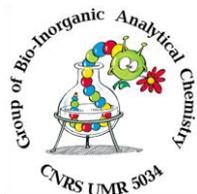


HERRAMIENTAS Y TÉCNICAS EN EL ANÁLISIS DE NANOMATERIALES: DESDE LA PREPARACIÓN DE MUESTRA A LA DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN

JAVIER JIMÉNEZ LAMANA

Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement, CNRS-UPPA, UMR5254, Hélioparc, 2, Av. Angot, 64053 Pau, France

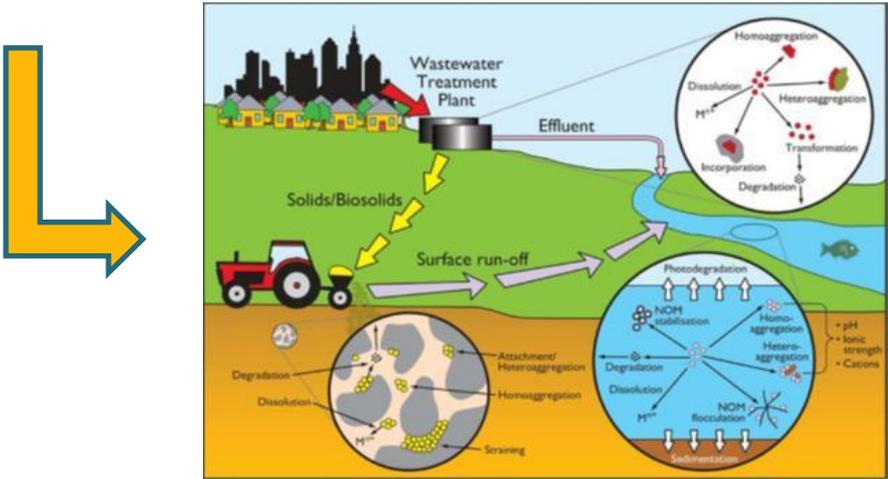


CONTAMINANTES

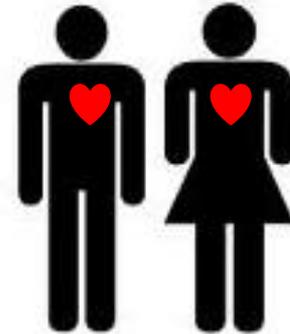
EMERGENTES EN EL SIGLO XXI



Introducción



Introducción



REGULACIÓN que garantice la sostenibilidad de la **Nanotecnología**

Implementación de las regulaciones

Información relacionada con la detección, caracterización y cuantificación de nanomateriales



Uso y desarrollo de nuevas metodologías de análisis

Introducción

Análisis de nanomateriales

| Análisis químico “estándar” | Análisis de nanomateriales |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Composición química | Composición química núcleo |
| | Composición química recubrimiento |
| | Información física: tamaño, forma, estado de agregación... |

Introducción

Análisis de nanomateriales

| Análisis químico “estándar” | Análisis de nanomateriales |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Composición química | Composición química núcleo |
| | Composición química recubrimiento |
| | Información física: tamaño, forma, estado de agregación... |
| Concentración en masa | Concentración en masa |
| | Concentración en número de nanopartícula |

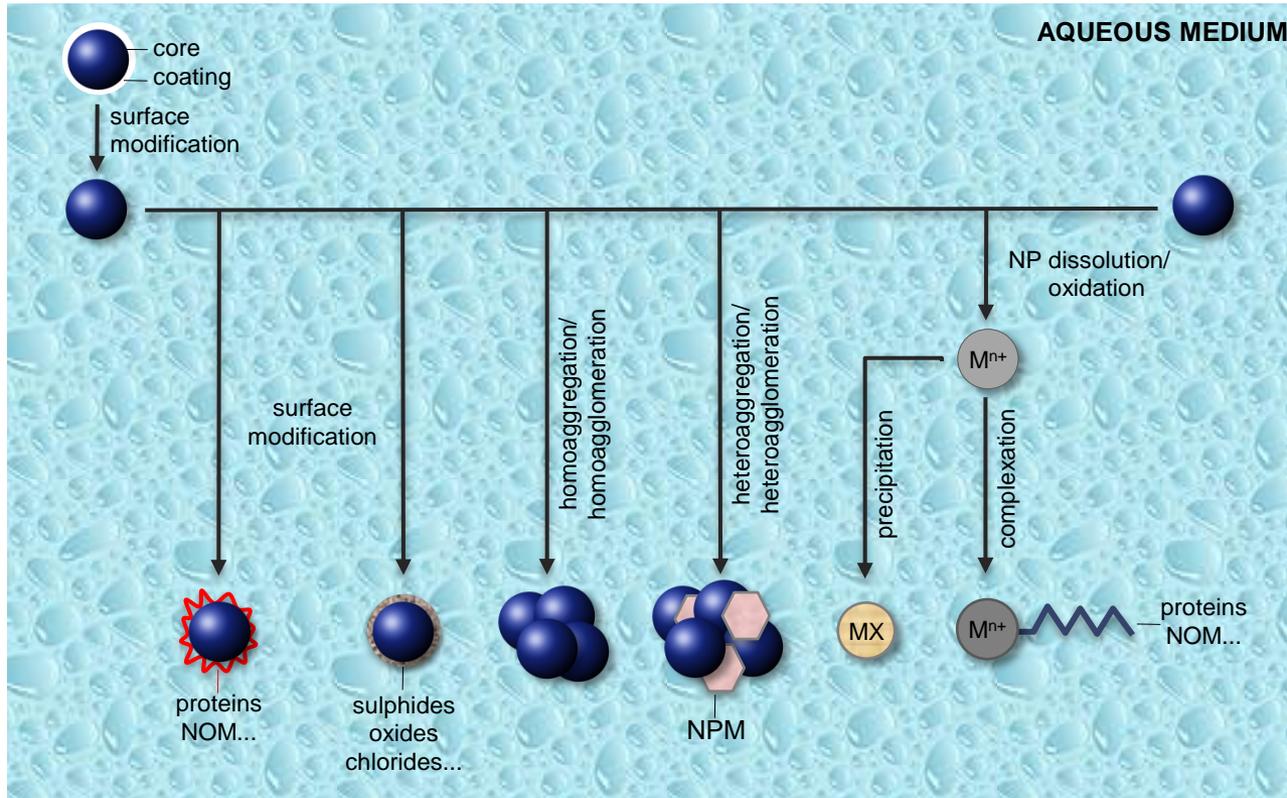
Introducción

Análisis de nanomateriales

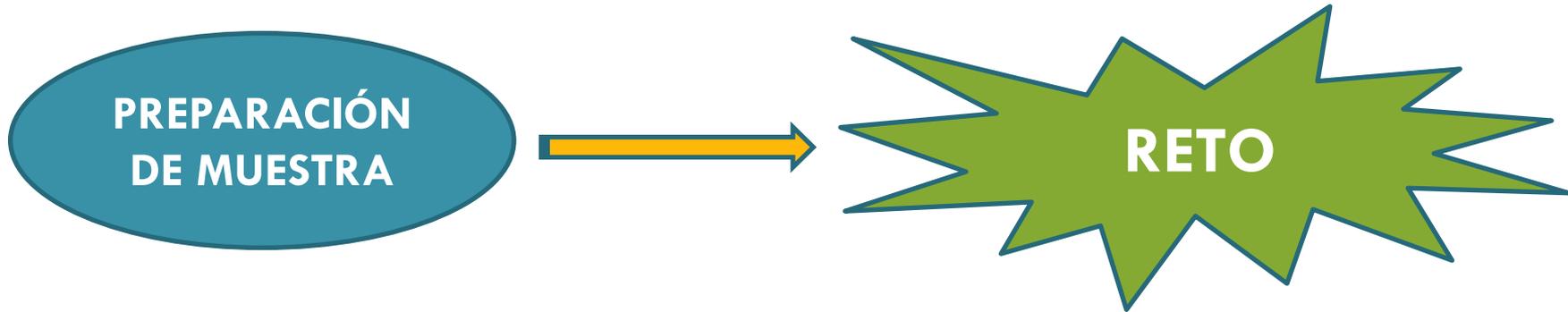
| Análisis químico “estándar” | Análisis de nanomateriales |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Composición química | Composición química núcleo |
| | Composición química recubrimiento |
| | Información física: tamaño, forma, estado de agregación... |
| Concentración en masa | Concentración en masa |
| | Concentración en número de nanopartícula |
| | Información sobre nuevas especies |

Introducción

Análisis de nanomateriales a lo largo de su ciclo de vida



Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

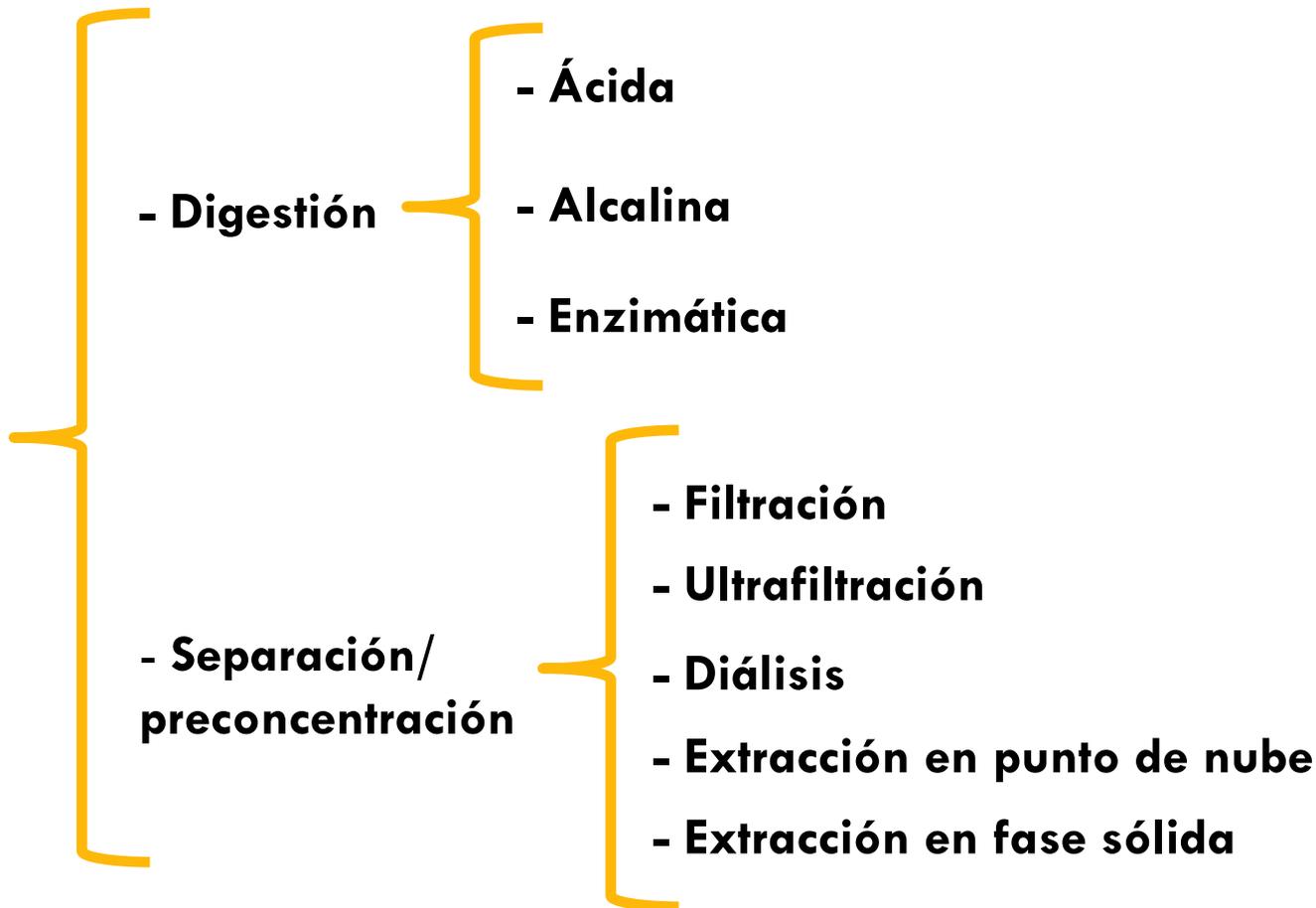


- Muestras reales: NPs suspendidas o incrustada es matrices complejas
- Procedimientos típicos no son suficientes: NPs pueden sufrir interacciones físicas o químicas con la matriz
- La correcta interpretación de los resultados depende de preservar las condiciones iniciales de las NPs en la muestra

Separación completa de las NPs en matrices complejas sin alterar sus propiedades

Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

Métodos de preparación de muestra



Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

Digestión ácida

Digestión de muestras solidas que contienen NPs



Disolución NPs y/ degradación de la matriz de la muestra

Ácidos oxidantes
concentrados: HNO_3



$\text{HCl} / \text{H}_2\text{O}_2$



Ag, Cu, CuO, Zn pueden disolverse bajo condiciones ácidas

$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$



H_2O_2



HF



Contenido total

Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

Digestión alcalina

TMAH

Base fuerte soluble en agua empleada para la degradación de matrices orgánicas previa a la determinación elemental

Causa la escisión hidrolítica y la metilación de éster, amidas y éteres; es capaz de romper enlaces disulfuro en proteínas

Digestión enzimática

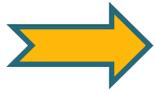
**Proteasas/
pectinasas**

- **Proteasas (proteínasa K) puede degradar proteínas en aminoácidos**
- **Pectinasas tienen la capacidad de digerir la pared celular de las plantas**

Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

Digestión alcalina

Digestión enzimática



Ambas estrategias preservan el núcleo de las NPs inorgánicas, permitiendo su detección, caracterización y cuantificación directa.

