/\nu_s(AsOAs)$
		787	As-O
864	$\nu(C-OH)/\nu(CC)/\delta(CSH)$	863	$\nu(C-OH)/\nu(CC)/\delta(CSH)/\nu_s(As-O)$
1049	$\nu(CO)$	1049	$\nu(CO)$
1089	$\delta(OH)/\nu_s(CN)/CC$	1089	$\delta(OH)/\nu_s(CN)/CC$
1257	$\tau(CH_2)$	1257	$\tau(CH_2)$
1412	$\delta(CH_3)$	1412	$\delta(CH_3)$
1462	$\delta_s(CH_2)$	1460	$\delta_s(CH_2)$
2883	$\nu_3(CH_2)$	2881	$\nu_3(CH_2)$
2944	$\nu_s(CH_2)$	2944	$\nu_s(CH_2)$

Por otro lado, tal y como se hizo también para las nanopartículas basadas en ThO_2 , se estudió el efecto de la concentración empleada de arsénico para dopar las

nanopartículas. La Figura 51 recoge los espectros Raman de las nanopartículas de ZrO_2 no funcionalizadas y dopadas con diferentes concentraciones de arsénico.

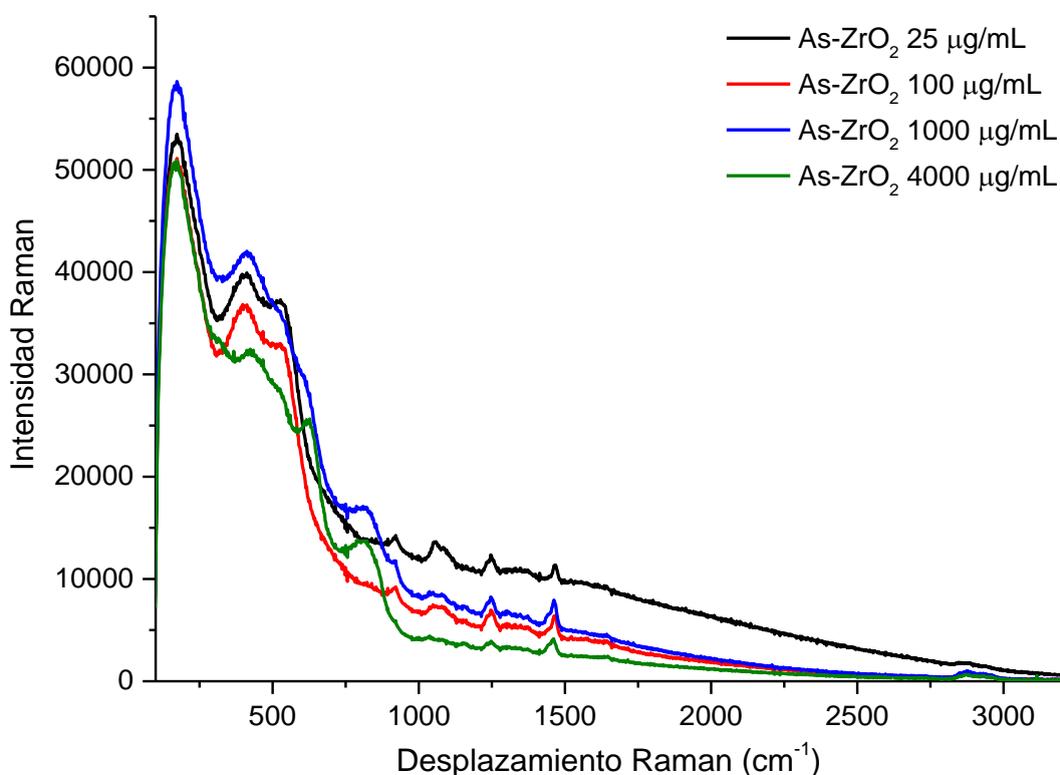


Figura 51. Espectros Raman de las nanopartículas de ZrO_2 no funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, dopadas con arsénico, desde 25 hasta 4000 $\mu\text{g/mL}$

Como se puede observar en la figura, aparecen una serie de bandas a frecuencias menores de 900 cm^{-1} . A medida que aumenta la concentración de arsénico, las bandas centradas en 617 y 811 cm^{-1} se vuelven más intensas, como ya se observó para las nanopartículas de ThO_2 . En este caso, también podrían tener una pequeña contribución del enlace O-O propio de la estructura monoclinica del ZrO_2 (Kumari *et al.* 2009). Para las nanopartículas dopadas con $4000\text{ }\mu\text{g As/mL}$, aparece un pico muy débil a 321 cm^{-1} , que se ha asignado a la vibración de torsión del grupo O-As-O (Goldberg, Johnston 2001), aunque también podría deberse a la vibración del ZrO_2 en fase tetragonal (Barberis *et al.* 1997, Castro *et al.* 2005).

Por otro lado, a medida que aumenta la concentración de arsénico, algunas bandas se vuelven más débiles, como la observada a 538 cm^{-1} , adscrita al enlace O-

O del $m\text{-ZrO}_2$ (Kumari *et al.* 2009). Parece que los resultados apuntan a que una menor concentración de arsénico estabiliza la fase monoclinica del ZrO_2 .

También se estudiaron las nanopartículas de ZrO_2 funcionalizadas y dopadas con diferentes concentraciones de arsénico (Fig. 52).

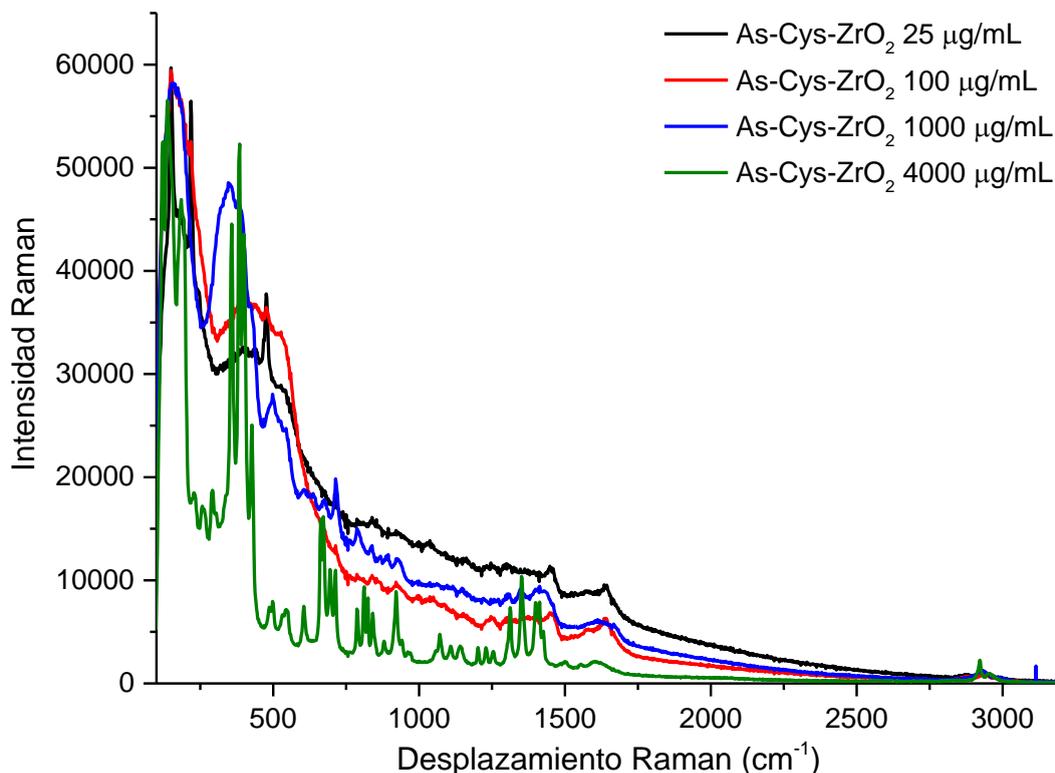


Figura 52. Espectros Raman de las nanopartículas de ZrO_2 funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, dopadas con arsénico, desde 25 hasta 4000 $\mu\text{g/mL}$

Para las concentraciones más bajas de arsénico estudiadas (espectros negro y rojo), se observan tres picos a 149 ($t\text{-ZrO}_2$), 219 ($m\text{-ZrO}_2$) y 476 cm^{-1} ($m\text{-ZrO}_2$), que no aparecen en los espectros de las nanopartículas funcionalizadas y dopadas con mayor cantidad de arsénico. Por otra parte, cabe destacar que el espectro correspondiente a las nanopartículas de ZrO_2 funcionalizadas y dopadas con 4000 $\mu\text{g As/mL}$ es idéntico al obtenido para las nanopartículas de ThO_2 en las mismas condiciones de síntesis. De esto podría concluirse que, para concentraciones elevadas de arsénico, los picos del complejo sólido, formado por el metaloide y la L -cisteína, solapan a los picos de los óxidos de torio o de circonio.

Finalmente, si se comparan los espectros Raman de las nanopartículas funcionalizadas de ThO_2 (Fig. 49, azul y verde) con los espectros de las nanopartículas funcionalizadas, basadas en ZrO_2 (Fig. 52, azul y verde), se puede comprobar que el número de picos relativos a la *l*-cisteína es mucho mayor en el primer caso. Esto podría ser debido a una diferencia de fijación de la *l*-cisteína en función del óxido formador de las nanopartículas.

3.2.1.3 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K

También se caracterizaron las nanopartículas basadas en ThO_2 y ZrO_2 sintetizadas en presencia de 1,2-etanodiol y sometidas a tratamiento térmico a 873 K, al igual que se hizo para los procedimientos de síntesis anteriormente enunciados.

Se obtuvieron una serie de espectros Raman del nanomaterial basado en ThO_2 , los cuales se muestran en la Figura 53.

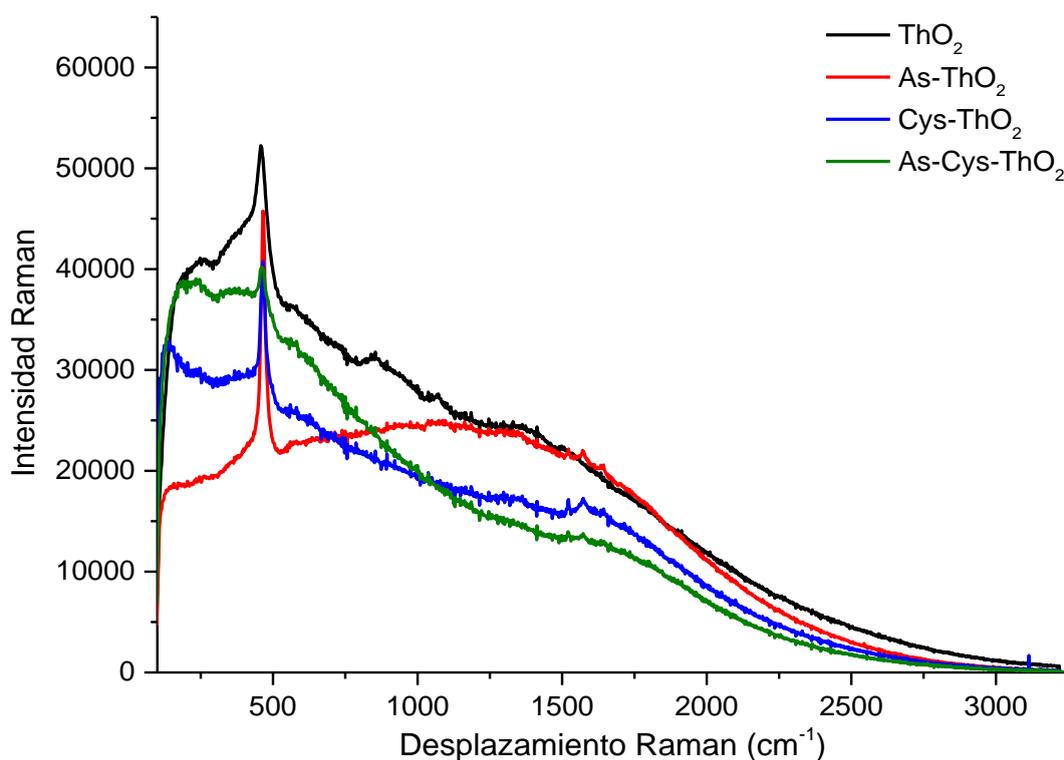


Figura 53. Espectros Raman de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

El pico a 460 cm^{-1} , debido a la vibración del enlace ThO, sigue apareciendo a pesar de la etapa de calcinación de las nanopartículas. El hecho de que este pico esté mejor definido podría deberse a una mejor cristalización del ThO₂, lo cual estaría en consonancia con los resultados obtenidos mediante la técnica de Difracción de Rayos X (*Apartado 3.1.1.3*).

La presencia de una banda muy débil a 1085 cm^{-1} en el espectro de las nanopartículas de ThO₂, al cual contribuye la vibración de flexión en el plano del grupo O-H, es indicativa de que, a pesar del tratamiento térmico a 873 K, este grupo sigue presente en las nanopartículas así sintetizadas.

Para el caso de las nanopartículas basadas en ZrO₂, los espectros Raman se recogen en la Figura 54. Estos espectros presentan una intensa fluorescencia, haciendo que pierdan calidad, ya que disminuye la cantidad de picos distinguibles y, consecuentemente, la información obtenida de ellos. Sólo se muestran los espectros de las nanopartículas no funcionalizadas, ya que las sintetizadas con cisteína presentaron aún más fluorescencia. No obstante, se pueden intuir pequeños picos que se superponen a la fluorescencia, entre los que destacan los observados a 155, 265, 321, 468 y 643 cm^{-1} , los cuales corresponden a la fase tetragonal de ZrO₂ (Castro *et al.* 2005), confirmando las conclusiones expuestas a partir de Difracción de Rayos X.

En el espectro de las nanopartículas dopadas con arsénico, se muestra un pico a 853 cm^{-1} , que la bibliografía atribuye al grupo AsO₃ (Verweij 1979). Esto indicaría que el semimetal no se ha eliminado totalmente con el proceso de calcinación, como ya se vio mediante los espectros de ED-XRS.

Asimismo, en los espectros de las nanopartículas dopadas y sin dopar aparecen dos picos a 1356 y 1535 cm^{-1} , relacionados con las vibraciones de los enlaces de flexión simétrica del CH₃ y de tensión asimétrica del carbonato (Frost *et al.* 2009). Este carbonato podría deberse a la calcinación del estabilizante orgánico a estas temperaturas.

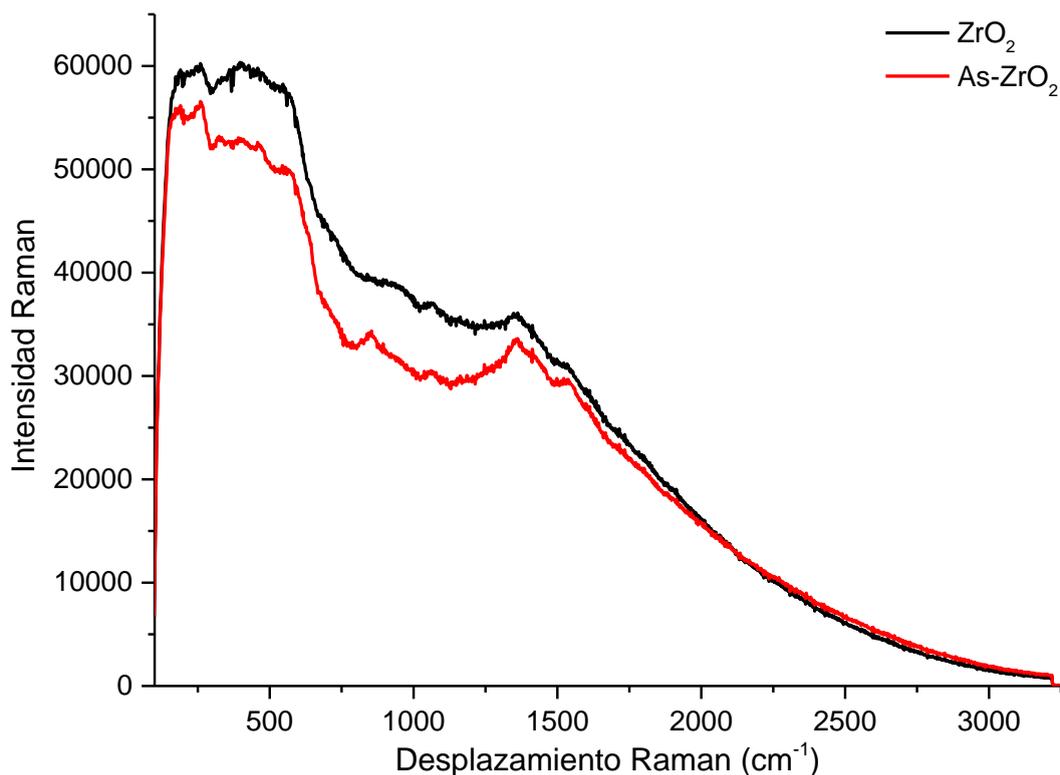


Figura 54. Espectros Raman de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

3.2.1.4 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K

Finalmente, la Figura 55 muestra los espectros Raman de las nanopartículas basadas en ZrO_2 , sintetizadas en presencia de etanodiol y tratadas térmicamente a 1373 K. En todos estos espectros aparecen 15 bandas Raman, a 108 (O-O), 178 (Zr-Zr), 190 (Zr-Zr), 222 (Zr-Zr), 305 (Zr-O), 336 (Zr-Zr), 348 (Zr-O), 382 (Zr-O), 476 (O-O), 503 (O-O), 539 (O-O), 561 (O-O), 618 (O-O), 637 (O-O) y 759 cm^{-1} (O-O), asignadas a la fase $m\text{-}ZrO_2$ (Kumari *et al.* 2009). El hecho de que todos estos picos correspondan a la fase monoclinica del ZrO_2 , invita a pensar que ha tenido lugar una transición de fase de $t\text{-}ZrO_2$ a $m\text{-}ZrO_2$, como ya se observó mediante la técnica XRD.

Además, aparecen otros picos más débiles a 1535 cm^{-1} , asignado a la vibración de tensión asimétrica del carbonato (Frost *et al.* 2009), y a 1594 cm^{-1} , que puede deberse al carbono (Escribano *et al.* 2001). Estos resultados sugieren la presencia de productos del proceso de calcinación del 1,2-etanodiol y de la *l*-cisteína.

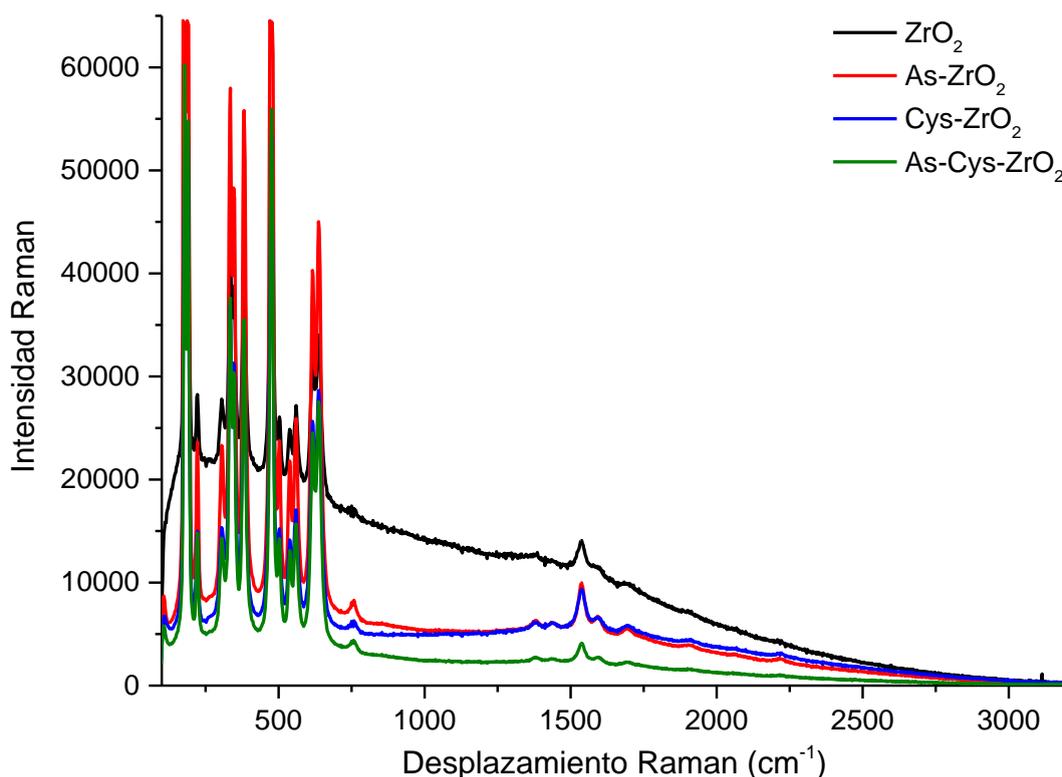


Figura 55. Espectros Raman de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 1373 K

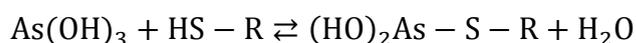
Conclusiones sobre los resultados de la técnica Espectrometría Raman

Una vez caracterizadas mediante Espectrometría Raman las nanopartículas sintetizadas con los distintos procedimientos expuestos, se podrían concluir las siguientes afirmaciones:

La presencia de cisteína es evidente para los procedimientos que incluyen tratamiento térmico a 348 K. En estos, se pone de manifiesto que la funcionalización es más eficiente en el caso de las nanopartículas de ThO_2 que en el de las nanopartículas de ZrO_2 . Por otra parte, tanto para las nanopartículas de ThO_2 como de ZrO_2 , parece comprobarse que la funcionalización es más eficaz si se emplea estabilizante orgánico en el proceso de síntesis.

En el caso de las nanopartículas no funcionalizadas, se ha observado que el arsénico se une a las nanopartículas mediante un enlace As-O. Si las nanopartículas

se encuentran funcionalizadas, el arsénico se une preferentemente al azufre de la *L*-cisteína, aunque también se obtuvieron señales del grupo As-O, probablemente debidas a las especies hidroxiladas de As^(III). Por tanto, cabría esperar que de los tres posibles puntos de unión del arsénico a la cisteína (grupos tiol, amino y carboxílico), el grupo -SH es el que proporciona mejor resultado complejante para el As^(III). Además, las especies hidroxiladas de As^(III), As(OH)₃, predominan en disolución a pH neutro (Fig. 56). De este modo, se podría establecer la siguiente reacción de condensación por etapas para la unión del As^(III) a la cisteína:



donde R representa el radical $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}^-$. Esta reacción puede progresar generando, en fase sólida, compuestos de arsénico más complejados.

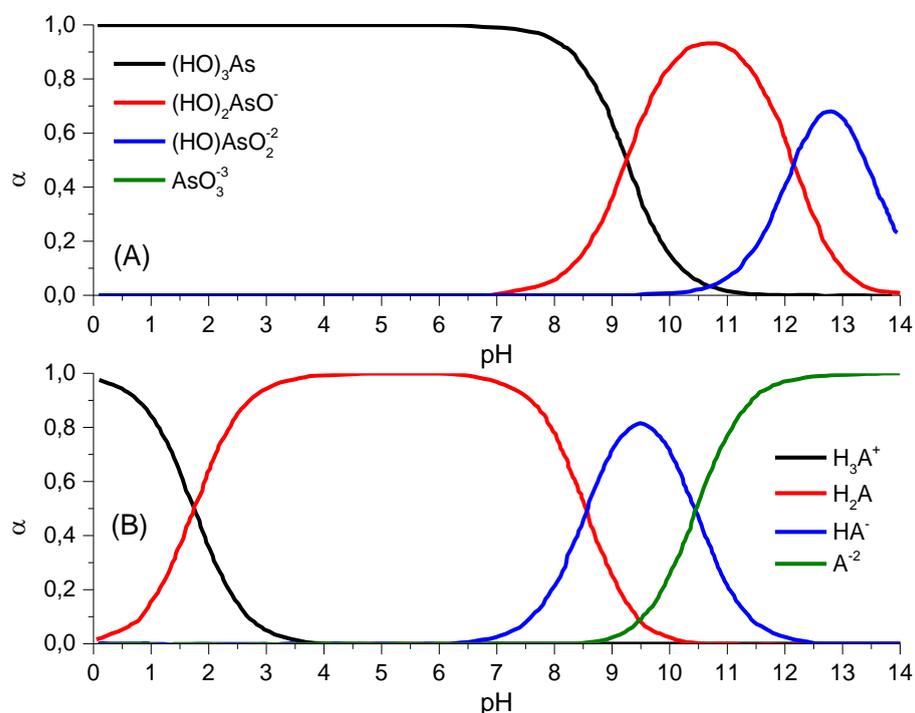
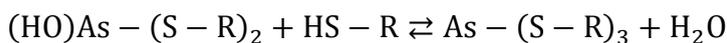
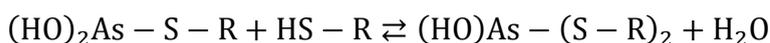


Figura 56. Diagramas de distribución de las diferentes especies de: (A) arsenito, y (B) *L*-cisteína, en función del pH

Se ha comprobado que, para concentraciones de $\text{As}^{(\text{III})}$ de 4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, los espectros de las nanopartículas basadas en ThO_2 y en ZrO_2 son idénticos al obtenido a partir del complejo sólido $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys, por lo que cabría pensar que, debido a la fuerte afinidad existente entre el $\text{As}^{(\text{III})}$ y la cisteína, los picos relativos a esta unión solapan a los picos característicos de los óxidos metálicos.

La presencia del enlace S-S en todos los espectros de las nanopartículas funcionalizadas tratadas térmicamente a 348 K, indica la formación de cistina.

Los picos relativos a los óxidos de ThO_2 y de ZrO_2 , cuando el tratamiento térmico se lleva a cabo a 348 K, aparecen como bandas anchas, debidas probablemente a la estructura amorfa de ambos óxidos, o a una mezcla de fases cristalinas en el caso del ZrO_2 . Cuando se aumenta la temperatura del tratamiento térmico a 873 K, los picos relativos a los óxidos son más estrechos, debido a la cristalización del ThO_2 en fase cúbica centrada en las caras, y el de ZrO_2 en fase tetragonal. Para temperaturas de 1373 K, se observa una transición de fase cristalina de tetragonal a monoclinica para las nanopartículas basadas en ZrO_2 .

3.2.2 Espectrometría FT-IR

Junto con la Espectrometría Raman, también se llevó a cabo un estudio espectrométrico FT-IR, a fin de caracterizar los distintos procedimientos de síntesis de nanopartículas.

Al igual que con la técnica anterior, se obtuvieron una serie de espectros de FT-IR, tanto del reactivo de *L*-cisteína como del complejo $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys, de forma previa a los análisis de las nanopartículas.

En la Figura 57 se muestran los espectros FT-IR de la cisteína no tratada y tratada térmicamente a 348 K. En el espectro de la *L*-cisteína tratada aparecen, además de los picos también presentes en el espectro de la *L*-cisteína no tratada, dos picos a 615 y 840 cm^{-1} , asignados a la vibración de $\nu(\text{SS})$ de la cistina (Tsuchihashi, Kawamoto 1971). Estos resultados estarían en consonancia con los obtenidos

mediante Espectrometría Raman y, por tanto, cabría pensar que este tratamiento provoca una oxidación de la cisteína a cistina.

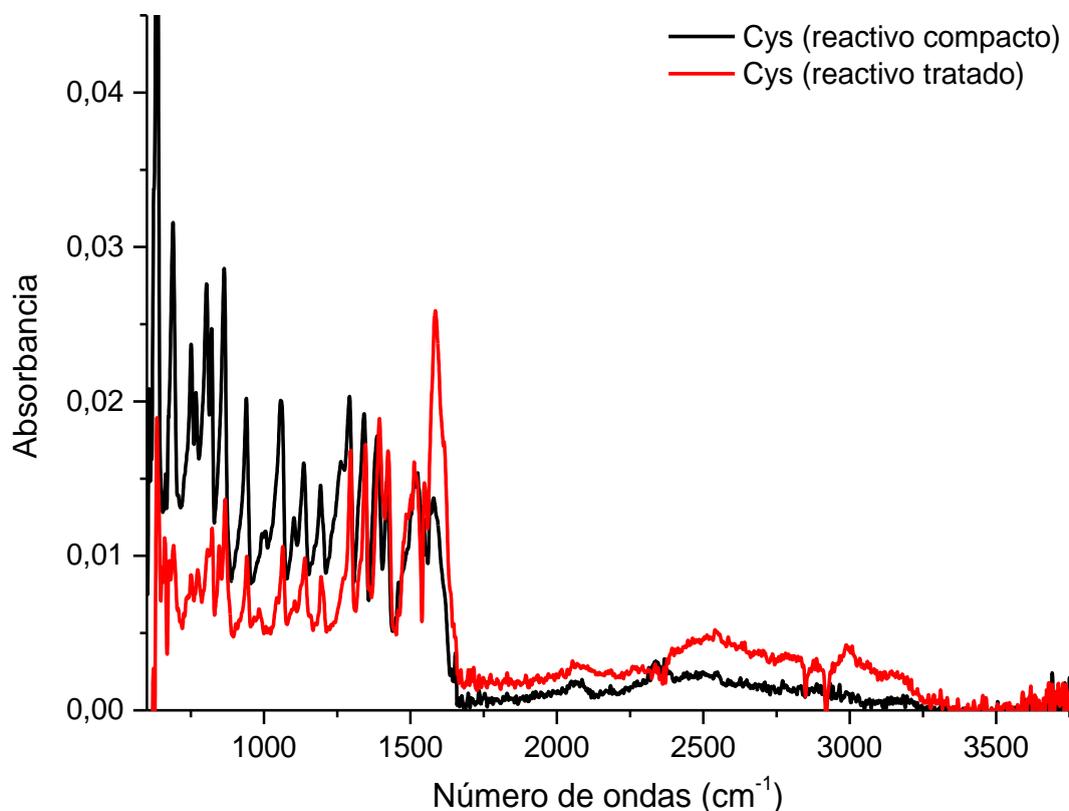


Figura 57. Espectros FT-IR del reactivo de *L*-cisteína no tratado y tratado a 348 K

También se llevó a cabo un análisis mediante FT-IR del complejo sólido $\text{As}^{\text{(III)}}\text{-Cys}$. El espectro que se obtuvo aparece en la Figura 58.

A 690 y 971 cm^{-1} aparecieron dos picos, que la bibliografía relaciona con la vibración del enlace As-S (Tsuchihashi, Kawamoto 1971). Se confirmaron especies oxigenadas de arsénico, ya que el pico a 660 cm^{-1} se atribuye a las vibraciones de flexión del grupo As-OH (Wei *et al.* 2007), aunque el enlace S-S podría contribuir a la intensidad del pico (Tsuchihashi, Kawamoto 1971). Además, los picos a 714 y 921 cm^{-1} se asignaron a los modos de $\nu_{\text{as}}(\text{AsO})$ (Frost *et al.* 2007, Hsia *et al.* 1994). La aparición de otros picos a frecuencias menores de 600 cm^{-1} también sugiere la presencia de especies oxigenadas de arsénico.

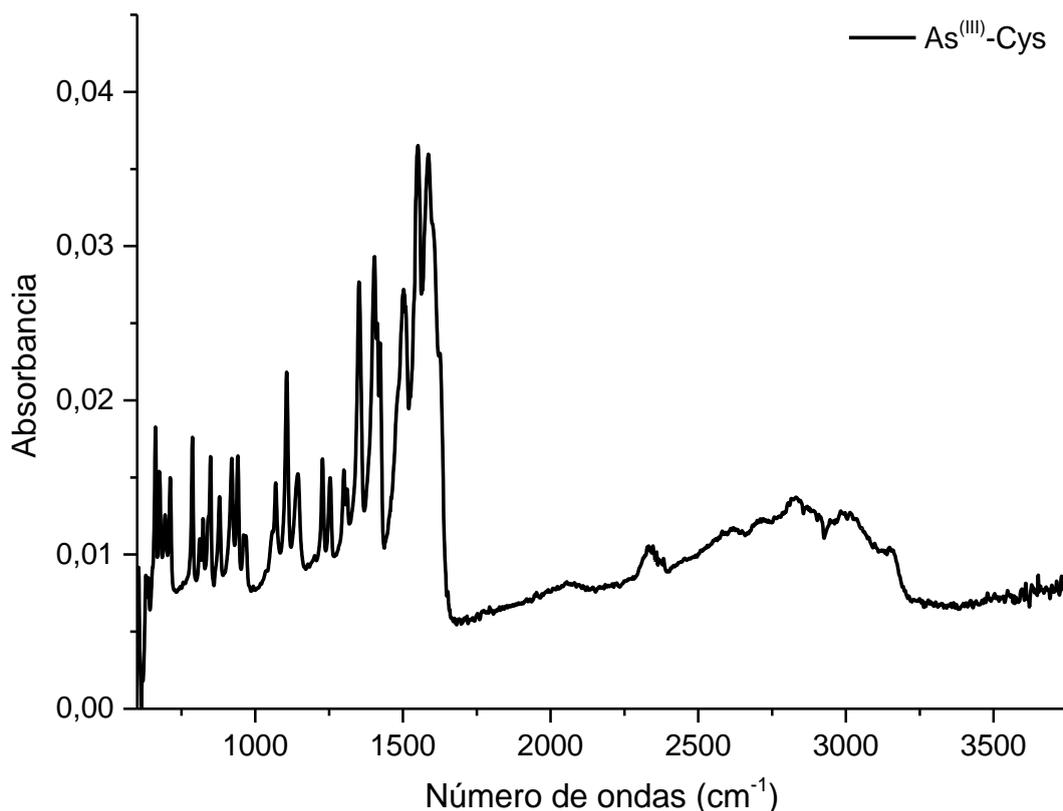


Figura 58. Espectro FT-IR del complejo sólido sintetizado As^(III)-Cys

La banda de absorción intensa y estrecha a 676 cm⁻¹, adscrita a la tensión del grupo CS (Dokken *et al.* 2009), sigue estando presente tras la reacción de la *L*-cisteína con el arsenito. La aparición de dos picos a 700 y 869 cm⁻¹ demuestran la existencia de grupos S-S. Las vibraciones de tensión del tiol a 2586 cm⁻¹ (Dokken *et al.* 2009) sugieren que no todas las moléculas de cisteína se enlazan al arsénico, por lo que una pequeña fracción de los grupos tiol estaría libre y otra estaría formando cistina. El espectro también muestra una banda a 1587 cm⁻¹, asignada al NH₃⁺ (Pawlukojć *et al.* 2005).

3.2.2.1 Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

Al llevar a cabo el estudio FT-IR de las nanopartículas basadas en ThO₂, sintetizadas en ausencia de estabilizante y tratadas a 348 K, se obtuvieron una serie de espectros, que se recogen en la Figura 59.

En los espectros aparece una pequeña banda a 673 cm^{-1} (Maquelin *et al.* 2000) y un pico a 848 cm^{-1} , debidos ambos a la vibración del enlace C-S. Además, se ha identificado un pico a 2854 cm^{-1} , relacionado con la vibración del enlace S-H (Nandy *et al.* 1973). A 1320 cm^{-1} se aprecia un hombro para ambos espectros, que podría ser atribuido a la vibración del enlace S-S (Tsuchihashi, Kawamoto 1971).

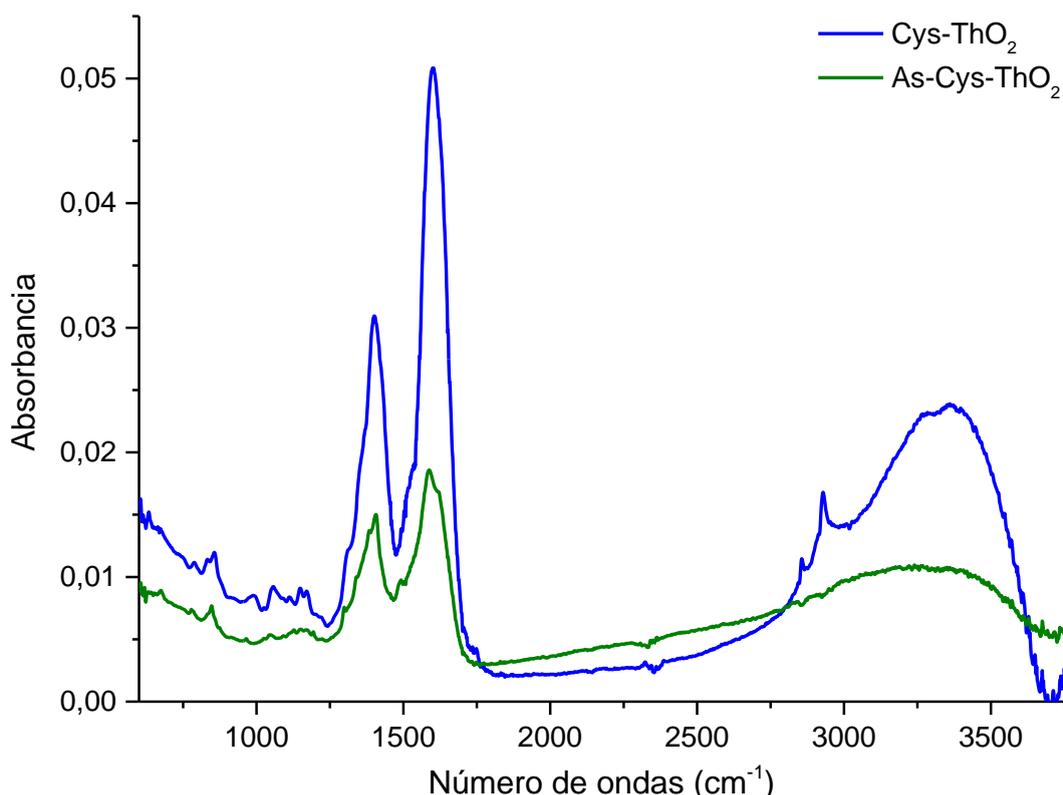


Figura 59. Espectros FT-IR de las nanopartículas funcionalizadas de ThO₂, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

En ambos espectros se observan diferentes vibraciones relacionadas con el grupo carboxilo: se han identificado dos picos a 831 y 1400 cm^{-1} , que se asignan al grupo COO⁻ (Pawlukojć *et al.* 2005), y a la vibración de tensión simétrica del mismo grupo (Feo, Aller 2001). El pico a 1054 cm^{-1} se debería a la vibración del enlace C-O (Nandy *et al.* 1973), aunque también podría atribuirse a la flexión del grupo CH (Pawlukojć *et al.* 2005) o a la torsión del grupo NH₃ (Pawlukojć *et al.* 2005). Además, se ha encontrado una pequeña banda a $1132-1184\text{ cm}^{-1}$ atribuida a la vibración de tensión del grupo C-O (Feo, Aller 2001, Teleb *et al.* 2004). El pequeño hombro a 1740

cm^{-1} , que se aprecia especialmente en las nanopartículas funcionalizadas no dopadas, se ha relacionado con el enlace C=O (Aller 1998).

El grupo O-H ha sido confirmado al estar presentes las bandas a 3000-3200 cm^{-1} , como ya se ha descrito, y alrededor de 3550 cm^{-1} , debido a las vibraciones de tensión del OH libre (Ohlhorst *et al.* 2001).

En cuanto al grupo funcional amino, aparece un pequeño pico a 789 cm^{-1} debido a la vibración de flexión del grupo NH_2 (Teleb *et al.* 2004), y una banda ancha centrada en 3400 cm^{-1} , que se corresponde con la vibración de tensión del grupo NH_2 (Arico *et al.* 2003), si bien las vibraciones del grupo hidroxilo podrían contribuir a este pico. También se observó una señal a 1600 cm^{-1} ocasionada por la vibración de flexión del NH_3^+ (Bois *et al.* 2003). La presencia del grupo amino protonado y no protonado demuestra que la cisteína se encuentra en forma zwitteriónica.

Por último, también se distinguieron diferentes bandas de absorción relacionadas con los grupos CH y CH_2 . A 983 y 1489 cm^{-1} se aprecian dos picos debidos al grupo CH_2 (Nandy *et al.* 1973). En el intervalo de 2840-2980 cm^{-1} , aparecen algunas bandas de absorción relacionadas con la vibración de tensión de CH y CH_2 (Aller 1998, Nandy *et al.* 1973).

A continuación, se obtuvieron los espectros FT-IR de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas en ausencia de 1,2-etanodiol y con tratamiento térmico a 348 K, que se recogen en la Figura 60. De los espectros FT-IR se pueden derivar conclusiones similares a las obtenidas con la Espectrometría Raman.

En este espectro aparece una serie de picos solapados por debajo de 700 cm^{-1} , asignados a la vibración del Zr-O (Salavati-Niasari *et al.* 2009) y a la vibración del As-S (Tsuchihashi, Kawamoto 1971). A 615 y 660 cm^{-1} aparecen dos pequeños picos, que la bibliografía atribuye a la absorción del enlace S-S (Tsuchihashi, Kawamoto 1971). Además, se observa un pequeño triplete a 1381, 1441 y 1537 cm^{-1} , que se relacionó con las especies de azufre (Daturi *et al.* 1998).

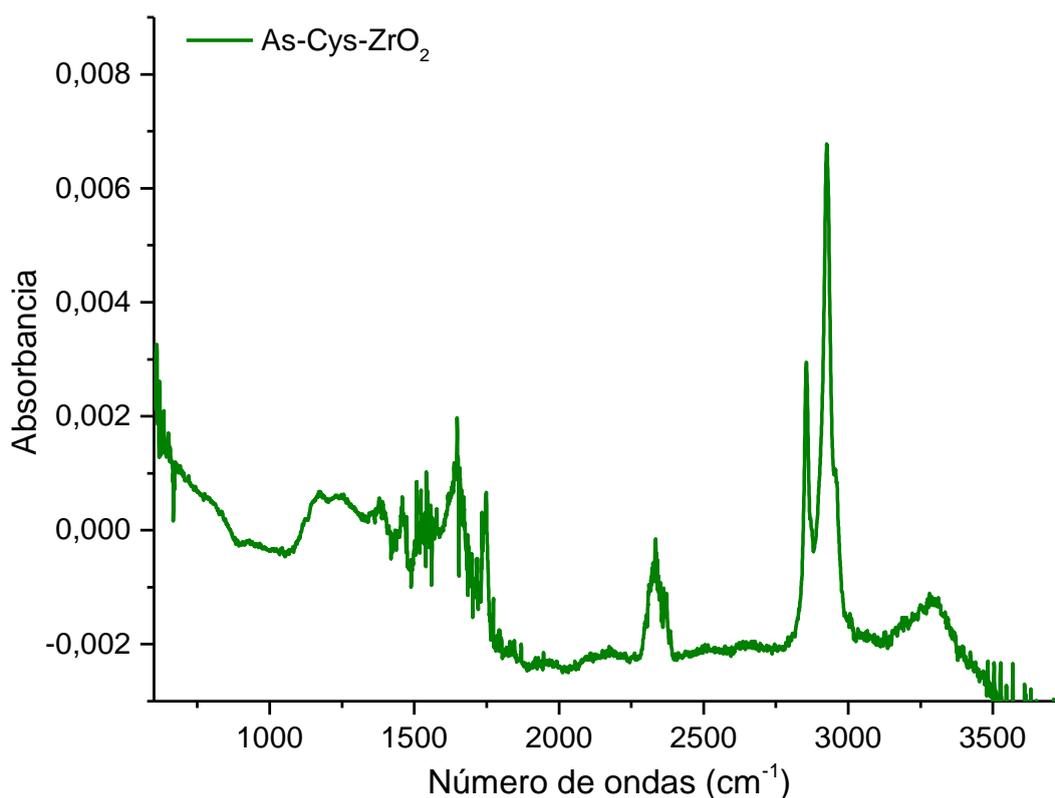


Figura 60. Espectro FT-IR de las nanopartículas As-Cys-ZrO₂, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

Al igual que se observó para las nanopartículas basadas en ThO₂, el grupo C=O se encuentra presente en las nanopartículas de ZrO₂. En este sentido, aparece un nuevo pico a 1244 cm⁻¹ el cual podría deberse a este enlace (Chung, Lee 2004).

A 1174 cm⁻¹, aparece un pico que se relaciona con la vibración del enlace N-H (Pawlukojć *et al.* 2005). Asimismo, se aprecia una banda entre 1580 y 1650 cm⁻¹, la cual se asignó a la vibración de flexión asimétrica del NH₃⁺ (Bois *et al.* 2003).

Finalmente, el grupo OH, junto con las vibraciones CH, se ponen de manifiesto con la presencia de una banda amplia alrededor de 3285 cm⁻¹, probablemente relacionada con las vibraciones de los enlaces de hidrógeno formados por el grupo OH (OH...H), como se ha descrito anteriormente. En el caso del grupo CH, aparece un nuevo pico a 1500 cm⁻¹ (Riccio *et al.* 2007), además de los ya expuestos anteriormente.

3.2.2.2 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

Los espectros FT-IR de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas con 1,2-etanodiol y tratamiento térmico a 348 K, no funcionalizadas y funcionalizadas, se muestran en las Figuras 61 y 62, respectivamente.

En la Figura 61, aparece una serie de picos en el intervalo de número de ondas desde 400 a 700 cm^{-1} , entre los que se incluyen 460, 474, 484 y 506 cm^{-1} , asignados a la vibración del enlace Th-O (Castro *et al.* 2007, Dash *et al.* 2002). El pico a 523 cm^{-1} , atribuido a la vibración de tensión de As-O (Verweij 1979), está presente en el espectro de las nanopartículas dopadas con arsénico. En este espectro aparecen picos definidos a 463 cm^{-1} , asignado a la vibración del AsO_4 (Verweij 1979) y a 493 cm^{-1} , relacionado con la vibración de tensión simétrica del AsOAs (Verweij 1979).