• **La presencia de residuos orgánicos puede afectar a las recuperaciones cuantitativas**

- ✓ **Digestión enzimática: AgNPs en carne de pollo^{1,2}**
- ✓ **Digestión enzimática: AuNPs en plantas de tomate³**
- ✓ **TMAH digestion: AgNPs and AuNPs en *Daphnia magna* expuestas⁴**
- ✓ **Digestión TMAH: AgNPs en heces de ratas expuestas⁵**

Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

- La concentración de las NPs en muestras medioambientales o biológicas puede ser menor a la que se puede medir directamente
- Eliminar los componentes de la matriz



Separación + preconcentración

Mejorar la capacidad de detección

~~Centrifugación~~

- ✓ aislar partículas de suspensiones acuosas
- ✓ separar NPs de especies disueltas

- x Se requiere fuerzas centrífugas altas y largos tiempos
- x La eliminación de NPs de sobrenadantes que contienen especies disueltas no es completa incluso en condiciones rigurosas
- x En la presencia de sólidos no deseados, estos son aislados junto con las NPs

Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

Filtración, ultrafiltración y diálisis

Filtración

- En general no es apta para distinguir entre fracciones disueltas y nanoparticulada
- Sin embargo, en combinación con la ultrafiltración (UF) puede utilizarse para fraccionar por tamaños seguido del análisis de cada fracción mediante otras técnicas

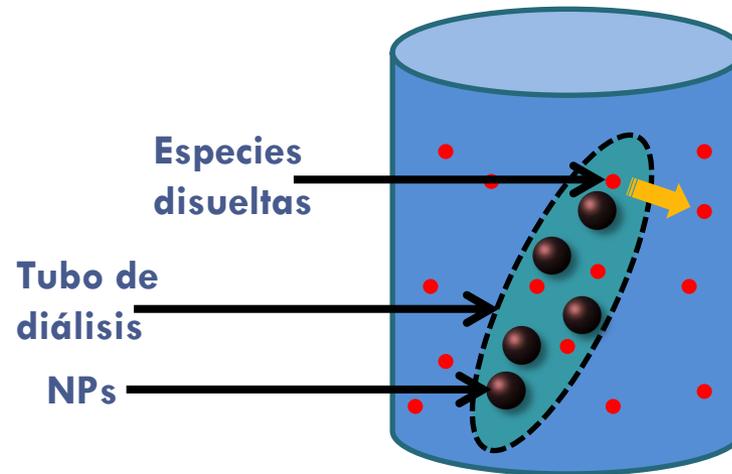
Diálisis y UF

- Basadas en la separación meramente física a través del uso de membranas nanoporosas de diferentes materiales y cortes de peso molecular
- Uso para aislar las especies disueltas de las NPs y aplicación en estudios de disolución de nanomateriales

Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

Filtración, ultrafiltración y diálisis

Diálisis



- La difusión de las especies disueltas es más rápida que la liberación de iones de las NPs
- En el caso de algunos elementos, la recuperación puede verse comprometida por la retención de iones metálicos en la membrana
- Basado en pura difusión: se requiere de tiempos largos para alcanzar el equilibrio

Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

Filtración, ultrafiltración y diálisis

UF acelera el proceso de separación



- **Especies iónicas libres pueden ser separadas fácilmente de las NPs**
- **La separación de los correspondientes complejos es más difícil dependiendo de la MM molecular de los complejos y del tamaño de las NPs**
- **Las recuperaciones pueden verse afectadas por interacciones que las NPs y las especies disueltas pueden sufrir con la superficie de la membrana dependiendo de su composición**

Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

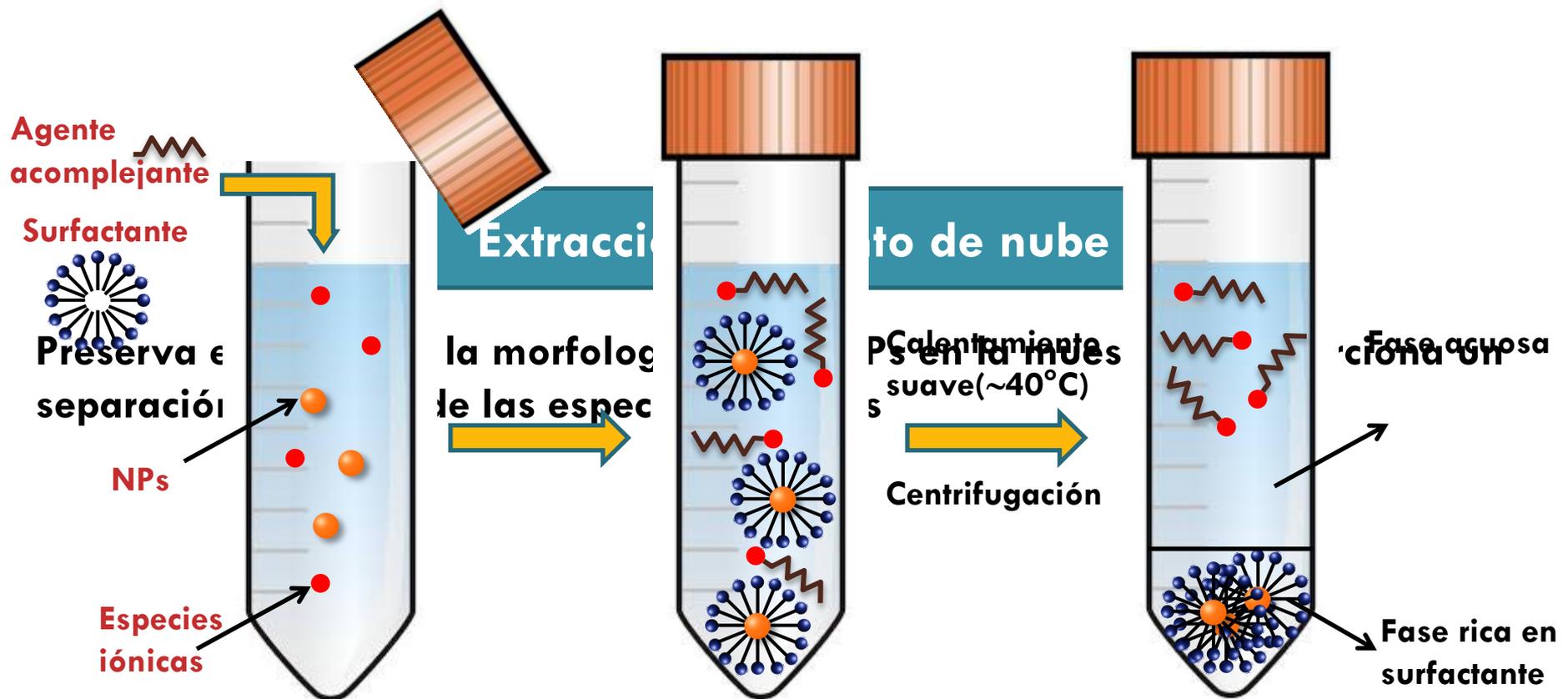
Extracción de NPs de muestras líquidas y sólidas mediante el uso de agua o disolventes orgánicos preservando algunas de sus propiedades

- Extracción con hexano para el análisis de NPs en cremas solares⁶ y alimentos⁷
- Extracción de NPs en aguas naturales con alquilamina en ciclohexano previa modificación de la superficie de las NPs con un ácido hidrofóbico⁸

Extracción en punto de nube

Preserva el tamaño y la morfología de las NPs en la muestra y proporciona un separación selectiva de las especies disueltas

Análisis de nanomateriales: preparación de muestra



Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

Extracción en punto de nube

Preserva el tamaño y la morfología de las NPs en la muestra y proporciona un separación selectiva de las especies disueltas

- Se combina con determinación total del elemento para obtener información sobre la parte disuelta y la parte nanoparticulada
- Cuantificación de NPs
 - ET-AAS: análisis directo de la fase surfactante
 - ICP-MS: digestión ácida previa
- Métodos selectivos a NPs independientemente de su composición y recubrimiento



Análisis de nanomateriales: preparación de muestra

Extracción en fase sólida

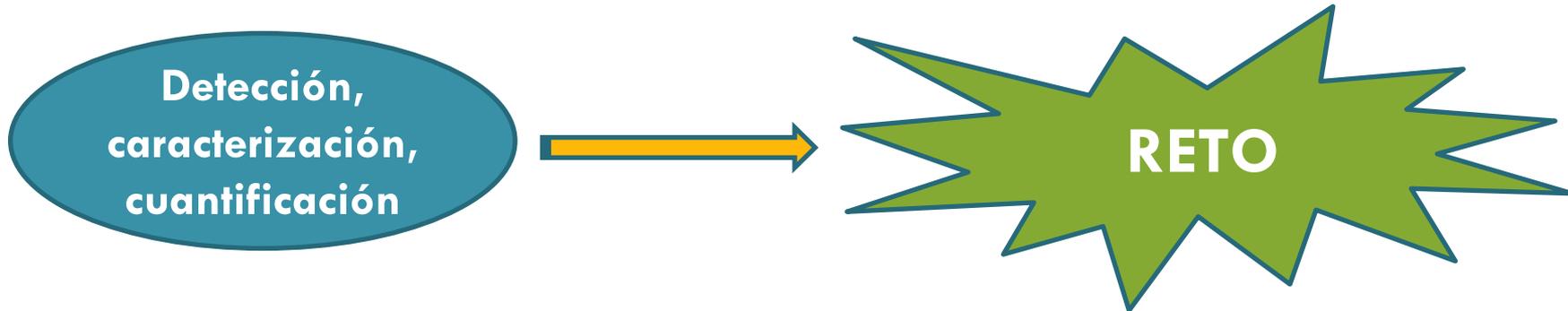
Extracción de NPs de metales nobles mediante **resinas de intercambio aniónico**

- Basado en la adsorción reversible no covalente en una resina
- La superficie de las NPs es modificada con ácido mercaptosuccínico
- Adsorción ocurre a través de interacciones electrostática entre grupos carboxílicos desprotonados y grupos cargados positivamente de la resina
- NPs eluyen con ácido fórmico en metanol

- Preserva la forma y el tamaño de las NPs
- Aplicado a nanopartículas con diferentes recubrimientos⁹
- La resina puede mostrar capacidad de adsorción para NPs no modificadas

Se ha propuesto el uso de **nanopartículas magnéticas funcionalizadas** para la extracción de AuNPs y Au iónico¹⁰ y de AgNPs en presencia de Ag(I)¹¹

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización



- **NPs presentes en concentraciones relevantes desde el punto de vista medioambiental o biológico: ppb o ppt**
- **Mayor cantidad de información que en análisis convencionales:**
 - detectar la presencia de NPs,**
 - identificar el tipo de NPs (composición química)**
 - caracterizar las NP (tamaño, forma, características superficiales...)**
 - determinar la concentración en número**
 - identificar nuevas especies formadas**

Uso de (nuevos) métodos de análisis específicos y sensibles y desarrollo de (nueva) metodología de análisis

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Técnicas de análisis

- Técnicas de conjunto

- Dispersión de luz dinámica (DLS)

-Técnicas de conteo

- Microscopía electrónica (EM)

- Análisis de rastreo de nanopartículas (NTA)

- Técnicas de separación

- Cromatografía hidrodinámica (HDC)

- Cromatografía de exclusión por tamaño (SEC)

- Electroforesis

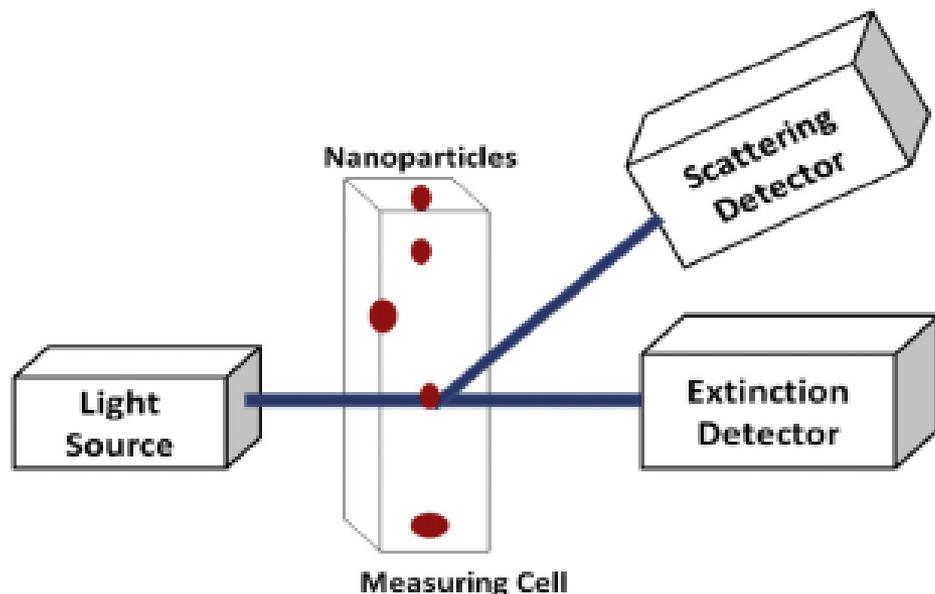
- Fraccionamiento mediante campos de flujo (FFF)

- Otras técnicas: detección individual de partículas mediante ICP-MS (SP-ICP-MS), técnicas electroanalíticas

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Dispersión de luz dinámica

- Utiliza la luz dispersada por una suspensión de NPs para determinar la velocidad de difusión



Movimiento Browniano de las NPs a partir de las fluctuaciones en la intensidad de la luz dispersada



Coefficiente de difusión



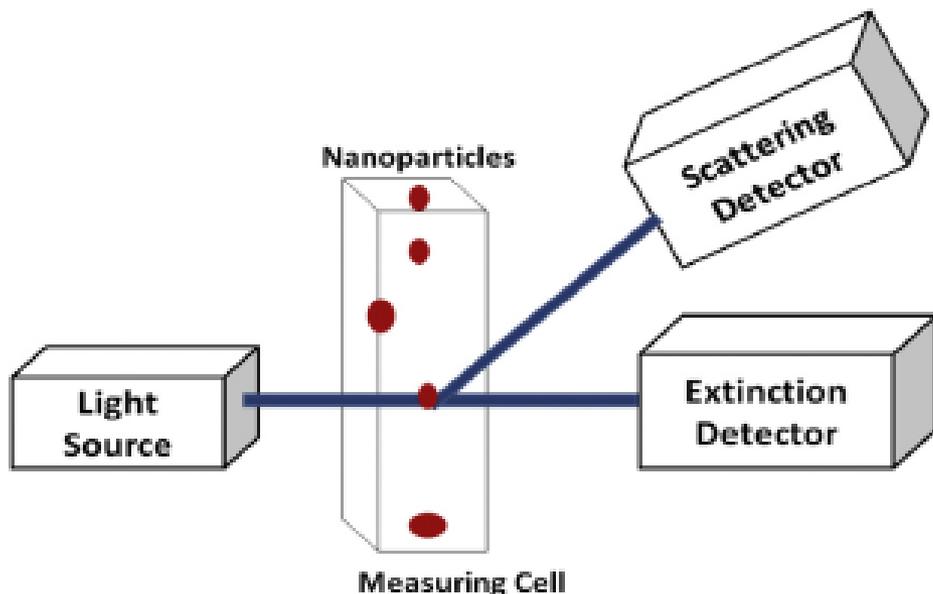
Tamaño

(a partir de la ecuación de Stokes-Einstein)

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Dispersión de luz dinámica

- Utiliza la luz dispersada por una suspensión de NPs para determinar la velocidad de difusión



- ✓ **Distribuciones de tamaño en número**
- ✓ **Monitorizar procesos de agregación**

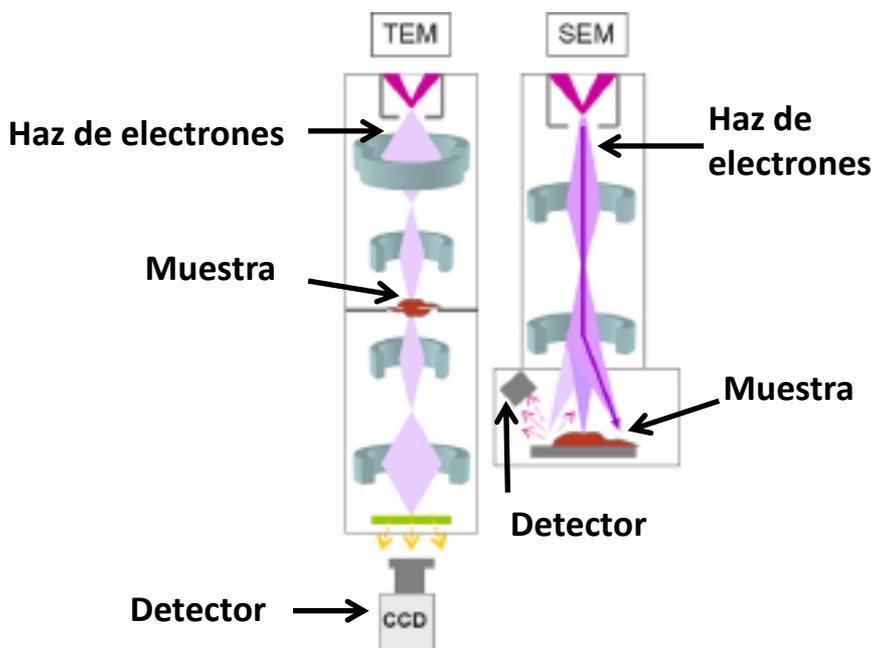
× **Información representativa para distribuciones monodispersas**

× **Intensidad inversamente proporcional a la 6ª potencia del radio**

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Microscopía electrónica

- Utiliza haces de electrones para visualizar estructuras que no son visibles para el microscopio óptico



Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las imágenes se construyen a partir de electrones que provienen de la muestra

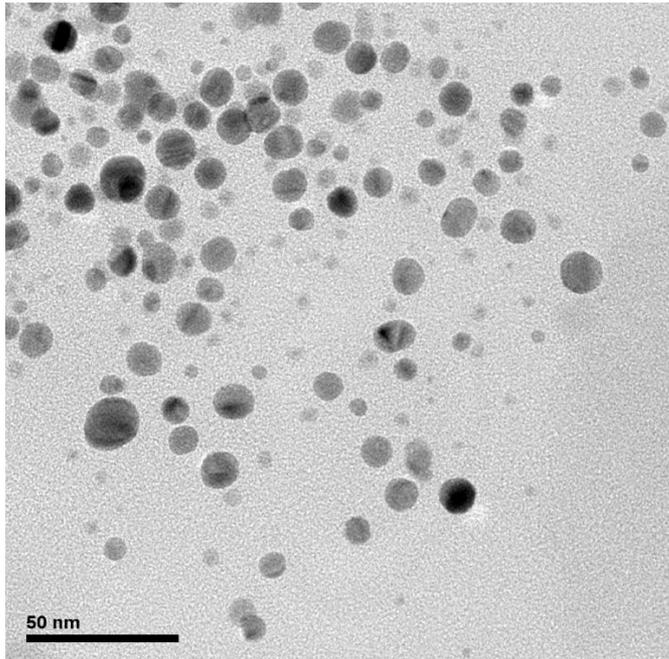
Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las imágenes se construyen a partir de electrones dispersados al pasar a través de secciones muy finas de la muestra

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Microscopía electrónica

- A partir de las imágenes se puede obtener información sobre el tamaño de cada una de las partículas



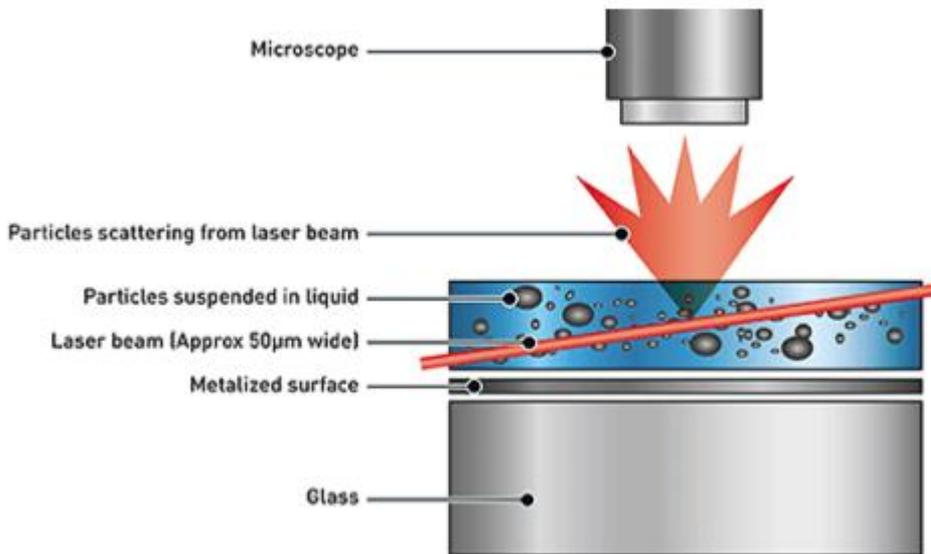
- ✓ Análisis partícula a partícula
- ✓ Distribución de tamaños, forma, estado de agregación
- x Debe realizarse un gran número de medidas
- x Condiciones de alto vacío: preparación de muestra

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Análisis de rastreo de nanopartículas

- Técnica de ultramicroscopía que utiliza dos fenómenos físicos relacionados con el comportamiento de las partículas en suspensión:

- **Dispersión de la luz**
- **Movimiento Browniano**



- Se detectan las partículas a partir de la luz dispersada

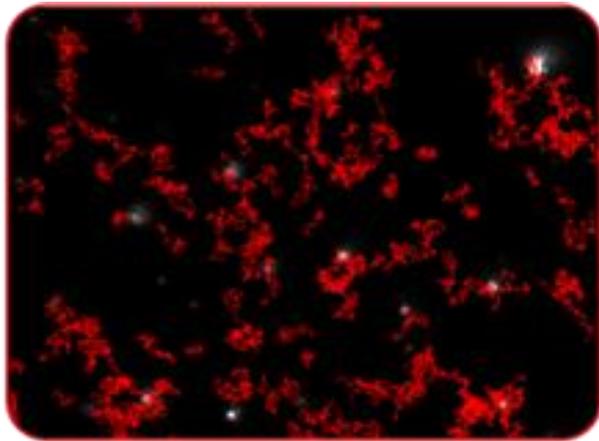
- Se registra su movimiento mediante una cámara CCD