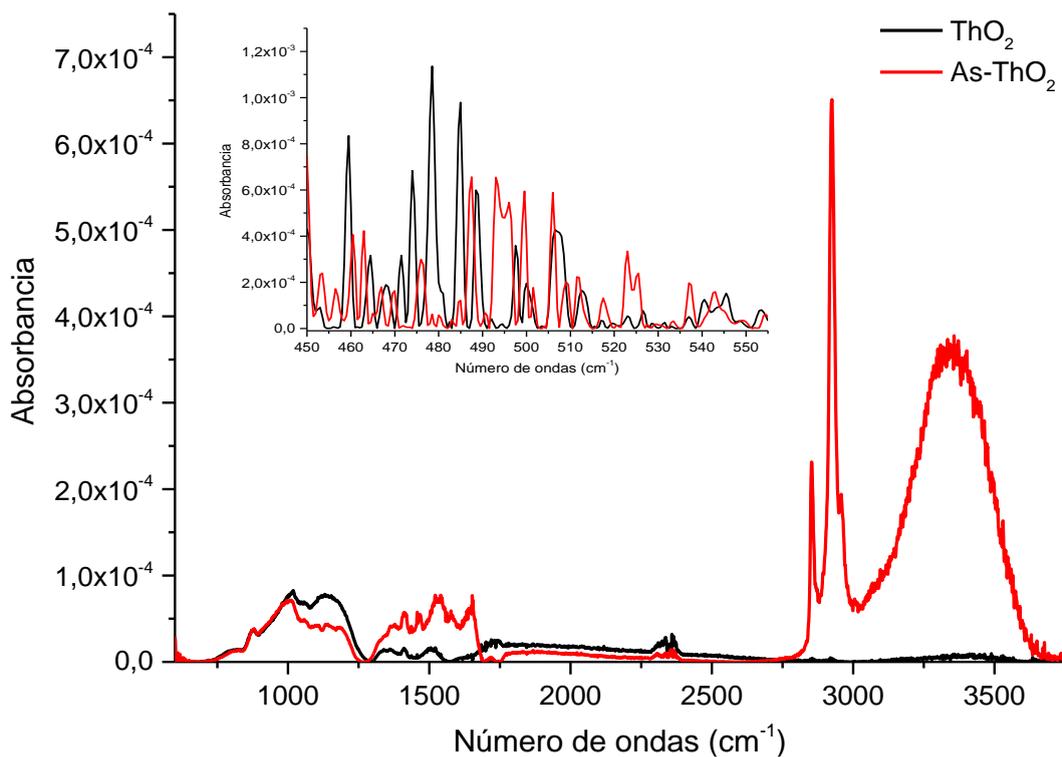


Figura 61. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ThO_2 no funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Además de las señales relacionadas con las vibraciones de los grupos CH y CH₂, que ya aparecían para las nanopartículas sintetizadas en ausencia de etanodiol, se identificaron dos picos, asociados a la vibración de flexión fuera del plano del CH a 880 cm⁻¹ y a la de aleteo del CH₂ a 1148 cm⁻¹ (Ellis *et al.* 2003). Sigue estando presente la banda intensa a 3350 cm⁻¹, asignada a las vibraciones de tensión del hidroxilo, especialmente para las nanopartículas As-ThO₂.

Los espectros FT-IR de las nanopartículas de ThO₂ funcionalizadas con *L*-cisteína (Fig. 62) muestran picos muy resueltos e intensos.

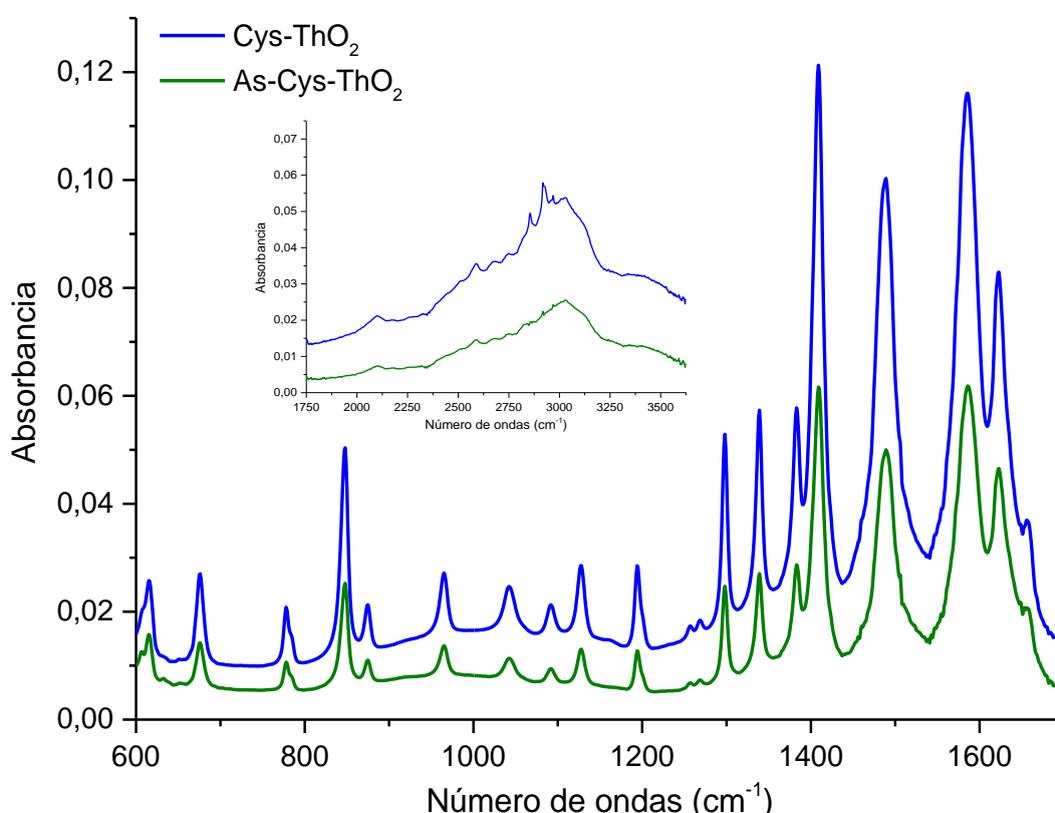


Figura 62. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ThO₂ funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

En estos espectros, las vibraciones asociadas a la cisteína están claramente representadas (Nyquist, Kagel 1997): en la región comprendida entre 600 y 900 cm⁻¹, están presentes los picos relativos a las vibraciones de los enlaces C-S y S-S ya identificados en los espectros de las nanopartículas sintetizadas en ausencia de

etanodiol. A su vez, aparece un nuevo pico a 875 cm^{-1} , asignado a la vibración del grupo CSH (Nandy *et al.* 1973). La señal a 2586 cm^{-1} revela la existencia del grupo SH libre.

A 964 cm^{-1} aparece un pico asignado al enlace C-C (Pawlukojć *et al.* 2005). La vibración de tensión del enlace C-O se pone de manifiesto al estar presentes los picos a $1043, 1090\text{ cm}^{-1}$ (Nandy *et al.* 1973) y 1195 cm^{-1} , adscrito a la vibración de tensión del grupo C-O(H). En la región de $1290\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$, se observan vibraciones típicas de flexión en el plano del grupo OH y de vibraciones de tensión de C-O, en forma de cuatro bandas de intensidad media-alta: 1300 (Chung, Lee 2004), 1340 (Aryal *et al.* 2006), 1385 (Nandy *et al.* 1973) y 1410 cm^{-1} (Carabante *et al.* 2009), lo cual podría indicar la presencia de ácido carboxílico. En este sentido, los espectros de las nanopartículas funcionalizadas muestran dos picos muy débiles a 2674 y 2748 cm^{-1} , que surgen de la vibración de tensión del grupo OH en un dímero por puente de hidrógeno entre carboxilos (Shogren *et al.* 1991).

Al igual que ocurría en los espectros de las nanopartículas funcionalizadas sintetizadas en ausencia de etanodiol, estos espectros muestran una banda ancha centrada en 3400 cm^{-1} , debida a la vibración de tensión del grupo NH_2 , aunque es probable que el grupo hidroxilo contribuya a esta banda. Además, aparece un pico a 779 cm^{-1} y una banda débil a 1658 cm^{-1} , atribuidos a la vibración del NH_2 (Teleb *et al.* 2004). A 1586 y 1620 cm^{-1} , aparecen dos bandas intensas, que se han asignado a las vibraciones de flexión asimétrica de NH_3^+ . Por otro lado, se ha relacionado la vibración de tensión del enlace C-N con el pico presente a 1123 cm^{-1} .

Para finalizar los estudios de caracterización de las nanopartículas basadas en ThO_2 mediante FT-IR, se evaluó el efecto de la concentración de arsénico empleado en la síntesis del nanomaterial. En las Figuras 63 y 64 se muestran los espectros FT-IR de las nanopartículas sin funcionalizar y funcionalizadas, respectivamente. Las concentraciones empleadas de arsénico fueron 1000 y $4000\text{ }\mu\text{g/mL}$.

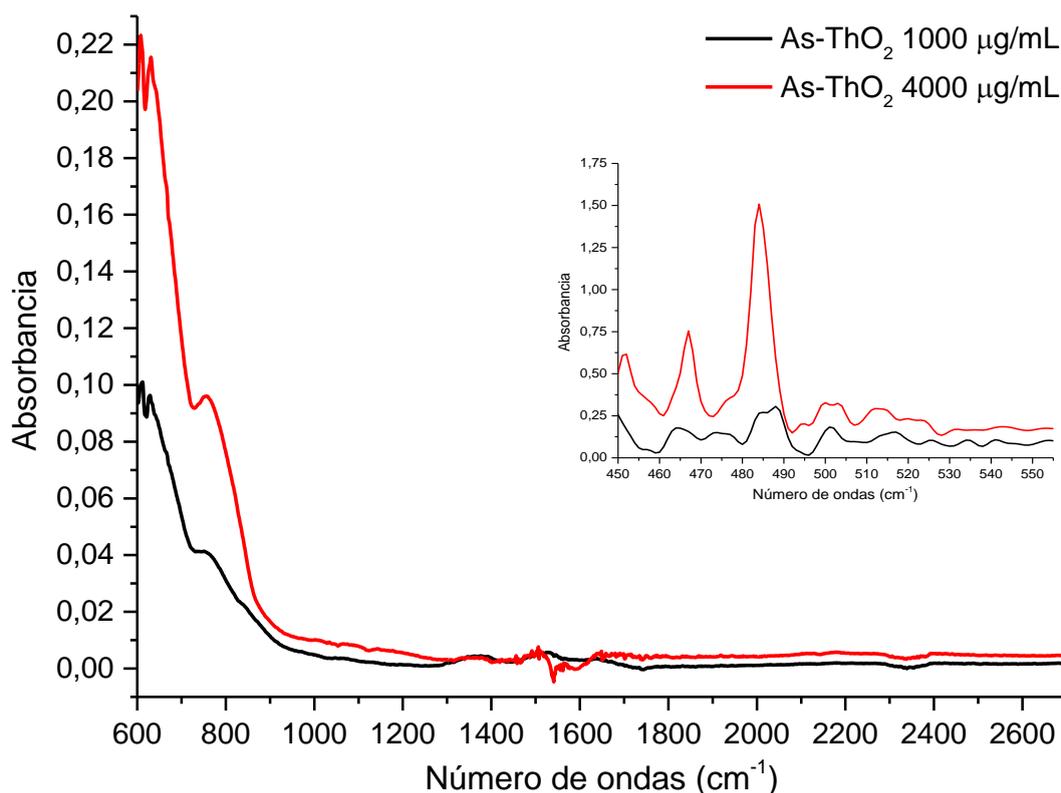


Figura 63. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ThO_2 no funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, dopadas con 1000 y 4000 $\mu\text{g/mL}$ de arsénico

En la Figura 63 se observa que los picos obtenidos en ambos casos son similares, si bien están mejor definidos al emplear una concentración de arsénico mayor. Tal es el caso del pico a 467 cm^{-1} , relacionado con la vibración del enlace As-O, anteriormente descrito. En ambos espectros aparecen picos a 498 y 515 cm^{-1} , debidos según Castro *et al.* y Dash *et al.*, al enlace Th-O. Finalmente, a 765 cm^{-1} se muestra un pico, creciente con la concentración de arsénico, debido a la vibración de tensión asimétrica del As-O-As (Verweij 1979).

Si se comparan los espectros de las nanopartículas funcionalizadas (Fig. 64), se puede apreciar la multitud de picos que aparecen en presencia de $4000\text{ }\mu\text{g As/mL}$ (línea roja).

En ellos cabe destacar nuevos picos, a 713 cm^{-1} , asignado a la vibración de tensión asimétrica del As-O-As (Verweij 1979), a 788 cm^{-1} , debido a la vibración del

enlace As-O (Goldberg, Johnston 2001), y a 920 y 940 cm^{-1} , atribuidos a las vibraciones de tensión simétrica del AsO_2 y de tensión asimétrica del AsO_3 , respectivamente (Verweij 1979). El enlace As-S se pone de manifiesto por la presencia de un pico a 978 cm^{-1} (Tsuchihashi, Kawamoto 1971).

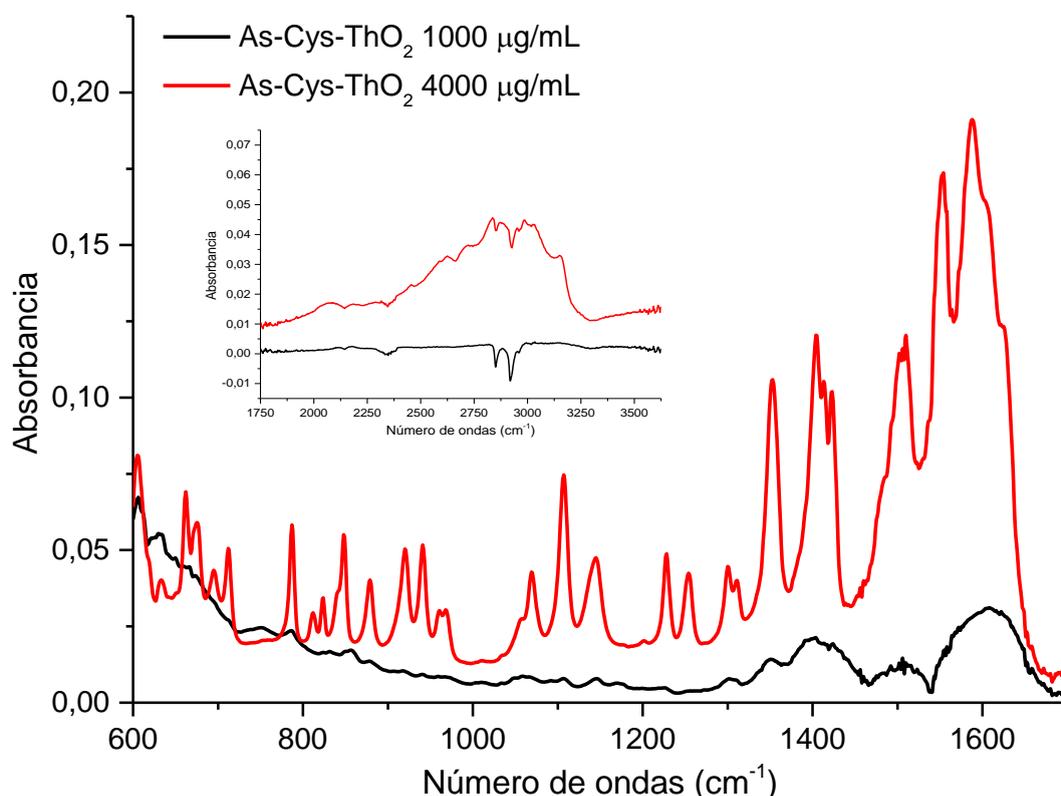


Figura 64. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ThO_2 funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, dopadas con 1000 y 4000 $\mu\text{g/mL}$ de arsénico

Por otra parte, también se identificaron picos a 1353 cm^{-1} , relativo a la vibración de tensión simétrica del NH_3^+ (Pawlukojć *et al.* 2005) y a 1554 y 1578 cm^{-1} , debidos a la vibración de flexión del grupo NH_3^+ .

Cuando se estudiaron mediante espectrometría FT-IR las nanopartículas basadas en óxido de circonio y sintetizadas mediante este procedimiento, se obtuvieron una serie de espectros. La superposición de bandas impide, en gran manera, extraer información de ellos. En la Figura 65 se recogen los espectros IR de las nanopartículas dopadas, funcionalizadas y no funcionalizadas.

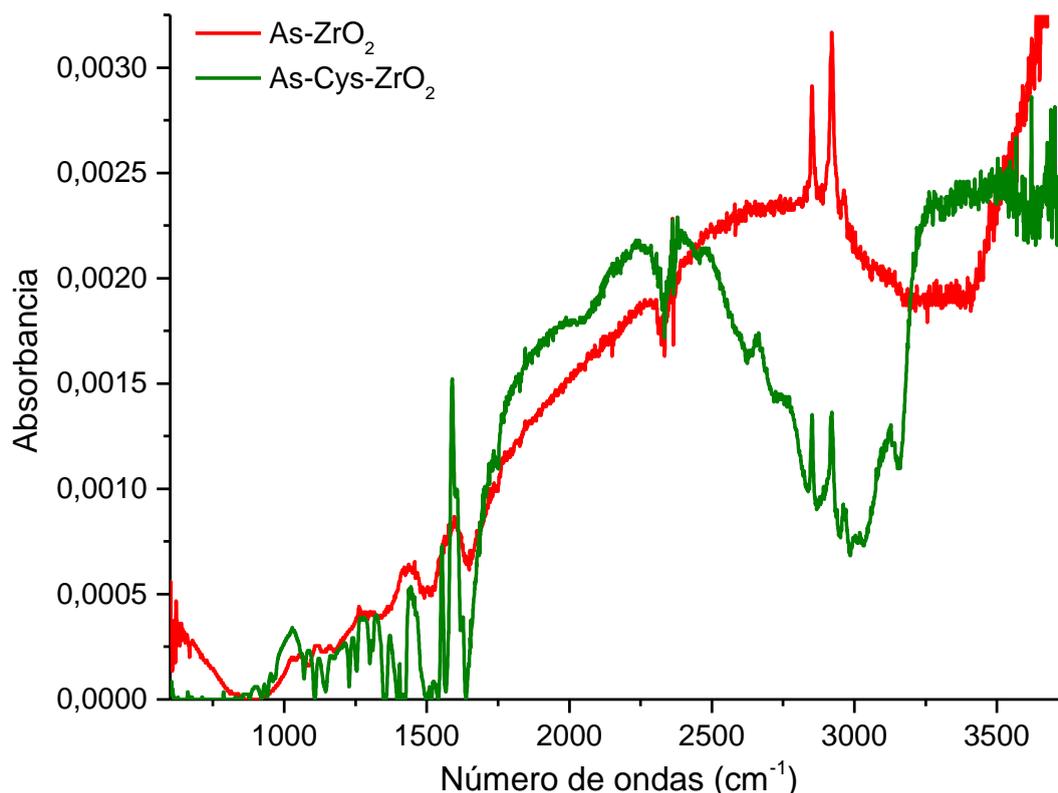


Figura 65. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ZrO₂, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

A pesar de la baja calidad de los espectros, en el caso de las nanopartículas As-Cys-ZrO₂ se observa un triplete a 1376, 1444 y 1545 cm⁻¹, debido a las especies de azufre. En este sentido, apareció por primera vez un pico a 2655 cm⁻¹, que se asigna a la vibración del enlace S-H (Bois *et al.* 2003). Además, parece observarse un pequeño pico a 971 cm⁻¹, identificado como As-S (Tsuchihashi, Kawamoto 1971).

Se aprecia una banda relativamente ancha a 1029 cm⁻¹, debida a la vibración del enlace C-O, anteriormente descrito. Una segunda banda, centrada en 1055 cm⁻¹, se podría asignar a las siguientes vibraciones: C-O, CH u OH. Por otra parte, al igual que en los espectros de las nanopartículas sintetizadas en ausencia de etanodiol, entre 1580 y 1655 cm⁻¹ sigue apareciendo una amplia banda debida al NH₃⁺.

Finalmente, los picos que aparecen a 2335 y 2360 cm⁻¹, podrían estar relacionados con los grupos OH, mientras que los picos debidos al CH y CH₂ siguen

apareciendo en la región comprendida entre 2850 a 3150 cm^{-1} . A la vista de estas asignaciones, hay signos claros de la presencia de *L*-cisteína.

El efecto de la concentración de arsénico en la síntesis de nanopartículas de ZrO_2 se muestra en una serie de espectros infrarrojos, los cuales se recogen en las Figuras 66 y 67.

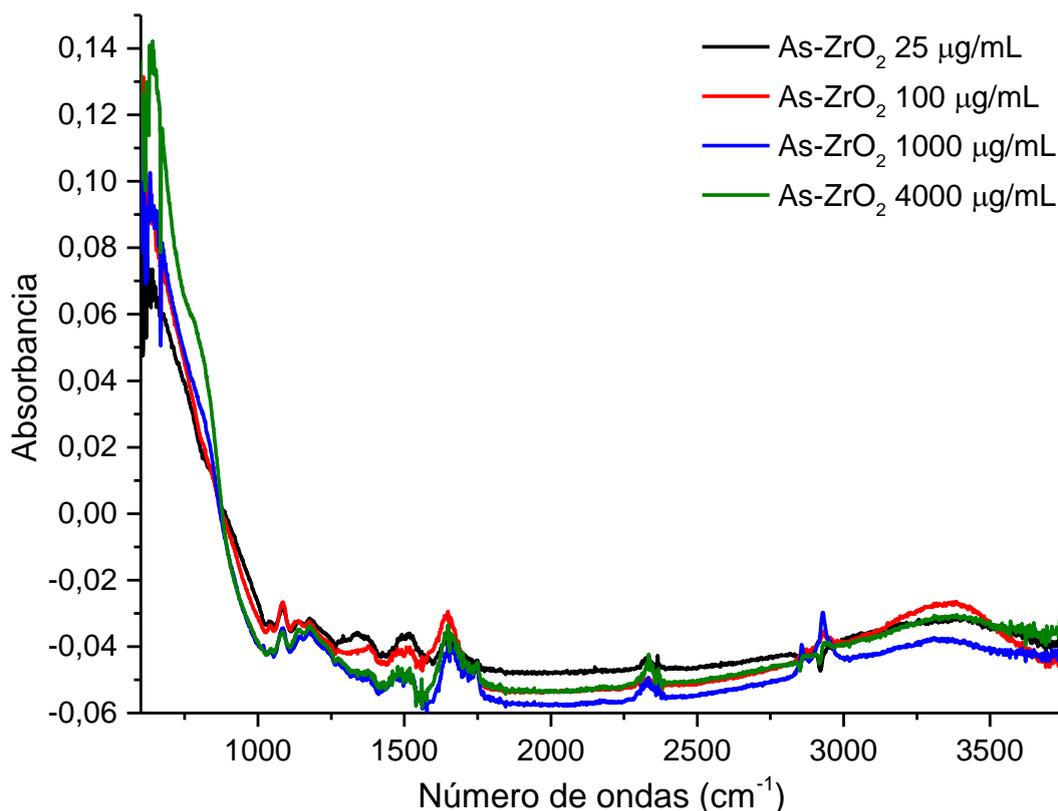


Figura 66. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ZrO_2 no funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, dopadas con arsénico, desde 25 hasta 4000 $\mu\text{g/mL}$

En la Figura 66 se exhiben los espectros de las nanopartículas no funcionalizadas. El efecto de la concentración de arsénico se pone de manifiesto en la intensa banda a 784 cm^{-1} , asignada a la vibración del As-O. Como se observa en la figura, la banda es más intensa cuando la concentración de arsénico es más elevada. El resto de picos que aparecen se deben, probablemente, a la presencia del etanodiol.

La Figura 67 muestra los espectros infrarrojos de las nanopartículas de ZrO_2 funcionalizadas. Para los espectros correspondientes a 25 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ aparece una serie de picos idénticos en ambos casos. En el espectro de 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de arsénico se muestran dos picos nuevos, a 840 y 869 cm^{-1} , que la bibliografía identifica como debidos a la vibración S-S (Tsuchihashi, Kawamoto 1971). Se aprecia que el espectro obtenido para 4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ es idéntico al descrito para su homólogo de ThO_2 , lo cual se debe, como ya se expuso, a que, en estas condiciones, los picos del complejo sólido $As^{(III)}\text{-Cys}$ solapan el resto de picos.

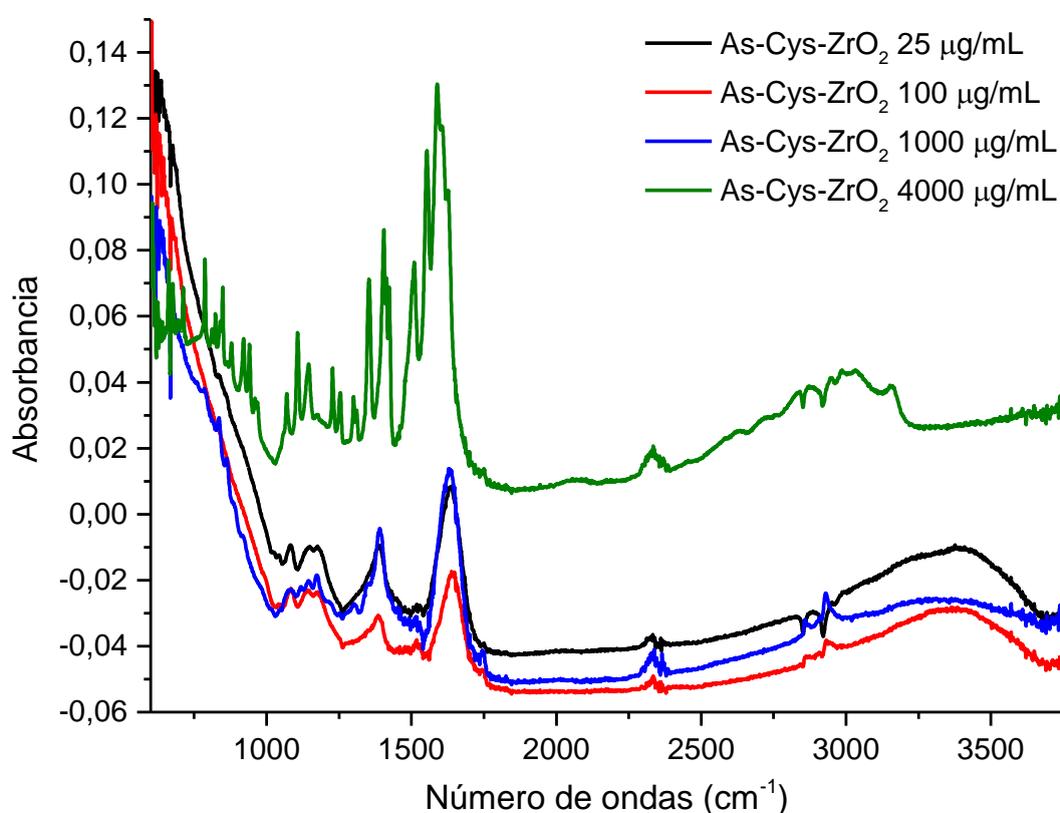


Figura 67. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ZrO_2 funcionalizadas, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, dopadas con arsénico, desde 25 hasta 4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$

3.2.2.3 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K

En la Figura 68 se muestran los espectros FT-IR de las nanopartículas de ThO_2 sintetizadas con etanodiol y calcinadas a 873 K. En ellos aparece una serie de picos relevantes, que ponen de manifiesto la efectividad del proceso de calcinación.

En este sentido, a 1120 cm^{-1} aparece un pico en los espectros de las nanopartículas dopadas con arsénico (espectros verde y rojo). Este mismo pico aparece desplazado a 1055 cm^{-1} en los espectros del nanomaterial no dopado (espectros azul y negro). Según la bibliografía, este pico podría asignarse a la vibración del enlace C-O (Aller 1998, Teleb *et al.* 2004), lo que pondría de manifiesto una posible formación de carbonatos, producto del proceso de calcinación.

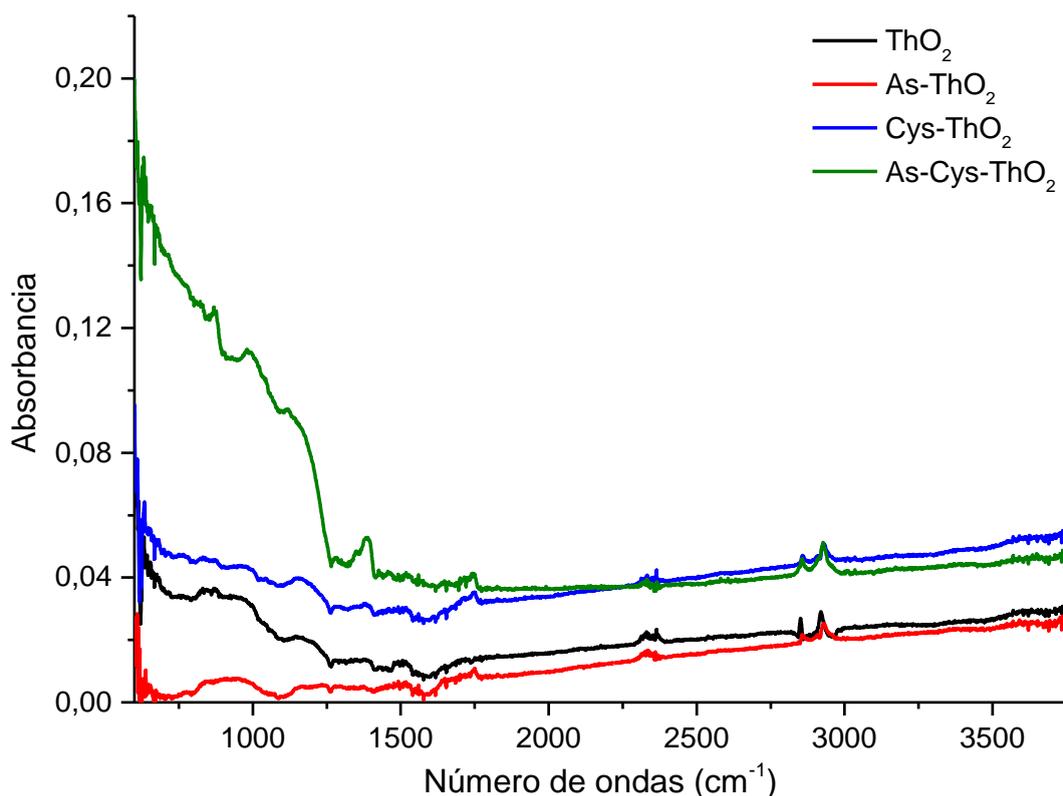


Figura 68. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

En el espectro de las nanopartículas funcionalizadas y dopadas con arsénico se han identificado dos picos a 870 y 921 cm^{-1} . Ambos picos se han asignado a la vibración del enlace As-O (Goldberg, Johnston 2001).

Finalmente, a 1377 y 1381 cm^{-1} se identificaron dos picos, atribuidos a la vibración asimétrica del grupo COO^- (Pawlukojć *et al.* 2005) y a la vibración de tensión simétrica del mismo grupo (Aller 1998), respectivamente. En el intervalo

comprendido entre 2800 y 3000 cm^{-1} sigue apareciendo una pequeña banda correspondiente a las vibraciones de los grupos CH y CH_2 .

Para el caso de las nanopartículas basadas en óxido de circonio, se obtuvieron una serie de espectros FT-IR. Estos espectros se muestran en la Figura 69.

Entre 500 y 900 cm^{-1} se observan bandas anchas características del enlace Zr-O (Salavati-Niasari *et al.* 2009). Los picos a 542, 627 y 853 cm^{-1} se relacionan con las vibraciones del ZrO_2 tetragonal, aunque la vibración del enlace As-O puede contribuir a este último (Goldberg, Johnston 2001, Verweij 1979).

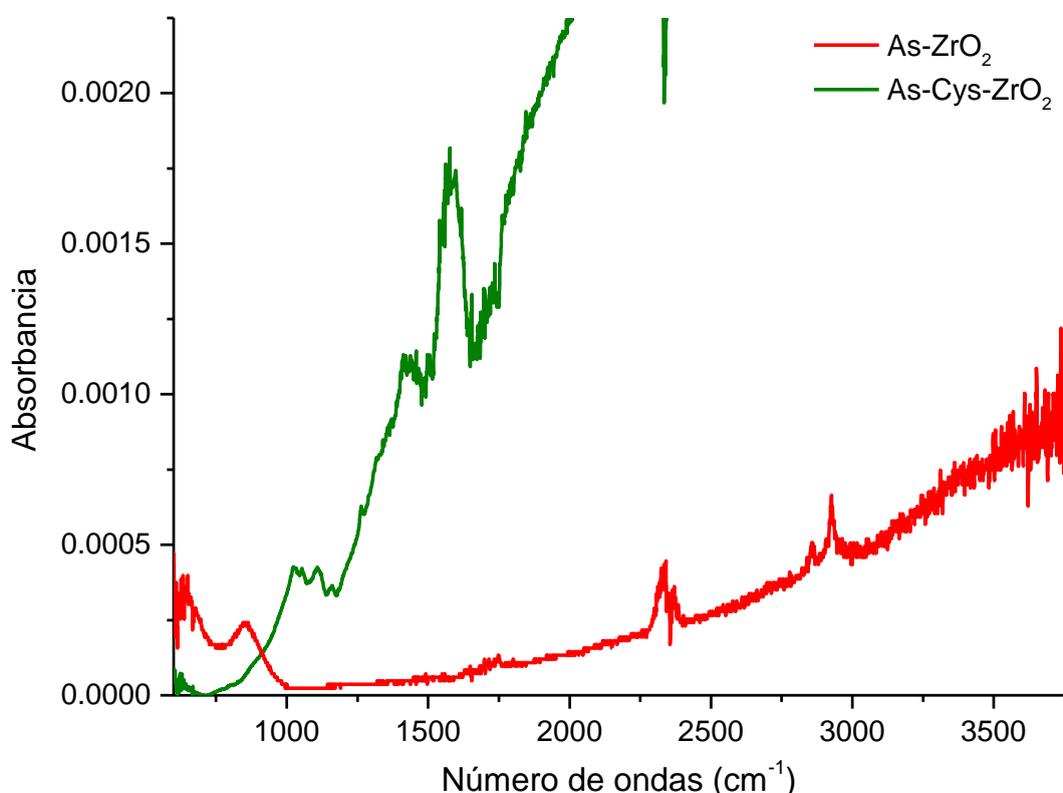


Figura 69. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

Para el espectro de las nanopartículas funcionalizadas y dopadas, se muestra una compleja estructura de bandas estrechas en la región entre 1000 y 1270 cm^{-1} , que se relaciona con la vibración de tensión de C-O y C-O(H) (Carabante *et al.* 2009, Teleb *et al.* 2004). Próxima a esta región, entre 1290 y 1460 cm^{-1} , aparece una banda

compuesta por picos típicos de la flexión en el plano OH (Nandy *et al.* 1973), junto con las vibraciones de tensión de C-O (Carabante *et al.* 2009), lo cual indica la presencia de pequeñas cantidades de ácido carboxílico (Feo, Aller 2001).

A pesar de la calcinación, para ambos espectros se mantienen los picos a 1748, 2335, 2857 y 2924 cm^{-1} , asignados a la vibración de los enlaces C=O, OH, CH y CH_2 , respectivamente.

3.2.2.4 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K

También se caracterizaron mediante FT-IR las nanopartículas basadas en óxido de circonio, sintetizadas en presencia de estabilizante orgánico y calcinadas a 1373 K. Los resultados se exhiben en la Figura 70. En ella sólo se recoge el espectro del nanomaterial As-ZrO₂, puesto que su perfil es idéntico al de resto de nanomateriales preparados mediante este método de síntesis.

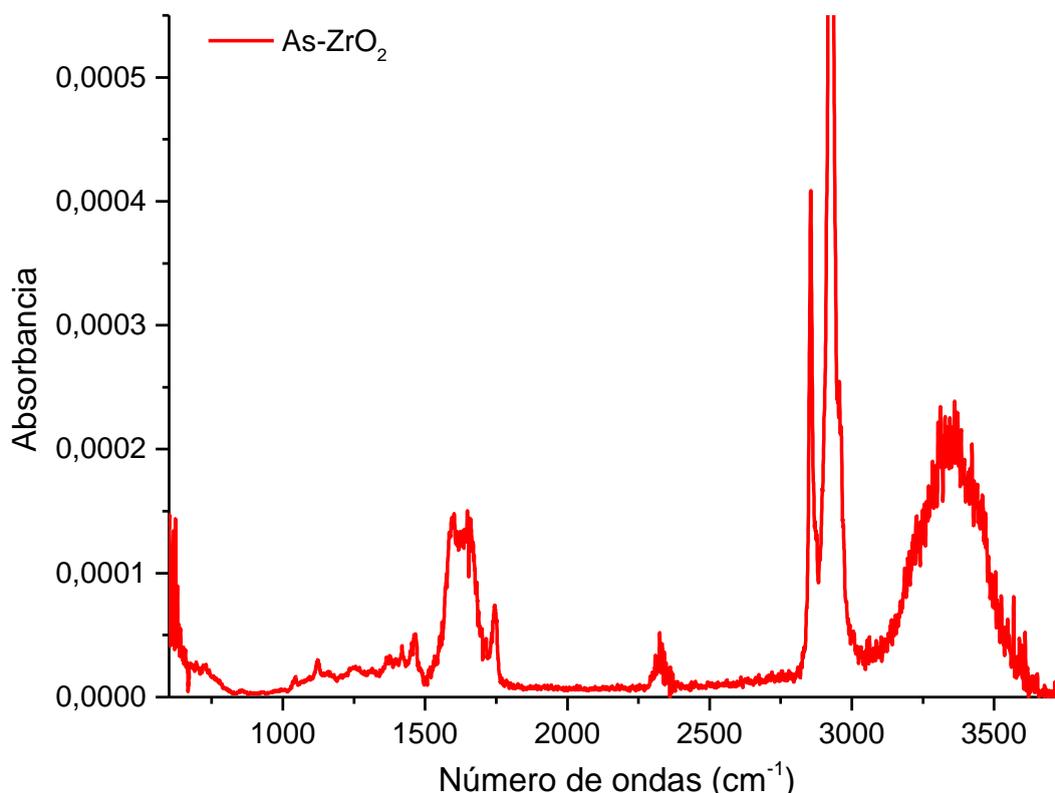


Figura 70. Espectros FT-IR de las nanopartículas de ZrO₂, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 1373 K

En el espectro de las nanopartículas de ZrO_2 dopadas con arsénico, aparecen picos característicos a 576 y 741 cm^{-1} , que la bibliografía asigna a la vibración del enlace Zr-O en fase monoclinica. La presencia de señales atribuibles a la fase monoclinica del ZrO_2 indica una transición de fase cristalina entre $t-ZrO_2$ y $m-ZrO_2$, debida a la temperatura de calcinación, como ya se observó mediante Difracción de Rayos X y Espectrometría Raman.

Se puede comprobar que, a pesar de la calcinación a una temperatura tan elevada, siguen apareciendo los picos relativos a los enlaces C=O, OH, CH y CH_2 , anteriormente descritos.

Conclusiones sobre los resultados de la técnica FT-IR

Mediante la Espectrometría FT-IR se han comprobado las conclusiones expuestas para la Espectrometría Raman. Debido a la menor calidad de los espectros de infrarrojo de las nanopartículas sintetizadas, no se pudieron enunciar nuevas conclusiones.

3.2.3 *Microscopía Confocal*

Finalmente, también se empleó la técnica de Microscopía Confocal para caracterizar las nanopartículas sintetizadas mediante los distintos procedimientos, excitando los nanomateriales a una longitud de onda de 408 nm y determinando la fluorescencia emitida a varias longitudes de onda de excitación.

Previamente, al igual que se llevó a cabo con la Espectrometría Raman y la Espectrometría FT-IR, se evaluó el estándar sólido de cisteína, tratado a 348 K, y del complejo sólido $As^{(III)}$ -Cys mediante Microscopía Confocal.

Los valores de fluorescencia obtenidos para la L -cisteína, en ausencia y presencia de 1,2-etanodiol, se representan en la Figura 71. Estas muestras de L -cisteína tratada son muy poco fluorescentes, ya que la máxima emisión alcanzada es cercana al 20 % del máximo posible.

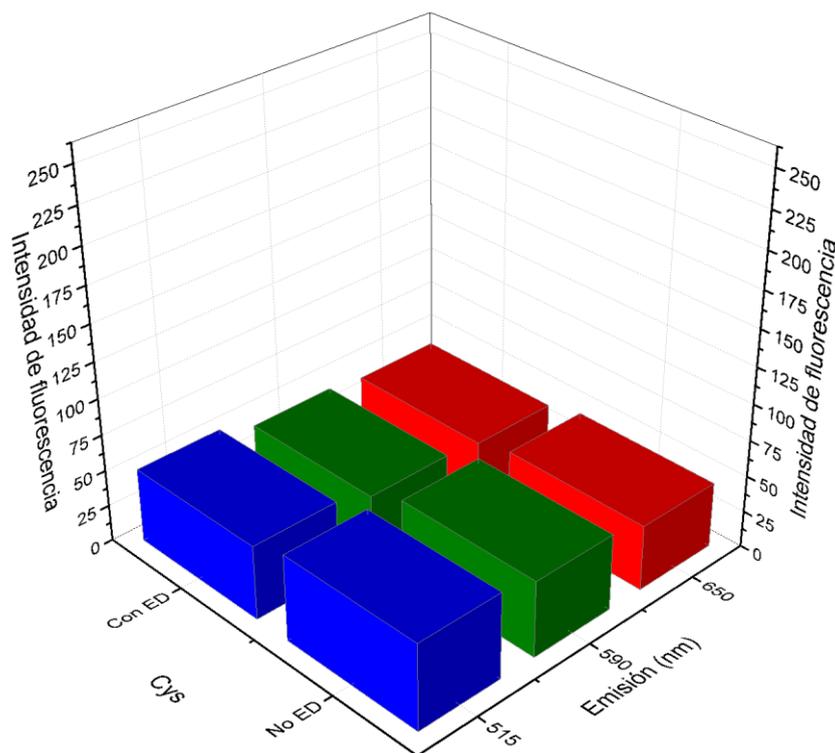


Figura 71. Intensidad de fluorescencia de la *L*-cisteína tratada sin y con etanodiol y a 348 K, excitadas a 408 nm

Se puede observar que en ausencia de etanodiol, para cualquier longitud de onda de emisión, se recoge una intensidad de fluorescencia ligeramente mayor que en presencia de etanodiol. Por otro lado, se aprecia que la intensidad de radiación emitida decrece a medida que aumenta la longitud de onda del intervalo de recogida.

De forma paralela, se llevó a cabo el análisis mediante Microscopía Confocal del complejo sólido $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys. Los valores de intensidad de fluorescencia obtenidos se recogen en la Figura 72.

Al igual que en el caso de la *L*-cisteína tratada, se observa que este complejo sólido emite poca fluorescencia, con valores similares a los obtenidos para la cisteína. Sin embargo, si se comparan la cisteína tratada con el complejo sólido $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys, se puede comprobar que el comportamiento es diferente, ya que, para este último caso, se registra una mayor cantidad de fluorescencia en presencia de etanodiol que en su ausencia.

Por otro lado, se aprecia que la emisión de fluorescencia del complejo $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys es mayor cuanto menor sea la longitud de onda de emisión, del mismo modo que en el caso de la cisteína tratada.

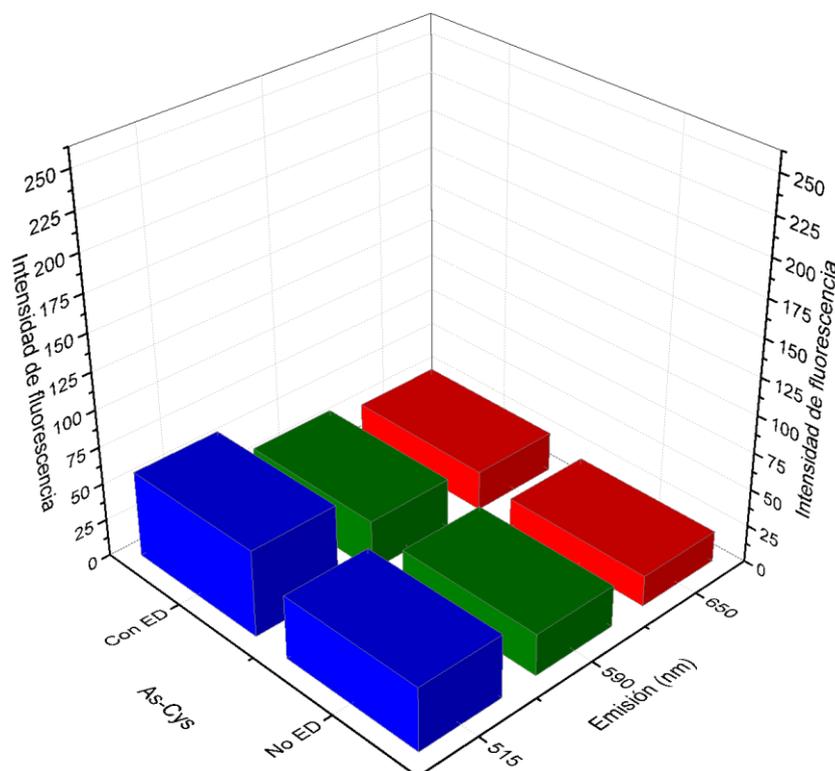


Figura 72. Intensidad de fluorescencia del complejo $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys sin y con etanodiol y a 348 K, excitadas a 408 nm

3.2.3.1 Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

Al caracterizar las nanopartículas basadas en óxido de torio, sintetizadas en ausencia de estabilizante orgánico y tratadas térmicamente a 348 K mediante Microscopía Confocal (Fig. 73) se ha observado que las nanopartículas exhiben unas propiedades fluorescentes mucho más destacadas que el estándar sólido de *L*-cisteína y que el complejo sólido $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys.