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Análisis de rastreo de nanopartículas

- Técnica de ultramicroscopía que utiliza dos fenómenos físicos relacionados con el comportamiento de las partículas en suspensión:

- **Dispersión de la luz**
- **Movimiento Browniano**



- Análisis de las imágenes: distancia recorrida por las partículas en un intervalo dado de tiempo



Tamaño

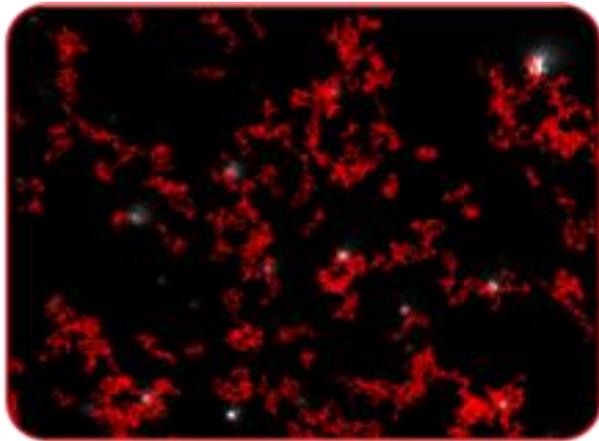
(a partir de la ecuación de Stokes-Einstein)

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Análisis de rastreo de nanopartículas

• Técnica de ultramicroscopía que utiliza dos fenómenos físicos relacionados con el comportamiento de las partículas en suspensión:

- **Dispersión de la luz**
- **Movimiento Browniano**

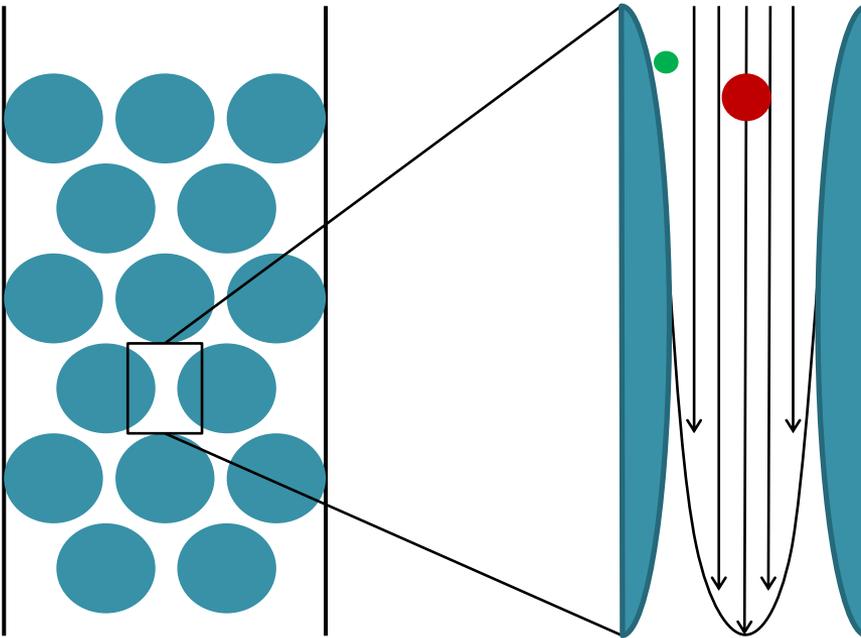


- ✓ **Análisis partícula a partícula**
- ✓ **Distribución de tamaños precisa si se analiza un número elevado de nanopartículas**
 - x **Condiciones medio: viscosidad conocida, ópticamente transparente...**
 - x **Condiciones de alto vacío: preparación de muestra**
 - x **Altos límites de detección en tamaño**

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Cromatografía hidrodinámica

- Separación por tamaños en capilares estrechos y abiertos

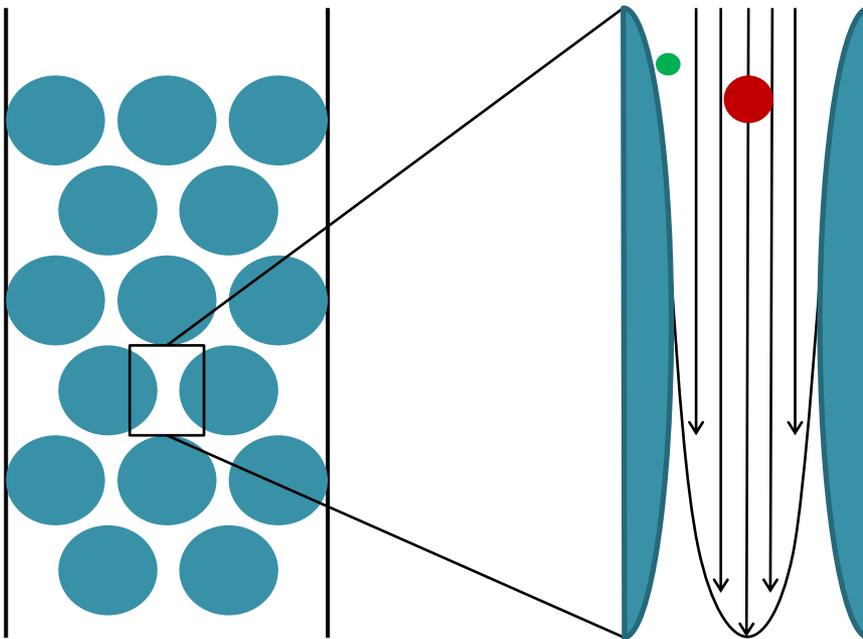


- Separación se produce por un gradiente de velocidad dentro de los capilares
- Partículas más pequeñas se aproximan más a las paredes y pasan más tiempo en los bordes del capilar que las grandes, eluyen más tarde

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Cromatografía hidrodinámica

- Separación por tamaños en capilares estrechos y abiertos

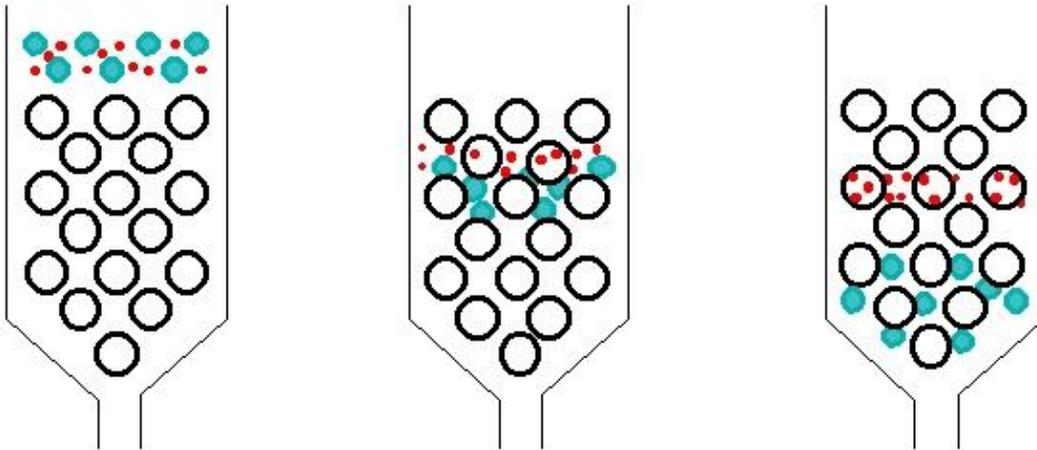


- ✓ Separación en fracciones monodispersas
- ✓ Acoplar a distintos detectores
- x Poca eficiencia de separación
- x Optimización para cada tipo de muestra

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Cromatografía de exclusión por tamaño

- Separación por tamaños a través de una columna empaquetada con una fase estacionaria

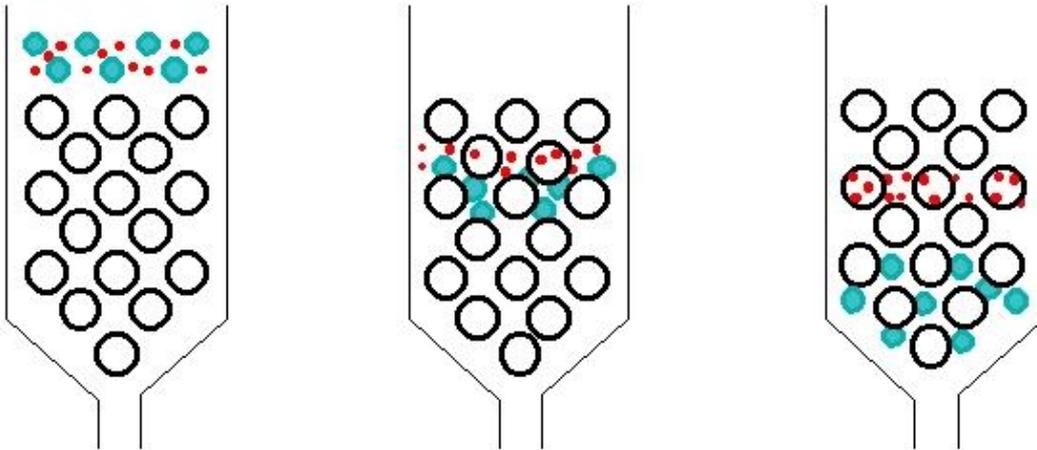


- Fase estacionaria: distribución de tamaños de poro en el intervalo de tamaños de las NPs
- Tiempo medio que una NP pasa en los poros depende de su tamaño
- Orden elución: NPs más grandes – NPs más pequeñas

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Cromatografía de exclusión por tamaño

- Separación por tamaños a través de una columna empaquetada con una fase estacionaria



- ✓ Separación en fracciones monodispersas
- ✓ Acoplar a distintos detectores
- x Adsorción de NPs en la fase estacionaria
- x Optimización para cada tipo de muestra

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

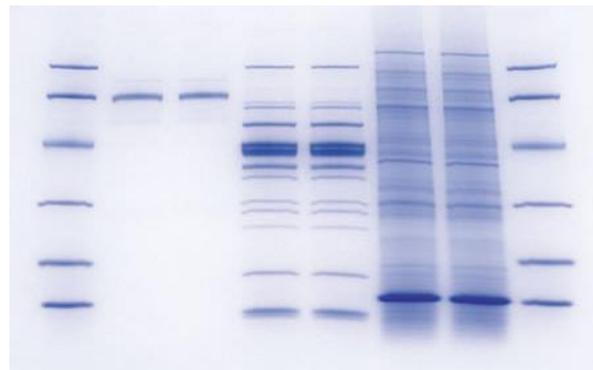
Electroforesis

- Separación basada en la migración de especies cargadas mediante la aplicación de un campo eléctrico



Electroforesis gel (GE)

- Diferente migración de las NPs a través de un gel nanoporoso bajo el efecto de un campo eléctrico
- Diferentes matrices (geles) dependiendo de los tamaños a separar



➤ Agarosa

➤ Poliacrilamida

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Electroforesis

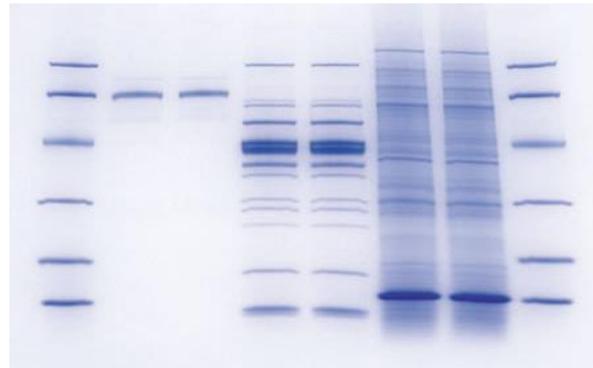
- Separación basada en la migración de especies cargadas mediante la aplicación de un campo eléctrico



Electroforesis gel (GE)