Se aprecia que para cualquier longitud de onda de emisión, las nanopartículas de ThO_2 emiten menos fluorescencia que cualquier otro tipo de nanopartículas basadas en ThO_2 , sintetizadas sin etanodiol. La intensidad de fluorescencia emitida

por el resto de nanopartículas es mayor (alrededor del triple) que la emitida por las nanopartículas no funcionalizadas ni dopadas.

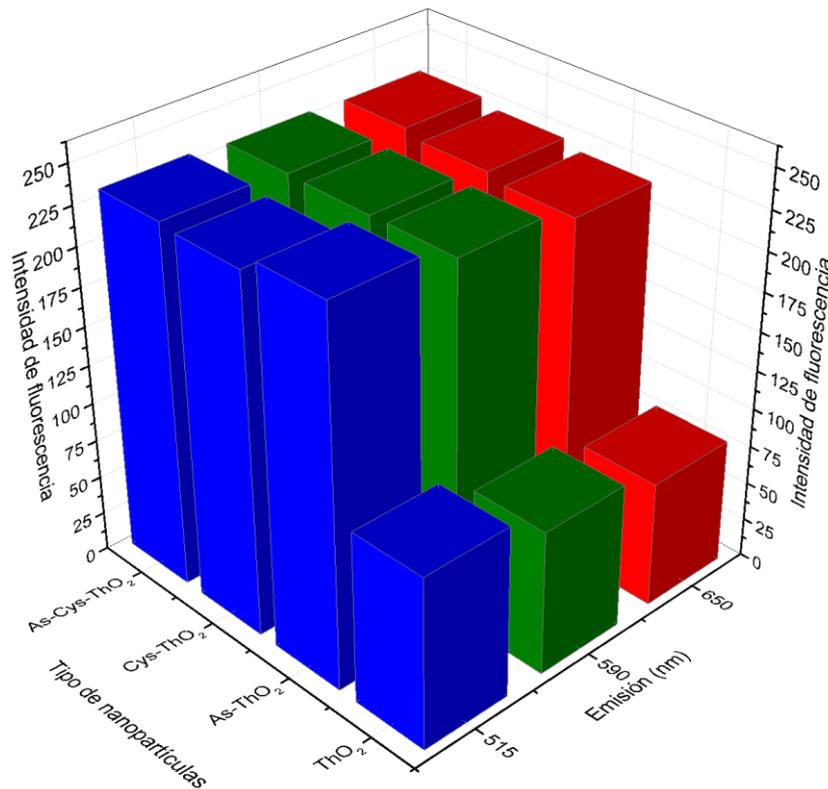


Figura 73. Intensidad de fluorescencia de las nanopartículas de ThO₂, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K, excitadas a 408 nm

La emisión de las nanopartículas As-ThO₂, Cys-ThO₂ y As-Cys-ThO₂ disminuye mínimamente a medida que aumenta la longitud de onda de emisión. Este decrecimiento es más acusado en las nanopartículas no funcionalizadas ni dopadas. Se observan intensidades levemente mayores para las nanopartículas dopadas emitiendo a 515 nm y para las funcionalizadas y dopadas para 650 nm.

El aumento de la fluorescencia en presencia de arsénico podría deberse a la incorporación de As^(III) en la estructura del ThO₂ reemplazando al Th^(IV), lo que provocaría una descompensación de cargas que podría ser ajustada por la producción de vacantes de oxígeno y/o por disminución de la valencia del torio. Los electrones podrían quedar atrapados en varios centros de defecto y los agujeros

capturados por los iones $\text{As}^{(\text{III})}$, por lo que la intensidad de fluorescencia asociada con el ion trivalente crecería. Los iones $\text{Th}^{(\text{IV})}$ podrían actuar como centros de recombinación capturando un electrón y produciendo $\text{Th}^{(\text{III})}$ en estado excitado, cuyo decaimiento al estado basal podría emitir esta radiación característica. El mecanismo de fluorescencia de las nanopartículas funcionalizadas podría deberse probablemente a la sinergia de interacciones covalentes y supramoleculares.

En la Figura 74 se recoge la intensidad de fluorescencia para los distintos nanomateriales de ZrO_2 . Los resultados demuestran que la intensidad de la radiación recogida es ligeramente menor a medida que aumenta la longitud de onda de emisión, como se observó anteriormente.

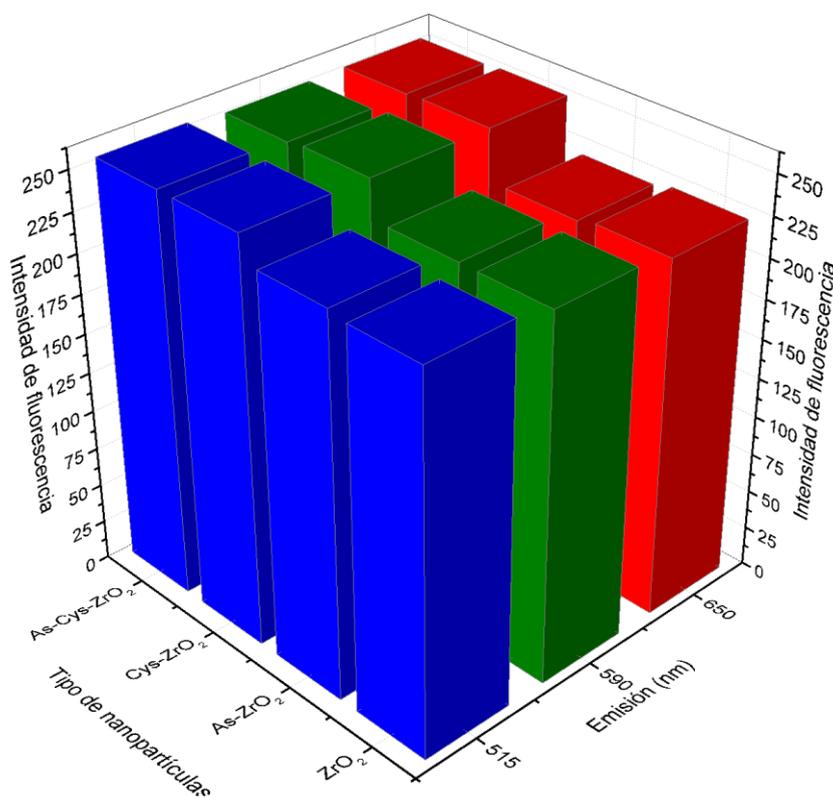


Figura 74. Intensidad de fluorescencia de las nanopartículas de ZrO_2 , sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K, excitada a 408 nm

Se aprecia que el dopado con arsénico no tiene el mismo efecto que se observó para las nanopartículas de ThO_2 , ya que el nanomaterial de ZrO_2 fluoresce

considerablemente aún sin dopar y/o funcionalizar. El nanomaterial funcionalizado y dopado emite una intensidad de luminiscencia similar al funcionalizado no dopado, prácticamente el máximo que se puede recoger.

Se podría deducir, por tanto, que las nanopartículas de ThO_2 emiten menos fluorescencia que el nanomaterial basado en ZrO_2 . Por otra parte, las nanopartículas de ThO_2 que mayor fluorescencia emiten son las dopadas con arsénico, mientras que en el caso de las nanopartículas de ZrO_2 , las más fluorescentes son las funcionalizadas con cisteína.

3.2.3.2 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

Los resultados obtenidos cuando se empleó la técnica de Microscopía Confocal para caracterizar las nanopartículas basadas en ThO_2 , sintetizadas en presencia de etanodiol a 348 K, se recogen en la Figura 75.

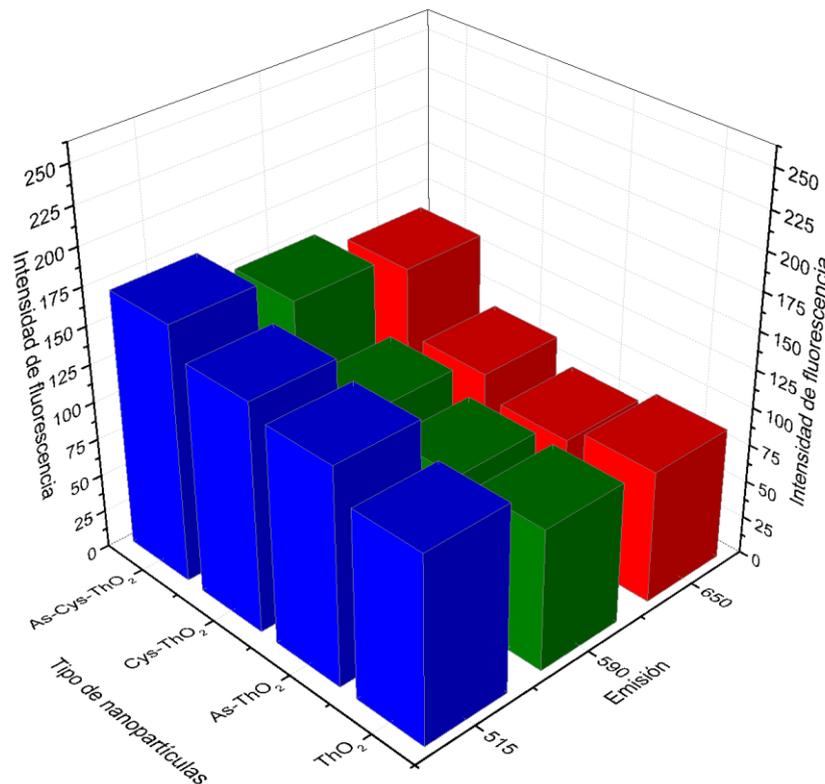


Figura 75. Intensidad de fluorescencia de las nanopartículas de ThO_2 sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, excitadas a 408 nm

Puede observarse que las nanopartículas de ThO_2 sintetizadas en presencia del estabilizante orgánico emiten menos fluorescencia que las sintetizadas en ausencia de etanodiol (Fig. 73). Por lo tanto, cabe esperar que esta disminución de la emisión en las nanopartículas de ThO_2 esté relacionada con la utilización del etanodiol como estabilizante.

Las diferencias encontradas entre la intensidad de fluorescencia originada por las nanopartículas de ThO_2 y las funcionalizadas y dopadas se reducen, si se compara con el método anterior. Se observa que las nanopartículas funcionalizadas y dopadas emiten una intensidad de fluorescencia mayor que el resto, para todas las situaciones de emisión. Por otra parte, se pone de manifiesto que las nanopartículas funcionalizadas emiten más fluorescencia que las dopadas.

Para el caso del nanomaterial basado en ZrO_2 , los resultados de intensidad de fluorescencia se recogen en la Figura 76.

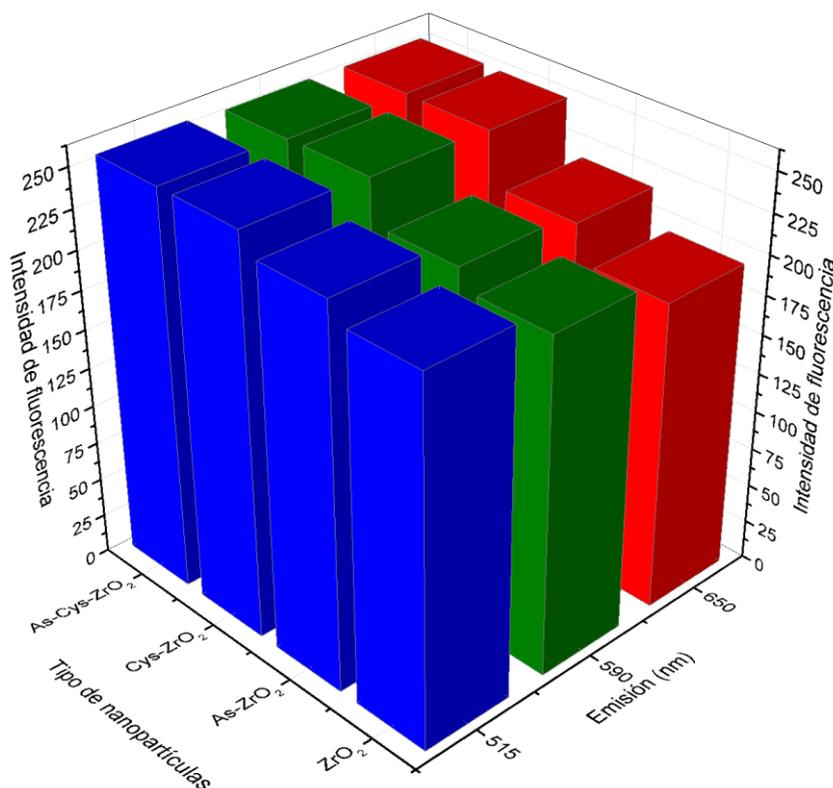


Figura 76. Intensidad de fluorescencia de las nanopartículas de ZrO_2 sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, excitadas a 408 nm

En esta figura se aprecia que las nanopartículas emiten una gran intensidad de fluorescencia a cualquier longitud de onda de emisión. También se observa que, a medida que aumenta la longitud de onda de emisión, la intensidad de la radiación emitida recogida es menor, si bien las diferencias son poco significativas. Por último, la adición de arsénico favorece un leve aumento de la emisión, como en el caso de las nanopartículas de ZrO_2 sintetizadas en ausencia de etanodiol (Fig. 74).

A la vista de los resultados, se podría concluir que las nanopartículas de ThO_2 sintetizadas mediante este método emiten menos luminiscencia que las correspondientes al ZrO_2 , al igual que ya ocurría con el procedimiento anterior.

3.2.3.3 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K

A continuación se procedió a caracterizar las nanopartículas basadas en óxido de torio, calcinadas a 873 K, representados en la Figura 77.

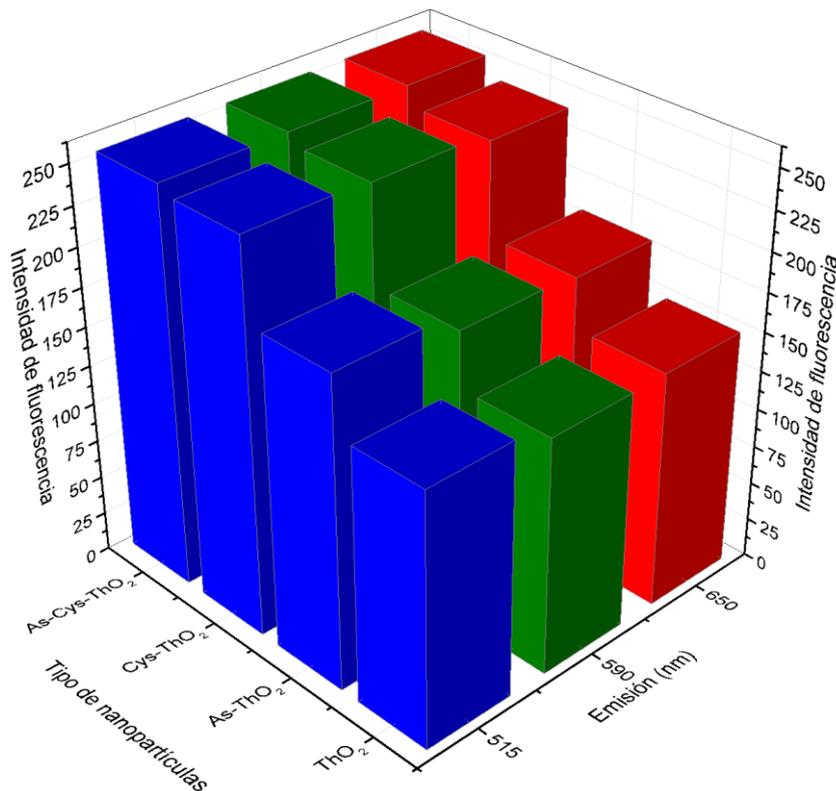


Figura 77. Intensidad de fluorescencia de las nanopartículas de ThO_2 sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K, excitadas a 408 nm

Se puede comprobar que para las nanopartículas basadas en óxido de torio sintetizadas en presencia de etanodiol y tratadas a 873 K se obtienen mayores valores de fluorescencia en comparación con el resto de procedimientos de síntesis. Se aprecia que las nanopartículas funcionalizadas emiten prácticamente la máxima intensidad de fluorescencia para cualquier canal de emisión, mayor que las no funcionalizadas. El proceso de dopado aumenta la fluorescencia del nanomaterial de ThO_2 , como ya se observó para el resto de métodos de síntesis. El aumento de la fluorescencia puede deberse a la calcinación del nanomaterial, que favorece la eliminación del etanodiol y una cristalización mucho más eficiente del ThO_2 .

También se adquirieron imágenes de Microscopía Confocal para las nanopartículas de ZrO_2 (Fig. 78). Como indica la figura, el tratamiento térmico a 873 K hace que las nanopartículas emitan una intensidad de fluorescencia parecida en cualquier canal, cercana al máximo.

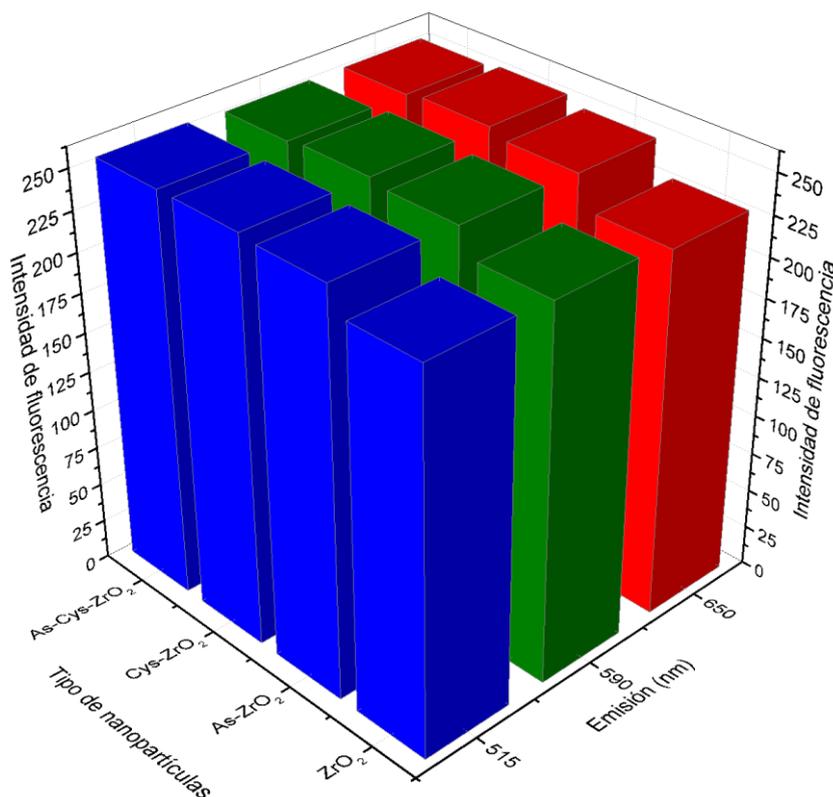


Figura 78. Intensidad de fluorescencia de las nanopartículas de ZrO_2 sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K, excitadas a 408 nm

La emisión creciente de fluorescencia de las nanopartículas de la fase *t*-ZrO₂ puede ser explicada por la generación de transportadores libres y su captura por defectos en el material nanocrystalino, lo que también se ha indicado para las nanopartículas de ThO₂, sintetizadas mediante este método.

Por tanto, se puede deducir que el proceso de calcinación a 873 K favorece la emisión de fluorescencia, tanto para las nanopartículas de ThO₂ como de ZrO₂. Además, se comprueba que las nanopartículas de ZrO₂ son más fluorescentes que las de ThO₂, al igual que resultaba para las nanopartículas tratadas a 348 K.

3.2.3.4 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K

Finalmente, se obtuvieron una serie de resultados mediante Microscopía Confocal para las nanopartículas de ZrO₂, sintetizadas en presencia de 1,2-etanodiol y tratadas térmicamente a 1373 K, los cuales se recogen en la Figura 79.

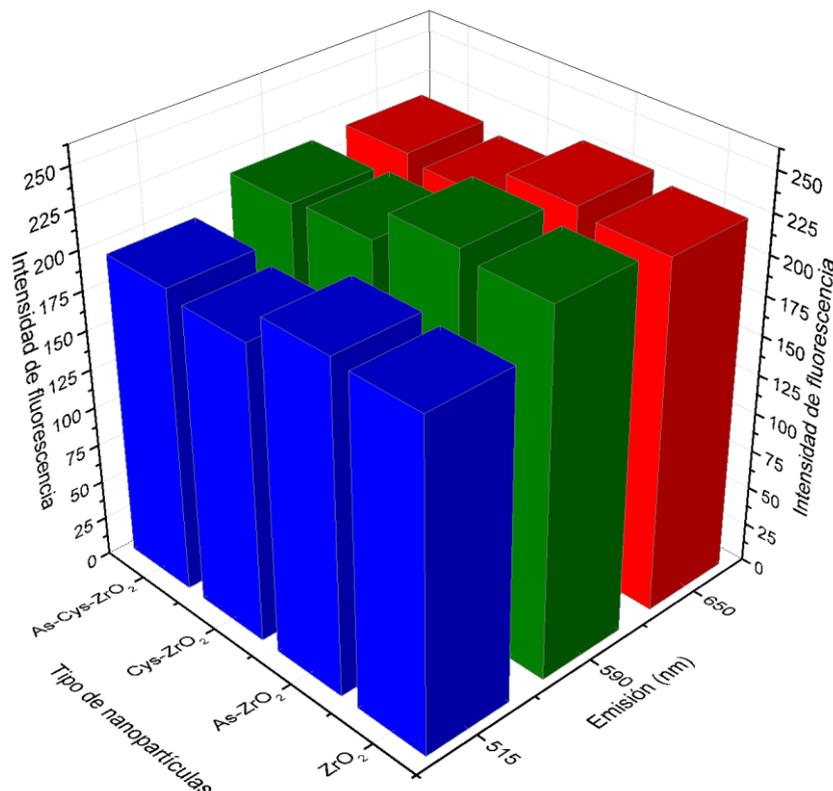


Figura 79. Intensidad de fluorescencia de las nanopartículas de ZrO₂, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 1373 K, excitadas a 408 nm

Se observa que las nanopartículas emiten una menor cantidad de fluorescencia que las preparadas mediante otros métodos, especialmente las nanopartículas funcionalizadas, debido probablemente a la eliminación de la cisteína a altas temperaturas. Los nanomateriales sintetizados mediante este procedimiento emiten más fluorescencia en el canal de emisión de 590 nm, seguido en intensidad por el de 650 nm y, por último, por el de 515 nm. Este comportamiento no se había observado con el resto de los procedimientos de síntesis.

La disminución de la fluorescencia observada a 1373 K, respecto a la recogida a 873 K, puede deberse a la transición de fase cristalina *t*-ZrO₂ a *m*-ZrO₂. La fase *m*-ZrO₂ muestra una mayor reordenación de los átomos, lo cual implica un empaquetamiento más compacto y una disminución del área superficial de las nanopartículas, tanto más cuanto mayor sea la temperatura (Mercera *et al.* 1991). La disminución de la superficie da lugar a una menor cantidad de defectos y vacantes sobre ella.

Por lo tanto, se determina que a esta temperatura de calcinación, las nanopartículas de ZrO₂ fluorescen menos que las sintetizadas mediante cualquiera de los demás procedimientos de síntesis.

Conclusiones sobre los resultados de la técnica Microscopía Confocal

Tras evaluar mediante Microscopía Confocal todos los procedimientos de síntesis, se ha comprobado que las nanopartículas basadas en ZrO₂ fluorescen más que sus homólogas basadas en ThO₂.

Se ha observado que la presencia de arsénico y, en mayor medida, de cisteína, contribuye al incremento de la fluorescencia de las nanopartículas de ThO₂. Por su parte, en el caso de las nanoestructuras de ZrO₂, también se pone de manifiesto que el arsénico y la cisteína aumentan la luminiscencia. Sin embargo, cuando las nanopartículas son sometidas a un proceso de calcinación a 1373 K, la contribución de la cisteína es mínima, puesto que a esas temperaturas se ha degradado totalmente.

La presencia de etanodiol hace decrecer la emisión de fluorescencia, especialmente en el caso de las nanopartículas de ThO₂.

Finalmente, la temperatura de calcinación a 873 K favorece la emisión de fluorescencia, tanto de nanopartículas de ThO₂ como de ZrO₂. Sin embargo, temperaturas mayores (1373 K) conllevan una menor luminiscencia del nanomaterial.

3.3 Caracterización electroquímica de las nanopartículas cerámicas

Tras caracterizar las nanopartículas espectrométricamente y mediante Microscopía Confocal, se trató de obtener información de la síntesis del nanomaterial a partir de su caracterización electroquímica, a fin de comprobar qué especies de arsénico estaban presentes en la etapa de dopado de las nanopartículas.

3.3.1 Estudios preliminares

Antes de comenzar con la caracterización electroquímica del arsénico en las nanopartículas se realizaron una serie de experiencias con patrones individuales de As_2O_3 , NaAsO_2 y Na_2HAsO_4 , con el fin de obtener los voltamperogramas de los compuestos puros. Dado que en la síntesis de las nanopartículas se ha utilizado *L*-cisteína, también se trazaron los voltamperogramas de esta especie de forma individual y las mezclas binarias de ésta con las distintas especies de arsénico.

Se llevaron a cabo experiencias en diferentes medios: HCl 2 M, 1 M y 0.5 M; KOH 2 M y 1 M, resultando el HCl 1 M como el medio óptimo de medida.

3.3.1.1 Estudio de los patrones individuales

Previamente al trazado de los voltamperogramas de los patrones de arsénico y *L*-cisteína, se realizaron voltamperogramas de la pasta de carbono, por un lado, y de la pasta modificada con nanopartículas no dopadas ni funcionalizadas, por otro lado.

Para cada electrodo se trazaron dos voltamperogramas cíclicos entre -0.4 y 1.1 V, uno de ellos empezando en sentido catódico y el otro en sentido anódico, partiendo de su potencial de intensidad cero. Para todos los casos se obtuvieron voltamperogramas idénticos al mostrado en la Figura 80, donde no se aprecia ningún pico.

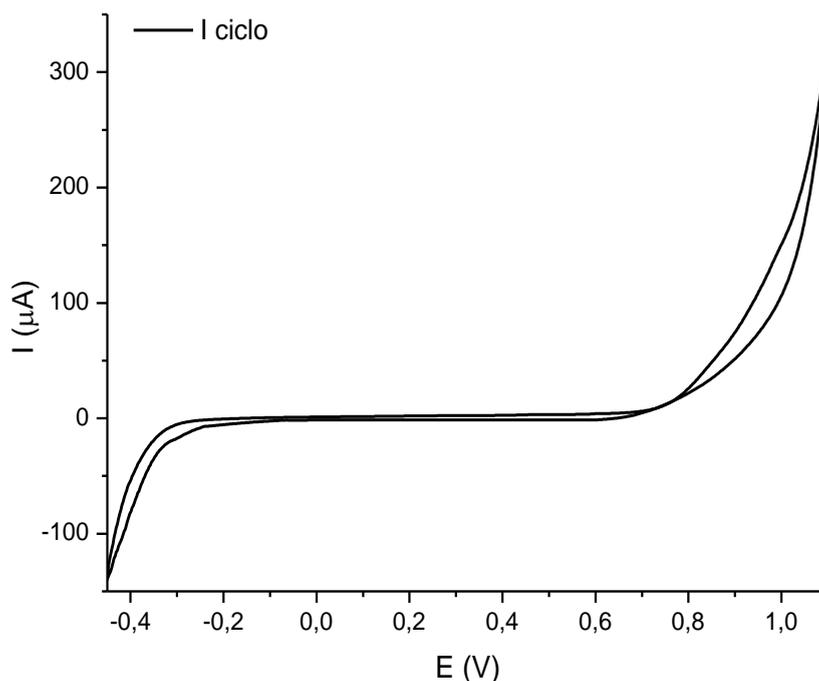


Figura 80. Voltamperograma cíclico de la pasta de carbono en medio HCl 1 M en sentido catódico

Se amplió la ventana de electroactividad en ambos límites catódico y anódico, para comprobar que no se perdía ninguna señal: se observó un ahuecamiento de la pasta a potenciales de reducción y oxidación más extremos, debido a la generación de H_2 y de O_2 , respectivamente. En estas condiciones, el electrodo perdió el contacto con la pasta, dejando de ser útil.

3.3.1.1.1 *Patrón de anhídrido arsenioso, As_2O_3*

Partiendo del potencial de intensidad nula (0.17 ± 0.03 V), se realizó el barrido en sentido catódico hasta -0.4 V, y a continuación en sentido anódico hasta 1.1 V, retornando de nuevo hasta completar el ciclo. Este proceso se repitió tres veces. Los voltamperogramas se exhiben en la Figura 81.

Desde el primer barrido se observan los picos catódico C_1 a -0.25 V, causado por la reducción de $As^{(III)}$ a $As^{(0)}$, y anódicos A_1 (0.41 V), debido a la oxidación de $As^{(0)}$ a $As^{(III)}$, y A_2 (0.92 V), que presumiblemente se origina por la oxidación de $As^{(III)}$ a $As^{(V)}$.

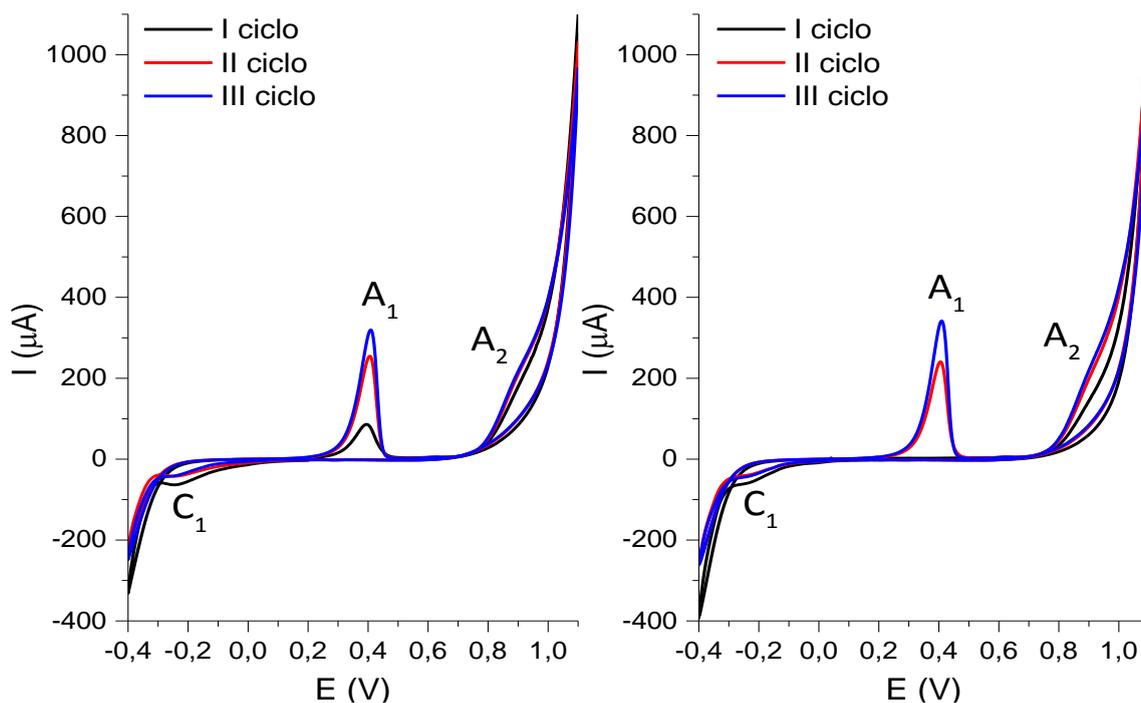


Figura 81. Voltamperogramas de As_2O_3 en HCl 1 M en sentido catódico (izquierda) y en sentido anódico (derecha)

La única diferencia entre el primer ciclo y los siguientes es la ligera disminución de intensidad del pico C_1 , el aumento en el A_1 y una ligera modificación en el A_2 . Si el primer barrido transcurre en sentido anódico, en el primer ciclo no aparece el pico A_1 pero sí las otras dos señales. A partir del segundo ciclo aparece el pico A_1 y el comportamiento de las demás señales es el descrito previamente. A partir de este resultado se puede afirmar que es necesaria la reducción de $\text{As}^{(\text{III})}$ a $\text{As}^{(0)}$ para que éste se oxide posteriormente.

Se detectó otro pico (A_0) a un potencial próximo a 0.63 V, si bien su intensidad es muy pequeña si la comparamos con el pico A_1 (Fig. 82). Según la bibliografía (Pourbaix 1963), este pico podría deberse a la oxidación de $\text{As}^{(0)}$ a $\text{As}^{(\text{V})}$. Esta intensidad tan baja estaría causada por la mayor facilidad del proceso de oxidación de $\text{As}^{(0)}$ a $\text{As}^{(\text{III})}$ y por la lenta velocidad de barrido empleada, que favorece que la práctica totalidad del $\text{As}^{(0)}$ se oxide a $\text{As}^{(\text{III})}$.

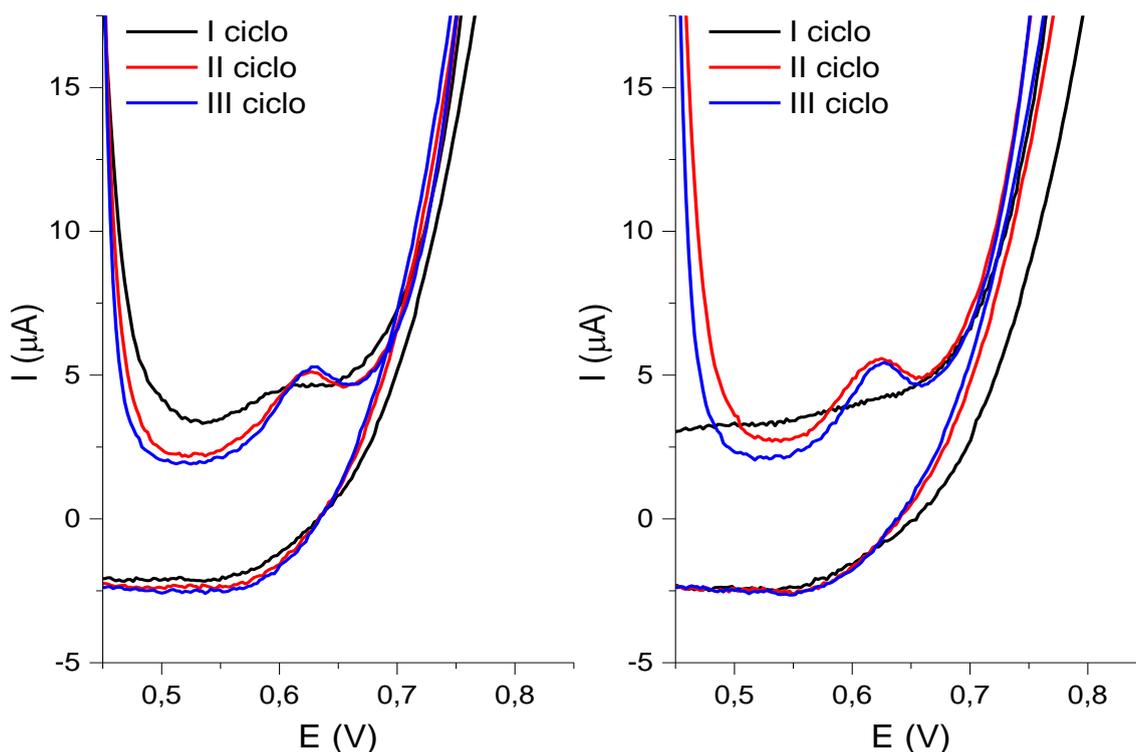


Figura 82. Voltamperogramas ampliados de As_2O_3 en HCl 1 M en sentido catódico (izquierda) y en sentido anódico (derecha)

Este pico A_0 se comporta de manera idéntica al A_1 : en el primer ciclo del voltamperograma que comienza en sentido catódico, el As_2O_3 se reduce a $\text{As}^{(0)}$. Aparece una señal más débil que en los siguientes barridos, ya que hay menos $\text{As}^{(0)}$ disponible. En el primer ciclo del voltamperograma que comienza en sentido anódico no se aprecia este pico porque el $\text{As}^{(\text{III})}$ no se ha reducido, por lo tanto no hay $\text{As}^{(0)}$ que pueda oxidarse posteriormente a $\text{As}^{(\text{V})}$. Al completarse el ciclo, ya hay $\text{As}^{(0)}$ disponible, por lo que aparece nuevamente el pico. El pico A_0 no posee interés analítico, debido a que tiene una intensidad mucho menor que la del pico A_1 . Por lo tanto, para concentraciones pequeñas de $\text{As}^{(\text{III})}$, es muy posible que A_0 sea tan débil que no se distinga del fondo.

Por otra parte, se trató de determinar el potencial al que se observaría el pico A_2 , el cual está muy cercano a la barrera, por lo que se dificulta una identificación precisa del potencial al que aparece. Para comprobar si el hombro asignado como

A₂ es en realidad un pico, se representó la primera derivada de los barridos anódicos del voltamperograma que comienza en sentido catódico (Fig. 83).

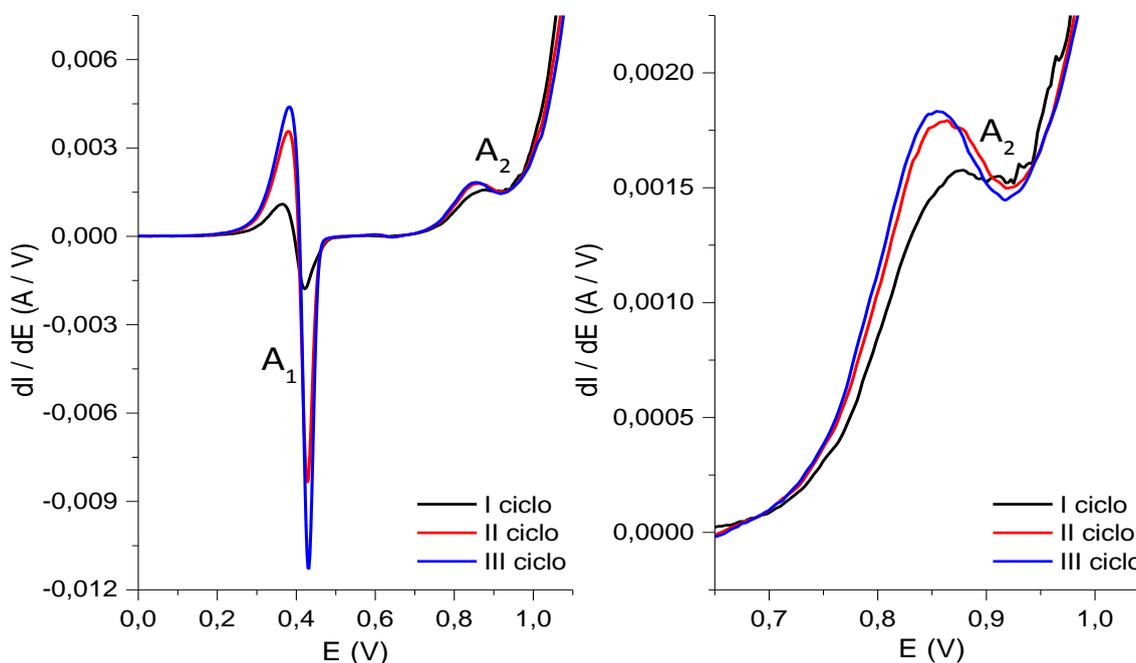


Figura 83. Derivada de los barridos anódicos del voltamperograma de As_2O_3 (izquierda). Ampliación del voltamperograma derivada en la zona de interés (derecha)

Si en el voltamperograma existiese un pico, en la primera derivada se observaría un punto de inflexión. Con ello, podría determinarse a qué potencial aparece el pico. En la figura se puede comprobar la aparición de un punto de inflexión alrededor de 0.89 V, verificando la existencia del pico A₂.

También se llevaron a cabo una serie de experimentos a fin de evaluar la relación entre el pico A₁ y C₁. Para ello, se trazó un voltamperograma desde el potencial de intensidad cero hasta 0.0 V, llegando el barrido anódico de retorno hasta 1.0 V, como se muestra en la Figura 84.

Se pone de manifiesto únicamente el pico A₂, ocasionado por la oxidación del $As^{(III)}$ presente a $As^{(V)}$. De este modo, se demuestra que si no se alcanza el potencial al que aparece C₁ no se obtiene A₁, evidenciando la relación existente entre ambos.

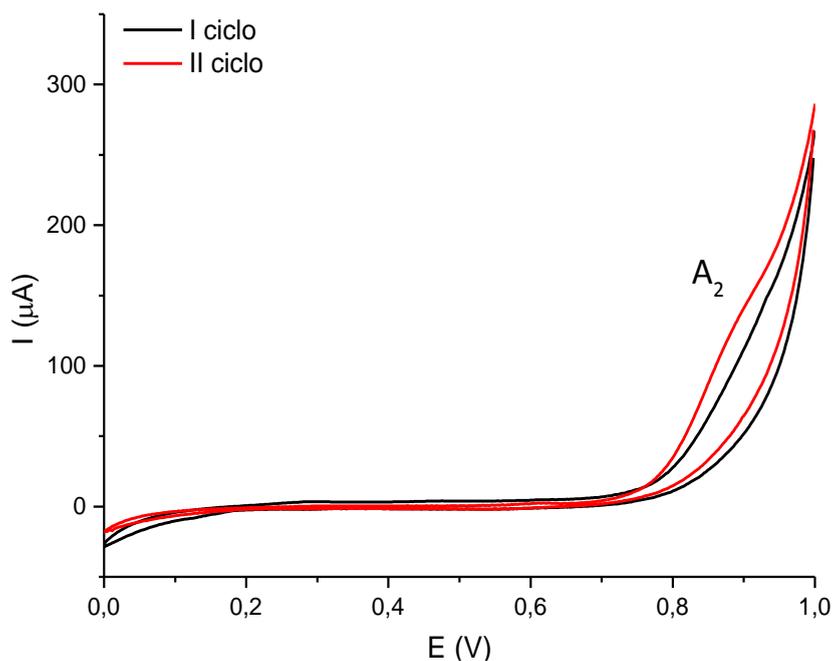


Figura 84. Voltamperograma cíclico de As_2O_3 en HCl 1 M en sentido catódico tomado en el intervalo de potenciales de 0.0 a 1.0 V

Habiendo comprobado que los picos A_1 y C_1 están relacionados, se trazaron voltamperogramas de As_2O_3 en medio HCl 1 M cuyo primer ciclo es catódico, desde 0.0, -0.1, -0.2, -0.3, -0.4, -0.5 y -0.6 V hasta 1.1 V, con el objeto de conocer a partir de qué potencial de reducción se obtendría, en el barrido anódico posterior, la señal A_1 (Fig. 85).

En esta figura se recogen únicamente los voltamperogramas cuyos límites de reducción son -0.2, -0.3 y -0.4 V. Se observa que el pico A_1 no aparece si el potencial de reducción es -0.2 V o mayor, si bien se detecta un pico si el potencial de reducción alcanza valores de -0.3 V o menores. También se ha observado que, si el límite inferior es menor que -0.3 V, la intensidad de la señal A_1 aumenta a medida que el potencial es más negativo. Esto se debe, probablemente, a que si el potencial decrece, habría mayor cantidad de $\text{As}^{(\text{III})}$ que se reduciría a $\text{As}^{(0)}$, aumentando la cantidad de $\text{As}^{(0)}$ que se oxidaría posteriormente a $\text{As}^{(\text{III})}$. Sin embargo, desde -0.5 V se observa un ahuecamiento de la pasta de carbono, presumiblemente debido a la reducción de $\text{As}^{(0)}$ a AsH_3 y a la generación de H_2 , lo que hacía las señales poco reproducibles.