✓ Separación de NPs funcionalizadas

x Difícil separación de NPs sin funcionalizar

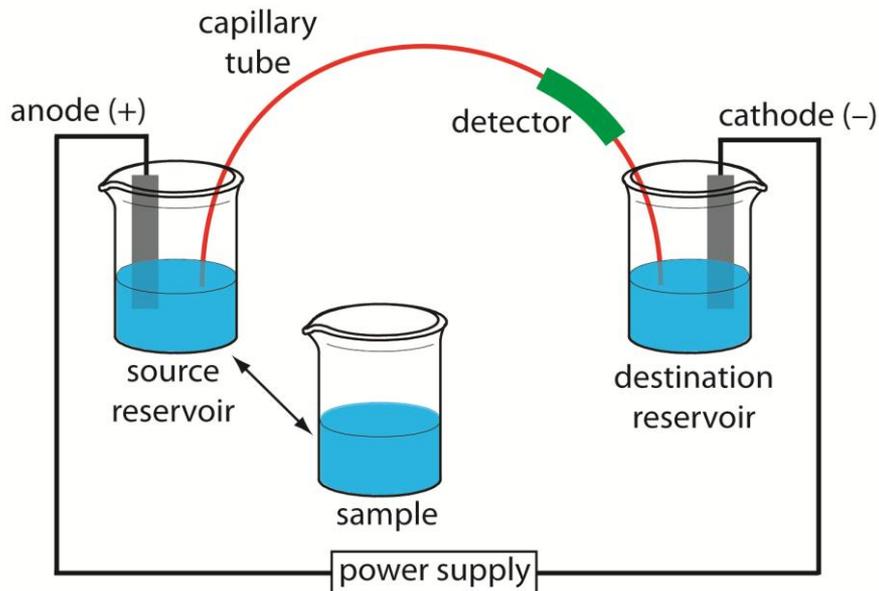


Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Electroforesis

- Separación basada en la migración de especies cargadas mediante la aplicación de un campo eléctrico

Electroforesis capilar (CE)



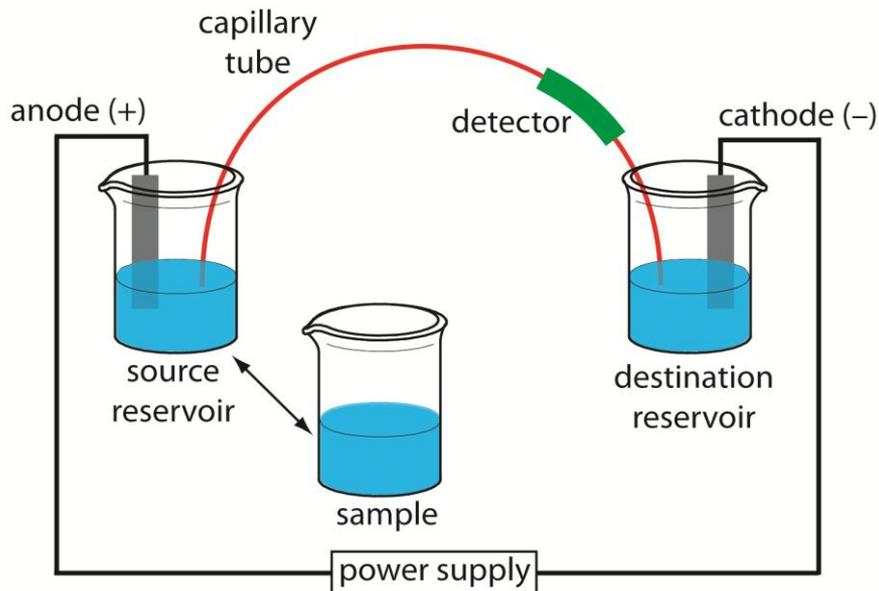
- Diferente movilidad de las NPs inyectadas en un capilar fino relleno con un electrolito
- Voltaje aplicado en los extremos del capilar

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Electroforesis

- Separación basada en la migración de especies cargadas mediante la aplicación de un campo eléctrico

Electroforesis capilar (CE)



- ✓ Alta resolución de separación
- ✓ Analizar especies iónicas y NPs
- x Características de la superficie de las NPs pueden provocar interacciones no deseadas
- x Presencia de macromoléculas en matrices complejas que interaccionen con NPs

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Fraccionamiento mediante campos de flujo

- Separación de NPs en función de su tamaño
- Canal estrecho y alargado sin fase estacionaria
- Interacción de las NPs con un campo externo que aplica una fuerza que actúa perpendicularmente a la dirección del flujo de separación



Distribución diferente de las NPs dentro del canal dependiendo de su tamaño



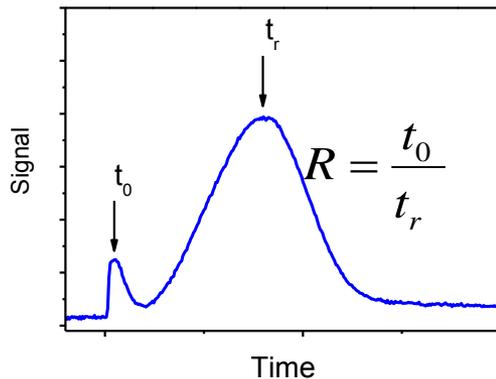
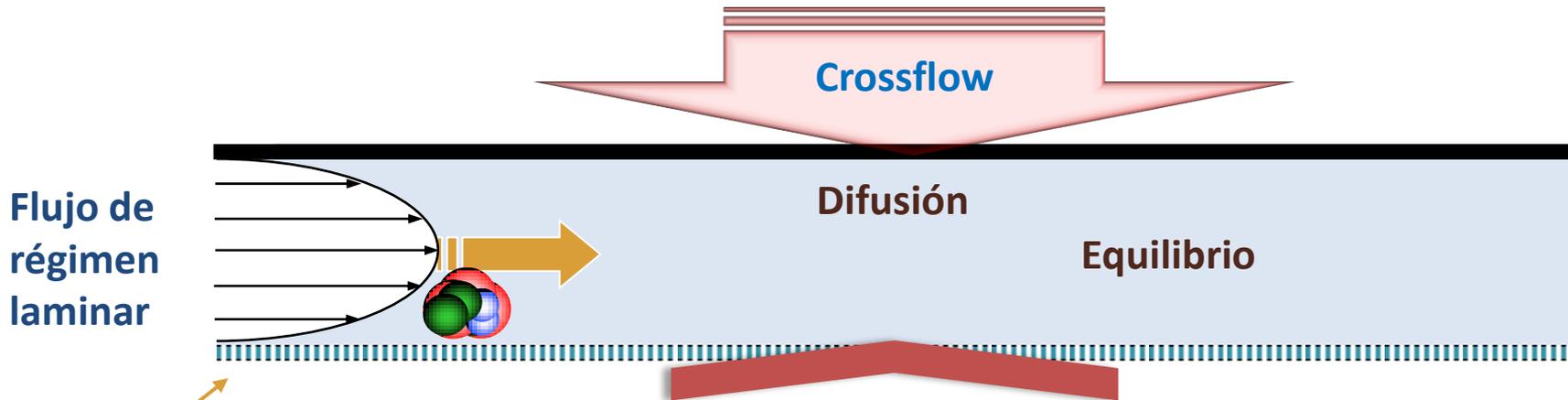
Separación

- Diferentes subtécnicas dependiendo del tipo de campo aplicado:
 - FIFFF (flujo cruzado)
 - SdFFF (fuerza centrífuga)
 - ThFFF (temperatura)

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Fraccionamiento mediante campos de flujo

Fraccionamiento en flujo con campo de flujo asimétrico



$$t_r \propto D \propto d$$

Diámetro hidrodinámico

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Fraccionamiento mediante campos de flujo

- ✓ Información sobre el tamaño en un amplio rango de tamaños (1 nm – 100 μ m)
- ✓ Acoplado a un amplio rango de detectores on-line y off-line
- ✓ Separación mantiene las condiciones originales de las NPs
- x Optimizar condiciones específicas para cada tipo de muestra
- x Interacciones NPs-membrana: bajas recuperaciones

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Detección individual de partículas mediante ICP-MS

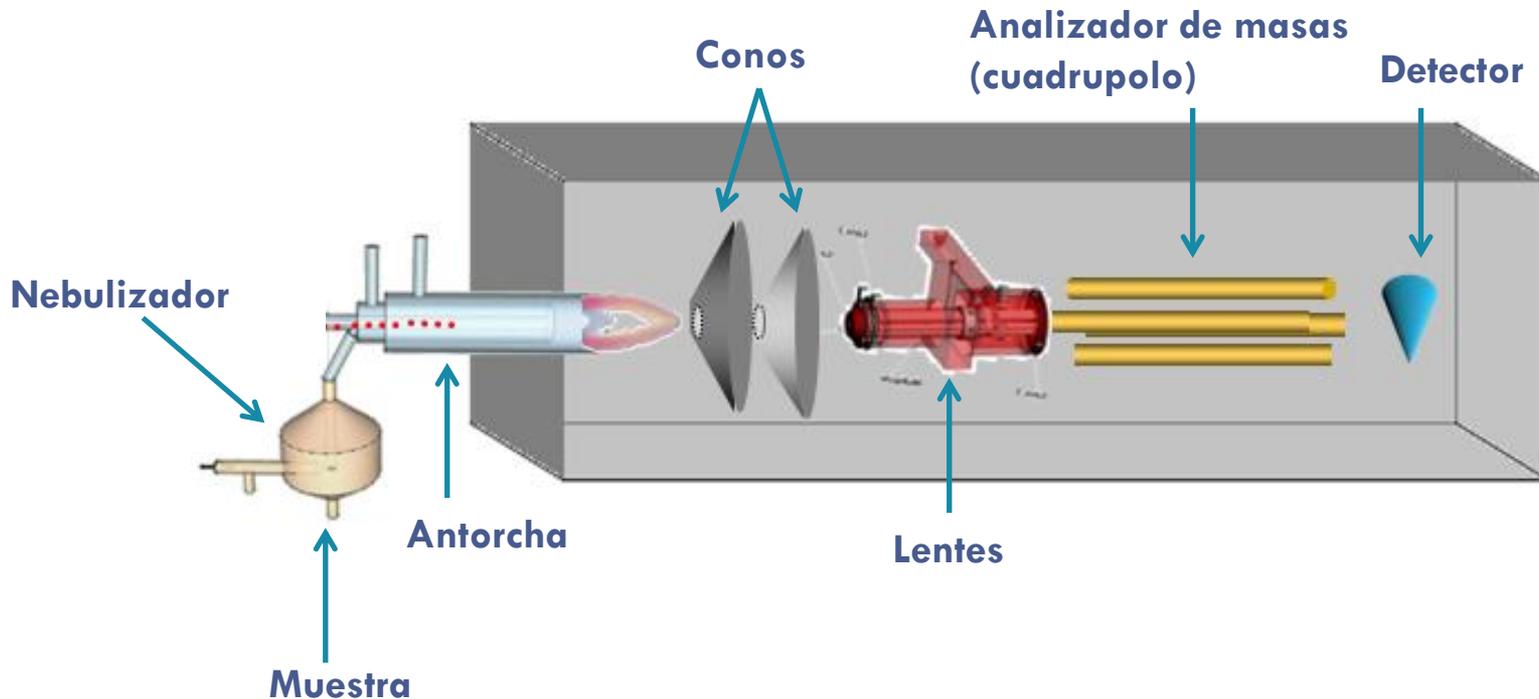
- **Esta técnica nos permite:**

- **Detectar la presencia de NPs**
- **Determinar tamaños y distribuciones de tamaño**
- **Determinar la concentración en masa y la concentración en número de NPs**
- **Diferenciar entre las formas disueltas y nanoparticuladas de un elemento**

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Detección individual de partículas mediante ICP-MS