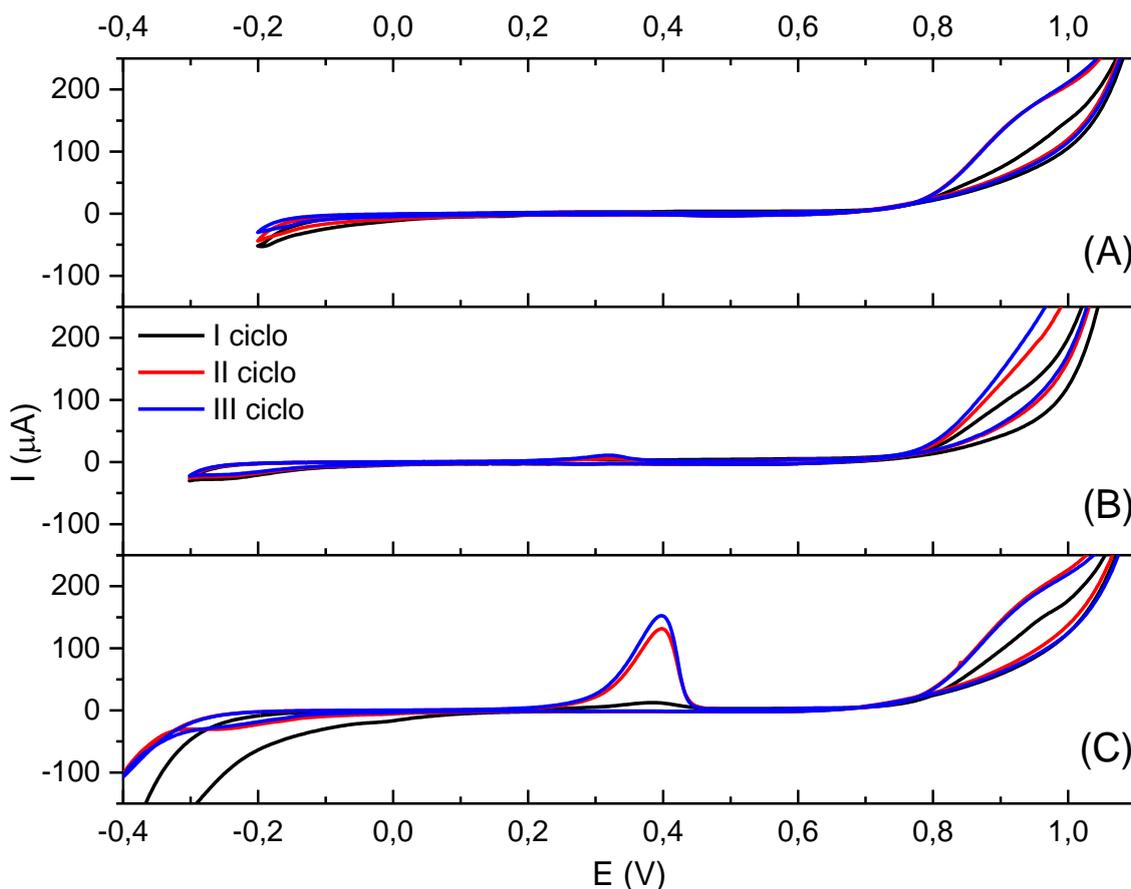


Figura 85. Voltamperogramas de As_2O_3 en HCl 1 M en sentido catódico con límites inferiores de barrido de (A) -0.2 V, (B) -0.3 V, y (C) -0.4 V

Por otra parte, se trató de encontrar un pico atribuible a la reducción de $\text{As}^{(\text{V})}$ a otras especies de arsénico, tanto $\text{As}^{(\text{III})}$ como $\text{As}^{(0)}$, sin éxito, por lo que se podría decir que el $\text{As}^{(\text{V})}$ no es electroactivo en el intervalo de potenciales estudiado (-0.4 V a 1.1 V) y en HCl 1 M.

Finalmente, se trató de ampliar la ventana de electroactividad en ambos sentidos, catódico y anódico. Por regla general, en sentido catódico se aprecia un desprendimiento mayor de la pasta que la observada en el blanco, que inutilizaba completamente el electrodo. Esto podría deberse, probablemente, a la sinergia establecida entre la formación de H_2 y la reducción del $\text{As}^{(0)}$ a AsH_3 . Esta reducción a AsH_3 se vería favorecida por el medio fuertemente ácido y reductor. En algunos voltamperogramas, se han alcanzado potenciales de reducción menores que -0.4 V,

con el consiguiente ahuecamiento de la pasta, si bien no se ha perdido totalmente el contacto con el electrodo, por lo que únicamente decrece la cantidad de masa electroactiva. De este modo, la intensidad de los picos es menor, aunque se ha podido obtener información de ese intervalo de potenciales tan negativos.

Por lo tanto, las posibles reacciones que podrían tener lugar son las siguientes:

Pico	Reacción	E^0 (V _{Ag/AgCl})	
C ₁	$As_2O_3 + 6H^+ + 6e^- \rightleftharpoons 2As + 3H_2O$	-0.442	(6)
A ₁	$2As + 3H_2O \rightleftharpoons As_2O_3 + 6H^+ + 6e^-$	0.442	(7)
A ₂	$As_2O_3 + 5H_2O \rightleftharpoons 2H_3AsO_4 + 4H^+ + 4e^-$	0.929	(8)
A ₀	$2As + 5H_2O \rightleftharpoons As_2O_5 + 10H^+ + 10e^-$	0.637	(9)

3.3.1.1.2 Patrón de metaarsenito sódico, NaAsO₂

El patrón de metaarsenito sódico se sometió a una caracterización electroquímica, obteniéndose los resultados que se exponen en la Figura 86. Se pone de manifiesto que los voltamperogramas son prácticamente idénticos a los trazados con As₂O₃, si bien los picos son más intensos, probablemente debido a la mayor solubilidad del metaarsenito.

Esta hipótesis de la mayor solubilidad también se apoya en la diferente intensidad del pico A₁ dependiendo del ciclo: si se observan los voltamperogramas de la Figura 81 se puede comprobar que, para el caso del anhídrido arsenioso, en el tercer ciclo aparece una señal A₁ más intensa que en el segundo que, a su vez, es mucho más intensa que en el primero, lo cual demostraría que el As₂O₃ aún no se ha disuelto totalmente antes del tercer ciclo. Por el contrario, en el caso del metaarsenito, el pico A₁ es más intenso en el segundo ciclo, decayendo en los posteriores, lo cual indicaría que toda la masa de analito estaría disuelta. Por otra

parte, si se comparan las intensidades de los picos A_1 en los voltamperogramas para cantidades iguales de anhídrido y sal, se puede observar que las intensidades obtenidas para el NaAsO_2 son alrededor de 5 veces mayores que para el As_2O_3 . El hecho de que el número de electrones intercambiados y las cantidades implicadas de los analitos sean las mismas, reafirma la hipótesis de que la mayor solubilidad del NaAsO_2 es la responsable de la mayor altura de los picos.

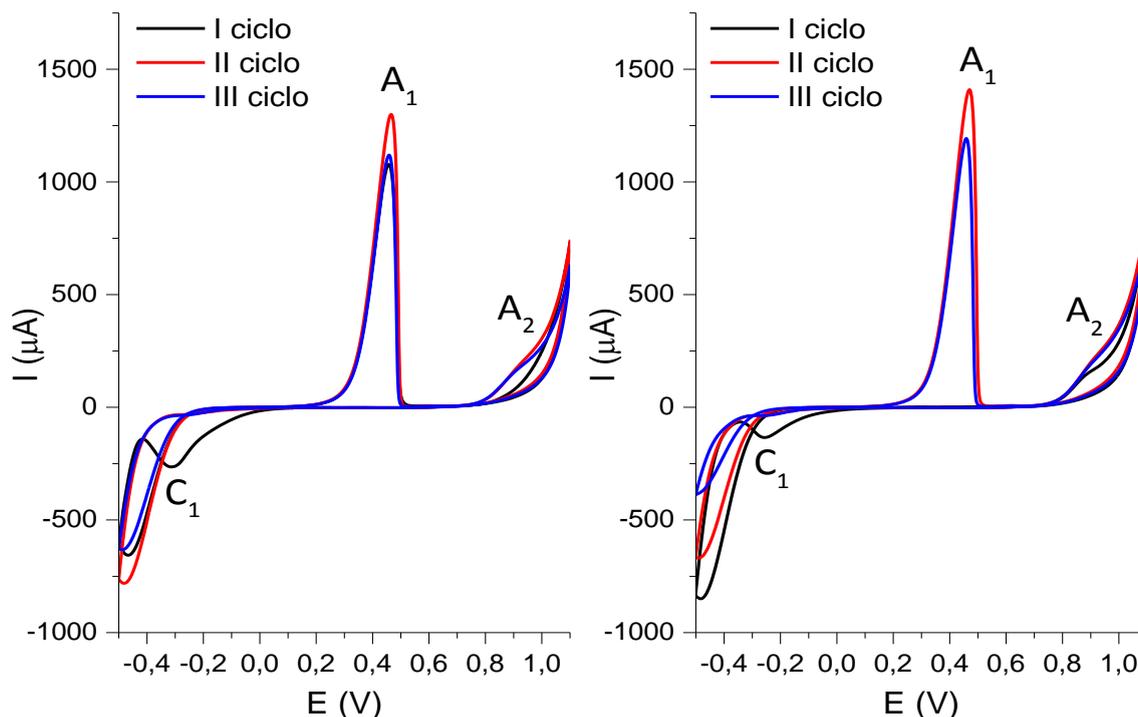


Figura 86. Voltamperogramas de NaAsO_2 en HCl 1 M en sentido catódico (izquierda) y en sentido anódico (derecha)

Al barrer en sentido anódico, se obtuvo el pico C_1 , que sólo aparece en el primer ciclo, tanto al comenzar con un barrido catódico como anódico. En los siguientes ciclos, este pico dio paso a una señal desplazada a valores más negativos, en torno a -0.48 V con cruzamiento de las líneas del voltamperograma, volviendo por la zona catódica en vez de por la anódica. Este fenómeno tiene difícil justificación, pero se observa en algunos sistemas redox. Una posible explicación puede ser la hipotética formación de una interfase electrodo-disolución que requiera mayor energía para reducirse (potencial más negativo). En el barrido

anódico de retorno aparecieron los picos A_1 y A_2 . El pico A_1 (0.46 ± 0.02 V) se desplazó a potenciales más positivos que el obtenido en el voltamperograma de As_2O_3 . De igual manera que en el caso anterior, cuando el primer barrido fue anódico, no apareció el pico A_1 .

3.3.1.1.3 Patrón de hidrogenoarseniato sódico, Na_2HAsO_4

Los voltamperogramas de Na_2HAsO_4 se exhiben en la Figura 87. El barrido comenzó hacia reducción y, posteriormente, hacia oxidación, partiendo del potencial de intensidad nula, en este caso 0.25 ± 0.02 V. Se pone de manifiesto que en los voltamperogramas no se observa señal alguna, obteniéndose voltamperogramas idénticos a los del fondo. De este modo se demuestra que el $As^{(III)}$ no sufre ningún proceso redox en la ventana de electroactividad seleccionada y con HCl 1 M.

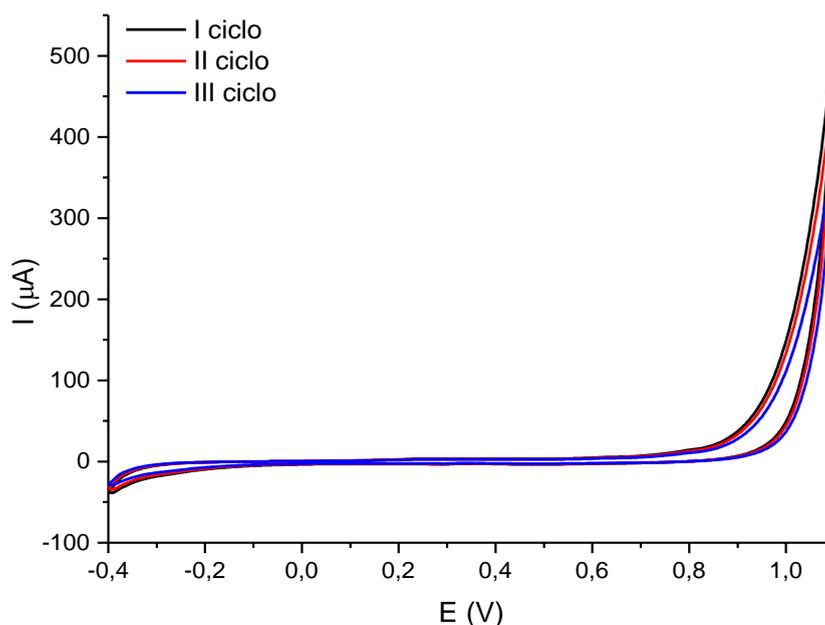


Figura 87. Voltamperograma de Na_2HAsO_4 en HCl 1 M en sentido catódico

3.3.1.1.4 Patrón de l-cisteína

Una vez estudiadas las señales electroquímicas de las especies de arsénico, As_2O_3 , $NaAsO_2$ y Na_2HAsO_4 , se procedió también a evaluar mediante esta técnica el comportamiento electroquímico de la l-cisteína (Fig. 88).

Si el voltamperograma comienza en sentido catódico, en el barrido anódico de retorno aparecen un hombro a 0.54 ± 0.02 V, nombrado como A_3 , y un pico A_4 a 0.89 ± 0.02 V. La presencia de dos picos hace pensar que la cisteína se oxida en dos etapas, asignándose el hombro A_3 a la oxidación irreversible de cisteína a cistina.

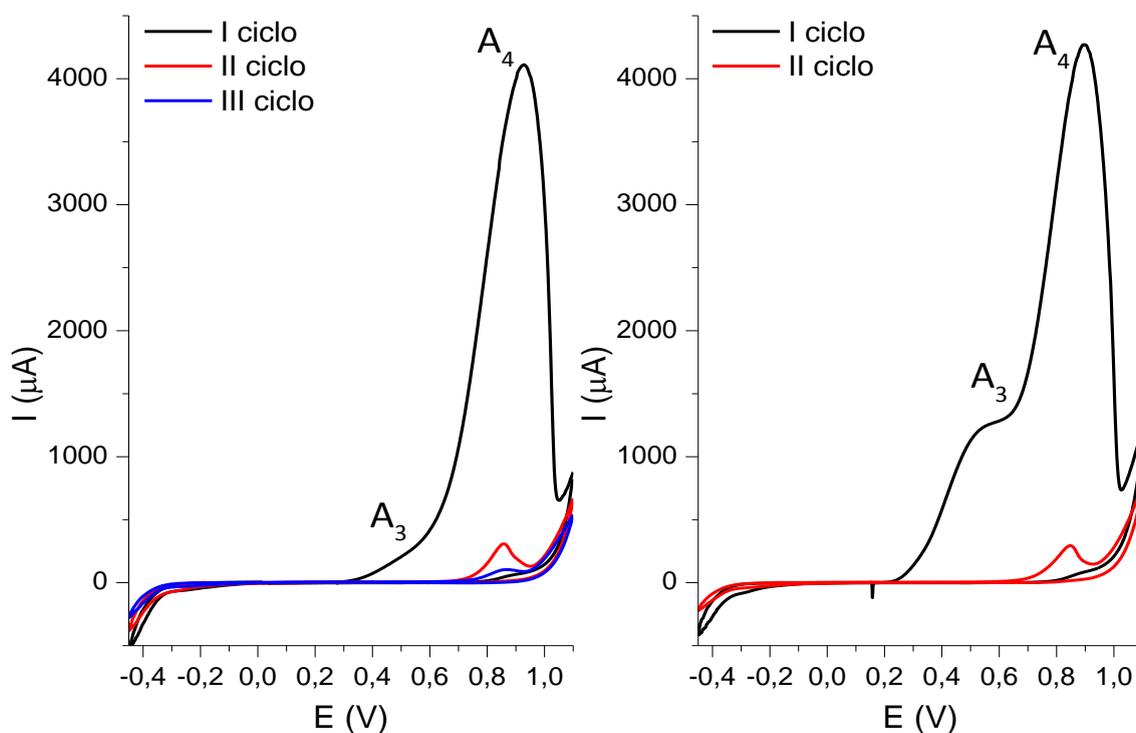


Figura 88. Voltamperogramas de L-cisteína en HCl 1 M en sentido catódico (izquierda) y en sentido anódico (derecha)

Este pico A_3 está englobado en el pico A_4 y no es visible, si bien se ha comprobado su existencia por la presencia de un punto de inflexión al mismo potencial en la primera derivada. Este hombro A_3 desaparece en el segundo ciclo y posteriores, debido a que casi toda la cisteína se ha oxidado irreversiblemente a cistina. A su vez, el pico A_4 se asigna a la oxidación de cistina. Se observa que su intensidad disminuye drásticamente del primer barrido al segundo (alrededor de doce veces), y continúa decreciendo a medida que aumenta el número de ciclos, por lo que se podría concluir que la cistina también se oxida de manera irreversible.

Si se compara el voltamperograma que comienza en sentido anódico con el que comienza en sentido catódico, se pone de manifiesto que ambos son prácticamente idénticos. La única diferencia clara la constituye el pico A_3 , el cual se hace más patente en el primer ciclo que en el que comienza en sentido catódico, debido probablemente a que una fracción de la *L*-cisteína se reduce irreversiblemente durante el primer barrido catódico.

La oxidación de la cisteína se debe estudiar teniendo en cuenta el pH, ya que éste determina la especie ionizada predominante. De las cuatro especies de cisteína (H_3A^+ , H_2A , HA^- y A^{2-}), tan sólo H_3A^+ y HA^- son electroactivas entre pH 2 y 10 (Zhou *et al.* 2007). Según el diagrama de abundancia de la cisteína en función del pH (Fig. 56.B), para valores menores que 5, la única especie electroactiva es H_3A^+ , que está en concordancia con la literatura (Zen *et al.* 2001). Por lo tanto, H_3A^+ sería la especie que sufre los procesos redox en este trabajo.

Conclusiones sobre los patrones

Tras caracterizar electroquímicamente los cuatro patrones anteriores, y tras estudiar los resultados obtenidos, se puede exponer una serie de conclusiones.

El pico A_1 sólo aparece después de la reducción de $As^{(III)}$ a $As^{(0)}$, ya sea partiendo de As_2O_3 como de $NaAsO_2$. Haciendo barridos cortos se observa que C_1 y A_1 están relacionados entre sí. Por lo tanto, A_1 se debe a la oxidación de $As^{(0)}$ a $As^{(III)}$, y C_1 se debe a la reducción de $As^{(III)}$ a $As^{(0)}$.

El pico A_2 corresponde a la oxidación de $As^{(III)}$ a $As^{(V)}$. El $As^{(V)}$ se oxida de forma irreversible, por lo tanto no se observa ningún pico catódico correspondiente a este proceso en el intervalo de electroactividad estudiado.

El pico A_3 se debe a la oxidación de la *L*-cisteína a cistina, que, a potenciales mayores (A_4), se oxida total e irreversiblemente en los ciclos sucesivos. El pico A_3 desaparece ya en el segundo barrido, mientras que el A_4 decrece drásticamente para

desaparecer después del tercero. Se puede concluir que la *l*-cisteína se oxida casi totalmente en el primer ciclo, del mismo modo que la cistina obtenida en el pico A₃.

3.3.1.2 Estudio de las mezclas binarias de patrones

Simultáneamente a la caracterización de los patrones individuales, también se estudiaron electroquímicamente una serie de mezclas binarias: anhídrido arsenioso + cisteína, metarsenito de sodio + cisteína e hidrogenoarseniato de sodio + cisteína. Los resultados se exponen a continuación.

3.3.1.2.1 Anhídrido arsenioso + cisteína

Se llevó a cabo un análisis electroquímico de la mezcla binaria compuesta por anhídrido arsenioso y cisteína. Los voltamperogramas obtenidos se muestran en la Figura 89. En ella se pone de manifiesto que el pico C₁ aparece en el primer barrido, en el caso de que el voltamperograma comience en sentido catódico. En el barrido anódico de retorno aparecen tres picos solapados: A₁ y A₃, estudiados anteriormente, y un pico (A₅) a 0.58 ± 0.02 V, que está relacionado con la presencia simultánea de As^(III) y *l*-cisteína. Se ha determinado que este pico se debe a la oxidación de la cisteína cuando está presente en forma de un complejo soluble As^(III)-Cys, que podría formarse tras la etapa de oxidación del As⁽⁰⁾. Esta asignación se podría fundamentar atendiendo a las siguientes razones: primera, que el pico A₅ sólo aparece cuando As^(III) y la cisteína están presentes al mismo tiempo; y segunda, que el pico A₅ no aparece cuando el voltamperograma comienza en sentido anódico, en el que las etapas previas de oxidación/reducción de arsénico no tienen lugar. Es razonable pensar que la oxidación del complejo As^(III)-Cys está mediada cinéticamente por el siguiente proceso lento de disociación,



que se apoya en la elevada constante de formación ($K_f = 10^{29.84}$) del complejo As^(III)-Cys (Rey *et al.* 2004). Como las especies se introducen en forma de reactivos

sólidos, el compuesto originado por ambos podría ser lábil, ya que en los ciclos sucesivos sólo se observa el pico A₁, por lo que es probable que el compuesto formado se transforme con el barrido de potenciales. Una vez que sufre el barrido de potenciales, se separa en sus partes constituyentes.

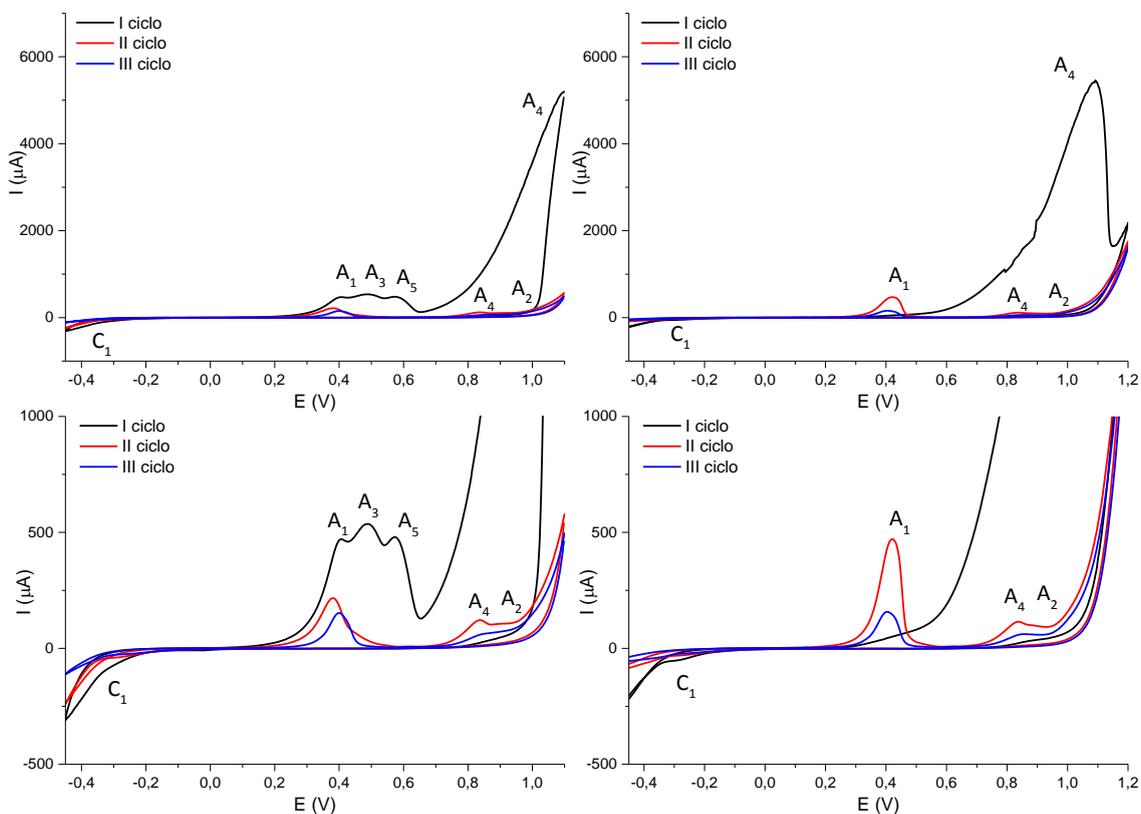


Figura 89. Voltamperogramas de la mezcla $\text{As}_2\text{O}_3 + \text{Cys}$ en HCl 1 M en sentido catódico (izquierda) y en sentido anódico (derecha)

El pico A₄ aparece también en este primer ciclo. En los ciclos sucesivos, de los tres picos superpuestos, sólo se mantiene A₁, reduciéndose en gran medida el pico A₄, que se desplaza hacia potenciales menores (0.84 ± 0.02 V). A partir del segundo ciclo, se hace patente el pico A₂: esto puede indicar que ya estaba presente en el primer ciclo, pero quedaba englobado en el pico A₄, muy intenso.

En el barrido que comienza en sentido anódico los picos A₁, A₅ y A₃ no aparecen en el primer ciclo. A partir del segundo ciclo, sólo se observa el pico A₁: como se ha determinado en las experiencias individuales, para que aparezca el pico

A₁ es necesaria la reducción previa de As^(III) a As⁽⁰⁾. A la vista de los resultados, es necesaria la oxidación de As⁽⁰⁾ a As^(III) para obtener el pico A₅.

Para determinar si en los procesos redox que tienen lugar en el electrodo participa la fracción disuelta, sólida o ambas, se prepararon dos suspensiones de 5 mL con HCl 1 M: la primera, con 5 mg de As₂O₃, y la segunda, con 4.5 mg de As₂O₃ y 45 mg de cisteína. Se tomaron los sobrenadantes a diferentes horas y se aplicó una voltamperometría cíclica cuyo primer barrido transcurrió en sentido catódico. Se representó la intensidad del pico A₁ frente al tiempo (Fig. 90).

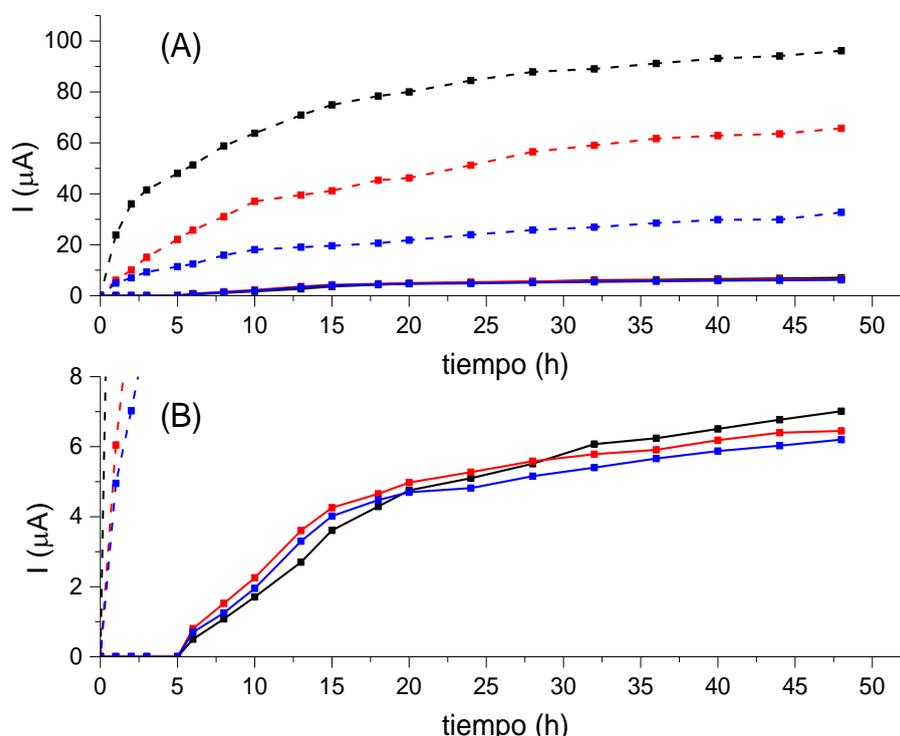


Figura 90. (A) Intensidades del pico A₁ a partir de los sobrenadantes en función del tiempo de contacto (línea continua: As₂O₃, línea discontinua: As₂O₃ + Cys; negra: primer ciclo, roja: segundo ciclo, azul: tercer ciclo). (B) Zoom de las líneas correspondientes al sobrenadante de As₂O₃

La Figura 90.A compara los diferentes ciclos de ambos sobrenadantes: para cualquier tiempo, la intensidad del sobrenadante de la mezcla es mucho mayor que la del patrón individual. Observando los resultados correspondientes al sobrenadante de la mezcla, se aprecia el pico A₁ desde la primera hora. Durante las 6 horas siguientes aparece un pico muy ancho que se va definiendo como un triplete.

Se podría intuir que la presencia de cisteína facilita la disolución de As_2O_3 , debido a la elevada constante de formación del complejo $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys, que hace que el As_2O_3 se disuelva de manera mucho más rápida si la cisteína se encuentra presente.

Los resultados obtenidos para el sobrenadante de As_2O_3 (Fig. 90.B) muestran que hasta las 5 horas no aparece el pico A_1 . Este hecho apunta a que, al introducir el reactivo de As_2O_3 en la pasta de carbono, la fracción que participa es mayoritariamente sólida, ya que el As_2O_3 es muy poco soluble en HCl. No obstante, en los siguientes ciclos, es muy probable que una parte del material electroactivo sufra un proceso de disolución electrolítica durante el tiempo de análisis, de tal manera que en los siguientes barridos participen las fracciones disuelta y sólida.

También se observa que la intensidad del pico A_1 para el sobrenadante de As_2O_3 es mayor en el segundo ciclo que en el primero, disminuyendo en el tercero y siguientes. A partir de un cierto tiempo, la intensidad de A_1 en el primer ciclo es mayor que en los siguientes y decrece con el número de ciclos. Esto puede ser debido a que algunas micropartículas se encuentran en suspensión durante las primeras horas, recogándose con el sobrenadante y disolviéndose electroquímicamente durante la voltamperometría cíclica. Al aumentar el tiempo, estas micropartículas aparecen en menor cantidad en el sobrenadante, ya que el $\text{As}^{(\text{III})}$ está disuelto en mayor medida, por lo que la intensidad en el primer ciclo aumenta si se compara con el segundo ciclo, llegando incluso a superarla a partir de una hora.

3.3.1.2.2 Metaarsenito de sodio + cisteína

Se caracterizó electroquímicamente la mezcla binaria compuesta por NaAsO_2 + Cys (Fig. 91). Se aprecia que no existen grandes diferencias entre los voltamperogramas de esta mezcla y los obtenidos a partir de As_2O_3 + Cys.

En el primer ciclo en sentido catódico se puede observar el pico C_1 . En el barrido anódico de retorno, aparecen los hombros A_1 y A_2 y los picos A_5 , A_3 y A_4 . Al igual que en el voltamperograma de la mezcla anterior, en los ciclos posteriores desaparecen los picos A_3 y A_5 , mientras que el A_4 se reduce en gran medida y se

desplaza hacia potenciales menores. El pico A_2 se aprecia en el segundo barrido y en los siguientes. Por otra parte, el voltamperograma que comienza en sentido anódico es idéntico al obtenido para la mezcla $As_2O_3 + Cys$.

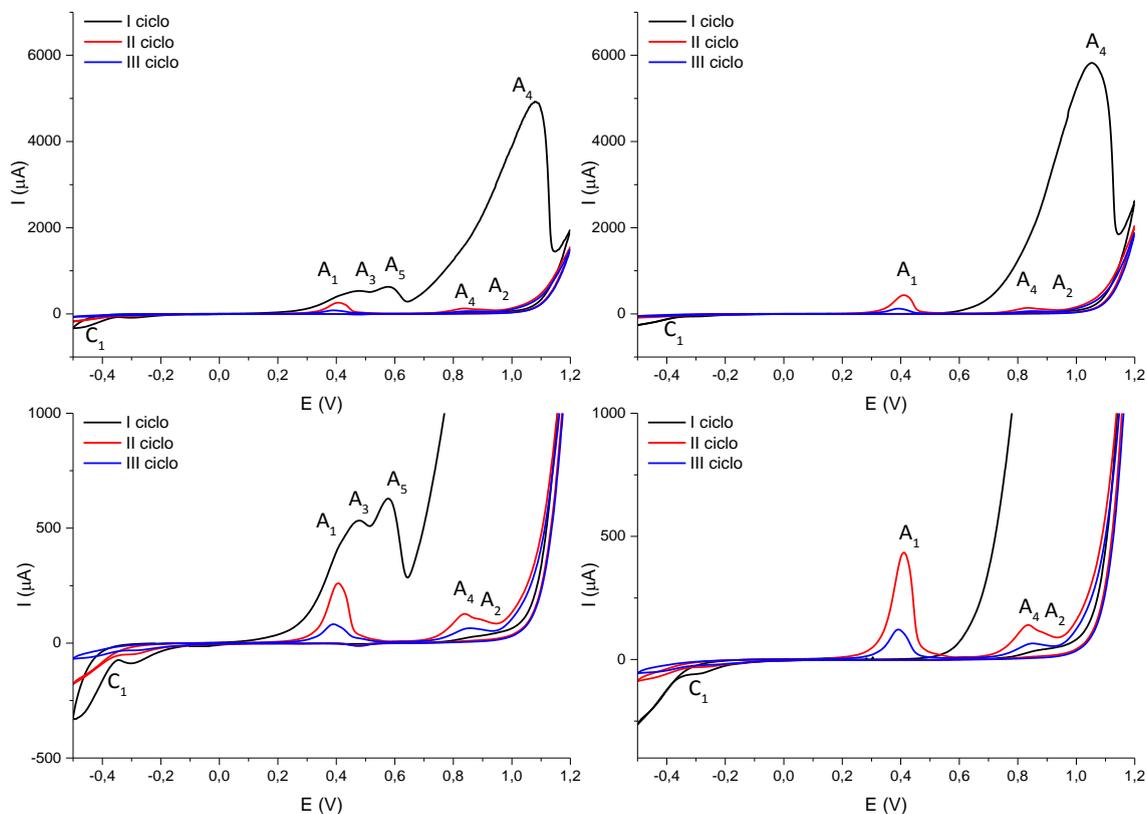


Figura 91. Voltamperogramas de la mezcla $NaAsO_2 + Cys$ en HCl 1 M en sentido catódico (izquierda) y en sentido anódico (derecha)

3.3.1.2.3 Hidrogenoarseniato de sodio + cisteína

Los voltamperogramas correspondientes a la mezcla hidrogenoarseniato de sodio y cisteína se exponen en la Figura 92. Al estudiar esta mezcla, se ha comprobado que su comportamiento electroquímico es idéntico al que muestran las mezclas binarias anteriormente evaluadas. Sin embargo, se ha encontrado que, en este caso, en el primer ciclo, los picos A_1 , A_5 y A_3 aparecen englobados en un único pico muy ancho. En los ciclos posteriores, la única señal obtenida a esos potenciales es el pico A_1 .

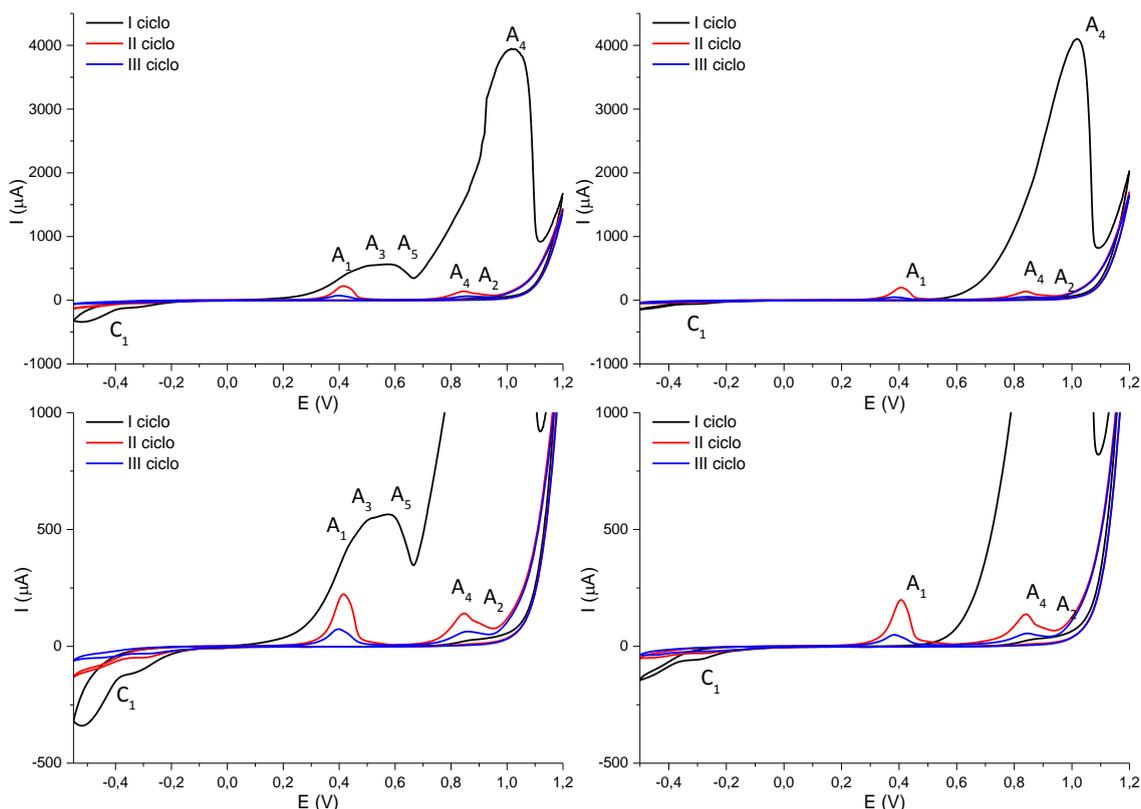


Figura 92. Voltamperogramas de la mezcla $\text{NaH}_2\text{AsO}_4 + \text{Cys}$ en HCl 1 M en sentido catódico (izquierda) y en sentido anódico (derecha)

Si se comparan los voltamperogramas obtenidos a partir de NaH_2AsO_4 (Fig. 87) y de la mezcla de NaH_2AsO_4 con *l*-cisteína (Fig. 92), se observan resultados dispares: el voltamperograma de NaH_2AsO_4 no presenta ningún pico, al contrario que la mezcla, que proporciona un voltamperograma prácticamente idéntico al obtenido con las mezclas de los dos reactivos de $\text{As}^{(\text{III})}$ con cisteína estudiados. Este hecho podría explicarse teniendo en cuenta que la *l*-cisteína ha podido reducir una parte del $\text{As}^{(\text{V})}$ a $\text{As}^{(\text{III})}$. Esta reducción previa a la voltamperometría se ve favorecida por la solubilidad tanto del NaH_2AsO_4 como de la cisteína en medio ácido.

Conclusiones sobre las mezclas binarias de patrones

Tras caracterizar electroquímicamente las tres mezclas binarias se deduce que si el primer barrido es catódico, en el primer ciclo aparecen los picos A_1 , A_3 y A_5 formando un triplete: el pico A_5 tiene relación con la presencia de $\text{As}^{(\text{III})}$ y de cisteína.

Para todas las mezclas, si el primer barrido es anódico, en el primer ciclo no se observa el triplete comentado. Tal y como sucedía en los voltamperogramas de los patrones individuales de arsénico, si éste no se reduce previamente a $\text{As}^{(0)}$ no puede oxidarse, por lo que no se obtienen las señales A_1 y A_5 . Por lo tanto, si el barrido comienza en sentido anódico, en el primer ciclo sólo se observa el pico A_4 .

A partir del segundo ciclo de todas las mezclas estudiadas, ya sea en el primer análisis catódico o anódico, el único pico del triplete que aparece es el pico A_1 .

El voltamperograma trazado para la mezcla de $\text{NaH}_2\text{AsO}_4 + \text{Cys}$ es idéntico a los obtenidos a partir de las mezclas de $\text{As}^{(\text{III})}$ y cisteína. La cisteína es capaz de reducir el $\text{As}^{(\text{V})}$ a $\text{As}^{(\text{III})}$ antes de comenzar el análisis, hecho que se ve favorecido por la solubilidad tanto del NaH_2AsO_4 como de la cisteína en medio ácido. Sin embargo, no es capaz de reducir $\text{As}^{(\text{III})}$ a $\text{As}^{(0)}$, ya que en los voltamperogramas de las mezclas binarias de anhídrido arsenioso y metaarsenito de sodio con *l*-cisteína que comienzan en sentido anódico sigue sin aparecer el pico A_1 en el primer barrido.

3.3.2 Caracterización electroquímica de las nanopartículas

A continuación, se trató de caracterizar electroquímicamente las nanopartículas de ThO_2 y ZrO_2 , en función de su procedimiento de síntesis.

3.3.2.1 Ausencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

Las nanopartículas de óxido de torio no funcionalizadas, sintetizadas en ausencia de etanodiol y tratadas térmicamente a 348 K, originaron los voltamperogramas que se muestran en la Figura 93.

En el primer barrido de los voltamperogramas de las nanopartículas no funcionalizadas se observan picos catódicos que no aparecieron en los estudios preliminares. Estos picos pueden deberse a impurezas electroactivas que se reducen irreversiblemente en el primer ciclo, no apareciendo en los siguientes barridos. Los voltamperogramas para las nanopartículas de ZrO_2 resultaron idénticos.

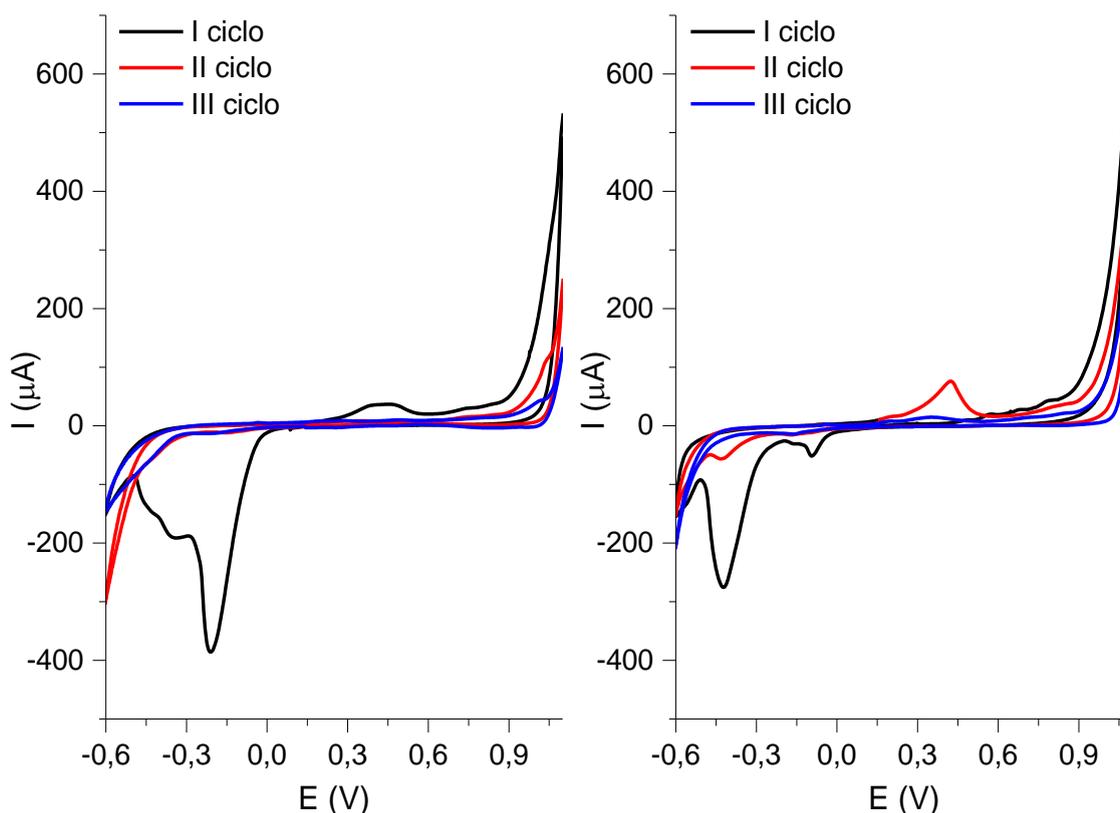


Figura 93. Voltamperogramas de las nanopartículas As-ThO₂, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

Los voltamperogramas de las nanopartículas funcionalizadas de ambos óxidos se muestran en la Figura 94. Se puede apreciar que para el caso de las nanopartículas de ThO₂, los picos A₁ y A₅ son mayores que para el caso del nanomaterial de ZrO₂, lo cual podría significar que, para la misma concentración de arsénico, el óxido de torio ha incorporado más arsénico que el óxido de circonio.

Si se observan los voltamperogramas obtenidos a partir de las nanopartículas basadas en ZrO₂, se puede comprobar que en ellos no aparece ninguna señal de las encontradas cuando se evaluaron las mezclas binarias en los estudios preliminares (*Apartado 3.3.1.2*). Este resultado induce a pensar que la cantidad de arsénico que se une a las nanopartículas basadas en óxido de circonio es inferior a la presente en las de óxido de torio. La ausencia del pico A₁ podría deberse al potencial tan negativo aplicado, haciendo posible la reducción de As⁽⁰⁾ a As^(-III), que se elimina en forma de AsH₃. Los picos obtenidos a potenciales entre -0.3 y 0.0 V se deberían, como se vio

para el anterior proceso de síntesis, a impurezas electroactivas que se reducen irreversiblemente.