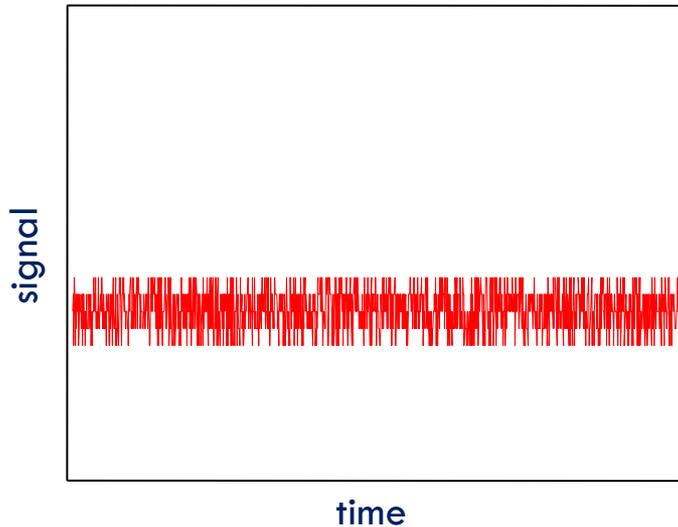
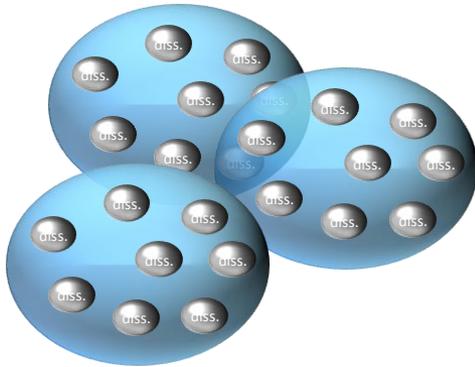
Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)



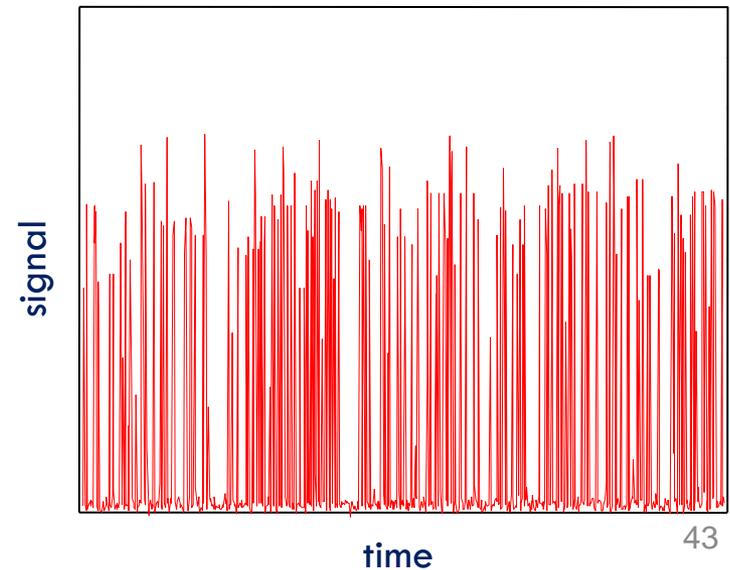
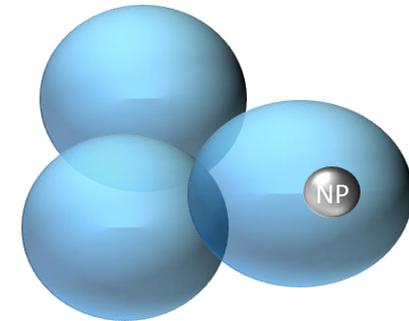
Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Detección individual de partículas mediante ICP-MS

Forma disuelta



Forma nanoparticulada



Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Detección individual de partículas mediante ICP-MS



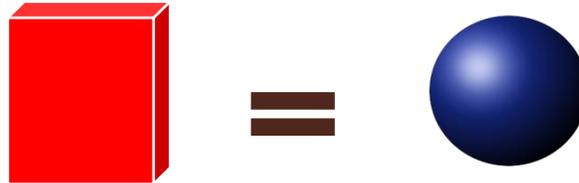
< 10 ms/ lectura (> 100 Hz)

$\leq 10^8$ nanopartículas L⁻¹

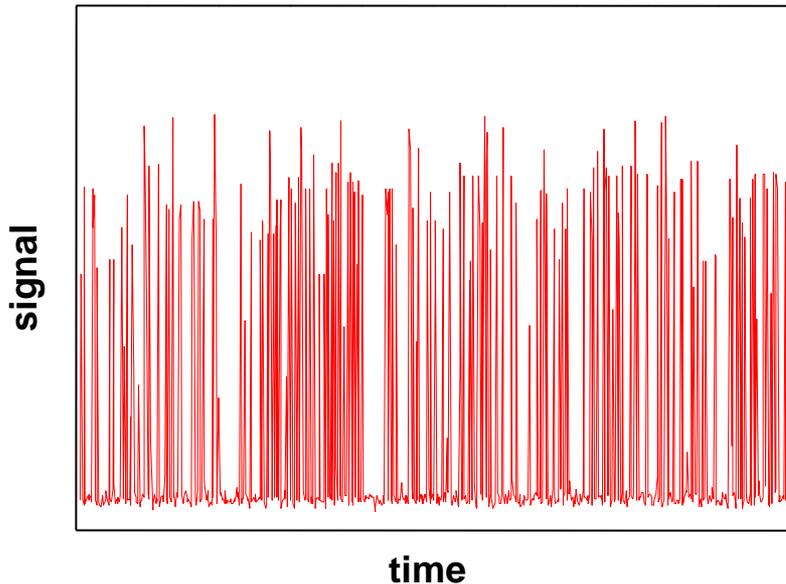
Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Detección individual de partículas mediante ICP-MS

1 pulso = 1 nanopartícula



Número de pulsos = K Concentración NPs



Intensidad pulso = K átomos por NP
= K' masa NP = K'' tamaño NP

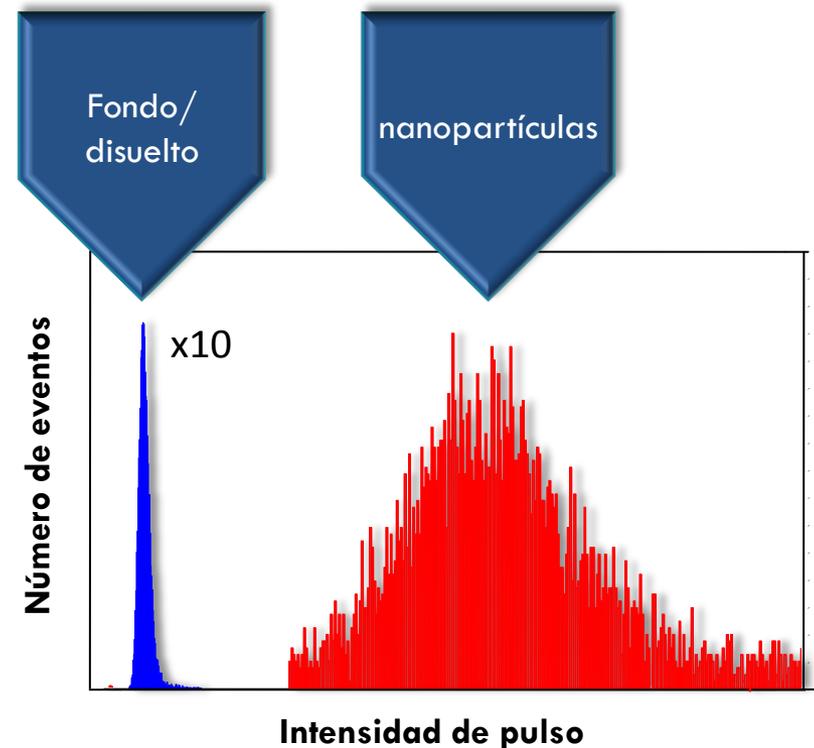
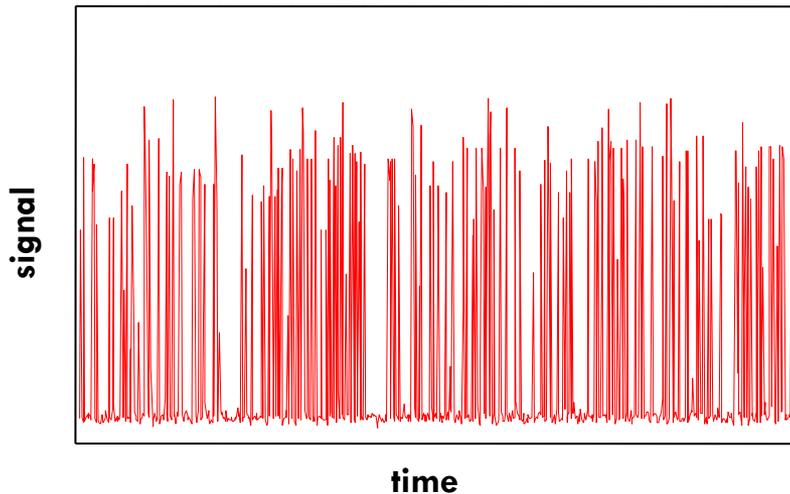
Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Detección individual de partículas mediante ICP-MS

Barrido de tiempo

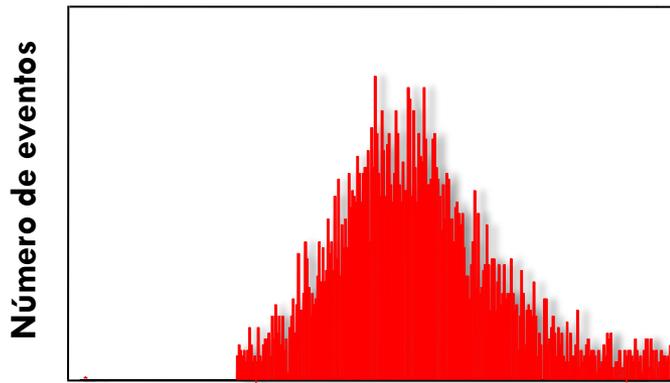


Histograma

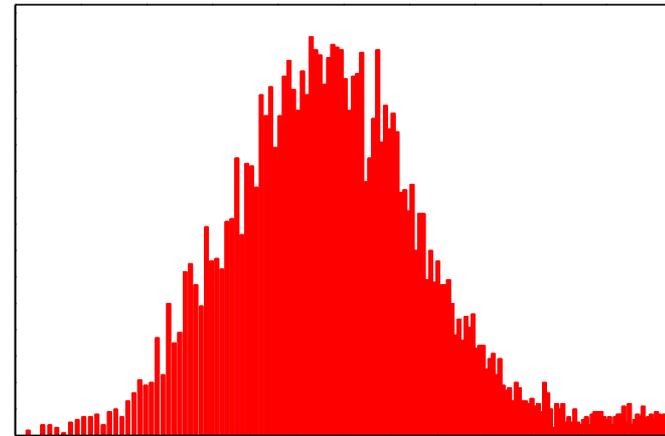


Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Detección individual de partículas mediante ICP-MS



Intensidad de pulso



Tamaño / nm



Estándar disuelto



- Eficiencia de nebulización
- Velocidad introducción muestra

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

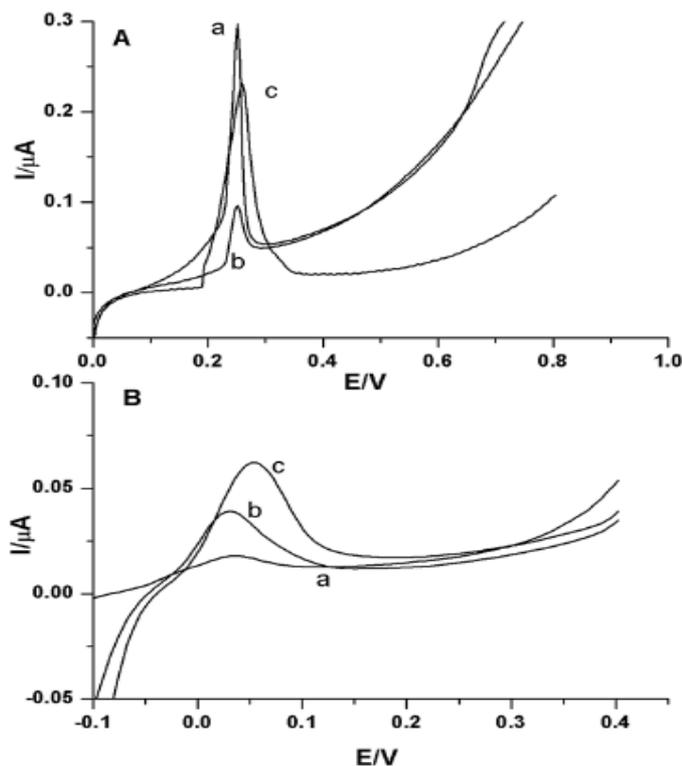
DetECCIÓN individual de partículas mediante ICP-MS