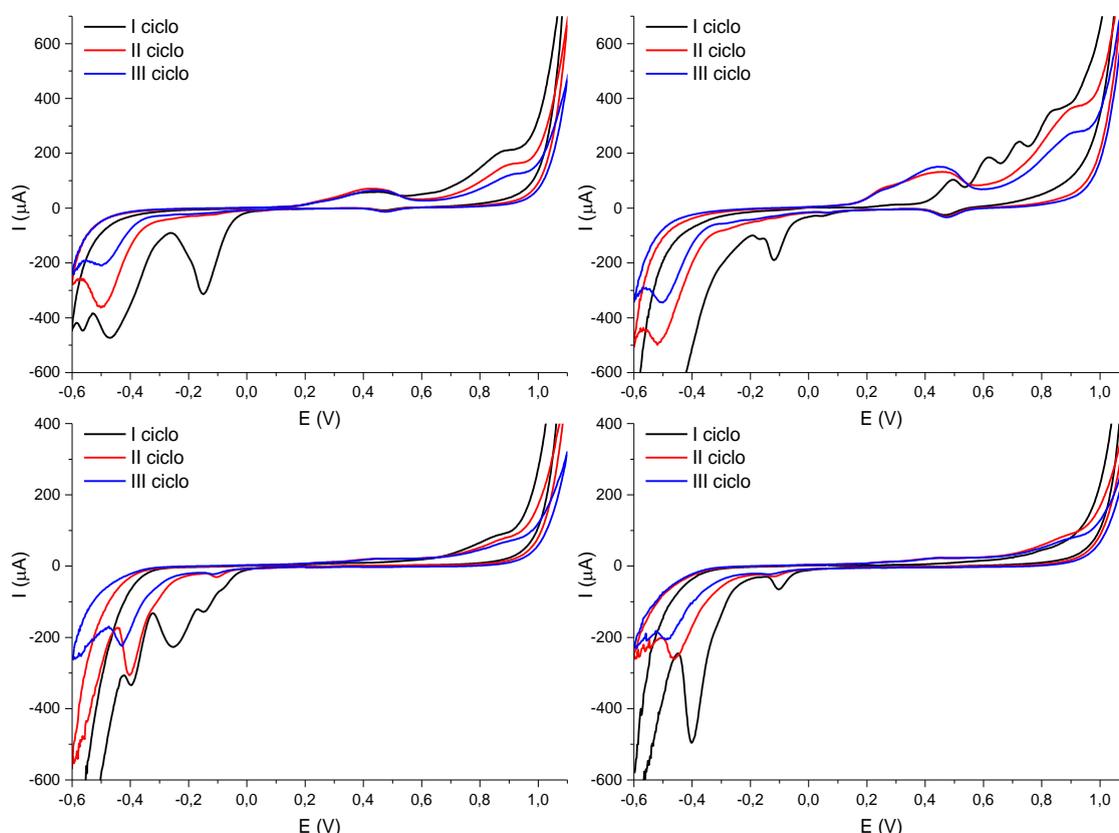


Figura 94. Voltamperogramas de las nanopartículas: arriba, As-Cys-ThO₂; y abajo, As-Cys-ZrO₂, sintetizadas sin etanodiol y tratadas a 348 K

3.3.2.2 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 348 K

Los voltamperogramas proporcionados por los nanomateriales funcionalizados de ambos óxidos, sintetizados con este procedimiento, se muestran en la Figura 95. No se incluyen los voltamperogramas de las nanopartículas no funcionalizadas, puesto que son similares a los exhibidos en la Figura 93.

Como se puede observar en la Figura 95, si se comparan los voltamperogramas de las nanopartículas basadas en ThO₂ con sus análogas basadas en ZrO₂, se aprecia que la señal de arsénico es mayor para las nanopartículas

basadas en ThO_2 . No sólo la señal de arsénico es mayor, si no también la proporcionada por la cisteína y el complejo $\text{As}^{(\text{III})}$ -Cys.

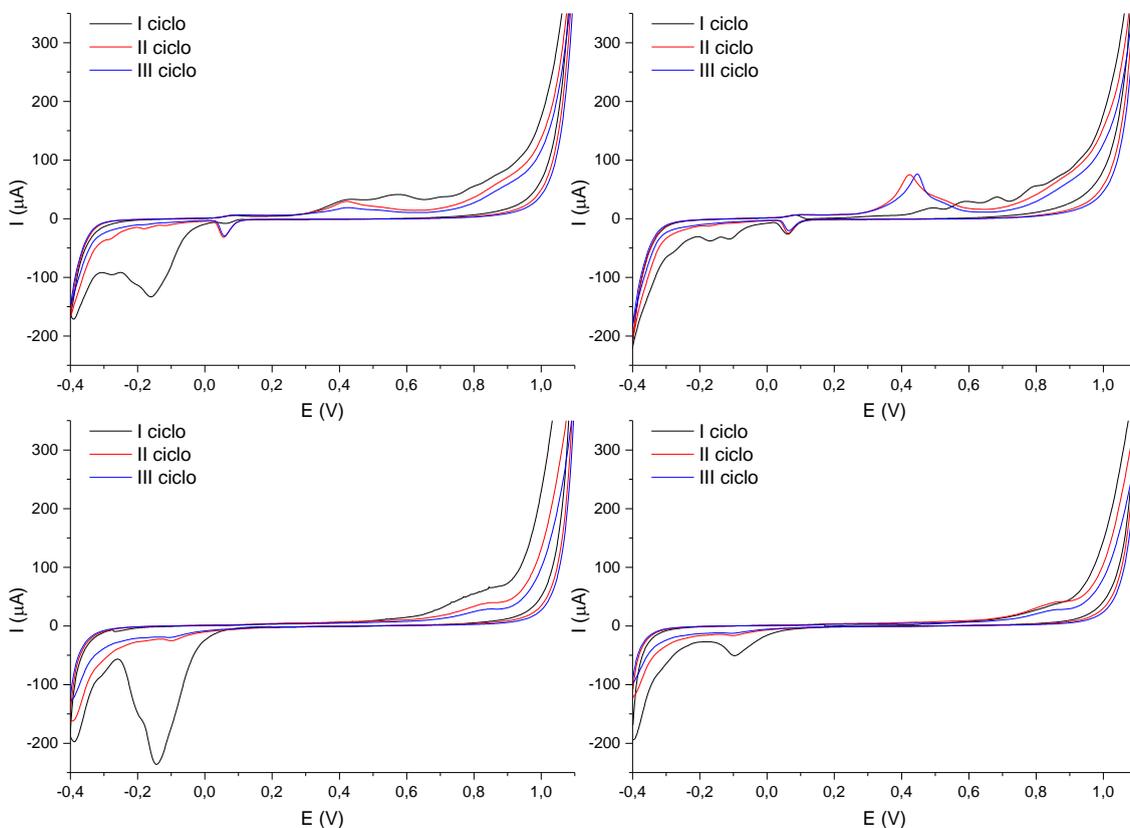


Figura 95. Voltamperogramas de las nanopartículas: arriba, As-Cys- ThO_2 ; y abajo, As-Cys- ZrO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K

Se amplió la caracterización de las nanopartículas, estudiando el efecto de la concentración añadida de arsénico.

Para 100 μg As/mL se obtuvieron una serie de voltamperogramas (Fig. 96). Se puso de manifiesto, para las nanopartículas de ZrO_2 , que la masa de muestra para obtener una señal apreciable es superior a la necesaria para los análisis de los reactivos (mayor de 4 mg nanopartículas/100 mg pasta).

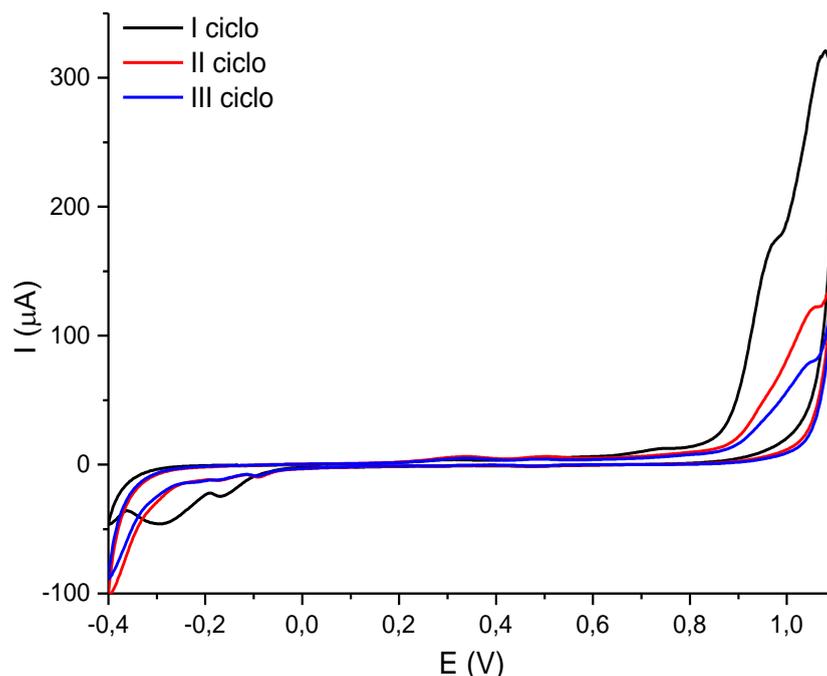


Figura 96. Voltamperograma de las nanopartículas de As-Cys-ZrO₂, dopadas con 100 µg As/mL, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, en medio HCl 1 M y en sentido catódico

La presencia de As^(III) se manifiesta por los picos A₁ y A₅, por lo que no se puede comparar la intensidad de los picos A₁ entre nanomateriales dopados y funcionalizados y dopados. Para determinar cómo se retiene una mayor cantidad de arsénico, se comparan los picos A₂. Observando los voltamperogramas de las nanopartículas dopadas y funcionalizadas y dopadas, se puede asumir que el pico A₂ es mayor cuando está presente el ligando orgánico, lo que confirma que el As^(III) se retiene de manera más significativa en presencia de cisteína.

Para nanopartículas de ZrO₂ no funcionalizadas y dopadas con elevadas concentraciones de arsénico (4000 µg/mL), se obtienen los voltamperogramas que aparecen en la Figura 97. Como en los análisis de los patrones individuales (*Apartado 3.3.1.1*), si el barrido transcurre inicialmente en sentido positivo se comprueba que no aparece el pico anódico hasta que la pasta no se haya reducido a un potencial en torno a -0.3 V.

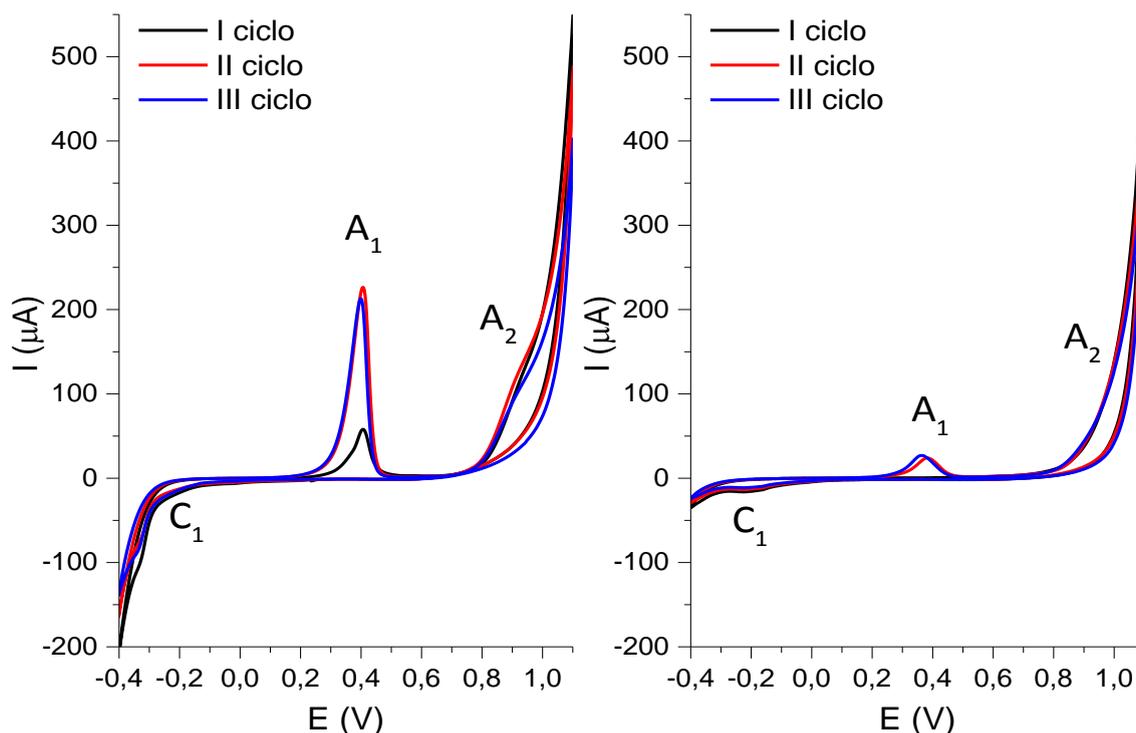


Figura 97. Voltamperogramas cíclicos de las nanopartículas de As-ZrO₂, dopadas con 4000 µg As/mL, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, en medio HCl 1 M en sentido catódico (izquierda) y sentido anódico (derecha)

También se evaluó el comportamiento electroquímico de las nanopartículas de ambos óxidos, funcionalizadas y dopadas con elevadas concentraciones de arsénico, en este caso 1000 (Fig. 98) y 4000 µg As^(III)/mL (fig 99). En las figuras se observan las señales anódicas A₁ y A₂, y la catódica C₁, evaluadas en los estudios preliminares. También aparece el pico A₅, que se debe a la formación del complejo As^(III)-Cys. Este complejo es más difícilmente oxidable que el As⁽⁰⁾ obtenido de la reducción previa de As^(III), originalmente presente en las nanopartículas.

Se observa que, empleando 1000 µg/mL de As^(III), (Fig. 98) los voltamperogramas presentan todas las señales identificadas, tanto anódicas (A₁, A₂, A₃, A₄ y A₅) como catódica (C₁).

Se aprecia que el pico A₅ aparece tanto si el voltamperograma comienza en sentido catódico como en sentido anódico. La aparición de este pico en el primer ciclo, si el primer barrido es anódico, verifica que puede deberse a la oxidación del

complejo As^{III} -Cys. En los estudios preliminares ya se puso de manifiesto que, para obtener la señal de $\text{As}^{(0)}$ a As^{III} , primero se debe reducir la pasta a potenciales inferiores a -0.3 V, por lo que si el voltamperograma se realiza en sentido anódico, hasta el siguiente barrido anódico no aparece el pico A_1 .

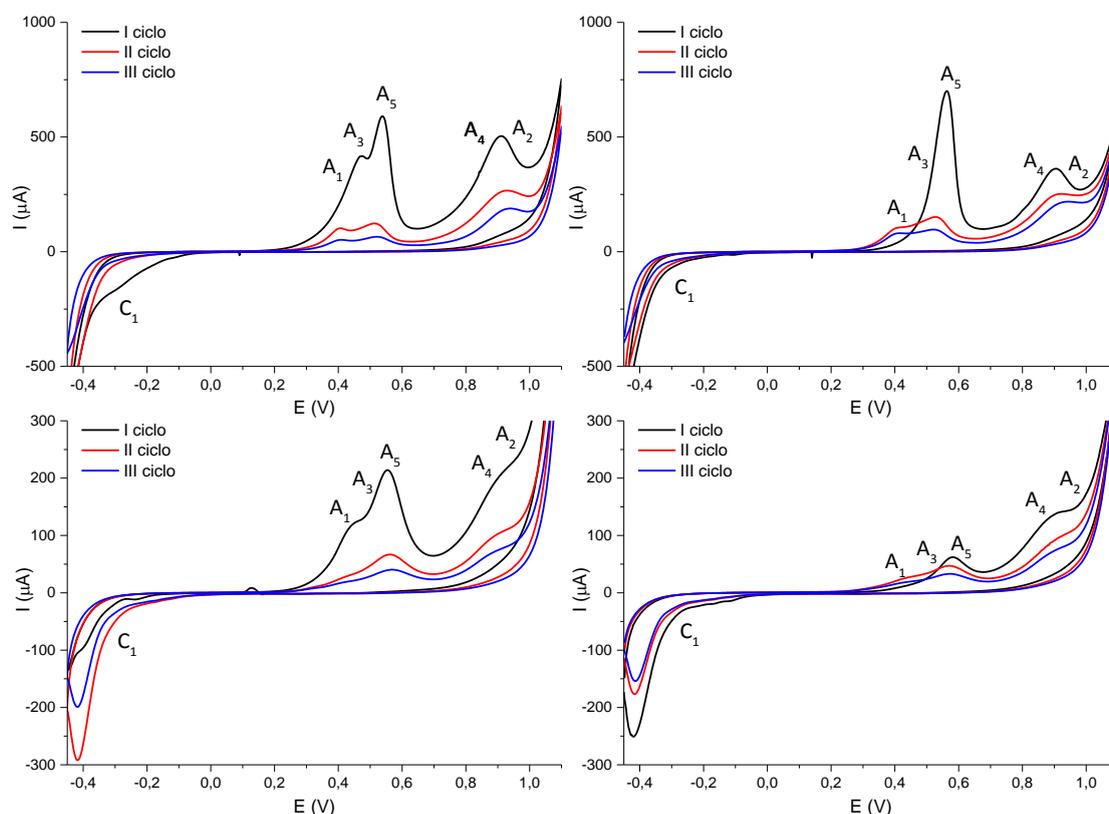


Figura 98. Voltamperogramas de las nanopartículas de As-Cys-ThO_2 (arriba) y As-Cys-ZrO_2 (abajo), dopadas con $1000 \mu\text{g As/mL}$, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, en medio $\text{HCl } 1$ M en sentido catódico (izquierda) y sentido anódico (derecha)

Para $4000 \mu\text{g As/mL}$ (Fig. 99), los picos A_2 y A_4 aparecen fuertemente solapados. Además, la cantidad de complejo formado es muy grande, porque la intensidad del pico A_5 obtenido durante el primer ciclo de ambos barridos catódico y anódico, es más o menos cuatro veces mayor que el obtenido para una concentración de $1000 \mu\text{g As/mL}$.

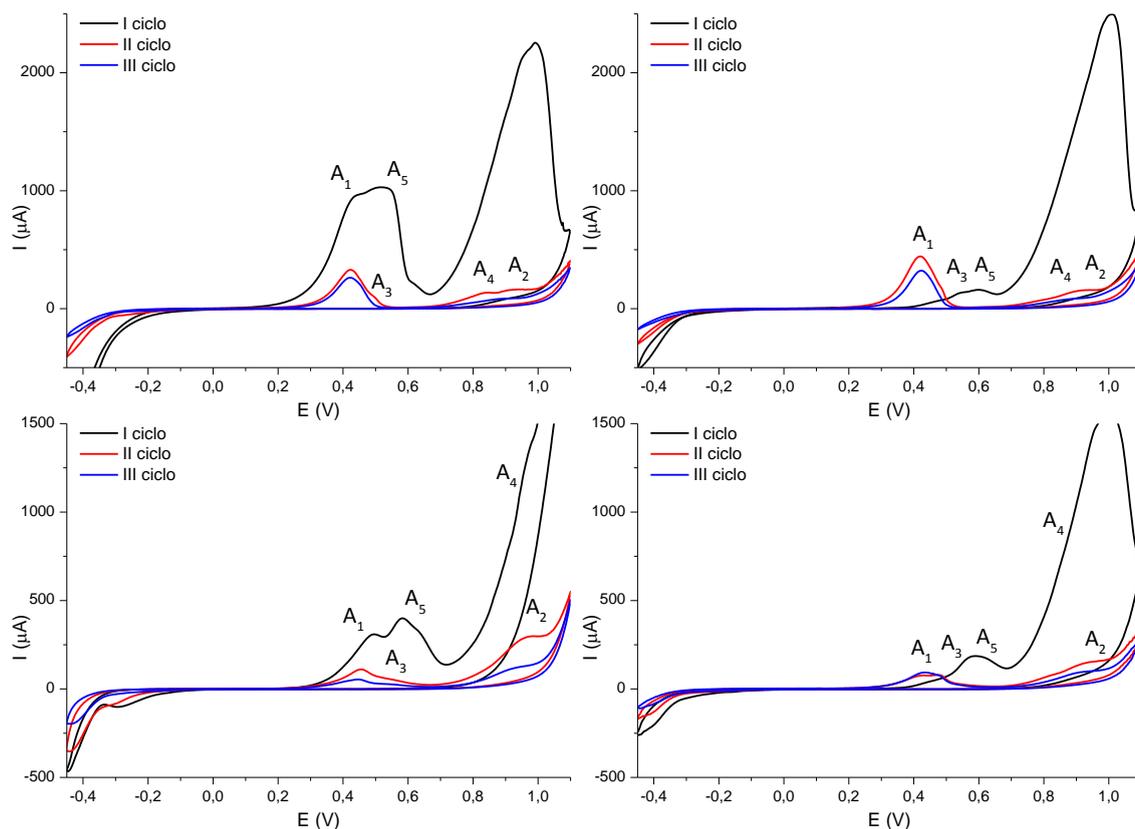


Figura 99. Voltamperogramas de nanopartículas As-Cys-ThO₂ (arriba) y As-Cys-ZrO₂ (abajo) dopadas con 4000 μg As/mL, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 348 K, en medio HCl 1 M en sentido catódico (izquierda) y sentido anódico (derecha)

Comparando los voltamperogramas de las mezclas constituidas por los reactivos sólidos con los obtenidos a partir de las nanopartículas, se aprecia que para estas últimas el pico A₅ se mantiene con el transcurso de los ciclos. Esto sugiere dos posibilidades: la primera, que al estar el complejo formado con anterioridad al análisis electroquímico sea más estable; y la segunda, que en ciclos posteriores, haya suficiente cisteína para complejar al As^(III) nuevamente, volviendo a dar el pico A₅.

El leve desplazamiento del potencial del pico A₅ se debe probablemente a la existencia de grandes cantidades del complejo soluble As^(III)-Cys. Tanto en las nanopartículas de ThO₂ como en las de ZrO₂, el pico A₅ se aprecia claramente en el primer ciclo y en los siguientes, en ambos sentidos. Esto confirmaría que este pico se debe al complejo soluble As^(III)-Cys formado durante la síntesis del nanomaterial.

3.3.2.3 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 873 K

De modo más exhaustivo, se llevó a cabo un estudio electroquímico de las nanopartículas basadas en óxido de torio, sintetizadas en presencia de etanodiol y tratadas térmicamente a 873 K. Los resultados obtenidos para las nanopartículas basadas en ThO_2 se exhiben en la Figura 100.

Se observa que la señal A_1 obtenida en el primer barrido anódico de retorno es menos intensa que las siguientes, incluso no aparece en algunos voltamperogramas. Este hecho se puede explicar teniendo en cuenta que el arsénico puede encontrarse formando parte de la estructura cristalina de las nanopartículas, haciéndolo más inaccesible que si estuviese retenido en la superficie. A medida que transcurre el tiempo, el nanomaterial podría disolverse algo debido al bajo pH del medio y al proceso de disolución electrolítica. De este modo, el $\text{As}^{(\text{III})}$ estaría más disponible, y la señal sería la suma del As_2O_3 sólido que aún no se ha reducido y de la parte solubilizada.

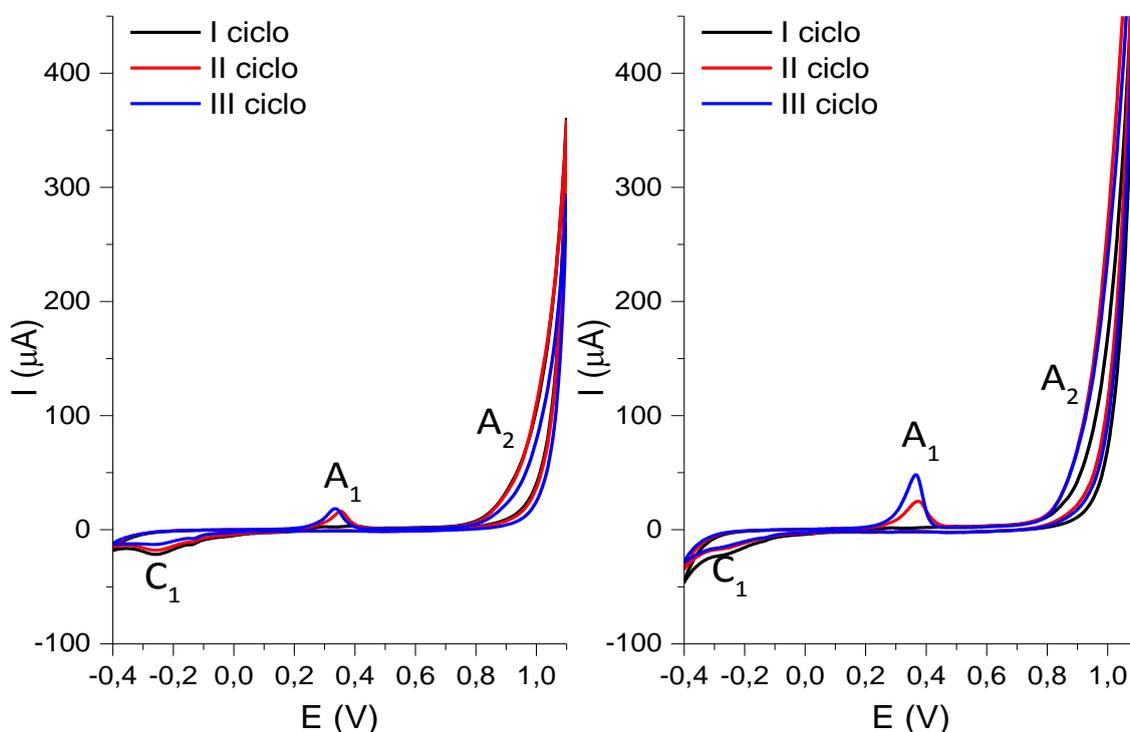


Figura 100. Voltamperogramas de las nanopartículas As-ThO_2 , sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K, en sentido catódico (izquierda) y sentido anódico (derecha)

Se estudió el efecto de la concentración de arsénico en la señal electroquímica de las nanopartículas sintetizadas en presencia de etanodiol y calcinadas a 873 K, ya que se ha comprobado que, si la concentración de arsénico es pequeña, para una proporción relativamente alta de masa de nanopartícula por masa de carbono (5 mg nanopartícula/100 mg C) no se obtiene señal. La explicación más probable es que el arsénico podría estar ocluido en la estructura cristalina de las nanopartículas, aunque no se descarta que también hubiera sido eliminado, en buena parte, por la calcinación, como se observó en los estudios de ED-XRS. Al ser las nanopartículas tan poco solubles en el medio de reacción (como se comprobó en los estudios preliminares), una parte del arsénico no sufre procesos redox de manera directa.

Para concentraciones elevadas de arsénico (4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) sí se aprecia señal, obteniéndose una serie de voltamperogramas idénticos a los que se observaron para el caso del patrón individual de As_2O_3 . Los voltamperogramas correspondientes a las nanopartículas de ThO_2 no funcionalizadas, se muestran en la Figura 101.

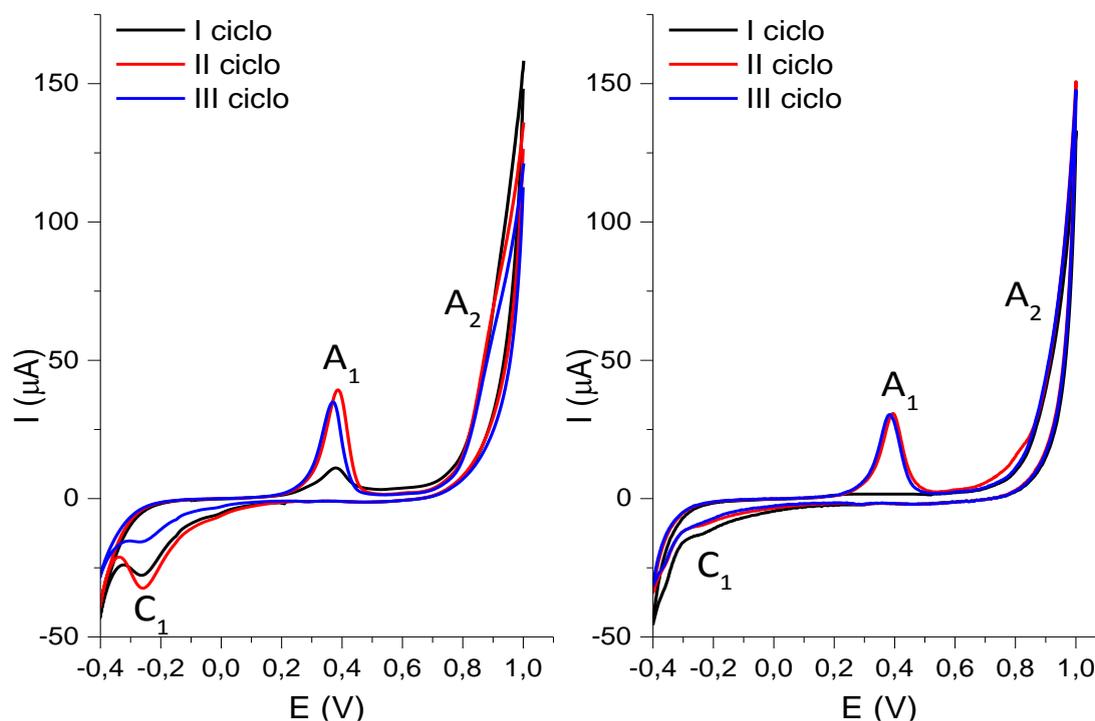


Figura 101. Voltamperogramas en sentido catódico (izquierda) y sentido anódico (derecha), de las nanopartículas de As-ThO_2 dopadas con 4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de arsénico, sintetizadas con etanodiol y tratadas a 873 K

Para las nanopartículas preparadas con 1000 $\mu\text{g/mL}$ de $\text{As}^{(\text{III})}$ y tratadas a 873 K, se observan los mismos voltamperogramas, pero mostrando menores intensidades, que en las nanopartículas preparadas con 4000 $\mu\text{g/mL}$.

No sólo se evaluó el efecto de la concentración de arsénico, sino también la del estabilizante orgánico, 1,2-etanodiol. En este sentido, se obtuvieron voltamperogramas de las nanopartículas basadas en óxido de torio, calcinadas a 873 K y en presencia de 0.5, 2.5 y 5 M de 1,2 etanodiol.

Los voltamperogramas obtenidos cuando se empleó una concentración de 1,2-etanodiol 0.5 M se muestran en la Figura 102. En ellos se observa la aparición de las señales A_1 y A_3 en el barrido anódico de retorno del primer ciclo. La presencia de la cisteína se pone de manifiesto por la aparición de este último pico, mucho menos intenso que para los anteriores procedimientos de síntesis, lo que podría significar que a esta temperatura la cisteína se ha eliminado en gran parte.

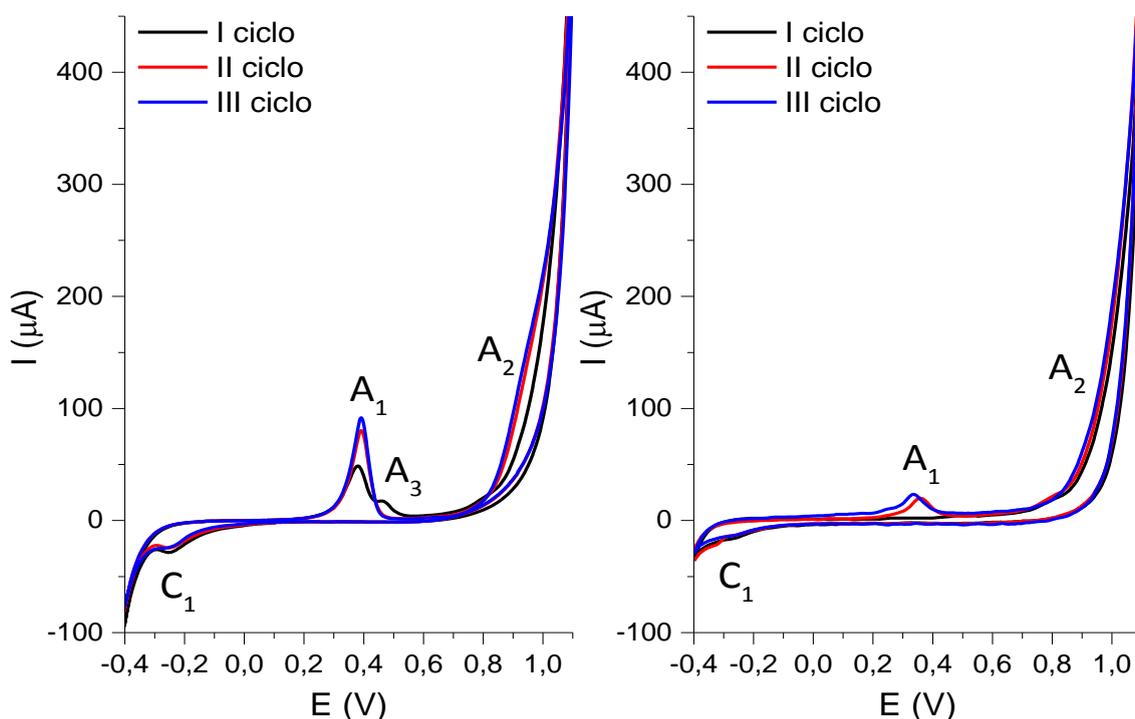


Figura 102. Voltamperogramas en sentido catódico (izquierda) y en sentido anódico (derecha), de nanopartículas de As-Cys-ThO₂, sintetizadas con etanodiol 0.5 M y tratadas a 873 K

Cuando se sintetizan las nanopartículas funcionalizadas en presencia de etanodiol 2.5 y 5 M y tratadas térmicamente a 873 K, se obtuvieron voltamperogramas idénticos. Por tanto, se deduce que la concentración de 1,2-etanodiol no determina la especie de arsénico presente en las nanopartículas.

3.3.2.4 Presencia de etanodiol y tratamiento térmico a 1373 K

Finalmente, se caracterizaron las nanopartículas sintetizadas en presencia de etanodiol y tratadas térmicamente a 1373 K. Los resultados ponen de manifiesto que no se obtiene señal debida al arsénico, ya que los voltamperogramas son idénticos a los realizados sobre el fondo. Por este motivo no se han incluido en este trabajo. La ausencia de señal permite deducir que en las muestras calcinadas a 1373 K el arsénico se volatiliza por efecto de la temperatura. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos mediante la técnica SEM-EDX (*Apartado 3.1.3.4*).

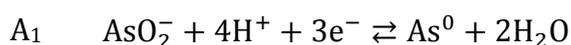
Se completaron los estudios evaluando el efecto de la concentración de arsénico. Los voltamperogramas obtenidos son idénticos a los correspondientes a los blancos, por lo que se puede concluir que, a pesar de contener una gran cantidad de arsénico, a temperaturas de 1373 K todo el metaloide se ha volatilizado.

3.3.3 Consideraciones cuantitativas

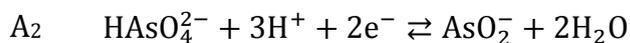
Una vez evaluados los voltamperogramas de los patrones individuales, de las mezclas binarias y de las nanopartículas, se trató de estimar la concentración de cisteína y de las especies de arsénico, $\text{As}^{(\text{III})}$ y $\text{As}^{(\text{V})}$, involucradas en las reacciones electroquímicas en cada barrido a partir de los potenciales de los picos obtenidos, por una parte, y de la intensidad de corriente, por otra.

Estimación de la concentración de $\text{As}^{(\text{V})}$

Con el fin de desarrollar una ecuación que se pudiera emplear para estimar la concentración de $\text{As}^{(\text{V})}$, se tuvieron en cuenta las siguientes reacciones implicadas en los procesos redox estudiados:



$$E_{(\text{III})} = E_{(\text{III})}^0 - \frac{0.059}{3} \log \frac{1}{[\text{AsO}_2^-][\text{H}^+]^4} \quad (11)$$



$$E_{(\text{V})} = E_{(\text{V})}^0 - \frac{0.059}{2} \log \frac{[\text{AsO}_2^-]}{[\text{HAsO}_4^{2-}][\text{H}^+]^3} \quad (12)$$

Si se desarrollan e igualan las ecuaciones (11) y (12), se obtiene:

$$3E_{(\text{III})} - 3E_{(\text{III})}^0 + 2E_{(\text{V})} - 2E_{(\text{V})}^0 = 0.059 \log([\text{HAsO}_4^{2-}][\text{H}^+]^7) \quad (13)$$

De donde:

$$[\text{HAsO}_4^{2-}] = 10^{\frac{3E_{(\text{III})} - 3E_{(\text{III})}^0 + 2E_{(\text{V})} - 2E_{(\text{V})}^0}{0.059}} \quad (14)$$

Esta ecuación permitiría estimar la concentración de $\text{As}^{(\text{V})}$ conociendo los potenciales de pico de $\text{As}^{(\text{III})}$ y $\text{As}^{(\text{V})}$, siendo $E_{(\text{III})}^0 = 0.438 \text{ V}$ y $E_{(\text{V})}^0 = 0.925 \text{ V}$.

En la Tabla 19 se recogen los valores de la concentración de $\text{As}^{(\text{V})}$, estimados con la ecuación (14), para los patrones de $\text{As}^{(\text{III})}$ empleados.

Tabla 19. Concentraciones estimadas de $\text{As}^{(\text{III})}$ y $\text{As}^{(\text{V})}$, mediante la ecuación (14), para los diferentes ciclos de los patrones de $\text{As}^{(\text{III})}$ estudiados

Muestra	Ciclo	$E_{\text{As}^{(\text{III})}} \text{ (V)}$	$E_{\text{As}^{(\text{V})}} \text{ (V)}$	$[\text{As}^{(\text{V})}] \text{ calculada (M)}$
As₂O₃	I	0.3935	0.8959	5.63×10^{-4}
	II	0.4062	0.8933	2.03×10^{-3}
	III	0.4087	0.8879	1.79×10^{-3}
NaAsO₂	I	0.3805	0.9209	8.66×10^{-4}
	II	0.3932	0.9100	1.64×10^{-3}

Ecuación de Lomache

Por otro lado, la intensidad del pico, i_p , de un voltamperograma se considera directamente proporcional a la masa electroactiva, m_0 , particularmente a la

velocidad de barrido, la cual fue muy baja en los estudios llevados a cabo en este trabajo, según la ecuación (Lamache 1979, Lamache, Andriamanana 1986):

$$i_p = \frac{F^2 v}{4MRT} m_0 \quad (15)$$

donde M es el peso molecular de la especie electroactiva, F es la constante de Faraday (96485 C/mol), R es la constante de los gases (8.3145 J/mol K), T es la temperatura absoluta, y v es la velocidad de barrido (0.5 mV/s).

En este trabajo, se ha aplicado esta ecuación para estimar las cantidades generadas de $\text{As}^{(\text{III})}$ y $\text{As}^{(\text{V})}$ y, además, la cantidad de *l*-cisteína transformada después de cada barrido. En la Tabla 20 se recogen los resultados obtenidos a partir de la ecuación de Lamache para los patrones de $\text{As}^{(\text{III})}$ empleados en el *Apartado 3.3.1.1*.

Tabla 20. Concentraciones estimadas de $\text{As}^{(\text{III})}$ y $\text{As}^{(\text{V})}$, mediante la ecuación de Lamache, para los diferentes ciclos de los patrones de $\text{As}^{(\text{III})}$ estudiados

Muestra	Ciclo	$[\text{As}^{(\text{III})}]$ calculada (M)	$[\text{As}^{(\text{V})}]$ calculada (M)
As_2O_3	I	3.51×10^{-3}	2.16×10^{-3}
	II	1.06×10^{-2}	2.64×10^{-3}
	III	1.33×10^{-2}	2.84×10^{-3}
NaAsO_2	I	1.82×10^{-3}	2.02×10^{-3}
	II	7.31×10^{-3}	2.81×10^{-3}

Comparando las concentraciones de $\text{As}^{(\text{V})}$ estimadas mediante la ecuación (14) (Tabla 19) con los obtenidos mediante la ecuación (15) (Tabla 20), se puede observar que las concentraciones calculadas con la ecuación de Lamache son más elevadas que las obtenidas mediante la ecuación (14), si bien en todos los casos son del orden de mM o menores.

La Tabla 21 recoge los resultados correspondientes a los primeros ciclos de los voltamperogramas que comienzan en sentido catódico de las nanopartículas

dopadas con 4000 $\mu\text{g/mL}$ de arsénico, sintetizadas en presencia de etanodiol y tratadas térmicamente a 348 K.

Tabla 21. Concentraciones estimadas de $\text{As}^{(\text{III})}$ y $\text{As}^{(\text{V})}$, mediante la ecuación de Lamache, para el primer ciclo de las nanopartículas dopadas con 4000 $\mu\text{g/mL}$

Tipo de NP	$E_{\text{As}^{(\text{III})}}$ (V)	$E_{\text{As}^{(\text{V})}}$ (V)	E_{Cys} (V)	$n_{\text{As}^{(\text{III})}}/\text{g NP}$	$n_{\text{As}^{(\text{V})}}/\text{g NP}$	$n_{\text{Cys}}/\text{g NP}$
As-ThO ₂	0.4627	0.9082		9.94×10^{-4}	1.10×10^{-5}	
As-Cys-ThO ₂	0.4523		0.9915	1.25×10^{-3}		2.41×10^{-3}
As-ZrO ₂	0.4457	0.9113		3.16×10^{-4}	2.20×10^{-5}	
As-Cys-ZrO ₂	0.4962		1.0301	3.80×10^{-4}		3.17×10^{-4}

A la vista de los resultados recogidos en la Tabla 21, las nanopartículas no funcionalizadas de ThO₂ son capaces de retener unas tres veces más cantidad de $\text{As}^{(\text{III})}$ que las nanopartículas no funcionalizadas de ZrO₂. Atendiendo a las nanopartículas funcionalizadas, las basadas en óxido de torio retendrían cuatro veces más que las basadas en óxido de circonio. Por otro lado, comparando las nanopartículas funcionalizadas con las no funcionalizadas basadas en el mismo óxido, se puede comprobar que en el primer caso se retiene más arsénico. Por lo tanto, se puede concluir que la presencia de cisteína favorece la retención de $\text{As}^{(\text{III})}$, particularmente para el sistema de nanopartículas de óxido de torio.

Del mismo modo, la *l*-cisteína se fija alrededor de ocho veces más en los nanomateriales de óxido de torio que en los de óxido de circonio. Además, la cantidad de $\text{As}^{(\text{V})}$ generado en el primer ciclo voltamperométrico fue del mismo orden para ambos nanomateriales, aunque mayor para el de ZrO₂.

Límite de detección

Se construyó una recta de pseudocalibrado para determinar el límite de detección para la voltamperometría cíclica con electrodo, en forma de jota, de pasta de carbono. Para ello se empleó una balanza de precisión que tiene como pesada mínima 10 μg . Como las masas tan pequeñas son muy difíciles de estabilizar, se pesaron cantidades diez veces superiores a las necesarias. Posteriormente se

dispersaron en 100 mg de carbono, de los que se tomaron 10 mg y se dispersaron en un total de 100 mg, midiéndose tres alícuotas.

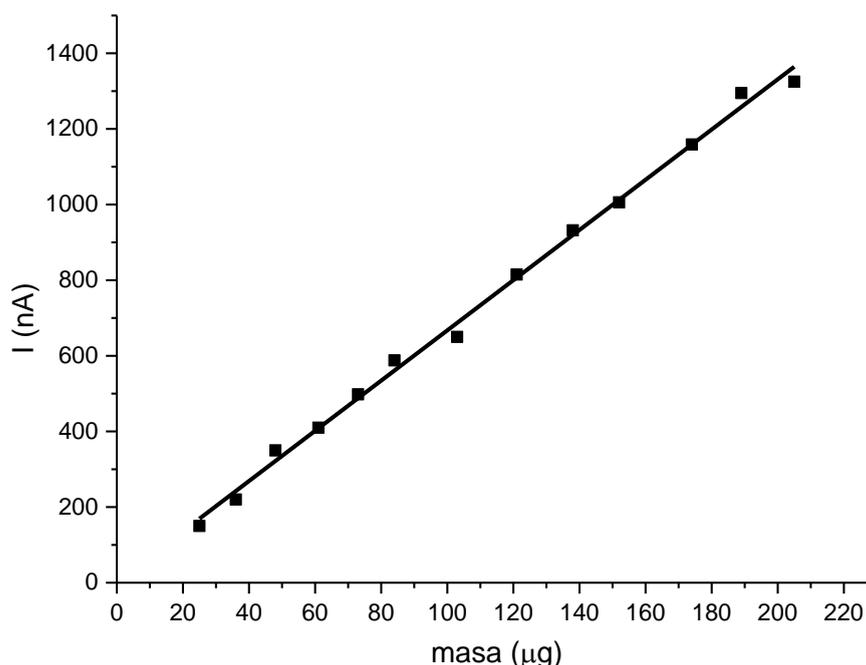


Figura 103. Línea de pseudocalibrado para el As₂O₃

Desde un punto de vista analítico, la recta de pseudocalibrado (fig. 103) se obtuvo en el intervalo de respuesta lineal de 25-200 µg As^(III). Para concentraciones tan bajas de arsénico, el instrumento responde a la cantidad absoluta de analito en vez de a su concentración. La señal de intensidad para el límite de detección ha sido calculada a partir de la media de diez medidas del blanco, más 3.29 veces la desviación estándar del blanco, obteniéndose un valor de 153.17 nA. Introduciendo esta intensidad en la recta de regresión, el límite de detección calculado es 22.6 µg.

Conclusiones sobre los resultados de la técnica Voltamperometría Cíclica

Se ha determinado que la especie As^(III) está presente en el nanomaterial. Por otro lado, se ha descartado el As⁽⁰⁾ como especie dopante del nanomaterial, aunque no se ha podido verificar si la especie As^(V) aparece o no, puesto que ésta no es electroactiva bajo las condiciones estudiadas en este trabajo.

En el caso de las nanopartículas funcionalizadas, se observó una señal electroquímica atribuida a la oxidación del complejo formado por el $\text{As}^{(\text{III})}$ y la *L*-cisteína.

Las señales electroquímicas proporcionadas por las nanopartículas se comportan de manera idéntica a las obtenidas a partir de los patrones y de las mezclas binarias. El pico A_5 sólo aparece a temperaturas de 348 K. Los picos A_1 , A_2 y A_3 están presentes a las temperaturas estudiadas inferiores a 1373 K.

Las nanopartículas de óxido de torio retienen mayor cantidad de arsénico y de cisteína. Por otro lado, la funcionalización con cisteína favorece la retención de arsénico, especialmente en el caso de las nanopartículas de óxido de torio.

3.4 Aplicación de las nanopartículas para la retención de arsénico

Según la bibliografía (Jegadeesan *et al.* 2010, Ma *et al.* 2011, Su *et al.* 2009), las nanopartículas muestran grandes aptitudes para la retención de metales pesados. Esta capacidad de retención se debe a su elevada relación superficie/volumen. Una de las aplicaciones más importantes de las nanopartículas en el campo del medio ambiente puede ser la eliminación de metales pesados, en este caso de arsénico.

Por ello, se trató de comprobar la capacidad de retención de arsénico en las nanopartículas sintetizadas en presencia de etanodiol y tratadas térmicamente a 348 K. A pesar de que las nanopartículas sintetizadas en presencia de etanodiol y calcinadas a 873 K dieron lugar a partículas más pequeñas y a distribuciones de tamaño más homogéneas, se eligieron las nanopartículas sintetizadas mediante el segundo método de síntesis para retener el arsénico, ya que la *l*-cisteína no se eliminaba al tratarlas a 348 K. Se compararon los diferentes nanomateriales sintetizados en nuestro laboratorio junto con sílice coloidal comercial, puesto que ésta es uno de los adsorbentes más ampliamente utilizados (Bois *et al.* 2003).

3.4.1 Selección del sistema de retención

Con el fin de seleccionar un sistema de retención adecuado, se compararon distintos tipos de nanomateriales: nanopartículas de ThO₂ y de ZrO₂, funcionalizadas y no funcionalizadas, y un material coloidal comercial de SiO₂ (Fig. 104).

Para evaluar la capacidad de retención de las nanopartículas de ThO₂ y ZrO₂ y del SiO₂ coloidal, se emplearon 25 mg de los diferentes materiales y se pusieron en contacto, durante 45 minutos, con 10 mL de disoluciones de As^(III) de concentraciones crecientes, a un valor fijo de pH de 8.

La Figura 104.A muestra que, para cualquier concentración de $\text{As}^{(\text{III})}$ puesta en contacto con la misma masa de nanomaterial, las nanopartículas de ThO_2 retienen una cantidad mucho mayor de $\text{As}^{(\text{III})}$ que las basadas en ZrO_2 y que el SiO_2 coloidal. A pesar de que la cantidad retenida de arsénico por las nanopartículas de ZrO_2 y SiO_2 es baja, el ZrO_2 recupera más arsénico que el SiO_2 .

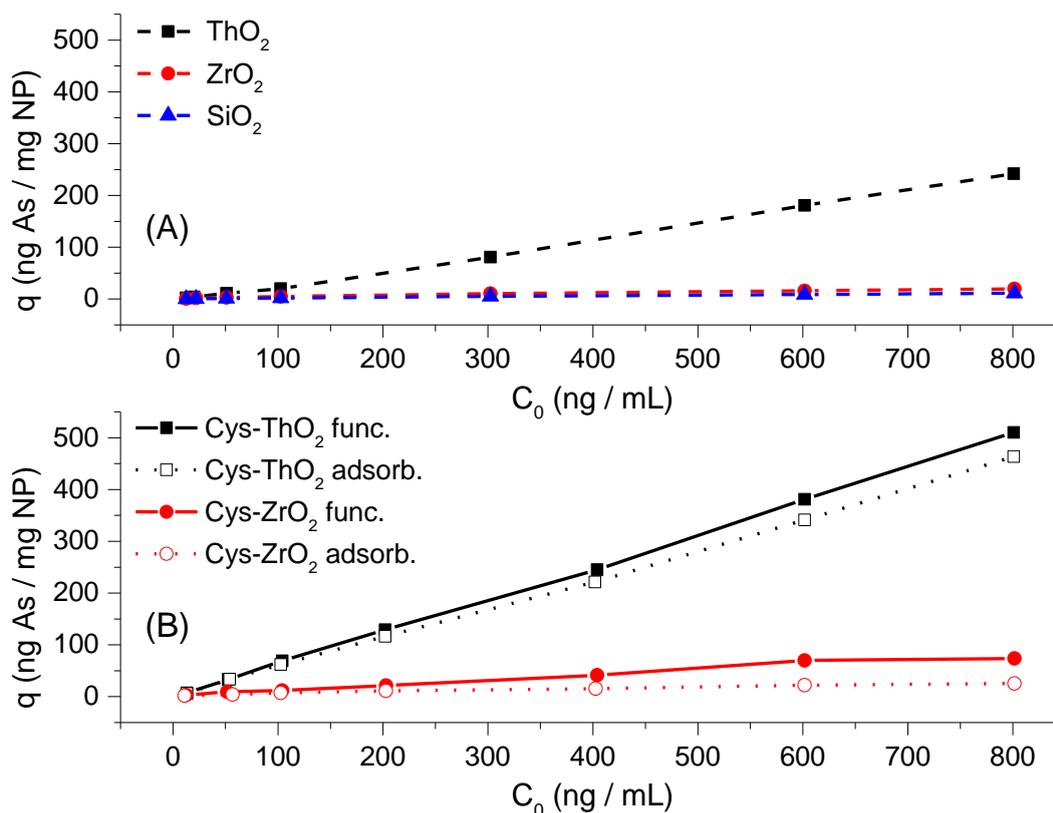


Figura 104. Cantidad retenida de arsénico por parte de 25 mg de diferentes nanomateriales (A) no funcionalizados, y (B) funcionalizados ($t_{\text{retención}} = 45 \text{ min}$, $\text{pH} = 8$)

Por otra parte, se realizó un estudio de la cantidad retenida de arsénico por parte de las nanopartículas funcionalizadas con *l*-cisteína (Fig. 104B), y, así, comprobar que la funcionalización favorece la retención de arsénico. Esta funcionalización se llevó a cabo de dos maneras diferentes:

a) Con el procedimiento expuesto en el *Apartado 2.3.1.1b*, en el cual la cisteína se añade durante el proceso de síntesis (Cys- MeO_2 func.).

b) Mediante la adición de una disolución de cisteína a las nanopartículas ya sintetizadas (Cys-MeO₂ adsorb.).

Se comprueba que el nanomaterial de ThO₂ funcionalizado con *l*-cisteína añadida durante el proceso de síntesis retiene más arsénico que el resto de nanomateriales. Se pone de manifiesto, además, que las nanopartículas de ThO₂ funcionalizadas retienen más que las de ZrO₂. Esto puede deberse a que la *l*-cisteína se une en mayor medida a las nanopartículas de ThO₂ que a las de ZrO₂ como se concluyó en el *Apartado 3.3.3*, haciendo que haya más grupos sulfhidrilo disponibles para la unión del arsénico.

Otra conclusión que puede derivarse de la Figura 104.B es que el método de funcionalización que mejores resultados da, para ambos óxidos, es aquel en el que se añadió la *l*-cisteína durante el proceso de síntesis de nanopartículas. Aunque para las nanopartículas de ThO₂ la diferencia no es grande, para las nanopartículas de ZrO₂ supone una capacidad de retención mayor del triple. Esto podría deberse a que se une más cantidad de *l*-cisteína de este modo que mediante su adición *a posteriori*.

Por todo ello, se eligió el nanomaterial de óxido de torio funcionalizado durante el proceso de síntesis como mejor sistema de retención de arsénico de entre los nanomateriales estudiados.

Simultáneamente, se llevaron a cabo una serie de experimentos a fin de determinar el efecto del pH antes y después del proceso de retención (Fig. 105).

Se observa que el pH de la disolución acuosa de As^(III) antes de someterla al proceso de retención (línea negra) crece a medida que aumenta la concentración de As^(III). Esto podría estar relacionado con el establecimiento de un equilibrio ácido-base entre el AsO₂⁻ añadido y su ácido conjugado HAsO₂. Por el principio de Le Châtelier, a medida que aumenta la concentración de AsO₂⁻, el equilibrio se desplaza hacia la izquierda, reduciendo así la concentración de H⁺, aumentando el valor del pH en la disolución final.

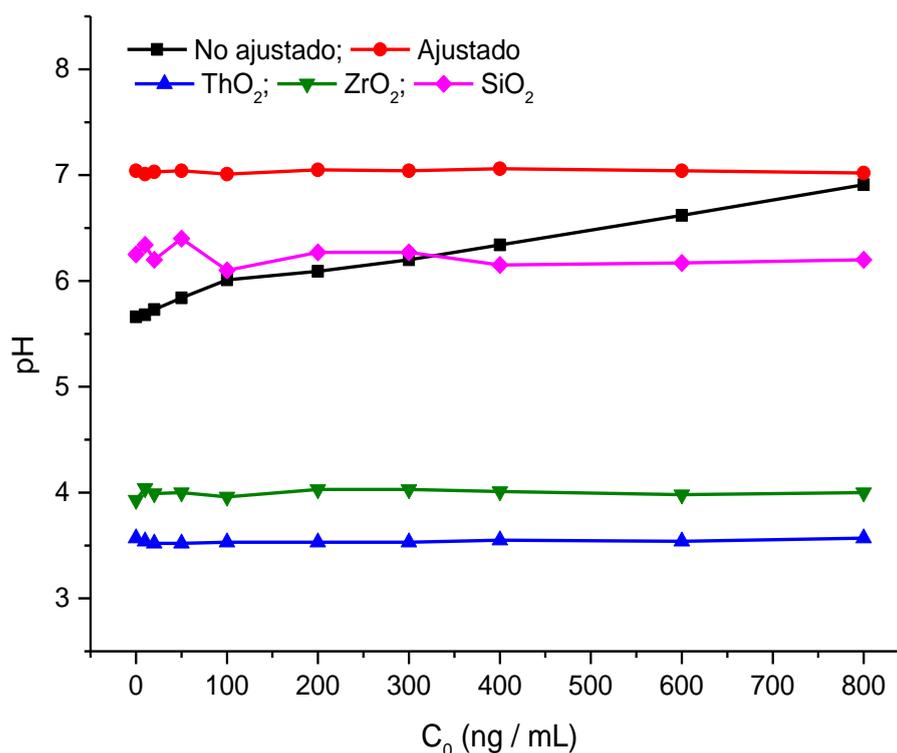


Figura 105. pH de las disoluciones empleadas de arsénico antes del ajuste del pH y tras retenerlo con nanopartículas ($t = 45$ min)

Posteriormente, tras ajustar el pH de las disoluciones acuosas a 7 (línea roja), se pusieron en contacto con las nanopartículas. Se aprecia una caída de pH tras el contacto entre la disolución de arsénico y el nanomaterial. Los casos más acusados son las nanoestructuras de ThO_2 y, en menor grado, las de ZrO_2 , mostrando el material coloidal de SiO_2 una disminución del pH mucho menor.

También se puede afirmar que, para todas las disoluciones de arsénico puestas en contacto con el mismo tipo de nanopartícula, la disminución de pH es idéntica. De estos resultados se puede extraer que la superficie de las nanopartículas se hidroliza, por lo que se liberan iones H^+ a la disolución, haciendo que el medio sea más ácido que la disolución original. Cabría esperar que es el tipo de nanopartícula, y no la concentración de arsénico, el que determina el pH final del sobrenadante.

3.4.2 Optimización de las condiciones de retención

Una vez determinado que el mejor adsorbente estaba constituido por las nanopartículas basadas en óxido de torio y funcionalizadas durante el proceso de síntesis, el paso siguiente consistió en optimizar diferentes parámetros clave con el fin de poder recuperar la máxima cantidad posible de arsénico.

Todas las suspensiones se realizaron con 10 mL de diferentes disoluciones de concentración 200 ng As/mL. Se trataron de optimizar el pH de retención, la masa de nanopartículas, el tiempo de desorción, la concentración de L-cisteína y la estabilidad de las nanopartículas en la disolución original.

3.4.2.1 pH

El pH es uno de los parámetros clave en cualquier reacción química, por lo que se realizó un experimento para determinar su valor óptimo en la retención. Para ello, se fijaron las siguientes condiciones: temperatura, 293 K; tiempo de retención, 45 min; masa de nanopartículas, 15 mg; y tiempo de desorción, 45 min. Se trató de determinar la cantidad de arsénico retenido, por unidad de masa de nanopartícula, en función del pH de la disolución. Los resultados se muestran en la Figura 106.

La masa de arsénico retenido por gramo de nanopartícula, en función del pH inicial, viene recogida por la línea negra. Se puede comprobar que la cantidad retenida del metaloide se mantiene prácticamente constante para pH moderadamente ácidos (desde 3 a 5 unidades de pH), pero aumenta considerablemente para valores de pH cercanos a la neutralidad, hasta llegar al máximo de retención, que se produce cuando la disolución de arsénico se encuentra a valores iniciales ligeramente básicos (pH = 8). A partir de este punto, la concentración retenida de arsénico decrece levemente a valores de pH en torno a 9, y disminuye considerablemente para pH mayores.

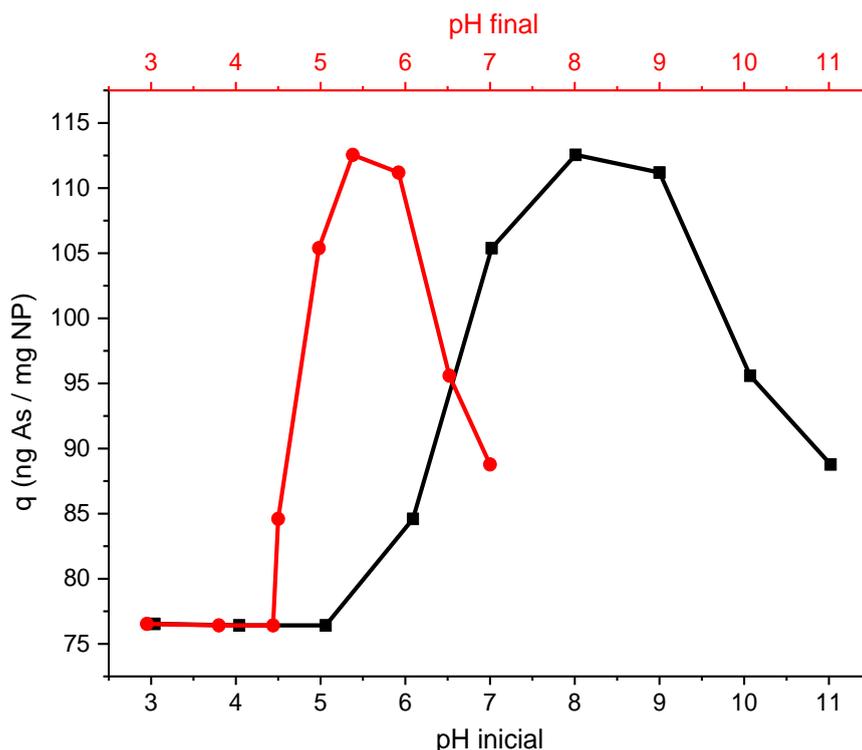


Figura 106. Cantidad de arsénico retenido por unidad de masa de nanopartícula en función del pH de la disolución de $\text{As}^{(\text{III})}$

Si se mide el pH final del sobrenadante tras la separación de las nanopartículas (línea roja), se aprecia que las disoluciones se han acidificado respecto a su pH inicial. Esta fuerte variación de pH durante la retención de $\text{As}^{(\text{III})}$ significa que éste se retiene a valores de pH ligeramente ácidos.

A la vista de estos resultados, surgieron varios problemas. El primero es la variación del pH de la disolución durante el proceso de retención, y el segundo es que, siendo el pH óptimo ligeramente básico, los estudios de interferentes y muestras reales pueden verse afectados por la precipitación de cationes que forman hidróxidos insolubles, como hierro, aluminio, etc. Por lo tanto, se decidió desarrollar varios estudios con el fin de conocer qué medidas tomar.

Por este motivo, se llevaron a cabo diversas experiencias para conocer el comportamiento de las nanopartículas funcionalizadas en el intervalo de pH entre 5

y 10. Se eligió este intervalo puesto que a valores menores de 5 la cantidad retenida de arsénico se estabiliza, y a valores mayores de 10 decae rápidamente.

El primer experimento realizado fue el estudio del pH final variando el pH inicial de diferentes disoluciones de $\text{As}^{(\text{III})}$ de 200 ng/mL (Fig. 107). En la Figura se aprecia que cuanto mayor es el valor de pH inicial, mayor será el pH final, por lo tanto, el pH final depende del pH inicial fijado. Por otro lado, la representación de los datos de ΔpH frente al pH inicial tiende a una línea recta de pendiente negativa. Es decir, cuanto menor sea el pH inicial, menor será la variación de pH entre la disolución final e inicial.

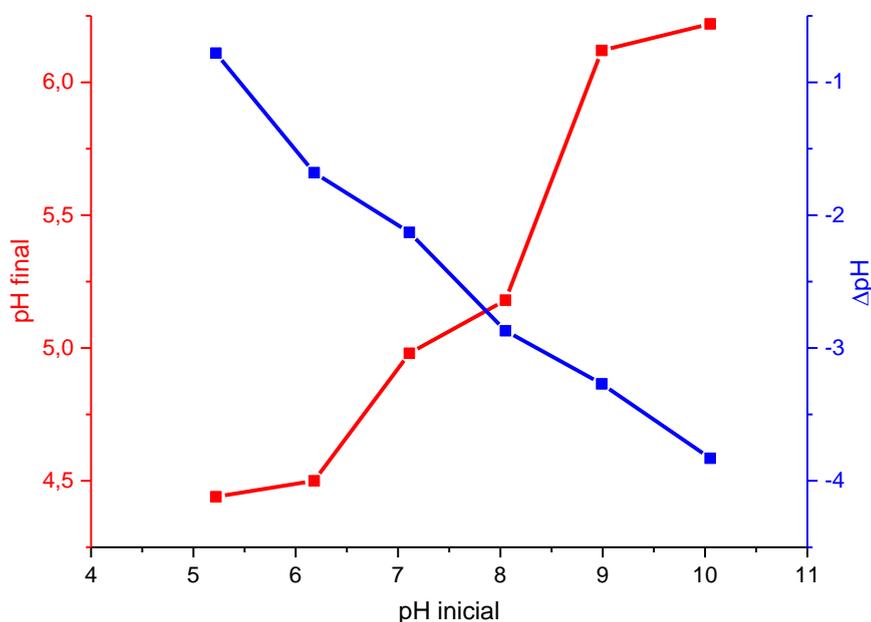


Figura 107. pH final (línea roja), y ΔpH (línea azul) frente al pH inicial de diferentes disoluciones de $\text{As}^{(\text{III})}$ ($C_0 = 200$ ng/mL; $m = 25$ mg; $t_{\text{retención}} = 25$ min)

En los siguientes experimentos se estudió el pH en función de dos parámetros clave para la reacción de hidrólisis sufrida por las nanopartículas: la masa de nanopartículas y el tiempo de contacto entre las nanopartículas y la disolución. Los resultados se exhiben en la Figura 108. En ella se observan dos curvas, cuyo comportamiento es muy similar: a) en una primera etapa, para bajos tiempos y masas, el pH decae muy rápidamente; y b) en una segunda etapa, que comprende

tiempos y masas mayores, la variación de pH entre puntos consecutivos estudiados es muy pequeña. La disminución de pH observada parece ser dependiente de la cantidad de nanopartículas añadida y del tiempo de retención. Por tanto, la retención se va a desarrollar, probablemente, a un pH menor que al ajustado.

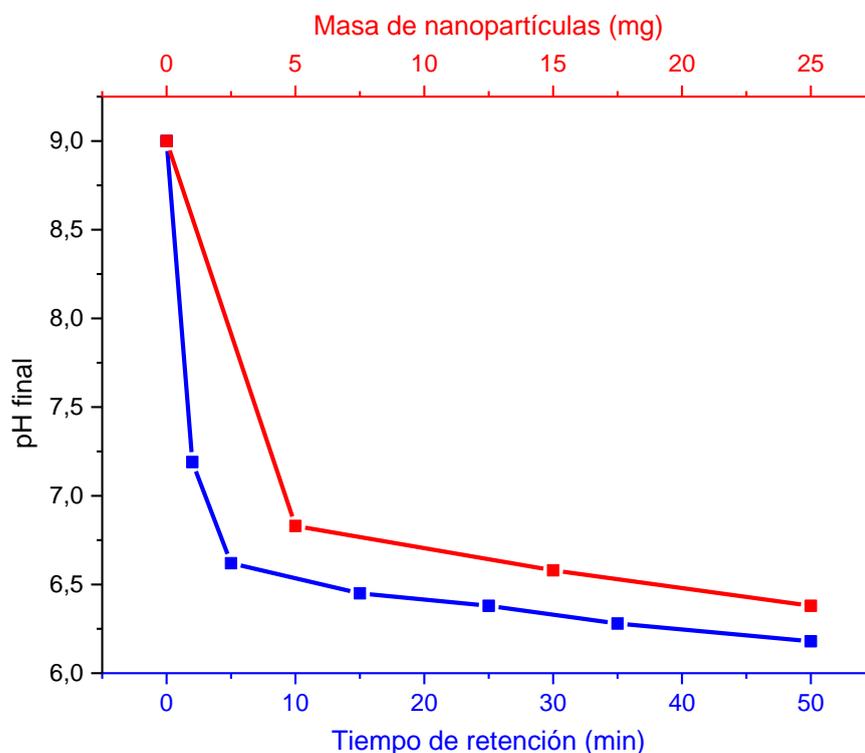


Figura 108. pH final de las nanopartículas Cys-ThO₂ en una disolución de As^(III) ($C_0 = 200$ ng/mL) frente al tiempo de retención ($m = 25$ mg) y masa de nanopartículas ($t = 25$ min)

Como el pH de retención es ligeramente básico, es necesario el empleo de un enmascarante para evitar la precipitación de diferentes cationes cuando están presentes a altas concentraciones en muestras reales. Se estudió el efecto de tres compuestos complejantes: tartrato, EDTA y fluoruro. En la Figura 109.A y 109.B se representan el pH final de las disoluciones de las nanopartículas funcionalizadas de ThO₂ con los diferentes complejantes, en función del pH inicial y de la masa de nanopartículas, respectivamente.

En la Figura 109.A se muestra que, como ya se ha expuesto anteriormente, el pH de la disolución tras la retención, en el caso de no emplear enmascarante,

aumenta a medida que el pH inicial es mayor. Sin embargo, los diferentes complejantes tienen comportamientos distintos en disolución. En el caso del tartrato, para valores de pH mayores de 7, el pH final de la disolución se mantiene prácticamente constante a pH cercanos a 7.5. Si el pH inicial es menor de 7, el pH final aumenta ligeramente. Por el contrario, si se emplea EDTA como enmascarante el pH no varía durante el proceso de retención. Finalmente, la utilización de fluoruro implica que el pH final no sea dependiente del pH inicial, manteniéndose constante a valores cercanos a 9.5.

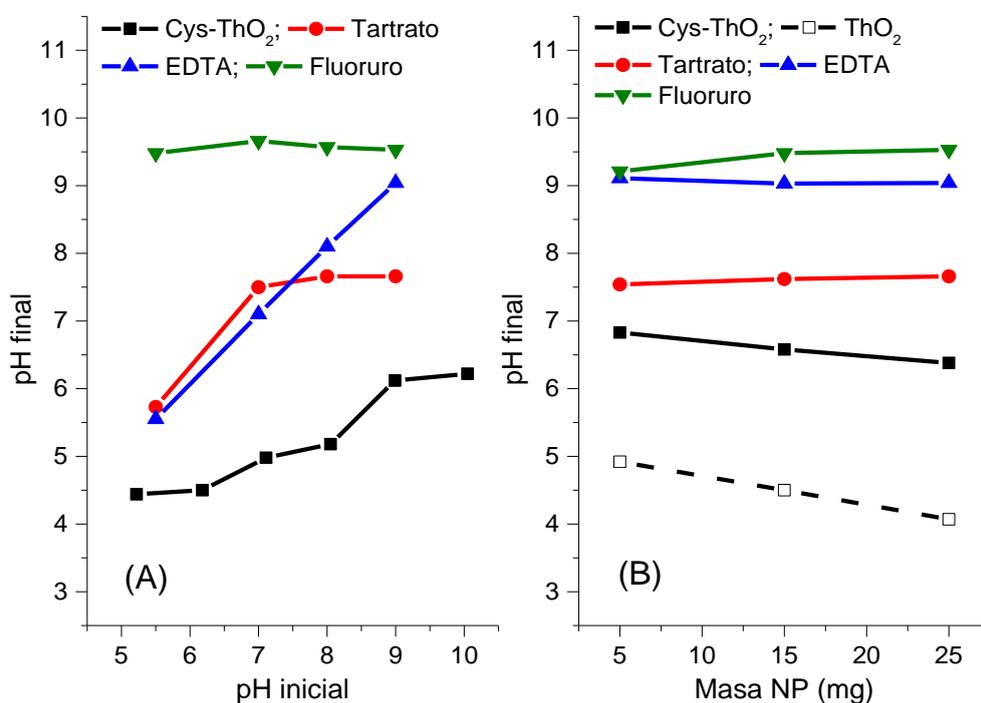


Figura 109. pH final de las nanopartículas de Cys-ThO₂ con diferentes enmascarantes frente a (A) pH inicial ($m = 25$ mg; $t = 25$ min); y (B) masa de nanopartículas ($pH_i = 9$; $t = 25$ min)

La Figura 109.B pone de manifiesto que, si no se emplea complejante, a medida que aumenta la masa de nanomaterial, disminuye el pH final, siempre que las condiciones de pH inicial y tiempo de contacto sean constantes. No obstante, para los tres enmascarantes estudiados, el pH final es independiente de la masa utilizada.

Por otro lado, la pequeña variación de pH que presentan las nanopartículas de ThO₂ funcionalizadas, invita a pensar que la cisteína está unida a la superficie de

las nanopartículas a través de los átomos de oxígeno del grupo carboxílico, cuyo comportamiento coincide con el mostrado por los grupos OH^- originados de la disociación del agua, como ya se observó en las Espectrometrías Raman y FT-IR.

Por tanto, los mejores resultados se obtuvieron para el tartrato, ya que el pH final medido tras la retención de $\text{As}^{(\text{III})}$ es cercano a 7.5 para cualquier pH ligera o moderadamente básico. Además, la eficiencia del tartrato como enmascarante es máxima, ya que en el intervalo de pH entre 7.0 y 8.0 está totalmente desprotonado, teniendo disponibles todos los sitios de adsorción (Fig. 110). De este modo, se eligió este complejante para llevar a cabo los estudios posteriores.

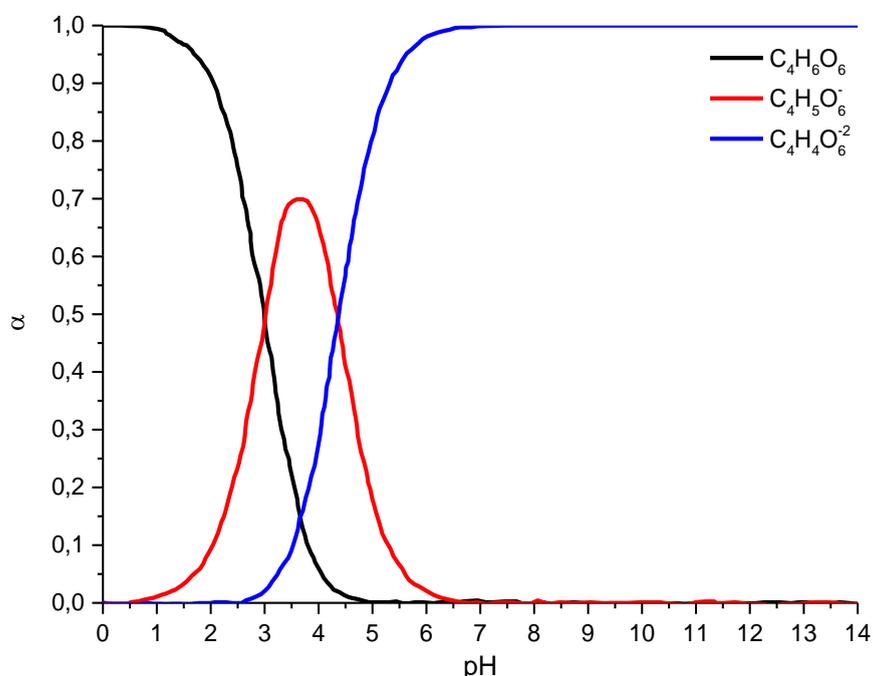


Figura 110. Distribución de las especies de ácido tartárico en función del pH

A continuación, se estudió el pH final de la disolución en función de la concentración inicial de $\text{As}^{(\text{III})}$ (Fig. 111). Se puede comprobar que para las condiciones establecidas, cuando no se emplea complejante, el pH final de las disoluciones es ligeramente superior a 5.

En cambio, si se emplea tartrato, el pH final es cercano a 7. Por tanto, la disminución de pH no tiene relación con la concentración de arsénico, y sí con el adsorbente utilizado.

No obstante, no se utilizaron disoluciones tampón durante el proceso de retención, ya que éste se produce sin variación de pH. De este modo se evitaron, además, las matrices excesivamente complejas.

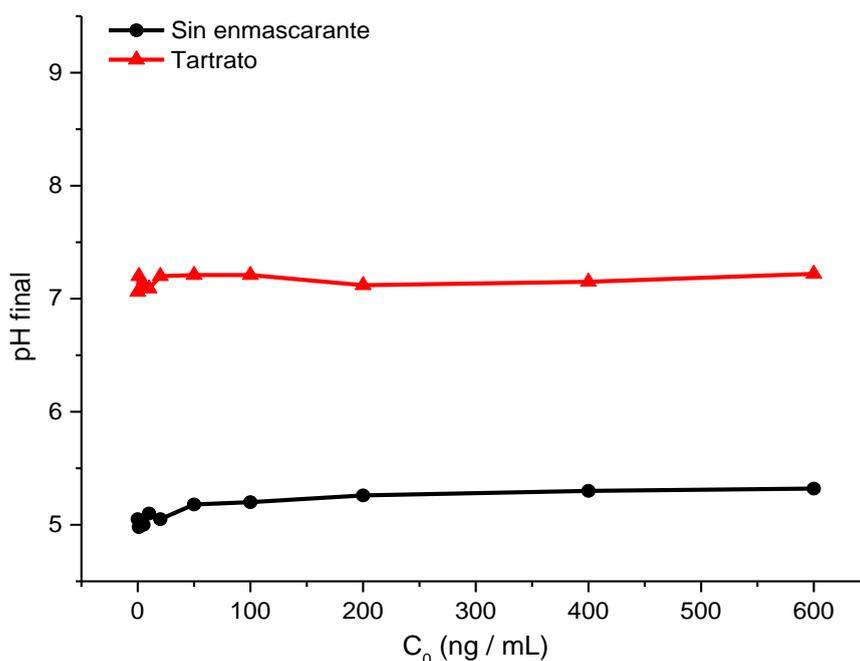


Figura 111. pH final de los sobrenadantes de Cys-ThO₂ con y sin tartrato en función de la concentración inicial de As^(III) ($m = 25$ mg; $pH_i = 8.0$; $t = 25$ min)

3.4.2.2 Masa de nanopartículas

La Figura 112A muestra la concentración retenida de arsénico en función de la masa de nanopartículas. Se aprecia que la concentración crece de manera muy pronunciada hasta llegar a los 25 mg de nanomaterial. Para cantidades mayores de nanopartículas, la concentración retenida de arsénico se mantiene constante, por lo que se podría deducir que las nanopartículas se saturan.

La Figura 112.B muestra la cantidad retenida de As^(III) por miligramo de nanopartícula, q , frente a la masa de nanopartículas. En ella podemos comprobar

que los valores de q disminuyen de manera acusada a medida que aumenta la masa de nanomaterial, especialmente para cantidades menores de 10 mg.

Se observa que para masas menores de 10 mg, la cantidad retenida de arsénico por masa de nanomaterial es mucho mayor que para masas superiores. En coincidencia con la Figura 112.A, para masas mayores de 25 mg, la retención tiende a estabilizarse, para el volumen estudiado.

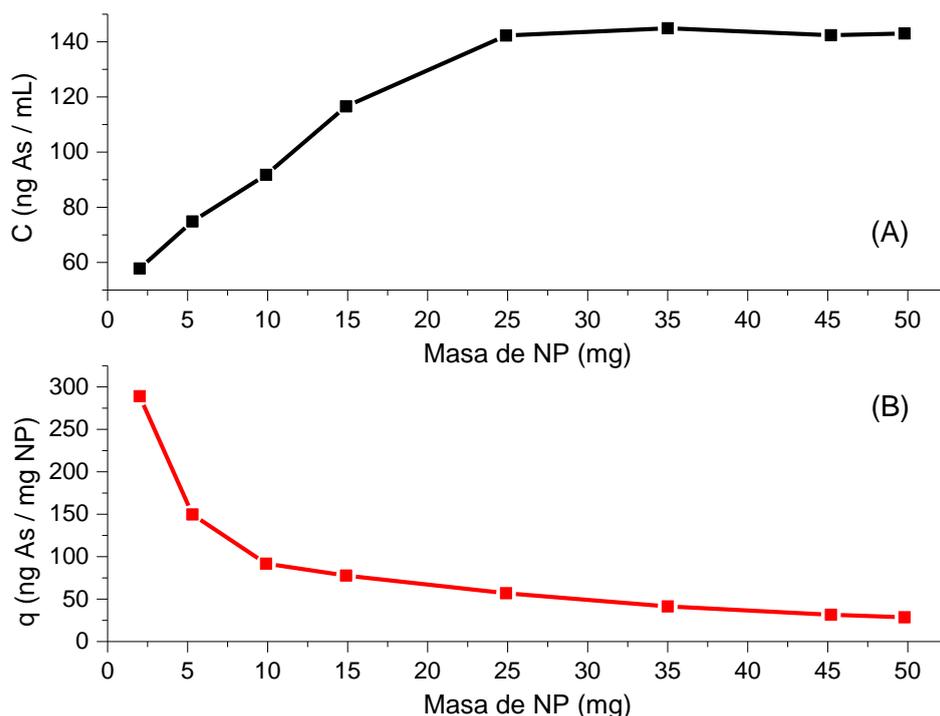


Figura 112. (A) Concentración retenida de arsénico en función de la masa de nanopartículas. (B) Cantidad retenida de arsénico por unidad de masa de nanopartícula en función de la masa de nanopartículas

3.4.2.3 Tiempo de desorción

Se representó la cantidad de arsénico retenido por gramo de nanomaterial en función del tiempo de desorción (Fig. 113). Se aprecia que para valores menores de 10 minutos, la mayor parte del arsénico ha pasado a la disolución. A partir de este tiempo, la concentración de arsénico en la disolución se mantiene constante, por lo

que cabe pensar que un tiempo de 10 minutos es suficiente para que todo el arsénico retenido en las nanopartículas migre a la disolución de HNO_3 .

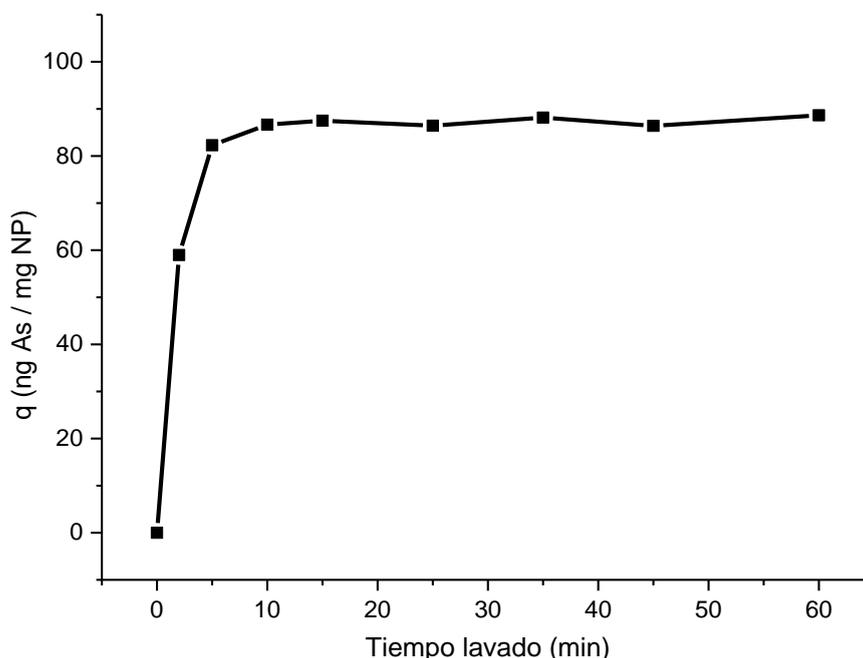


Figura 113. Cantidad retenida de arsénico por unidad de masa de nanopartícula en función del tiempo de desorción empleando una disolución 0.5 M de HNO_3

3.4.2.4 Concentración de *L*-cisteína

Como se ha comprobado anteriormente, la funcionalización con *L*-cisteína aumenta la capacidad de retención de las nanopartículas sintetizadas. Por lo tanto, se estudió la concentración óptima de *L*-cisteína.

En la Figura 114 se muestra la cantidad retenida de arsénico frente a la concentración de cisteína con la que se funcionalizan las nanopartículas.

Se puede observar que la gráfica toma la forma de una función de saturación, ya que la cantidad retenida de arsénico crece de manera muy acusada para las concentraciones más pequeñas estudiadas. Sin embargo, para concentraciones mayores de 0.1 M de *L*-cisteína, parece que la cantidad retenida de arsénico no aumenta. Aún así, para asegurar una retención óptima, se ha empleado una concentración 0.25 M de cisteína.

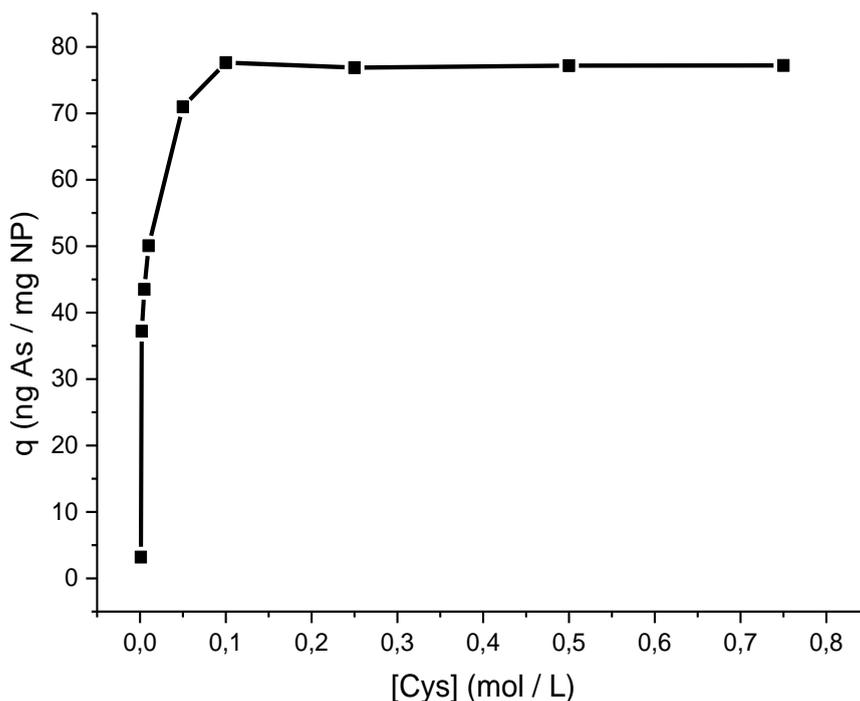


Figura 114. Cantidad retenida de arsénico por unidad de masa de nanopartículas en función de la concentración empleada de *L*-cisteína para funcionalizar el nanomaterial

3.4.2.5 Estabilidad de las nanopartículas

Por último, se evaluó el tiempo de permanencia de las nanopartículas en la suspensión original, de la cual se separan para retener arsénico. La Figura 115 representa la cantidad retenida de arsénico por unidad de masa de nanomaterial en función de la concentración de arsénico, dependiendo del tiempo previo de permanencia de las nanopartículas en la suspensión original.

En esta figura se aprecia que cuanto mayor es el tiempo que permanecen las nanopartículas en suspensión, menor es la retención de arsénico. Esto puede deberse al hecho de que las nanopartículas evolucionan significativamente con el tiempo si se mantienen en suspensión. Mediante el fenómeno conocido como maduración de Ostwald, las nanopartículas más grandes crecen en detrimento de las más pequeñas. Como consecuencia, este aumento del tiempo en la suspensión original se traduce en una disminución de la relación superficie/volumen de las nanoestructuras, y, por consiguiente, en un menor número de sitios de adsorción.

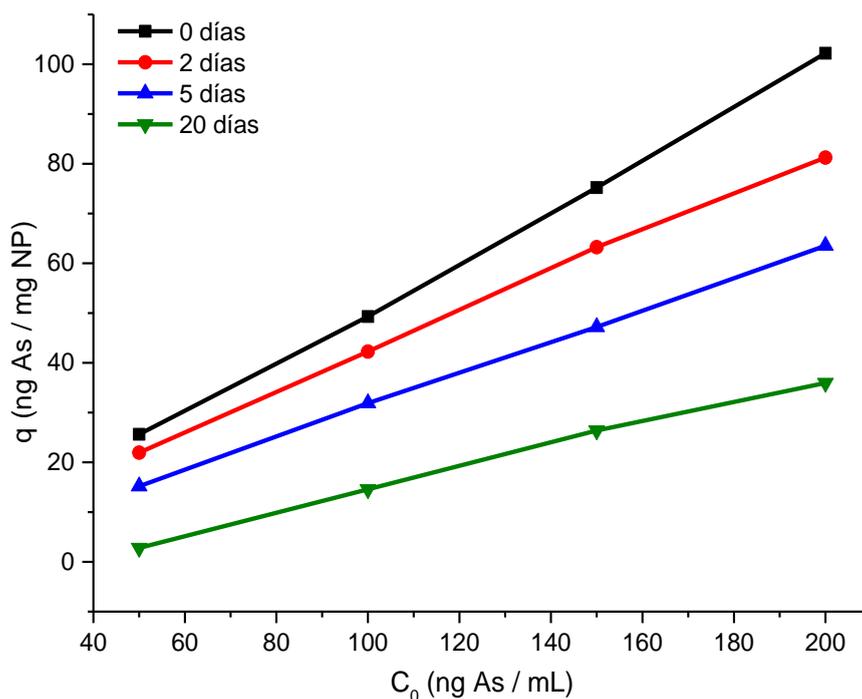


Figura 115. Cantidad retenida de arsénico por unidad de masa de nanopartículas en función del tiempo de permanencia de las nanopartículas en la suspensión original

Por este motivo, las nanopartículas siempre se aislaron inmediatamente después de su precipitación.

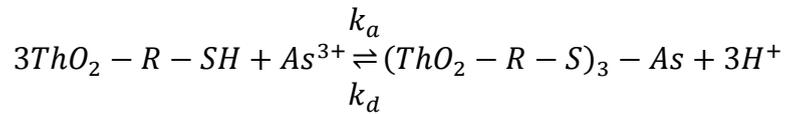
3.4.3 Modelización del proceso de retención

Actualmente, el empleo de adsorbentes es el método más ampliamente utilizado para favorecer la eliminación de contaminantes de aguas naturales o residuales (McKay 1995). En el caso de los metales pesados, especialmente el arsénico, la adsorción es utilizada debido a su facilidad de operación, así como la disponibilidad de una amplia gama de adsorbentes (Ma *et al.* 2011).

3.4.3.1 Consideraciones teóricas del proceso de retención

Desde un punto de vista teórico y suponiendo un proceso de adsorción en un único sitio, podemos considerar los procesos de retención/desorción de $As^{(III)}$ en las

nanopartículas funcionalizadas de ThO_2 , como dos procesos de primer orden, representados esquemáticamente en una forma simplificada:



donde k_a y k_d son las constantes de retención y desorción, respectivamente, y R representa el radical $-\text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_3^+) - \text{COO}^-$.

Las velocidades de retención (v_a) y desorción (v_d) se escriben como sigue:

$$v_a = k_a C \quad (16)$$

$$v_d = k_d \beta \theta \quad (17)$$

donde $\beta = \frac{m_s q_m}{M_w V}$, siendo m_s la masa de adsorbente, q_m es la capacidad de retención máxima, M_w es la masa molecular de $\text{As}^{(\text{III})}$ y V es el volumen de muestra, C es la concentración de $\text{As}^{(\text{III})}$ a cualquier tiempo y θ es la fracción retenida de $\text{As}^{(\text{III})}$ ($0 \leq \theta \leq 1$) a cualquier tiempo para q_m .

Teniendo en cuenta que:

$$C = C_0 - \beta \theta \quad (18)$$

la velocidad del proceso de retención global es:

$$\frac{d\beta\theta}{dt} = v_a - v_d = k_a(C_0 - \beta\theta) - k_d\beta\theta \quad (19)$$

La ecuación (19) es la ecuación general de retención de $\text{As}^{(\text{III})}$. Haciendo las operaciones correspondientes, se obtiene la ecuación generalizada en función del tiempo de retención:

$$q = a(1 - e^{-bt}) \quad (20)$$

donde a y b son dos constantes que dependen de k_a , k_d y C_0 . Esta ecuación puede reescribirse para tiempos muy cortos de retención:

$$C_0 - C = 2.3k_a C_0 t \quad (21)$$

donde $C_0 - C$ es la medida de la cantidad retenida de $As^{(III)}$ por las nanopartículas antes de alcanzar la situación de estado estacionario. Esta ecuación permite realizar análisis cuantitativos antes de que el equilibrio de retención se haya alcanzado. También puede emplearse para modelizar la cantidad retenida de $As^{(III)}$ como función de su concentración inicial para un tiempo constante de retención.