- ✓ Cantidad de información obtenida
- ✓ Diferenciar entre disuelto y NP y entre diferentes tamaños sin separación previa
- ✓ Límite de detección en concentración
- x Límites de detección en tamaño; especialmente óxidos
- x Presencia de especies disueltas distorsiona los límites de detección

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Técnicas electroanalíticas

Voltametría de partículas inmovilizadas (VIP)

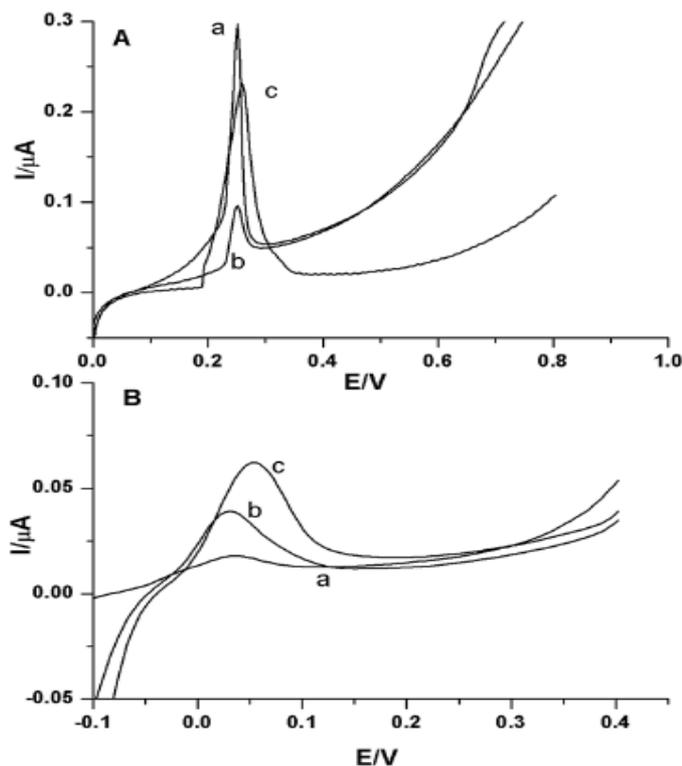


- Pocos microlitros de una suspensión de NPs se depositan en la superficie de un electrodo y se deja secar
- El electrodo se transfiere a una celda electroquímica y se obtiene el correspondiente voltagrama
- El potencial de los picos obtenidos se puede relacionar con la naturaleza y tamaño de la NP

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Técnicas electroanalíticas

Voltametría de partículas inmovilizadas (VIP)



✓ Información sobre la composición química

✓ Información cuantitativa

✗ Trabajo a concentraciones de NPs altas

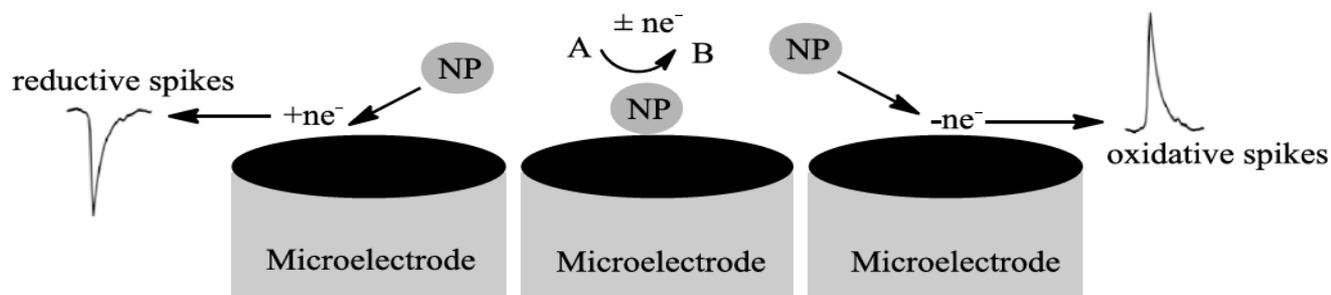
✗ Aplicación a muestras medioambientales o biológicas

Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Técnicas electroanalíticas

Culombimetría por colisión de partícula (PCC)

- Basada en la modificación de la línea base de un cronoamperograma (intensidad eléctrica vs tiempo) cuando una NP impacta la superficie de un microelectrodo
- El impacto produce una señal
- La carga involucrada en el proceso se puede relacionar con la masa de la NP y con su tamaño así como la frecuencia de colisiones con la concentración de NPs

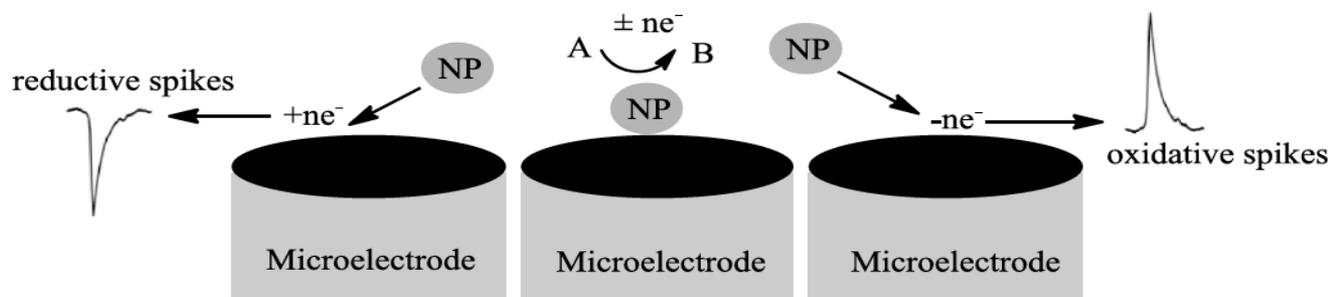


Análisis de nanomateriales: detección y caracterización

Técnicas electroanalíticas

Culombimetría por colisión de partícula (PCC)

- ✓ Distribuciones de tamaño
- ✓ Información cualitativa en número de nanopartículas
- x Trabajo a concentraciones de NPs altas
- x Pocas aplicaciones



Casos prácticos

Caracterización de NPs en muestras reales

1. Células humanas procedentes de ensayos *in vitro*

2. Heces de ratas procedentes de ensayos *in vivo*

3. Plantas expuestas a NPs



**Digestión alcalina
+
AsFIFFF-Uv-Vis-ICPMS**



Digestión enzimática + sp-ICPMS

Caso práctico: identificación de AgNPs en células humanas



Analyst

PAPER

Cite this: *Analyst*, 2014, 139, 914

Detection and characterization of silver nanoparticles and dissolved species of silver in culture medium and cells by AsFIFFF-UV-Vis-ICPMS: application to nanotoxicity tests†

E. Bolea,^{*a} J. Jiménez-Lamana,^a F. Laborda,^a I. Abad-Álvaro,^a C. Bladé,^b L. Arola^b and J. R. Castillo^a

HepG2: línea celular del hepatoma humano



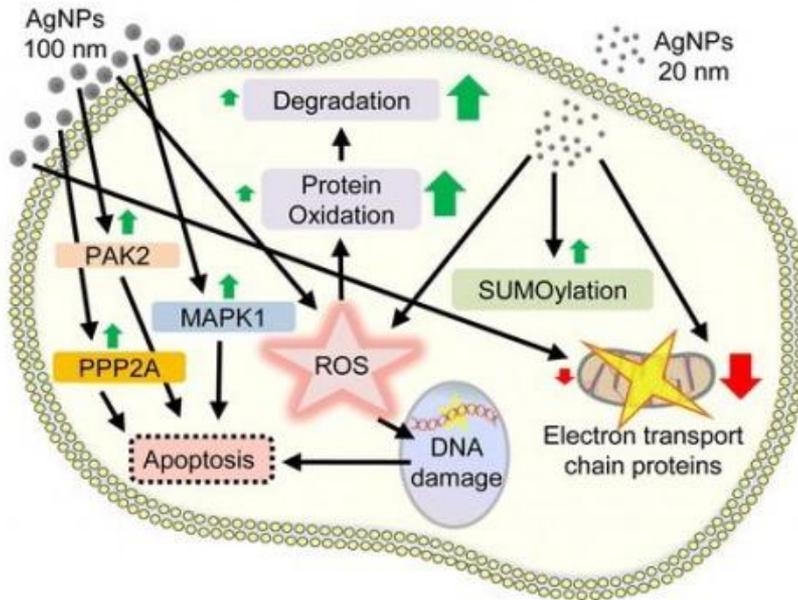
AgNPs

24 h

Medio de cultivo eliminado y células guardadas – 80°C

Caso práctico: identificación de AgNPs en células humanas

Efectos citotóxicos: iones liberados o NPs?

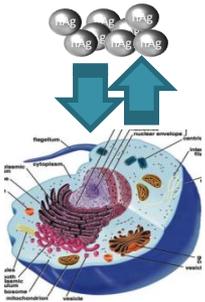


Identificación de AgNPs en las células

Fraccionamiento en flujo con campo de flujo asimétrico (AsFIFFF) acoplado a detección UV-Visible e ICP-MS

Caso práctico: identificación de AgNPs en células humanas

Preparación de muestra: digestión alcalina



+ 4 mL TMAH (25% w/w)

+ 1 mL Triton X-100 (0.25%)

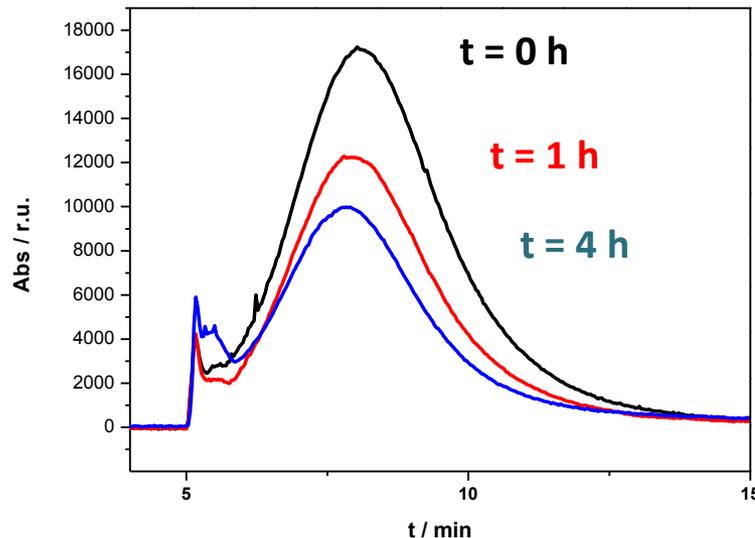
Diluido en Triton X-100 (0.05%)