Para un proceso de retención similar, descrito por modelos hiperbólicos, se puede desarrollar otra ecuación para tiempos muy cortos de retención y/o para bajos valores de C_0 (Aller, Robles 1998, Villadangos *et al.* 2010),

$$q = KtC_0 \quad (22)$$

donde K es una constante y q es la cantidad retenida de $As^{(III)}$ a cualquier tiempo por unidad de masa del adsorbente.

Por otro lado, para tiempos de retención muy largos, la situación de estado estacionario se alcanza siempre, y está caracterizada por la constante de reparto. Una vez que el proceso de retención haya alcanzado la situación de estado estacionario, se cumple que el miembro de la izquierda en la ecuación (19) es nulo, $\frac{d\theta}{dt} = 0$, y el equilibrio $\theta = \theta_e = 1$, y $C = C_e$, donde θ_e es la fracción retenida de $As^{(III)}$ en el equilibrio y C_e es la concentración de $As^{(III)}$ en el equilibrio. Consecuentemente, la ecuación (19) puede reescribirse:

$$0 = k_a C_0 - k_a \beta - k_d \beta \theta \quad (22)$$

Considerando la constante de retención global, $K_r = \frac{k_a}{k_d}$ y reemplazando el valor de β de la ecuación (18) para la situación de equilibrio de retención, $\theta_e = 1$, en el segundo término del segundo miembro, se obtiene que:

$$C_0 - C_e = K_r C_e \quad (23)$$

Por tanto, la representación $C_0 - C_e$ frente a C_e para diferentes valores de C_0 nos permitiría obtener el valor de la constante de retención global, K_r , de la pendiente de la recta ajustada.

3.4.3.2 Cinética de la retención

Para la adecuada caracterización de los estudios teóricos de retención, se debe tener en cuenta la velocidad a la que transcurren las reacciones que gobiernan este proceso. De este modo, las etapas favorables o limitantes del proceso de retención vienen determinadas por la rapidez o lentitud, respectivamente, de las reacciones implicadas (Khitome *et al.* 1998).

La Figura 116 representa la cantidad retenida de arsénico por unidad de masa de nanopartícula funcionalizada en función del tiempo de retención, para una temperatura de 293 K.

En esta figura se observan dos fases bien diferenciadas. La primera fase abarca los primeros 10 minutos, durante los cuales la cantidad retenida de $\text{As}^{(\text{III})}$ aumenta rápidamente. Durante la segunda etapa, que comprende el intervalo de tiempo entre 10 y 120 minutos, la cantidad retenida de arsénico crece de manera más lenta, alcanzando finalmente un pseudo-equilibrio, que se encuentra regulado, probablemente, por la existencia de un proceso simultáneo de desorción.

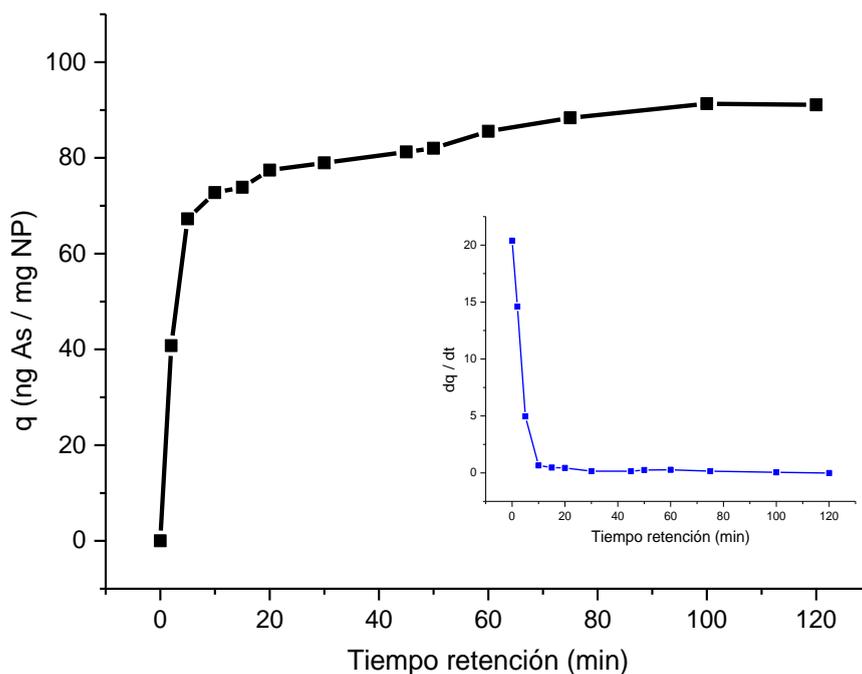


Figura 116. Cantidad retenida de arsénico por unidad de masa de nanopartícula en función del tiempo de retención ($C_0 = 200$ ng/mL). La gráfica insertada representa su función derivada

La línea azul representa la primera derivada en función del tiempo. La velocidad de retención confirma la presencia de las dos etapas de retención, ya que dq/dt es mayor durante la fase inicial del proceso de retención. Sin embargo, para tiempos superiores a 10 minutos, la velocidad de retención toma un valor muy pequeño, que tiende a cero a medida que aumenta el tiempo.

Para estudiar teóricamente la cinética de retención de arsénico mediante las nanopartículas de ThO_2 funcionalizadas, se plantearon dos ecuaciones que relacionan la concentración retenida con el tiempo de retención: por un lado, una ecuación mecanicista, y, por otro lado, una ecuación empírica hiperbólica, de tipo Michaelis-Menten, que se detallan a continuación:

$$\text{Mecanicista} \quad q = a(1 - e^{-bt}) \quad (20)$$

$$\text{Empírica} \quad q = \frac{q_m^t t}{t_{1/2} + t} \quad (24)$$

Para ambas ecuaciones, q (ng/mg) es la cantidad retenida de $\text{As}^{(\text{III})}$ por unidad de masa de nanopartícula y t (min) el tiempo de retención. Por otro lado, a y q_m^t (ng/mg) corresponden a la cantidad máxima retenida por unidad de masa de nanopartícula para una concentración de $\text{As}^{(\text{III})}$ de 200 ng/mL, b (1/min) es una constante, y $t_{1/2}$ (min) es el tiempo de retención correspondiente a la mitad de la cantidad máxima retenida.

En la Figura 117 se representan los ajustes no lineales para ambas ecuaciones. Los valores de χ^2 , r^2 y error relativo se utilizaron para determinar la idoneidad del ajuste de los modelos a los datos experimentales.

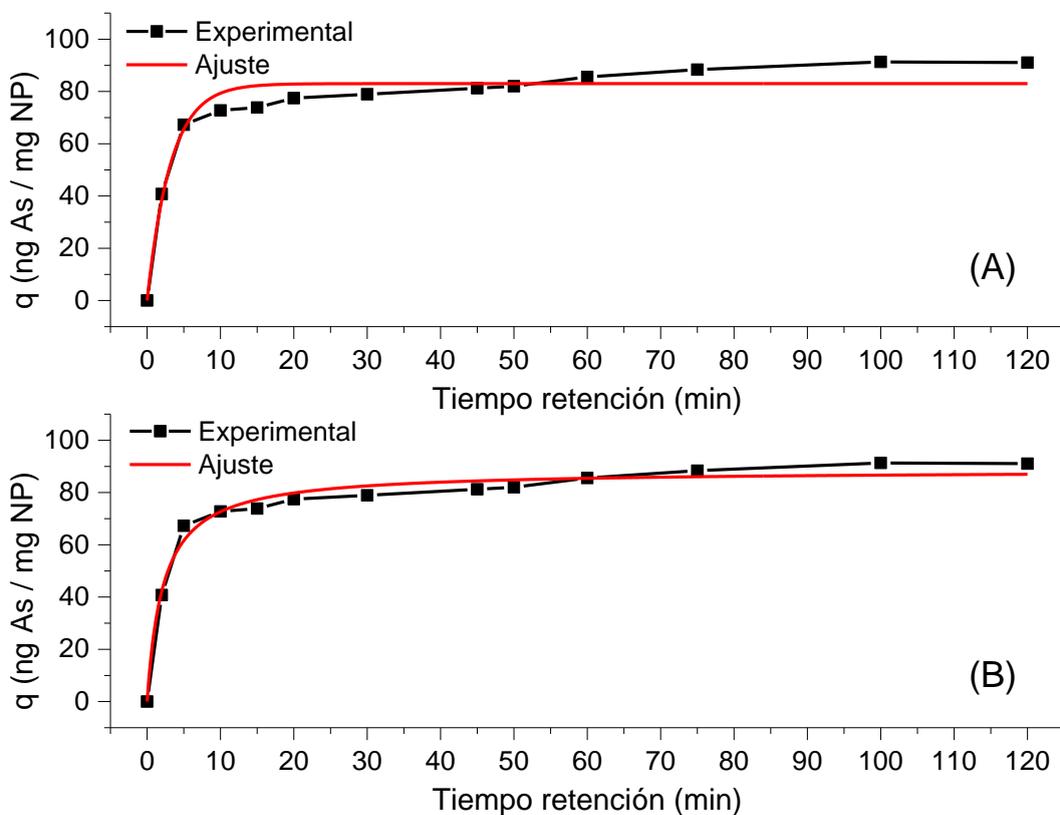


Figura 117. Ajustes cinéticos a (A) una ecuación mecanicista, y (B) una ecuación hiperbólica ($C_0 = 200$ ng/mL)

La Tabla 22 recoge los parámetros obtenidos y coeficientes de determinación para ambas ecuaciones.

Tabla 22. Valores de los parámetros teóricos de las ecuaciones ajustadas

Ecuaciones	Parámetros	Valores	r^2	χ^2
Mecanicista	a (ng/mg)	82.9 ± 2.0	0.96511	30.93
	b (1/min)	0.28 ± 0.04		
Empírica	q_m^t (ng/mg)	88.8 ± 1.3	0.98641	11.52
	$t_{1/2}$ (min)	2.4 ± 0.3		

Aunque la ecuación mecanicista se ajusta bien a los datos cinéticos experimentales, el mayor valor de r^2 y el menor valor del test χ^2 del modelo empírico hacen que sea el que más concuerda con los resultados experimentales. Por lo tanto, el proceso de retención sigue una cinética de Michaelis-Menten. Para una concentración inicial de $\text{As}^{(\text{III})}$ de 200 ng/mL, la cantidad máxima retenida por unidad de masa de nanopartícula es 88.8 ng/mg. El tiempo a la mitad de la retención fue muy corto (2.4 min), indicando que la cinética de retención es muy rápida.

Como se comentó en el *Apartado 3.4.3.1*, para procesos de retención que se comporten siguiendo modelos hiperbólicos, se pueden llevar a cabo análisis cuantitativos antes de alcanzar la situación de estado estacionario. Con este propósito, se ha representado la cantidad de arsénico retenido por unidad de masa en función de tiempos menores de 10 minutos. Los datos experimentales pertenecientes a la primera etapa del proceso de retención, para una concentración inicial fija de $\text{As}^{(\text{III})}$ de 200 ng/mL, se ajustan bien a una línea recta de ecuación:

$$q \left[\frac{\text{ng As}}{\text{mg NP}} \right] \propto (13.1 \pm 3.0)t [\text{min}] \quad r^2 = 0.98207$$

3.4.3.3 Equilibrio de retención

El equilibrio de retención del sistema se trató de evaluar relacionando la cantidad retenida de $\text{As}^{(\text{III})}$ por estas nanopartículas con las concentraciones de las disoluciones de $\text{As}^{(\text{III})}$, inicialmente y en el equilibrio.

El estudio teórico de la cantidad retenida de arsénico en función de la concentración inicial se llevó a cabo mediante dos modelos similares a los empleados en el *Apartado 3.4.3.2*, obtenidos cambiando t por C_0 (ng/mL), y $t_{1/2}$ por $C_{1/2}^0$ (ng/mL), que es la concentración inicial de $As^{(III)}$ a la mitad de la cantidad máxima retenida.

$$\text{Mecanicista} \quad q = a'(1 - e^{-b'c_0}) \quad (20)$$

$$\text{Empírica} \quad q = \frac{q_m^t C_0}{C_{1/2}^0 + C_0} \quad (24)$$

La Figura 118 representa la cantidad retenida de arsénico en función de la concentración inicial de $As^{(III)}$ para un tiempo de retención de 10 min.

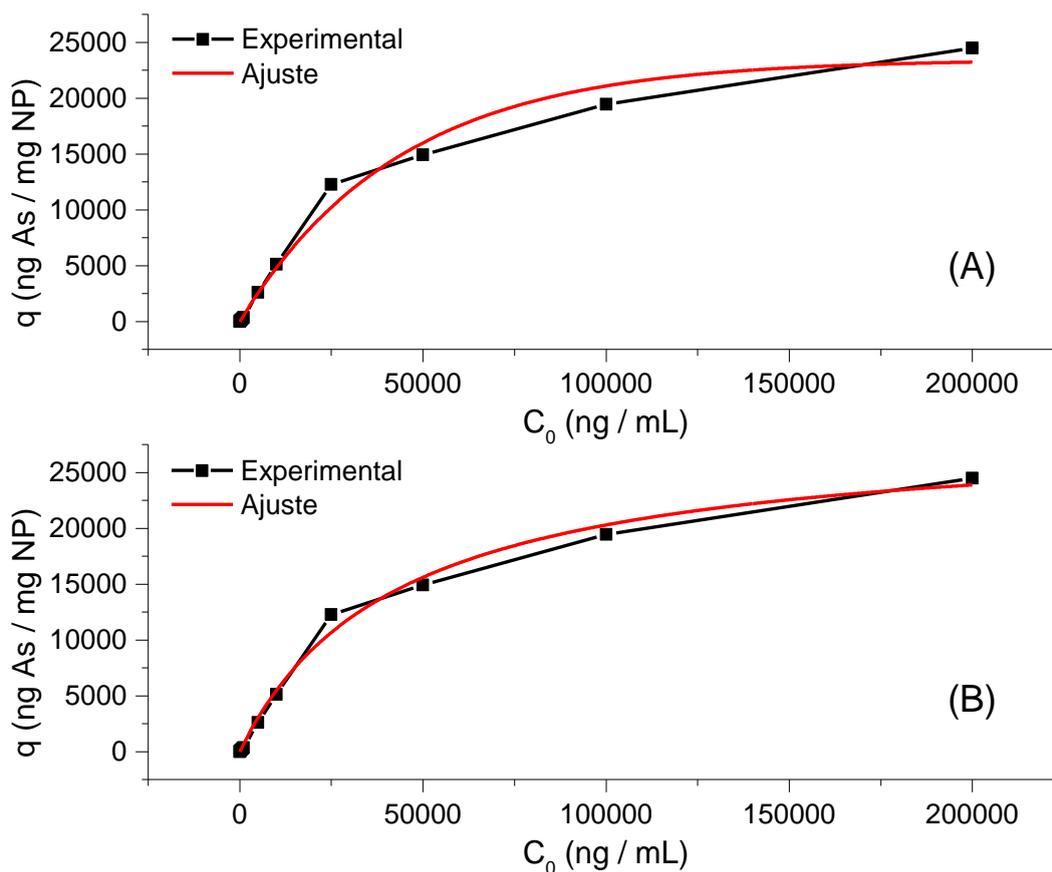


Figura 118. Ajustes de la capacidad de retención a (A) una ecuación mecanicista, y (B) una ecuación hiperbólica

En esta figura se muestran los ajustes matemáticos correspondientes a las ecuaciones mecanicista (Fig. 118.A) y empírica (Fig. 118.B). Al igual que en el apartado anterior, los valores de χ^2 , r^2 y error relativo se utilizaron para determinar la bondad del ajuste.

Se puede observar que el proceso de retención está dividido en dos etapas: la primera, que comprende el intervalo de 0-25000 ng/mL, en el que la cantidad de As^(III) unida a la superficie de las nanopartículas aumenta considerablemente, y la segunda, en la que q aumenta de forma más moderada con C_0 .

Si se atiende a los coeficientes de determinación, el mayor es el proporcionado por la ecuación empírica, por lo que los resultados experimentales se ajustan mejor a ella, aunque ambos coeficientes de determinación son similares. Por tanto, para concentraciones iniciales bajas, a medida que aumenta C_0 , los valores de q aumentan rápidamente. Para valores mayores de C_0 , los valores de q crecen hasta que alcanzan un cierto valor constante, q_m^0 , que es la capacidad máxima de retención.

La Tabla 23 recoge las ecuaciones, parámetros obtenidos y coeficientes de determinación para ambos ajustes.

Tabla 23. Valores de los parámetros teóricos de las ecuaciones ajustadas

Ecuaciones	Parámetros	Valores	r^2	χ^2
Mecanicista	a' ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	23.5 ± 0.8	0.98945	693457.8
	b' (adimensional)	0.02 ± 0.00		
Empírica	q_m^0 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	29.0 ± 1.0	0.99508	323642.3
	$C_{1/2}^0$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	43.0 ± 4.0		

Las cantidades máximas de As^(III) retenido por unidad de masa de nanopartícula (a' y q_m^0) fueron similares para ambos modelos, aunque q_m^0 es mayor. Los resultados invitan a pensar que las nanopartículas funcionalizadas basadas en ThO₂ pueden utilizarse como un buen adsorbente para retener As^(III) bajo las condiciones establecidas.

Por otro lado, se representó la cantidad retenida de $As^{(III)}$ por unidad de masa de nanopartículas para concentraciones iniciales de $As^{(III)}$ menores que $C_{1/2}^0$, que son las más interesantes para fines analíticos. Esta cantidad retenida de $As^{(III)}$ aumentó linealmente con las concentraciones iniciales de $As^{(III)}$ en el rango de 0-25000 ng/mL, para un tiempo de retención fijo de 10 min, conforme a la siguiente ecuación:

$$q \left[\frac{ng\ As}{mg\ NP} \right] \propto (0.50 \pm 0.00) C_0 \left[\frac{ng\ As}{mL} \right] \quad r^2 = 0.99938$$

Como se puede comprobar, el intervalo de C_0 para el que q se comporta linealmente es muy amplio. Esto también corrobora que el adsorbente desarrollado muestra una excelente capacidad para ser utilizado en la eliminación de grandes cantidades de arsénico de muestras contaminadas.

3.4.3.3.1 Isotermas de retención

La representación gráfica de la concentración del analito en fase líquida (de la cual se extrae) y en fase sólida (material extractante) en equilibrio a varias concentraciones, y temperatura constante, se denomina isoterma de retención. En este trabajo se han evaluado las isotermas de Langmuir y Freundlich, aunque se ha comprobado que esta última no se ajusta bien a los datos experimentales, por lo que sólo se comentará la isoterma de Langmuir.

La isoterma de Langmuir (Langmuir 1918) asume tres condiciones: 1) la retención de las moléculas está limitada a la formación de una monocapa; 2) la retención se lleva a cabo en sitios determinados, es decir, está localizada; y 3) todos los sitios de retención son equivalentes.

La ecuación desarrollada por Langmuir es la siguiente:

$$q = \frac{q_m I_L C_e}{1 + I_L C_e} \quad (25)$$

Si se invierte y se reducen términos semejantes, obtenemos:

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_m I_L} \frac{1}{C_e} + \frac{1}{q_m} \quad (26)$$

donde q (ng/mg) es la cantidad retenida de arsénico en el equilibrio a cualquier tiempo, C_e (ng/mL) es la concentración de arsénico en el sobrenadante, q_m (ng/mg) es la cantidad máxima retenida de arsénico a saturación, y I_L (mL/ng) es la constante de equilibrio de la isoterma de Langmuir. Si los datos experimentales se ajustan a la isoterma de Langmuir, al representar $1/q$ frente a $1/C_e$ se obtiene una línea recta.

A partir de la pendiente de la recta y de la ordenada en el origen, y adecuando las unidades, se obtuvieron los valores de I_L (120 L/mol) y q_m (13.3 $\mu\text{g}/\text{mg}$), respectivamente. El valor del coeficiente de determinación (0.97486) muestra que los datos experimentales se ajustan bien al modelo de Langmuir.

Por lo tanto, la retención de arsénico por parte de las nanopartículas funcionalizadas basadas en ThO_2 estaría fundamentada en un proceso en el que la formación de una única monocapa en la superficie de las nanopartículas funcionalizadas hace que sea un proceso limitado. A su vez, la retención ocurriría en sitios fijos de la superficie de las nanopartículas, es decir, el arsénico estaría localizado en la γ -cisteína unida a la nanopartícula.

La eficiencia del proceso de retención se puede predecir en términos del factor constante de separación adimensional, R_L , que está relacionado con la concentración inicial de $\text{As}^{(\text{III})}$, C_0 :

$$R_L = \frac{1}{1 + I_L C_0} \quad (27)$$

Para el intervalo estudiado de concentraciones iniciales de $\text{As}^{(\text{III})}$, los valores obtenidos de R_L se encuentran en el intervalo $0 < R_L < 1$. Estos resultados confirman una retención favorable de $\text{As}^{(\text{III})}$.

Como el mejor ajuste se consigue con la isoterma de Langmuir, este fue el modelo empleado para realizar los estudios termodinámicos. El término I_L tiene una gran importancia analítica, debido a que guarda relación con la variación de energía libre de Gibbs (ΔG) correspondiente al proceso de retención, de acuerdo con:

$$\Delta G = -RT \ln I_L \quad (28)$$

donde T es la temperatura (K), y R es la constante de los gases ideales en unidades de energía (8.31 J/mol K) e I_L es la constante de equilibrio de Langmuir (L/mol). Para la temperatura de 293 K, el valor obtenido de $\Delta G = -11.7$ kJ/mol. El valor negativo de la energía libre de Gibbs indica la espontaneidad del proceso, mostrando una retención favorable de $\text{As}^{(\text{III})}$ por parte de las nanopartículas de óxido de torio funcionalizadas, de acuerdo con los valores obtenidos a partir del modelo hiperbólico. De este modo, se demuestra que estas nanopartículas presentan grandes capacidades de preconcentración para la retención de $\text{As}^{(\text{III})}$.

3.4.3.3.2 Constantes de reparto y constante global de retención

Otro parámetro que se empleó para valorar la cantidad retenida de $\text{As}^{(\text{III})}$ en el equilibrio es la constante de reparto o coeficiente de distribución (K_D) de $\text{As}^{(\text{III})}$ para el sistema de retención formado por las nanopartículas y la disolución. La constante de reparto es el cociente entre la cantidad de arsénico retenido (q , ng/mg) y la concentración en el equilibrio (C_e , ng/mL).

El mejor valor obtenido de K_D (≈ 26.2 mL/mg) fue similar al obtenido con bacterias (Villadangos *et al.* 2010), pero fue mayor que el reportado para otras especies inorgánicas y sistemas de retención (Aller *et al.* 1996, Aller, Robles 1998, Yu *et al.* 2003).

Al enfrentar K_D con C_e , se aprecia que para el dato más bajo representado de C_e , K_D presenta su mayor valor. A medida que aumenta C_e , la constante de reparto disminuye significativamente hasta que se hace constante. Al comprobar este

comportamiento, se ajustó la gráfica a una curva de decaimiento exponencial, proporcionando resultados satisfactorios:

$$K_D = (26.2 \pm 1.6)e^{\frac{-C_e}{0.23 \pm 0.06}} \quad r^2 = 0.97089$$

Por otro lado, la constante global de retención, K_r , introducida en el *Apartado 3.4.3.1*, hace referencia al cociente entre la constante de adsorción y la constante de desorción. Representando $C_0 - C_e$ (ng/mL) frente a C_e (ng/mL), los datos experimentales toman la forma de una recta cuya pendiente es K_r , según la ecuación (23). La ecuación de la recta ajustada para los datos experimentales es:

$$C_0 - C_e = (27.8 \pm 0.8)C_e \quad r^2 = 0.98904$$

La constante global de retención toma el valor de 27.8. Este valor positivo y relativamente grande implica que el proceso de retención de arsénico por parte de las nanopartículas estaría ampliamente favorecido bajo las condiciones empleadas.

3.4.4 Aplicaciones analíticas

En los apartados anteriores se ha optimizado y modelizado matemáticamente un sistema de retención de arsénico en muestras acuosas empleando nanopartículas funcionalizadas basadas en ThO_2 .

Como se expuso anteriormente, la cantidad retenida de $\text{As}^{(\text{III})}$ por parte de las nanopartículas depende simultáneamente de la concentración inicial de $\text{As}^{(\text{III})}$ y del tiempo de retención. No obstante, en la mayoría de las aplicaciones analíticas, se opta por establecer tiempos de análisis cortos, a fin de optimizar el número de experimentos. Por este motivo, para caracterizar el rendimiento del procedimiento analítico para $\text{As}^{(\text{III})}$ llevado a cabo en condiciones óptimas, se empleó un tiempo de retención de 10 min.

3.4.4.1 Calibración

Inicialmente, se construyó una línea de calibrado utilizando nanopartículas de ThO₂ (25 mg) funcionalizadas con *l*-cisteína, con el fin de extraer arsénico de disoluciones patrón de concentraciones crecientes del mismo a pH 8. La ecuación de la recta ajustada al representar la cantidad de arsénico retenido frente a la concentración inicial de arsénico fue la siguiente:

$$q \left[\frac{\text{ng As}}{\text{mg NP}} \right] = (0.50 \pm 0.00)C_0 \left[\frac{\text{ng As}}{\text{mL}} \right] - (7.98 \pm 27.75) \quad r^2 = 0.99938$$

3.4.4.2 Intervalo de Respuesta Lineal

La línea de calibrado obtenida es lineal para valores cercanos al límite de detección y hasta una concentración inicial de As^(III) de 25000 ng As/mL. Se confirmó que los resultados se ajustan perfectamente a una línea recta en todos sus puntos mediante un estudio estadístico empleando la distribución *t de Student*, con un 95% de confianza.

El factor de mejora, determinado a partir de la relación entre la pendiente de la recta obtenida mediante el procedimiento de preconcentración utilizando las nanopartículas y la pendiente obtenida a partir de mediciones directas de disoluciones acuosas estándar de arsénico, fue cercano a 10.0.

3.4.4.3 Límite de detección

El límite de detección bajo las condiciones óptimas de análisis fue 0.07 ng As/mL (3σ), ligeramente menor que los obtenidos por otros autores para materiales similares, empleando como instrumento de medida el ICP-MS (Reddy *et al.* 2013, Sun *et al.* 2007). Este límite de detección también es menor que los presentados en otros trabajos, empleando Voltamperometría de Redisolución Anódica por Voltamperometría Diferencial de Impulsos (Li *et al.* 2012, Song *et al.* 2006) y por Voltamperometría de Onda Cuadrada (Simm *et al.* 2005, Xiao *et al.* 2008).

3.4.4.4 Interferencias

Se evaluó el efecto individual y combinado de algunos cationes, Al^(III), Ca^(II), Cd^(II), Co^(II), Cr^(VI), Cu^(II), Fe^(III), Hg^(II), K^(I), Mg^(II), Mn^(II), Na^(I), Ni^(II), Pb^(II), Sb^(III), Sb^(V), Si^(IV), V^(V) y Zn^(II), así como los aniones tartrato, EDTA, fluoruro y cloruro, en la retención de As^(III). Para ello, se pusieron en contacto disoluciones de 200 ng As/mL con concentraciones de 1 y 50 µg/mL de los interferentes.

Se comprobó que los interferentes estudiados no modificaban significativamente la concentración de arsénico incorporado por las nanopartículas, cuando se añadieron en concentraciones de hasta 50 µg/mL (interferencia < 5 %). Esto podría deberse a que las constantes condicionales de formación para estos elementos cuando se unen a la cisteína son más pequeñas que la constante condicional de formación del As^(III)-Cys.

Al aumentar la concentración de los iones estudiados, alguno de ellos (particularmente Cu^(II) y Hg^(II)) mostró efectos interferentes de pequeña importancia, que se resolvieron en gran parte enmascarándolos con tartrato. También se puso de manifiesto la capacidad reductora de estas nanopartículas: en los casos del Hg^(II) y Pb^(II) se observó durante los experimentos una coloración negruzca en el precipitado, síntoma, probablemente, de la reducción de estos cationes a sus formas metálicas.

Simultáneamente se evaluó el efecto interferente del As^(V). Se determinó que concentraciones crecientes de As^(V) implicaban señales crecientes de arsénico. Al comprobar que el As^(V) sí interfería en la retención de As^(III), se hizo un estudio más exhaustivo sobre la especie oxidada del arsénico. Para intentar conocer la naturaleza de este proceso, se procedió de la siguiente manera: se pusieron en contacto las nanopartículas con disoluciones que contenían 200 ng As^(III)/mL y concentraciones crecientes de As^(V), desde 50 a 700 ng/mL. Estas nanopartículas se centrifugaron y separaron del sobrenadante, lavándose durante 25 minutos con una disolución de agua desionizada a pH 8. Se volvieron a centrifugar y el agua de lavado se midió con

el HPLC acoplado al ICP-MS a pH 6 (necesario para el funcionamiento óptimo del equipo) para conocer la concentración de cada especie.

La Figura 119 muestra, a modo de comparación, alguno de los cromatogramas de las disoluciones patrón empleadas para calibrar el equipo (Fig. 119.A) y alguno de los proporcionados por el agua de lavado de las nanopartículas (Fig. 119.B).

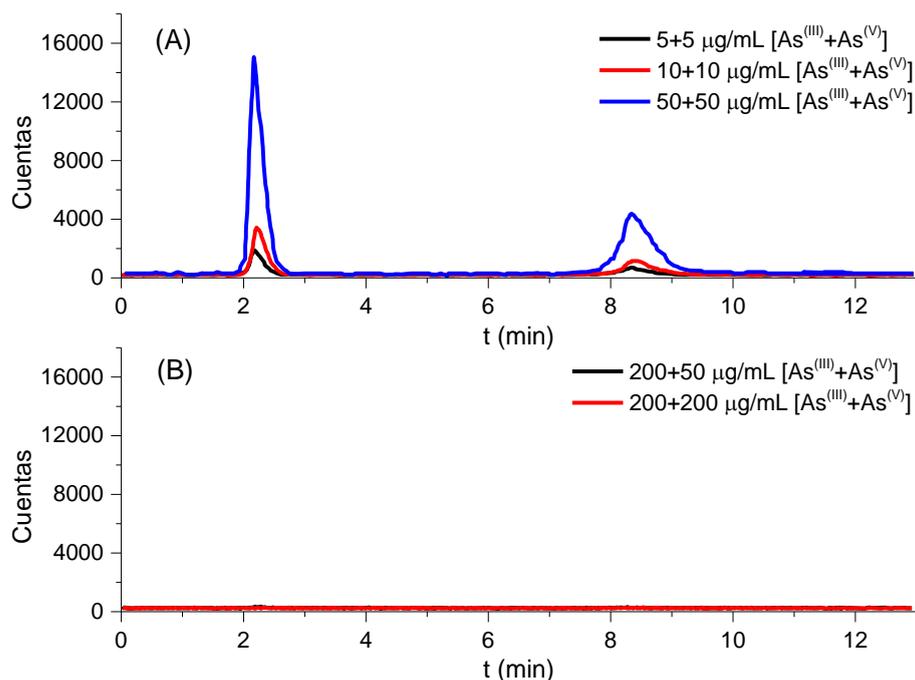


Figura 119. (A) Cromatogramas obtenidos para calibrar el equipo, y (B) cromatogramas obtenidos al introducir el agua de lavado de las nanopartículas

La Figura 119.A muestra dos picos: el primero, obtenido a tiempos cercanos a 2.1 minutos, indica la presencia de As^(III), y el segundo, a 8.4 minutos, se debe a la presencia de As^(V). Por el contrario, en la Figura 119.B no se aprecia ningún pico, siendo las concentraciones iniciales de arsénico puestas en contacto con las nanopartículas mucho mayores que las presentes en las disoluciones patrón para el calibrado.

Aunque este experimento no sirvió para arrojar luz sobre el mecanismo de retención del As^(V), permitió deducir que, a valores de pH cercanos al óptimo, el

arsénico retenido no se desorbe. De acuerdo con este resultado, y bajo las condiciones descritas, se demostró que la unión entre las nanopartículas y el arsénico es muy estable, por lo que las nanopartículas no sólo retienen arsénico, sino que también lo retiran de la disolución de manera irreversible.

Teniendo en cuenta que las disoluciones a pH 8 no desorbían arsénico, se procedió a medir el arsénico total retenido de las nanopartículas centrifugadas. Se representó la cantidad retenida de arsénico (ng As/mg NP) en función de la concentración inicial de As^(V) (ng As^(V)/mL), obteniéndose una línea recta:

$$q \left[\frac{\text{ng As}}{\text{mg NP}} \right] = (0.37 \pm 0.01)C_0 \left[\frac{\text{ng As}^{(V)}}{\text{mg NP}} \right] - (80.34 \pm 3.13) \quad r^2 = 0.99918$$

El valor de la ordenada en el origen corresponde al valor de As^(III) añadido. Por lo tanto, cuanto mayor sea la concentración de As^(V) mayor será la retención de arsénico. A pesar de ello, no está claro cómo se retiene el As^(V), ya que estos iones no reaccionan con los grupos sulfhidrilo y, bajo las condiciones empleadas, los grupos amino se encuentran protonados. Cabe pensar, entonces, que el mecanismo de retención de As^(V) podría implicar las siguientes etapas: a) reducción previa de As^(V) a As^(III), catalizada por parte de la cisteína, y b) retención de este As^(III) mediante la unión con los grupos sulfhidrilo de la *L*-cisteína. Esta hipótesis está fundamentada en la naturaleza reductora de las nanopartículas funcionalizadas, ya que la cisteína ha sido utilizada comúnmente como agente reductor (Švancara *et al.* 2002).

Por lo tanto, el empleo de las nanopartículas posibilita determinar la cantidad total de arsénico (As^(III) + As^(V)) sin tratamiento previo de la muestra.

3.4.4.5 Otros parámetros analíticos

La precisión de la determinación de 10 réplicas de 100 ng/mL fue una desviación estándar relativa (RSD) de 2.1 %. El límite de detección en las condiciones óptimas seleccionadas fue de 0.07 ng/mL (3 σ). La precisión entre lotes (n = 7) fue mejor que el 3.2 % para concentraciones de As^(III) de 100 ng/mL.

La seguridad del sistema de retención se probó empleando varios materiales certificados de referencia, que sirvieron como matrices complejas adecuadas para esta aplicación. Los valores de arsénico encontrados en los materiales certificados de referencia, NIST SRM 1633a (ceniza volante de carbón) y NIST SRM 1568a (harina de arroz) concordaban con los valores certificados con un nivel de confianza del test *t* de Student del 95 %, como se muestra en la Tabla 25.

Tabla 25. Determinación de arsénico en distintas muestras preparadas/certificadas (n= 3; media ± S.D.)

Muestra	Contenido (ng/mL)	Añadido (ng/mL)	Medido (ng/mL)	Recuperabilidad (%)
Agua desionizada	-	10	10.2 ± 0.4	102.0
		50	49.6 ± 0.7	99.2
		100	102.6 ± 0.8	102.6
		200	195.4 ± 0.8	97.7
Muestra	Contenido (ng/mg)	Añadido (ng/mg)	Medido (ng/mg)	Recuperabilidad (%)
NIST SRM 1633a	145 ± 15	0	150 ± 10	103.4
		50	197 ± 8	101.0
		100	247 ± 7	100.8
		200	346 ± 5	100.3
NIST SRM 1568a	0.29 ± 0.03	0	0.30 ± 0.04	103.5
		2	2.30 ± 0.05	100.4
		5	5.20 ± 0.08	98.3
		10	10.22 ± 0.08	99.3

La recuperabilidad de arsénico a partir de las muestras preparadas en el laboratorio y de los materiales certificados presentó valores comprendidos entre 97.7 % y 103.5 %. Estos resultados demuestran la utilidad de las nanopartículas funcionalizadas, basadas en ThO₂, para la retención de As^(III), y su determinación por ICP-MS sin efecto de la matriz.

4 CONCLUSIONES

1. Se sintetizaron nanopartículas cerámicas de ThO_2 y ZrO_2 , mediante precipitación de sus hidróxidos, empleando cuatro procedimientos diferentes: ausencia de estabilizante orgánico y tratamiento térmico a 348 K, presencia de estabilizante orgánico y tratamiento térmico a 348 K, presencia de estabilizante orgánico y tratamiento térmico a 873 K, y presencia de estabilizante orgánico y tratamiento térmico a 1373 K.

2. La inclusión del 1,2-etanodiol en el proceso de síntesis consiguió reducir el tamaño de las nanopartículas cerámicas, especialmente en el caso de las basadas en ThO_2 .

3. La cisteína se unió eficientemente a las nanopartículas a través de los grupos carboxilato. La funcionalización de las nanopartículas cerámicas con *L*-cisteína aumentó sus propiedades luminiscentes y su capacidad de retener arsénico, especialmente en el caso de las nanopartículas de ThO_2 .

4. El dopado de las nanopartículas con arsénico permitió aumentar las propiedades luminiscentes de las nanopartículas cerámicas. El arsénico se unió a las nanopartículas a través del grupo tiol de la cisteína, cuando ésta estaba presente.

5. Las nanopartículas más pequeñas fueron las basadas en ThO_2 , funcionalizadas y sintetizadas en presencia de 1,2-etanodiol 2.5 M y tratamiento térmico a 873 K. El tamaño medio de estas nanopartículas fue de 3 nm, aproximadamente. Su forma, observada mediante TEM, resultó ser mayoritariamente esférica.

6. Las nanopartículas basadas en óxido de circonio mostraron más fluorescencia que las basadas en óxido de torio. En ambos casos, las nanopartículas calcinadas a 873 K son las más fluorescentes.

7. Las nanopartículas cerámicas de ambos óxidos presentaron una estructura cristalina amorfa si el tratamiento térmico se realizó a 348 K. A temperaturas mayores, las nanopartículas de ThO_2 cristalizaron en fase cúbica

centrada en las caras (fcc). Las nanopartículas de ZrO_2 cristalizaron en fase tetragonal a temperaturas de 873 K y en fase monocónica a 1373 K.

8. La especie $As^{(III)}$ está presente en el nanomaterial, aunque no se ha podido verificar la aparición del ion $As^{(V)}$. En el caso de las nanopartículas funcionalizadas, se observó una señal electroquímica atribuida a la oxidación del complejo formado por el $As^{(III)}$ y la *L*-cisteína.

9. Las nanopartículas de óxido de torio retienen mayor cantidad de arsénico y de cisteína que las basadas en óxido de circonio.

10. Se propuso un sistema de retención de arsénico en aguas utilizando nanopartículas basadas en óxido de torio, funcionalizadas con cisteína. El modelo teórico que mejor se ajustó a la retención fue el modelo de Langmuir.

11. Las condiciones óptimas para la retención fueron: pH ligeramente básico, empleo de tartrato 0.025 M como complejante, masa de nanopartículas de 2.5 mg/mL, tiempo de retención de 25 minutos, temperatura de retención de 293 K, tiempo de desorción de 10 minutos y concentración de cisteína 0.25 M.

5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackermann, O.R.J., Garg, S.P. & Rauh, E.G. 1977, "High-Temperature Phase Diagram for the System Zr", *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 60, no. 7-8, pp. 341-345.
- Ahtee, M., Nurmela, M., Suortti, P. & Jarvinen, M. 1989, "Correction for preferred orientation in Rietveld refinement", *Journal of Applied Crystallography*, vol. 22, no. 3, pp. 261-268.
- Aldebert, P. & Traverse, J.- 1985, "Structure and ionic mobility of zirconia at high temperature", *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 68, no. 1, pp. 34-40.
- Aller, A.J., Lumbreras, J.M., Robles, L.C. & Fernández, G.M. 1996, "Stability of bacterium-mercury complexes and speciation of soluble inorganic mercury species", *Analytica Chimica Acta*, vol. 330, no. 1, pp. 89-105.
- Aller, A.J. & Robles, L.C. 1998, "Determination of selenocystamine by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry after a selective preconcentration by living *Pseudomonas putida*", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol. 13, no. 5, pp. 469-476.
- Aller, A.J. 1998, "Analytical improvements in the vibrational spectroscopy for the study of biological systems" in *Advances in Plant Physiology*, ed. A. Hemantaranjan, Scientific Publishers, Jodhpur, India, pp. 441-477.
- Álvarez, Y., Bolado, S., Cancillo, I. & Calvo, C. 2003, "Dinámica de adsorción-desorción de arsénico (V) en suelos de cultivo en Castilla y León" in *Actas de las VI Jornadas sobre Investigación de la zona no saturada del Suelo*, eds. J. Álvarez-Benedí & P. Marinero, pp. 331-338.
- Aragay, G. & Merkoçi, A. 2012, "Nanomaterials application in electrochemical detection of heavy metals", *Electrochimica Acta*, vol. 84, pp. 49-61.
- Arias, J.M., Paternina, E. & Barragán, D. 2009, "Physical adsorption on solids: thermodynamic aspects", *Química Nova*, vol. 32, no. 5, pp. 1350-1355.
- Arico, A., Baglio, V., Blasi, A.D. & Antonucci, V. 2003, "FTIR spectroscopic investigation of inorganic fillers for composite DMFC membranes", *Electrochemistry communications*, vol. 5, no. 10, pp. 862-866.

5. Referencias bibliográficas

- Aryal, S., Bahadur K. C. R., Bhattarai, S.R., Prabu, P. & Kim, H.Y. 2006, "Immobilization of collagen on gold nanoparticles: preparation, characterization, and hydroxyapatite growth", *J.Mater.Chem.*, vol. 16, no. 48, pp. 4642-4648.
- Avedesian, M.M. & Baker, H. 1999, "ASM specialty handbook: magnesium and magnesium alloys", *ASM international*, vol. 274.
- Aznar, E., Marcos, M.D., Martínez-Mañez, R., Sancenón, F., Soto, J., Amorós, P. & Guillem, C. 2009, "pH-and photo-switched release of guest molecules from mesoporous silica supports", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, no. 19, pp. 6833-6843.
- Baia, M., Astilean, S. & Iliescu, T. 2008, *Raman and SERS investigations of pharmaceuticals*, Springer.
- Balzar, D. 1999, "Voigt-function model in diffraction line-broadening analysis" in *Defect and microstructure analysis by diffraction*, eds. R.L. Snyder, H.J. Bunge & J. Fiala, pp. 94-126.
- Barberis, P., Merle-Méjean, T. & Quintard, P. 1997, "On Raman spectroscopy of zirconium oxide films", *Journal of Nuclear Materials*, vol. 246, no. 2, pp. 232-243.
- Barra, C.M. & Correia, M.M. 2001, "Speciation of Inorganic Arsenic in Natural Waters by Square-Wave Cathodic Stripping Voltammetry", *Electroanalysis*, vol. 13, no. 13, pp. 1098-1104.
- Behari, J.R. & Prakash, R. 2006, "Determination of total arsenic content in water by atomic absorption spectroscopy (AAS) using vapour generation assembly (VGA)", *Chemosphere*, vol. 63, no. 1, pp. 17-21.
- Bell, A.T. 2003, "The impact of nanoscience on heterogeneous catalysis", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 299, no. 5613, pp. 1688-1691.
- Bhattacharya, P., Frisbie, S., Smith, E., Naidu, R., Jacks, G. & Sarkar, B. 2002, "Arsenic in the environment: a global perspective" in *Heavy metals in the environment*, ed. M. Dekker, New York, pp. 147-215.

- Bois, L., Bonhommé, A., Ribes, A., Pais, B., Raffin, G. & Tessier, F. 2003, "Functionalized silica for heavy metal ions adsorption", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 221, no. 1, pp. 221-230.
- Bondars, B., Heidemane, G., Grabis, J., Laschke, K., Boysen, H., Schneider, J. & Frey, F. 1995, "Powder diffraction investigations of plasma sprayed zirconia", *Journal of Materials Science*, vol. 30, no. 6, pp. 1621-1625.
- Brage, M., Lamache, M. & Bauer, D. 1979, "Contribution a l'étude des sulfures de cuivre non stoechiométriques", *Electrochimica Acta*, vol. 24, no. 1, pp. 25-30.
- Cabrini, A., Celotti, G. & Zannetti, R. 1971, "X-ray diffraction investigations on the structure of some thoria gels", *Inorganica Chimica Acta*, vol. 5, no. 0, pp. 137-144.
- Campuzano, S., Kagan, D., Orozco, J. & Wang, J. 2011, "Motion-driven sensing and biosensing using electrochemically propelled nanomotors", *Analyst*, vol. 136, no. 22, pp. 4621-4630.
- Cao, G. 2004, *Nanostructures & Nanomaterials: Synthesis, properties and applications*, Imperial College Press, London.
- Carabante, I., Grahn, M., Holmgren, A., Kumpiene, J. & Hedlund, J. 2009, "Adsorption of As(V) on iron oxide nanoparticle films studied by in situ ATR-FTIR spectroscopy", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 346, no. 1, pp. 106-113.
- Casasús, R., Climent, E., Marcos, M.D., Martínez-Máñez, R., Sancenón, F., Soto, J., Amorós, P., Cano, J. & Ruiz, E. 2008, "Dual aperture control on pH-and anion-driven supramolecular nanoscopic hybrid gate-like ensembles", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, no. 6, pp. 1903-1917.
- Castro, M., Aller, A., McCabe, A., Smith, W. & Littlejohn, D. 2007, "Spectrometric study of condensed phase species of thorium-and palladium-based modifiers in a complex matrix for electrothermal atomic absorption spectrometry", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol. 22, no. 3, pp. 310-317.

- Castro, M., Aller, A., McCabe, A., Smith, W. & Littlejohn, D. 2005, "Spectrometric and morphological characterization of condensed phase zirconium species produced during electrothermal heating on a graphite platform", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol. 20, no. 5, pp. 385-394.
- Castro, M., Faulds, K., Smith, W., Aller, A. & Littlejohn, D. 2004, "Identification of condensed-phase species on the thermal transformation of alkaline and alkaline earth metal sulphates on a graphite platform", *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, vol. 59, no. 6, pp. 827-839.
- Castro, M., Garcia-Olalla, C., Robles, L. & Aller, A. 2002, "Behavior of thorium, zirconium, and vanadium as chemical modifiers in the determination of arsenic by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry", *Spectrochimica Acta part B: Atomic Spectroscopy*, vol. 57, no. 1, pp. 1-14.
- Cavicchioli, A., La-Scalea, M.A. & Gutz, I.G. 2004, "Analysis and speciation of traces of arsenic in environmental, food and industrial samples by voltammetry: a review", *Electroanalysis*, vol. 16, no. 9, pp. 697-711.
- Chandramouli, V., Anthonysamy, S. & Vasudeva Rao, P.R. 1999, "Combustion synthesis of thoria - a feasibility study", *Journal of Nuclear Materials*, vol. 265, no. 3, pp. 255-261.
- Chatterjee, A., Pradhan, S., Datta, A., De, M. & Chakravorty, D. 1994, "Stability of cubic phase in nanocrystalline ZrO₂", *Journal of Materials Research*, vol. 9, no. 02, pp. 263-265.
- Cheng, J.-., Volkmer, A., Book, L.D. & Xie, X.S. 2002, "Multiplex Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microspectroscopy and Study of Lipid Vesicles", *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 106, no. 34, pp. 8493-8498.
- Chraska, T., King, A.H. & Berndt, C.C. 2000, "On the size-dependent phase transformation in nanoparticulate zirconia", *Materials Science and Engineering: A*, vol. 286, no. 1, pp. 169-178.
- Chung, C. & Lee, M. 2004, "Self-assembled monolayers of mercaptoacetic acid on Ag powder: characterization by FT-IR diffuse reflection spectroscopy", *Bulletin-Korean Chemical Society*, vol. 25, no. 10, pp. 1461-1462.

- Cong, Y., Li, B., Yue, S., Fan, D. & Wang, X. 2009, "Effect of oxygen vacancy on phase transition and photoluminescence properties of nanocrystalline zirconia synthesized by the one-pot reaction", *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 113, no. 31, pp. 13974-13978.
- Cui, H., Li, Q., Gao, S. & Shang, J.K. 2012, "Strong adsorption of arsenic species by amorphous zirconium oxide nanoparticles", *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 18, no. 4, pp. 1418-1427.
- Cullity, B. 1978, in *Elements of X-ray Diffraction* Addison-Wesley, Reading, pp. 102.
- Cushing, B.L., Kolesnichenko, V.L. & O'Connor, C.J. 2004, "Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles", *Chemical reviews*, vol. 104, no. 9, pp. 3893-3946.
- Dai, X. & Compton, R.G. 2006, "Detection of As(III) via oxidation to As(V) using platinum nanoparticle modified glassy carbon electrodes: arsenic detection without interference from copper", *Analyst*, vol. 131, no. 4, pp. 516-521.
- Daniel, M. & Astruc, D. 2004, "Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology", *Chemical reviews*, vol. 104, no. 1, pp. 293-346.
- Das, B., Subramaniam, S. & Melloch, M. 1993, "Effects of electron-beam-induced damage on leakage currents in back-gated GaAs/AlGaAs devices", *Semiconductor science and technology*, vol. 8, no. 7, pp. 1347.
- Dash, S., Singh, A., Ajikumar, P.K., Subramanian, H., Rajalakshmi, M., Tyagi, A.K., Arora, A.K., Narasimhan, S.V. & Raj, B. 2002, "Synthesis and characterization of nanocrystalline thoria obtained from thermally decomposed thorium carbonate", *Journal of Nuclear Materials*, vol. 303, no. 2-3, pp. 156-168.
- Daturi, M., Binet, C., Bernal, S., Omil, J.A.P. & Lavalley, J.C. 1998, "FTIR study of defects produced in ZrO₂ samples by thermal treatment Residual species into cavities and surface defects", *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, vol. 94, no. 8, pp. 1143-1147.

- Davidson, G. 1998, *Spectroscopic Properties of Inorganic and Organometallic Compounds*, Royal Society of Chemistry.
- Dávila-Jiménez, M., Elizalde-González, M., Mattusch, J., Morgenstern, P., Pérez-Cruz, M., Reyes-Ortega, Y., Wennrich, R. & Yee-Madeira, H. 2008, "In situ and ex situ study of the enhanced modification with iron of clinoptilolite-rich zeolitic tuff for arsenic sorption from aqueous solutions", *Journal of colloid and interface science*, vol. 322, no. 2, pp. 527-536.
- Dokken, K.M., Parsons, J.G., McClure, J. & Gardea-Torresdey, J.L. 2009, "Synthesis and structural analysis of copper(II) cysteine complexes", *Inorganica Chimica Acta*, vol. 362, no. 2, pp. 395-401.
- Edwards, H., Hunt, D. & Sibley, M. 1998, "FT-Raman spectroscopic study of keratotic materials: horn, hoof and tortoiseshell", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 54, no. 5, pp. 745-757.
- Eguren, M., Tascón, M., Vázquez, M. & Sánchez Batanero, P. 1988, "Étude du comportement électrochimique de l'oxyde d'étain solide a l'aide de l'électrode à pâte de carbone", *Electrochimica Acta*, vol. 33, no. 7, pp. 1009-1011.
- Elgren, T.E. & Wilcox, D.E. 1989, "A unique low frequency raman band associated with metal binding to metallothionein", *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 163, no. 2, pp. 1093-1099.
- Ellis, A.V., Vijayamohanan, K., Goswami, R., Chakrapani, N., Ramanathan, L., Ajayan, P.M. & Ramanath, G. 2003, "Hydrophobic anchoring of monolayer-protected gold nanoclusters to carbon nanotubes", *Nano Letters*, vol. 3, no. 3, pp. 279-282.
- Elouadseri, M.M., Vittori, O. & Durand, B. 1986, "Reactivité électrochimique de quelques oxydes de vanadium en milieu HCl 1 M", *Electrochimica Acta*, vol. 31, no. 10, pp. 1335-1339.
- Escribano, R., Sloan, J., Siddique, N., Sze, N. & Dudev, T. 2001, "Raman spectroscopy of carbon-containing particles", *Vibrational Spectroscopy*, vol. 26, no. 2, pp. 179-186.

- Feo, J.C., Ordoñez, E., Letek, M., Castro, M.A., Muñoz, M.I., Gil, J.A., Mateos, L.M. & Aller, A.J. 2007, "Retention of inorganic arsenic by coryneform mutant strains", *Water Research*, vol. 41, no. 3, pp. 531-542.
- Feo, J.C. & Aller, A.J. 2001, "Speciation of mercury, methylmercury, ethylmercury and phenylmercury by Fourier transform infrared spectroscopy of whole bacterial cells", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol. 16, no. 2, pp. 146-151.
- Finnis, M., Paxton, A., Methfessel, M. & Van Schilfgaarde, M. 1998, "Crystal structures of zirconia from first principles and self-consistent tight binding", *Physical Review Letters*, vol. 81, no. 23, pp. 5149.
- Frost, R.L., Bahfenne, S. & Graham, J. 2009, "Raman spectroscopic study of the magnesium-carbonate minerals—artinite and dypingite", *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 40, no. 8, pp. 855-860.
- Frost, R.L., Weier, M.L., Williams, P.A., Leverett, P. & Kloprogge, J.T. 2007, "Raman spectroscopy of the sampleite group of minerals", *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 38, no. 5, pp. 574-583.
- Ganesan, R., Vivekanandhan, S., Gnanasekaran, T., Periaswami, G. & Srinivasa, R.S. 2004, "Novel approach for the bulk synthesis of nanocrystalline yttria doped thoria powders via polymeric precursor routes", *Journal of Nuclear Materials*, vol. 325, no. 2, pp. 134-140.
- García, J.J., Hernández, G. & Hernández, M.C. 2003, "Alteraciones electroneuromiográficas en pacientes con hidroarsenicismo crónico regional endémico en la Comarca Lagunera", *Revista Mexicana de Medicina Física y Rehabilitación*, vol. 15, pp. 75-78.
- Garvie, R.C. 1965, "The occurrence of metastable tetragonal zirconia as a crystallite size effect", *The Journal of physical chemistry*, vol. 69, no. 4, pp. 1238-1243.
- Gil-Rodríguez, M. 2003, "Eliminación de arsénico en aguas potables", *Tecnología del Agua*, no. 235, pp. 20-24.

5. Referencias bibliográficas

- Goldberg, S. & Johnston, C.T. 2001, "Mechanisms of Arsenic Adsorption on Amorphous Oxides Evaluated Using Macroscopic Measurements, Vibrational Spectroscopy, and Surface Complexation Modeling", *Journal of colloid and interface science*, vol. 234, no. 1, pp. 204-216.
- Gonçalves, N., Carvalho, J., Lima, Z. & Sasaki, J. 2012, "Size-strain study of NiO nanoparticles by X-ray powder diffraction line broadening", *Materials Letters*, vol. 72, pp. 36-38.
- Grosso, D. & Sermon, P.A. 2000, "Scandium oxide nanoparticles produced from sol-gel chemistry", *Journal of Materials Chemistry*, vol. 10, no. 2, pp. 359-363.
- Guan, X., Wang, J. & Chusuei, C.C. 2008, "Removal of arsenic from water using granular ferric hydroxide: macroscopic and microscopic studies", *Journal of hazardous materials*, vol. 156, no. 1, pp. 178-185.
- Guo, G. & Chen, Y. 2005, "A nearly pure monoclinic nanocrystalline zirconia", *Journal of solid state chemistry*, vol. 178, no. 5, pp. 1675-1682.
- Guzmán, K.A.D., Taylor, M.R. & Banfield, J.F. 2006, "Environmental risks of nanotechnology: National nanotechnology initiative funding, 2000-2004", *Environmental Science & Technology*, vol. 40, no. 5, pp. 1401-1407.
- Harding, M.M. & Long, H.A. 1968, "The crystal and molecular structure of L-cysteine", *Acta Crystallographica Section B*, vol. 24, no. 8, pp. 1096-1102.
- Ho Lee, S., Hun Jung, C., Chung, H., Yeal Lee, M. & Yang, J. 1998, "Removal of heavy metals from aqueous solution by apple residues", *Process Biochemistry*, vol. 33, no. 2, pp. 205-211.
- Hossain, M., Islam, M., Ferdousi, S., Okajima, T. & Ohsaka, T. 2008, "Anodic Stripping Voltammetric detection of arsenic(III) at gold nanoparticle-modified glassy carbon electrodes prepared by electrodeposition in the presence of various additives", *Electroanalysis*, vol. 20, no. 22, pp. 2435-2441.
- Howard, C.J., Kisi, E.H., Roberts, R.B. & Hill, R.J. 1990, "Neutron Diffraction Studies of Phase Transformations between Tetragonal and Orthorhombic Zirconia in Magnesia-

- Partially-Stabilized Zirconia", *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 73, no. 10, pp. 2828-2833.
- Hrapovic, S., Liu, Y. & Luong, J.H. 2007, "Reusable platinum nanoparticle modified boron doped diamond microelectrodes for oxidative determination of arsenite", *Analytical Chemistry*, vol. 79, no. 2, pp. 500-507.
- Hristovski, K., Baumgardner, A. & Westerhoff, P. 2007, "Selecting metal oxide nanomaterials for arsenic removal in fixed bed columns: from nanopowders to aggregated nanoparticle media", *Journal of hazardous materials*, vol. 147, no. 1, pp. 265-274.
- Hsia, T., Lo, S., Lin, C. & Lee, D. 1994, "Characterization of arsenate adsorption on hydrous iron oxide using chemical and physical methods", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 85, no. 1, pp. 1-7.
- Huang, C., Mason, J., Stephenson, F. & Levin, I. 1986, "Polymorphic phase behavior of platelet-activating factor", *Biophysical journal*, vol. 49, no. 3, pp. 587-595.
- Huangqing, L., Lingling, W., Shuguang, C., Bingsuo, Z. & Zhiwei, P. 2007, "Effect of annealing temperature on luminescence of Eu⁺³ ions doped nanocrystal zirconia", *Applied Surface Science*, vol. 253, no. 8, pp. 3872-3876.
- Hung, D.Q., Nekrassova, O. & Compton, R.G. 2004, "Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review", *Talanta*, vol. 64, no. 2, pp. 269-277.
- IAEA 2005, "Thorium fuel cycle—potential benefits and challenges", *Vienna*, , pp. 1-7.
- Igwe, J.C. & Abia, A. 2006, "Sorption kinetics and intraparticulate diffusivity of As (III) bioremediation from aqueous solution, using modified and unmodified coconut fiber", *Eclética Química*, vol. 31, no. 3, pp. 23-29.
- Iorio, M., Pan, B., Capasso, R. & Xing, B. 2008, "Sorption of phenanthrene by dissolved organic matter and its complex with aluminum oxide nanoparticles", *Environmental pollution*, vol. 156, no. 3, pp. 1021-1029.

5. Referencias bibliográficas

- Ivandini, T.A., Sato, R., Makide, Y., Fujishima, A. & Einaga, Y. 2006, "Electrochemical detection of arsenic(III) using iridium-implanted boron-doped diamond electrodes", *Analytical Chemistry*, vol. 78, no. 18, pp. 6291-6298.
- Jegadeesan, G., Al-Abed, S.R., Sundaram, V., Choi, H., Scheckel, K.G. & Dionysiou, D.D. 2010, "Arsenic sorption on TiO₂ nanoparticles: Size and crystallinity effects", *Water Research*, vol. 44, no. 3, pp. 965-973.
- Ji, J., Schanzle, J.A. & Tabacco, M.B. 2004, "Real-time detection of bacterial contamination in dynamic aqueous environments using optical sensors", *Analytical Chemistry*, vol. 76, no. 5, pp. 1411-1418.
- Jitmanee, K., Oshima, M. & Motomizu, S. 2005, "Speciation of arsenic(III) and arsenic(V) by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry coupled with preconcentration system", *Talanta*, vol. 66, no. 3, pp. 529-533.
- Johnson, C.A. 1965, "Generalization of the Gibbs-Thomson equation", *Surface Science*, vol. 3, no. 5, pp. 429-444.
- Kesavan, V., Dhar, D., Koltypin, Y., Perkas, N., Palchik, O., Gedanken, A. & Chandrasekaran, S. 2001, "Nanostructured amorphous metals, alloys, and metal oxides as new catalysts for oxidation", *Pure and Applied Chemistry*, vol. 73, no. 1, pp. 85-91.
- Khawas, B. 1971, "X-ray study of l-arginine HCl, l-cysteine, dl-lysine and dl-phenylalanine", *Acta Crystallographica Section B*, vol. 27, no. 8, pp. 1517-1520.
- Klabunde, K., Stark, J., Koper, O., Mohs, C., Park, D., Decker, S., Jiang, Y., Lagadic, I. & Zhang, D. 1996, "Study of nanoscale powder preparation", *J.Phys.Chem*, vol. 100, pp. 12142-12153.
- Kondrat, O., Popovich, N., Holomb, R., Mitsa, V., Petrachenkov, O., Koós, M. & Veres, M. 2010, "Ab initio calculations and the effect of atomic substitution in the Raman spectra of As(Sb,Bi)₂S₃ films", *Physica Status Solidi (C) Current Topics in Solid State Physics*, vol. 7, no. 3-4, pp. 893-896.
- Kumaresan, M. & Riyazuddin, P. 2001, "Overview of speciation chemistry of arsenic", *Curr Sci*, vol. 80, no. 7, pp. 837-846.

- Kumari, L., Du, G., Li, W., Vennila, R.S., Saxena, S. & Wang, D. 2009, "Synthesis, microstructure and optical characterization of zirconium oxide nanostructures", *Ceramics International*, vol. 35, no. 6, pp. 2401-2408.
- Ladeira, A.C. & Ciminelli, V.S. 2004, "Adsorption and desorption of arsenic on an oxisol and its constituents", *Water research*, vol. 38, no. 8, pp. 2087-2094.
- Lamache, M. 1979, "Électrode à pâte de carbone a liant électrolytique et composés electroactifs peu solubles incorporés: aspects quantitatifs", *Electrochimica Acta*, vol. 24, no. 1, pp. 79-84.
- Lamache, M. & Andriamanana, A. 1986, "Étude du comportement électrochimique de chalcogenures de molybdene: $M_xMo_6S_8$ ", *Electrochimica Acta*, vol. 31, no. 1, pp. 79-82.
- LaMer, V.K. & Dinegar, R.H. 1950, "Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 72, no. 11, pp. 4847-4854.
- Langmuir, I. 1918, "The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum.", *Journal of the American Chemical Society*, vol. 40, no. 9, pp. 1361-1403.
- Laviron, E. 1978, "Theory of I-t curves at constant potential in the case of a solid whose reduction or oxidation is preceded by its dissolution", *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, vol. 90, no. 1, pp. 33-47.
- Li, C. & Li, M. 2002, "UV Raman spectroscopic study on the phase transformation of ZrO_2 , Y_2O_3 - ZrO_2 and SO_4^{2-}/ZrO_2 ", *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 33, no. 5, pp. 301-308.
- Li, D., Li, J., Jia, X., Han, Y. & Wang, E. 2012, "Electrochemical determination of arsenic (III) on mercaptoethylamine modified Au electrode in neutral media", *Analytica Chimica Acta*, vol. 733, pp. 23-27.
- Li, L., Li, B., Cheng, D. & Mao, L. 2010, "Visual detection of melamine in raw milk using gold nanoparticles as colorimetric probe", *Food Chemistry*, vol. 122, no. 3, pp. 895-900.

5. Referencias bibliográficas

- Li, X., Jia, J. & Wang, Z. 2006, "Speciation of inorganic arsenic by electrochemical hydride generation atomic absorption spectrometry", *Analytica Chimica Acta*, vol. 560, no. 1, pp. 153-158.
- Liang, Z., Zhang, J., Wang, L., Song, S., Fan, C. & Li, G. 2007, "A centrifugation-based method for preparation of gold nanoparticles and its application in biodetection", *International journal of molecular sciences*, vol. 8, no. 6, pp. 526-532.
- Liu, F., Gu, H., Yuan, X., Lin, Y. & Dong, X. 2011, "Chloride ion-dependent surface-enhanced Raman scattering study of biotin on the silver surface", *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 277, no. 1, pp. 012025.
- Ma, Y., Zheng, Y. & Chen, J.P. 2011, "A zirconium based nanoparticle for significantly enhanced adsorption of arsenate: synthesis, characterization and performance", *Journal of colloid and interface science*, vol. 354, no. 2, pp. 785-792.
- Maestro, P., Couvreur, P., Roux, D., Givord, D., Dalmon, J.-., Bertolini, J.-. & Cadete Santos Aires, F.J. 2007, "Biology and the Environment" in *Nanoscience II - Nanomaterials and Nanochemistry*, eds. C. Bréchnignac, P. Houdy & M. Lahmani, Springer, Berlin, pp. 695-715.
- Majid, E., Hrapovic, S., Liu, Y., Male, K.B. & Luong, J.H. 2006, "Electrochemical determination of arsenite using a gold nanoparticle modified glassy carbon electrode and flow analysis", *Analytical Chemistry*, vol. 78, no. 3, pp. 762-769.
- Malam, Y., Loizidou, M. & Seifalian, A.M. 2009, "Liposomes and nanoparticles: nanosized vehicles for drug delivery in cancer", *Trends in pharmacological sciences*, vol. 30, no. 11, pp. 592-599.
- Malvindi, M.A., Brunetti, V., Vecchio, G., Galeone, A., Cingolani, R. & Pompa, P.P. 2012, "SiO₂ nanoparticles biocompatibility and their potential for gene delivery and silencing", *Nanoscale*, vol. 4, no. 2, pp. 486-495.
- Manahan, S.E. 2007, *Introducción a la química ambiental*, Reverté.
- Mandal, B.K. & Suzuki, K.T. 2002, "Arsenic round the world: a review", *Talanta*, vol. 58, no. 1, pp. 201-235.

- Manning, B.A. & Goldberg, S. 1997, "Adsorption and stability of arsenic (III) at the clay mineral-water interface", *Environmental science & technology*, vol. 31, no. 7, pp. 2005-2011.
- Maquelin, K., Choo-Smith, L., van Vreeswijk, T., Endtz, H.P., Smith, B., Bennett, R., Bruining, H.A. & Puppels, G.J. 2000, "Raman spectroscopic method for identification of clinically relevant microorganisms growing on solid culture medium", *Analytical Chemistry*, vol. 72, no. 1, pp. 12-19.
- Marín Galvín, R. 2001, "Presencia del arsénico en aguas, toxicología y tratamiento de aguas ricas en arsénico.", *Equipamiento y Servicio Municipales*, no. 96, pp. 13-19.
- Markmann, J., Yamakov, V. & Weissmüller, J. 2008, "Validating grain size analysis from X-ray line broadening: A virtual experiment", *Scripta Materialia*, vol. 59, no. 1, pp. 15-18.
- Martens, W.N., Rintoul, L., Kloprogge, J.T. & Frost, R.L. 2004, "Single crystal raman spectroscopy of cerussite", *American Mineralogist*, vol. 89, no. 2-3, pp. 352-358.
- Martínez, M.B., Núñez Acebes, A.B., Laín, N., Gimeno, R., Quintanar, M.T. & Pangua, C. 2007, "Intoxicación aguda por arsénico con inusual evolución favorable", *Emergencias: Revista de la Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias*, vol. 19, no. 4, pp. 225-228.
- Martinson, C.A. & Reddy, K. 2009, "Adsorption of arsenic (III) and arsenic (V) by cupric oxide nanoparticles", *Journal of colloid and interface science*, vol. 336, no. 2, pp. 406-411.
- Mays, D.E. & Hussam, A. 2009, "Voltammetric methods for determination and speciation of inorganic arsenic in the environment—a review", *Analytica Chimica Acta*, vol. 646, no. 1, pp. 6-16.
- McAuley, B. & Cabaniss, S. 2007, "Quantitative detection of aqueous arsenic and other oxoanions using attenuated total reflectance infrared spectroscopy utilizing iron oxide coated internal reflection elements to enhance the limits of detection", *Analytica Chimica Acta*, vol. 581, no. 2, pp. 309-317.

- McKay, G. 1995, *Use of Adsorbents for the Removal of Pollutants from Wastewater*, CRC press.
- Mercera, P., Van Ommen, J., Doesburg, E., Burggraaf, A. & Ross, J. 1991, "Zirconia as a support for catalysts Influence of additives on the thermal stability of the porous texture of monoclinic zirconia", *Applied catalysis*, vol. 71, no. 2, pp. 363-391.
- Mohan, D. & Pittman Jr, C.U. 2007, "Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents—a critical review", *Journal of hazardous materials*, vol. 142, no. 1, pp. 1-53.
- Möller, T. & Sylvester, P. 2008, "Effect of silica and pH on arsenic uptake by resin/iron oxide hybrid media", *Water research*, vol. 42, no. 6, pp. 1760-1766.
- Morita, K. & Kaneko, E. 2006, "Spectrophotometric determination of arsenic in water samples based on micro particle formation of ethyl violet-molybdoarsenate", *Analytical sciences*, vol. 22, no. 8, pp. 1085-1090.
- Moroni, M., Borrini, D., Calamai, L. & Dei, L. 2005, "Ceramic nanomaterials from aqueous and 1, 2-ethanediol supersaturated solutions at high temperature", *Journal of colloid and interface science*, vol. 286, no. 2, pp. 543-550.
- Mouhandess, M., Chassagneux, F., Vittori, O., Accary, A. & Reeves, R. 1984, "Some theoretical aspects of electrodisolution of iron oxide (α -Fe₂O₃ in carbon paste electrodes with acidic binder", *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry*, vol. 181, no. 1, pp. 93-105.
- Muñoz, E. & Palmero, S. 2005, "Analysis and speciation of arsenic by stripping potentiometry: a review", *Talanta*, vol. 65, no. 3, pp. 613-620.
- Munz, D. & Fett, T. 1999, *Ceramics: mechanical properties, failure behaviour, materials selection*, Springer.
- Nagaraj, P., Bhole, A. & Natarajan, G. 2003, "Arsenic (III) removal by adsorption on sawdust carbon", *International Journal of Environment and Pollution*, vol. 19, no. 2, pp. 177-187.

- Nandy, S., Mukherjee, D., Roy, S. & Kastha, G. 1973, "Vibrational spectra and rotational isomerism in 2-mercaptoethanol", *Canadian Journal of Chemistry*, vol. 51, no. 7, pp. 1139-1141.
- Němec, P., Jedelský, J., Frumar, M. & Vlček, M. 2005, "Structure of pulsed-laser deposited As₅₀S₅₀ amorphous thin films", *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, vol. 7, no. 5, pp. 2635-2640.
- Ngaosuwan, K., Jongsomjit, B. & Prasertdam, P. 2010, "The Role of Zirconia Surface on Catalytic Activity of Tungstated Zirconia via Two-Phase Esterification of Acetic Acid and 1-Heptanol", *Catalysis Letters*, vol. 136, no. 1-2, pp. 134-140.
- Nyquist, R.O. & Kagel, R.O. 1997, *The handbook of infrared and Raman spectra of inorganic compounds and organic salts, Spectra 58-63*, Academic Press, San Diego.
- Ohlhorst, S., Behrens, H. & Holtz, F. 2001, "Compositional dependence of molar absorptivities of near-infrared OH-and H₂O bands in rhyolitic to basaltic glasses", *Chemical Geology*, vol. 174, no. 1, pp. 5-20.
- Ordóñez, E., Villadangos, A.F., Fiuza, M., Pereira, F.J., Gil, J.A., Mateos, L.M. & Aller, A.J. 2012, "Modelling of arsenate retention from aqueous solutions by living coryneform double-mutant bacteria", *Environmental Chemistry*, vol. 9, no. 2, pp. 121-129.
- Pan, B., Wu, J., Pan, B., Lv, L., Zhang, W., Xiao, L., Wang, X., Tao, X. & Zheng, S. 2009, "Development of polymer-based nanosized hydrated ferric oxides (HFOs) for enhanced phosphate removal from waste effluents", *Water research*, vol. 43, no. 17, pp. 4421-4429.
- Pawlukojć, A., Leciejewicz, J., Ramirez-Cuesta, A.J. & Nowicka-Scheibe, J. 2005, "l-Cysteine: Neutron spectroscopy, Raman, IR and ab initio study", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 61, no. 11-12, pp. 2474-2481.
- Pena, M.E., Korfiatis, G.P., Patel, M., Lippincott, L. & Meng, X. 2005, "Adsorption of As (V) and As (III) by nanocrystalline titanium dioxide", *Water research*, vol. 39, no. 11, pp. 2327-2337.

5. Referencias bibliográficas

- Petrosyan, A. & Sukiasyan, R. 2008, "Vibrational spectra of l-arginine nitrates", *Journal of Molecular Structure*, vol. 874, no. 1, pp. 51-56.
- Podstawka, E., Ozaki, Y. & Proniewicz, L.M. 2004, *Part I: Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Investigation of Amino Acids and Their Homodipeptides Adsorbed on Colloidal Silver*.
- Pourbaix, M. 1963, *Atlas d'Equilibres Electrochimiques*, Gauthier-Villars, París.
- Qian, X., Peng, X., Ansari, D.O., Yin-Goen, Q., Chen, G.Z., Shin, D.M., Yang, L., Young, A.N., Wang, M.D. & Nie, S. 2007, "In vivo tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags", *Nature biotechnology*, vol. 26, no. 1, pp. 83-90.
- Quagliano, L.G. 2000, "Detection of As₂O₃ arsenic oxide on GaAs surface by Raman scattering", *Applied Surface Science*, vol. 153, no. 4, pp. 240-244.
- Rahman, Q., Lohani, M., Dopp, E., Pemsel, H., Jonas, L., Weiss, D.G. & Schiffmann, D. 2002, "Evidence that ultrafine titanium dioxide induces micronuclei and apoptosis in Syrian hamster embryo fibroblasts", *Environmental health perspectives*, vol. 110, no. 8, pp. 797-800.
- Rajkumar, B., Ramakrishnan, V. & Rajaram, R. 1998, "Infrared and Raman spectra of DL-aspartic acid nitrate monohydrate", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 54, no. 10, pp. 1527-1532.
- Ramaswami, A., Tawachsupa, S. & Isleyen, M. 2001, "Batch-Mixed Iron Treatment of High Arsenic Waters", *Water research*, vol. 35, no. 18, pp. 4474-4479.
- Ray, J.C., Pati, R.K. & Pramanik, P. 2000, "Chemical synthesis and structural characterization of nanocrystalline powders of pure zirconia and yttria stabilized zirconia (YSZ)", *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 20, no. 9, pp. 1289-1295.
- Reddy, K., McDonald, K. & King, H. 2013, "A novel arsenic removal process for water using cupric oxide nanoparticles", *Journal of colloid and interface science*, vol. 397, pp. 96-102.

- Rey, N.A., Howarth, O.W. & Pereira-Maia, E.C. 2004, "Equilibrium characterization of the As(III)-cysteine and the As(III)-glutathione systems in aqueous solution", *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 98, no. 6, pp. 1151-1159.
- Riccio, M., Montanari, T., Castellano, M., Turturro, A., Negroni, F.M. & Busca, G. 2007, "An IR study of the chemistry of triethoxysilane at the surface of metal oxides", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 294, no. 1, pp. 181-190.
- Sahún, B., Lillo, F.J., Gómez, J.J. & Del Olmo, P. 2004, "Arsénico en aguas subterráneas e interacción agua-roca: un ejemplo en la cuenca terciaria del Duero (Castilla y León, España)", *Revista de la Sociedad Geológica de España*, vol. 17, no. 1, pp. 137-155.
- Salas, G., Costo, R. & Morales, M. 2012, "Synthesis of inorganic nanoparticles" in *Frontiers of Nanoscience*, ed. R.E. Palmer, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 35-79.
- Salavati-Niasari, M., Dadkhah, M. & Davar, F. 2009, "Pure cubic ZrO₂ nanoparticles by thermolysis of a new precursor", *Polyhedron*, vol. 28, no. 14, pp. 3005-3009.
- Salimi, A., Mamkhezri, H., Hallaj, R. & Soltanian, S. 2008, "Electrochemical detection of trace amount of arsenic(III) at glassy carbon electrode modified with cobalt oxide nanoparticles", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 129, no. 1, pp. 246-254.
- Scardi, P., Leoni, M. & Delhez, R. 2004, "Line broadening analysis using integral breadth methods: a critical review", *Journal of Applied Crystallography*, vol. 37, no. 3, pp. 381-390.
- Seo, W.S., Jo, H.H., Lee, K. & Park, J.T. 2003, "Preparation and Optical Properties of Highly Crystalline, Colloidal, and Size-Controlled Indium Oxide Nanoparticles", *Advanced Materials*, vol. 15, no. 10, pp. 795-797.
- Shein, I.R. & Ivanovskii, A.L. 2008, "Thorium compounds with non-metals: Electronic structure, chemical bond, and physicochemical properties", *Journal of Structural Chemistry*, vol. 49, no. 2, pp. 348-370.

5. Referencias bibliográficas

- Shih, C. & Lin, C. 2003, "Arsenic contaminated site at an abandoned copper smelter plant: waste characterization and solidification/stabilization treatment", *Chemosphere*, vol. 53, no. 7, pp. 691-703.
- ShIPLEY, H.J., Engates, K.E. & Guettner, A.M. 2011, "Study of iron oxide nanoparticles in soil for remediation of arsenic", *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 13, no. 6, pp. 2387-2397.
- Shogren, R.L., Thompson, A.R., Greene, R.V., Gordon, S.H. & Cote, G. 1991, "Complexes of starch polysaccharides and poly(ethylene co-acrylic acid): Structural characterization in the solid state", *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 42, no. 8, pp. 2279-2286.
- Shukla, S., Seal, S., Vij, R., Bandyopadhyay, S. & Rahman, Z. 2002, "Effect of nanocrystallite morphology on the metastable tetragonal phase stabilization in zirconia", *Nano letters*, vol. 2, no. 9, pp. 989-993.
- Simm, A.O., Banks, C.E., Wilkins, S.J., Karousos, N.G., Davis, J. & Compton, R.G. 2005, "A comparison of different types of gold-carbon composite electrode for detection of arsenic (III)", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 381, no. 4, pp. 979-985.
- Smedley, P. & Kinniburgh, D. 2002, "A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters", *Applied Geochemistry*, vol. 17, no. 5, pp. 517-568.
- Smith, A.H., Lingas, E.O. & Rahman, M. 2000, "Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency", *Bulletin of the World Health Organization*, vol. 78, no. 9, pp. 1093-1103.
- Song, Y., Muthuraman, G., Chen, Y., Lin, C. & Zen, J. 2006, "Screen Printed Carbon Electrode Modified with Poly (L-Lactide) Stabilized Gold Nanoparticles for Sensitive As (III) Detection", *Electroanalysis*, vol. 18, no. 18, pp. 1763-1770.
- Stoica, A.-., Viñas, C. & Teixidor, F. 2009, "Cobaltabisdicarbollide anion receptor for enantiomer-selective membrane electrodes", *Chemical Communications*, , no. 33, pp. 4988-4990.
- Story, W.C., Caruso, J.A., Heitkemper, D.T. & Perkins, L. 1992, "Elimination of the chloride interference on the determination of arsenic using hydride generation inductively

- coupled plasma mass spectrometry", *Journal of chromatographic science*, vol. 30, no. 11, pp. 427-432.
- Su, Q., Pan, B., Pan, B., Zhang, Q., Zhang, W., Lv, L., Wang, X., Wu, J. & Zhang, Q. 2009, "Fabrication of polymer-supported nanosized hydrous manganese dioxide (HMO) for enhanced lead removal from waters", *Science of the total environment*, vol. 407, no. 21, pp. 5471-5477.
- Sun, H., Zhang, X., Zhang, Z., Chen, Y. & Crittenden, J.C. 2009, "Influence of titanium dioxide nanoparticles on speciation and bioavailability of arsenite", *Environmental Pollution*, vol. 157, no. 4, pp. 1165-1170.
- Sun, Y., Chen, Y. & Tsai, Y. 2007, "Determination of urinary arsenic species using an on-line nano-TiO₂ photooxidation device coupled with microbore LC and hydride generation-ICP-MS system", *Microchemical Journal*, vol. 86, no. 1, pp. 140-145.
- Sun, Y., Mierzwa, J. & Yang, M. 1997, "New method of gold-film electrode preparation for anodic stripping voltammetric determination of arsenic (III and V) in seawater", *Talanta*, vol. 44, no. 8, pp. 1379-1387.
- Švancara, I., Vytřas, K., Bobrowski, A. & Kalcher, K. 2002, "Determination of arsenic at a gold-plated carbon paste electrode using constant current stripping analysis", *Talanta*, vol. 58, no. 1, pp. 45-55.
- Swanson, H.E., McMurdie, H.F., Morris, M.C., Evans, E.H. & Paretzkin, B. 1974, "Standard X-ray diffraction powder patterns", *National Bureau of Standards Monograph*, vol. 25, no. Section 11, 86.
- Tahir, M.N., Gorgishvili, L., Li, J., Gorelik, T., Kolb, U., Nasdala, L. & Tremel, W. 2007, "Facile synthesis and characterization of monocrystalline cubic ZrO₂ nanoparticles", *Solid State Sciences*, vol. 9, no. 12, pp. 1105-1109.
- Teixeira, M.C., Ciminelli, V.S.T., Silva Dantas, M.S., Diniz, S.F. & Duarte, H.A. 2007, "Raman spectroscopy and DFT calculations of As(III) complexation with a cysteine-rich biomaterial", *Journal of colloid and interface science*, vol. 315, no. 1, pp. 128-134.

5. Referencias bibliográficas

- Teixeira, M.C. & Ciminelli, V.S.T. 2005, "Development of a Biosorbent for Arsenite: Structural Modeling Based on X-ray Spectroscopy", *Environmental science & technology*, vol. 39, no. 3, pp. 895-900.
- Teleb, S., Nassr, D.E. & Nour, E. 2004, "Synthesis and infrared spectra of alkaline earth metal carbonates formed by the reaction of metal salts with urea at high temperature", *Bulletin of Materials Science*, vol. 27, no. 6, pp. 483-485.
- Tsuchihashi, S. & Kawamoto, Y. 1971, "Properties and structure of glasses in the system As-S", *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 5, no. 4, pp. 286-305.
- Tsunekawa, S., Ito, S., Kawazoe, Y. & Wang, J. 2003, "Critical size of the phase transition from cubic to tetragonal in pure zirconia nanoparticles", *Nano Letters*, vol. 3, no. 7, pp. 871-875.
- US Department of Health and Human Services 2000, *Toxicological profile for arsenic*, US Department of Health and Human Services, Washington D.C.
- Verweij, H. 1979, "Raman Study on Glasses and Crystalline Compounds in the System $K_3AsO_4/KAsO_3$ ", *Applied Spectroscopy*, vol. 33, no. 5, pp. 509-515.
- Vieira, M.A., Welz, B. & Curtius, A.J. 2002, "Determination of arsenic in sediments, coal and fly ash slurries after ultrasonic treatment by hydride generation atomic absorption spectrometry and trapping in an iridium-treated graphite tube", *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, vol. 57, no. 12, pp. 2057-2067.
- Vieu, C., Carcenac, F., Pepin, A., Chen, Y., Mejias, M., Lebib, A., Manin-Ferlazzo, L., Couraud, L. & Launois, H. 2000, "Electron beam lithography: resolution limits and applications", *Applied Surface Science*, vol. 164, no. 1, pp. 111-117.
- Villadangos, A., Ordóñez, E., Muñoz, M., Pastrana, I., Fiuza, M., Gil, J., Mateos, L. & Aller, A. 2010, "Retention of arsenate using genetically modified coryneform bacteria and determination of arsenic in solid samples by ICP-MS", *Talanta*, vol. 80, no. 3, pp. 1421-1427.

- Vitorge, P. & Lamache, M. 1979, "Obtention de sulfures de cuivre non stoechiométriques, par voie électrolytique, analyse des solides par diffraction de rayons X", *Electrochimica Acta*, vol. 24, no. 8, pp. 811-815.
- Vives, S., Gaffet, E. & Meunier, C. 2004, "X-ray diffraction line profile analysis of iron ball milled powders", *Materials Science and Engineering: A*, vol. 366, no. 2, pp. 229-238.
- Wang, J., Wang, T., Burken, J.G., Chusuei, C.C., Ban, H., Ladwig, K. & Huang, C. 2008, "Adsorption of arsenic (V) onto fly ash: A speciation-based approach", *Chemosphere*, vol. 72, no. 3, pp. 381-388.
- Wang, J. 2013, *Nanomachines: fundamentals and applications*, John Wiley & Sons.
- Wei, M., Guo, J., Shi, Z., Yuan, Q., Pu, M., Rao, G. & Duan, X. 2007, "Preparation and characterization of l-cystine and l-cysteine intercalated layered double hydroxides", vol. 42, no. 8, pp. 2684-2689.
- Weibel, A., Bouchet, R., Boule, F. & Knauth, P. 2005, "The big problem of small particles: a comparison of methods for determination of particle size in nanocrystalline anatase powders", *Chemistry of materials*, vol. 17, no. 9, pp. 2378-2385.
- Welch, C.M. & Compton, R.G. 2006, "The use of nanoparticles in electroanalysis: a review", *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 384, no. 3, pp. 601-619.
- Whitfield, H.J., Roman, D. & Palmer, A.R. 1966, "X-ray study of the system $\text{ThO}_2\text{-CeO}_2\text{-Ce}_2\text{O}_3$ ", *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, vol. 28, pp. 2817-2825.
- Wickleder, M.S., Forest, B. & Dorhout, P.K. 2006, "Thorium" in *The chemistry of the actinide and transactinide elements*, eds. L.R. Morss, N.M. Edelstein & J. Fuger, Springer Science + Business Media, , pp. 53.
- Williamson, G.K. & Hall, W.H. 1953, "X-ray line broadening from fcc aluminium and wolfram", *Acta Metallurgica*, vol. 1, no. 1, pp. 22-31.

5. Referencias bibliográficas

- Xiao, L., Wildgoose, G.G. & Compton, R.G. 2008, "Sensitive electrochemical detection of arsenic (III) using gold nanoparticle modified carbon nanotubes via anodic stripping voltammetry", *Analytica Chimica Acta*, vol. 620, no. 1, pp. 44-49.
- Yamauchi, H. & Fowler, B.A. 1991, "Part 2. Human health and ecosystem effects" in *Arsenic in the Environment*, ed. J.O. Nriager, Wiley, New York, pp. 35.
- Yin, B., Ma, H., Wang, S. & Chen, S. 2003, "Electrochemical synthesis of silver nanoparticles under protection of poly (N-vinylpyrrolidone)", *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 107, no. 34, pp. 8898-8904.
- Yonzon, C.R., Stuart, D.A., Zhang, X., McFarland, A.D., Haynes, C.L. & Van Duyne, R.P. 2005, "Towards advanced chemical and biological nanosensors—an overview", *Talanta*, vol. 67, no. 3, pp. 438-448.
- Yu, C., Cai, Q., Guo, Z., Yang, Z. & Khoo, S.B. 2003, "Inductively coupled plasma mass spectrometry study of the retention behavior of arsenic species on various solid phase extraction cartridges and its application in arsenic speciation", *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, vol. 58, no. 7, pp. 1335-1349.
- Zak, A., Abd Majid, W., Abrishami, M. & Yousefi, R. 2011a, "X-ray analysis of ZnO nanoparticles by Williamson–Hall and size–strain plot methods", *Solid State Sciences*, vol. 13, no. 1, pp. 251-256.
- Zak, A.K., Razali, R., Majid, W.H. & Darroudi, M. 2011b, "Synthesis and characterization of a narrow size distribution of zinc oxide nanoparticles", *International journal of nanomedicine*, vol. 6, pp. 1399-1403.
- Zen, J., Kumar, A.S. & Chen, J. 2001, "Electrocatalytic oxidation and sensitive detection of cysteine on a lead ruthenate pyrochlore modified electrode", *Analytical Chemistry*, vol. 73, no. 6, pp. 1169-1175.
- Zhang, L. & Fang, M. 2010, "Nanomaterials in pollution trace detection and environmental improvement", *Nano Today*, vol. 5, no. 2, pp. 128-142.
- Zhang, L. & Webster, T.J. 2009, "Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration", *Nano Today*, vol. 4, no. 1, pp. 66-80.

- Zhang, L., Chen, H., Wang, L., Liu, T., Yeh, J., Lu, G., Yang, L. & Mao, H. 2010, "Delivery of therapeutic radioisotopes using nanoparticle platforms: potential benefit in systemic radiation therapy", *Nanotechnology, science and applications*, vol. 3, pp. 159.
- Zhang, X., Sun, H., Zhang, Z., Niu, Q., Chen, Y. & Crittenden, J.C. 2007, "Enhanced bioaccumulation of cadmium in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles", *Chemosphere*, vol. 67, no. 1, pp. 160-166.
- Zhang, Y., Chen, Y., Westerhoff, P., Hristovski, K. & Crittenden, J.C. 2008, "Stability of commercial metal oxide nanoparticles in water", *Water research*, vol. 42, no. 8, pp. 2204-2212.
- Zheng, J., Hintelmann, H., Dimock, B. & Dzurko, M.S. 2003, "Speciation of arsenic in water, sediment, and plants of the Moira watershed, Canada, using HPLC coupled to high resolution ICP-MS", *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 377, no. 1, pp. 14-24.
- Zhou, L., Xu, J., Li, X. & Wang, F. 2006, "Metal oxide nanoparticles from inorganic sources via a simple and general method", *Materials Chemistry and Physics*, vol. 97, no. 1, pp. 137-142.
- Zhou, M., Ding, J., Guo, L. & Shang, Q. 2007, "Electrochemical behavior of l-cysteine and its detection at ordered mesoporous carbon-modified glassy carbon electrode", *Analytical Chemistry*, vol. 79, no. 14, pp. 5328-5335.

6 ANEXOS

6.1 Artículos publicados derivados de la Tesis

Synthesis and characterization of arsenic-doped cysteine-capped thoria-based nanoparticles. F.J. Pereira, M.T Díez, A.J. Aller. *Journal of Nanoparticle Research*, 15 (2013) 1895-1907.

Cyclic voltammetry of arsenic-doped cysteine-capped ceramic nanoparticles. F.J. Pereira, M.D. Vázquez, L. Debán, A.J. Aller. *Electrochimica Acta*, 109 (2013) 125-135.

Spectrometric characterization of the solid complexes formed in the interaction of cysteine with As^(III), Th^(IV) and Zr^(IV). F.J. Pereira, M.D. Vázquez, L. Debán, A.J. Aller. *Polyhedron*, 76 (2014) 71-80.

Determination of arsenic by ICP-MS after retention on thoria nanoparticles. F.J. Pereira, M.D. Vázquez, L. Debán, A.J. Aller. *Analytical Methods* (Aceptado).

Effect of temperature on the crystallinity, size and fluorescence properties of zirconia-based nanoparticles. F.J. Pereira, M.T Díez, A.J. Aller. *Materials Chemistry and Physics* (Revisado).