Células solubilizadas

4 h

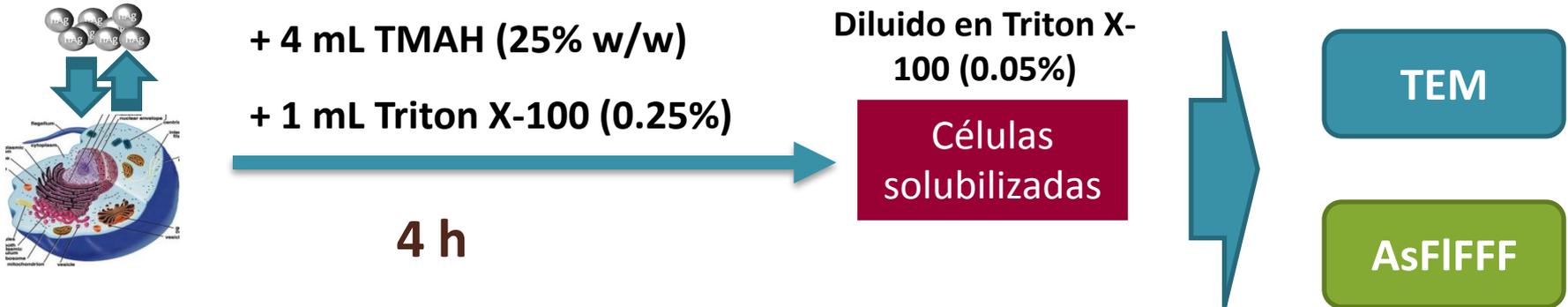
Señal UV-Vis a 405 nm

AgNPs añadidas al medio de solubilización



Mayores tiempos aumentan la disolución de las AgNPs
(45% disminución de la señal en 4 h)

Caso práctico: identificación de AgNPs en células humanas



| Condiciones | Cantidad de plata encontrada/ μg |
|------------------------------|---------------------------------------------|
| Digestión ácida convencional | 75 ± 1 |
| Solubilización con TMAH | 77 ± 10 |

Toda la plata se recupera completamente después de la solubilización con TMAH

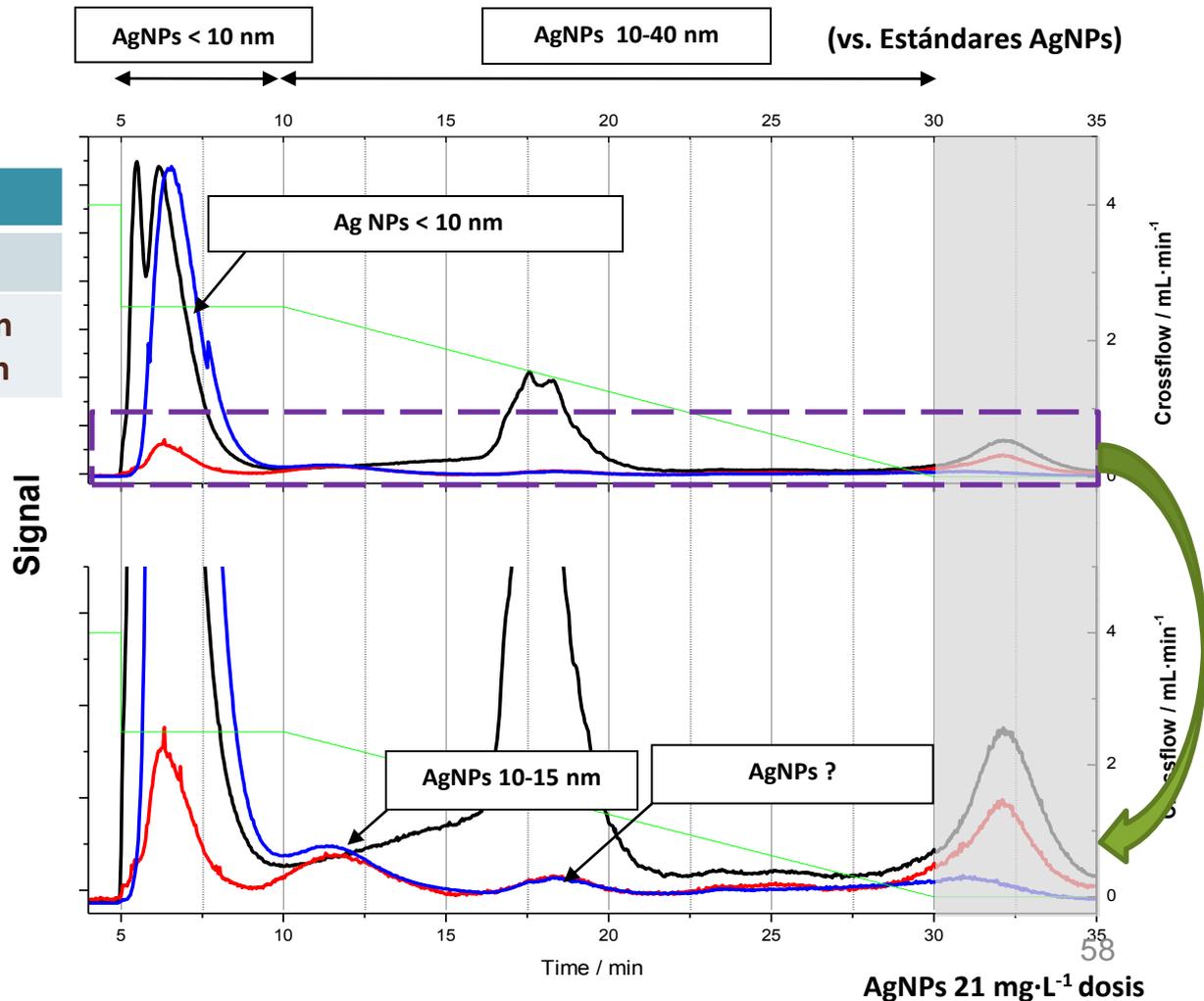
Caso práctico: identificación de AgNPs en células humanas

AsFIFFF

| Condiciones | Programa |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Fase móvil | 0.01% SDS at pH=8 |
| Flujo cruzado mL min ⁻¹ | 2.5 (constante) t=5 min 2.5 a 0 (lineal) t=20min |

- Señal UV-Vis a 254 nm
- Señal UV-Vis a 405 nm
- Señal ¹⁰⁷Ag ICP-MS

Recuperación de plata en el canal:
71±6 %

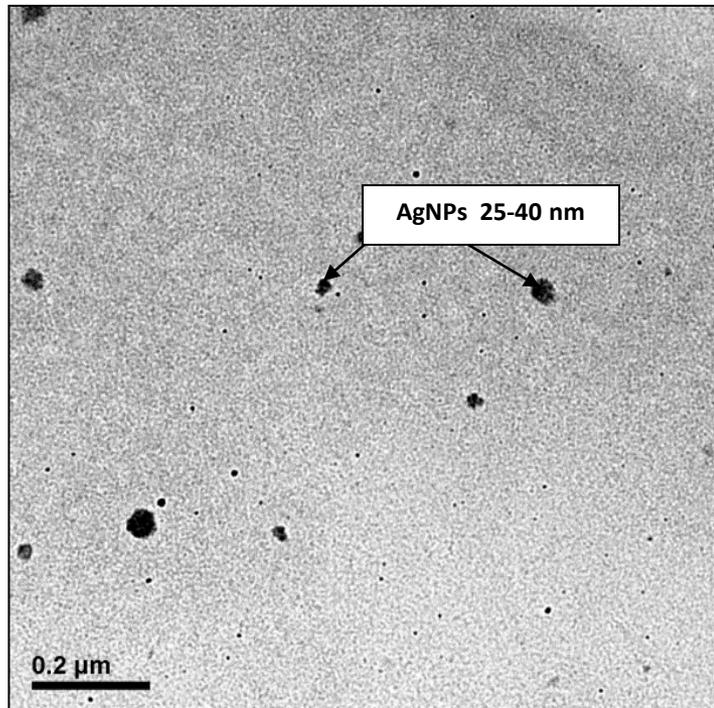


Caso práctico: identificación de AgNPs en células humanas

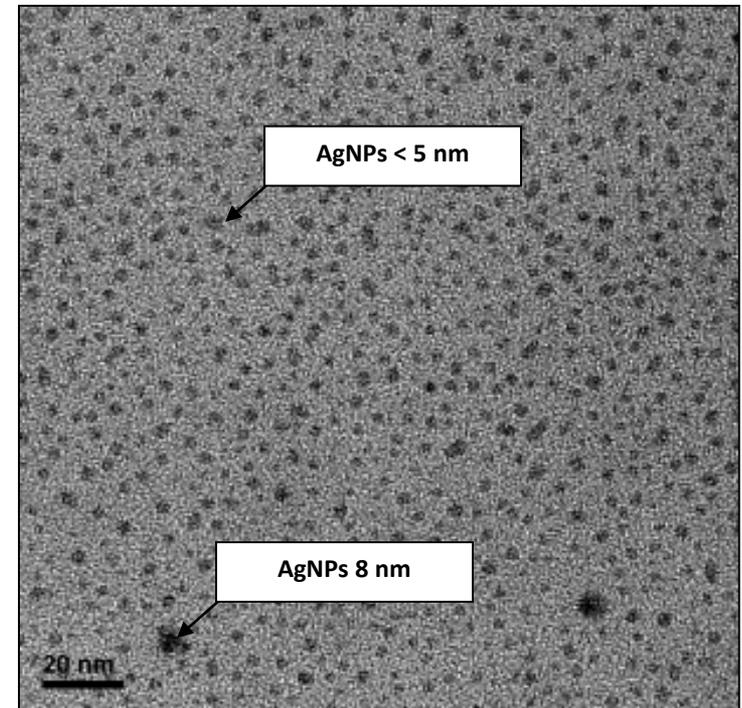
TEM

AgNPs extraídas de células

15000X



1000000X



Caso práctico: identificación de AgNPs en heces



Metallomics

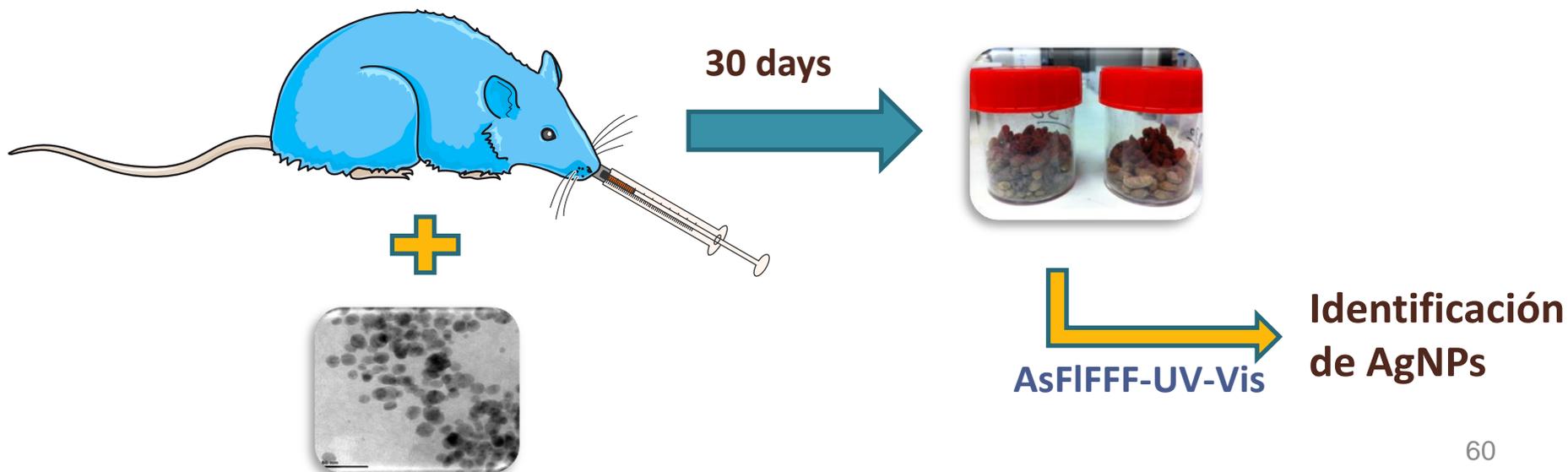
PAPER



Cite this: *Metallomics*, 2014,
6, 2242

An insight into silver nanoparticles bioavailability in rats

Javier Jiménez-Lamana,^{*a} Francisco Laborda,^a Eduardo Bolea,^a Isabel Abad-Álvaro,^a Juan R. Castillo,^a Juliusz Bianga,^b Man He,^b Katarzyna Bierla,^b Sandra Mounicou,^b Laurent Ouerdane,^b Sylvie Gaillet,^c Jean-Max Rouanet^c and Joanna Szpunar^b



Caso práctico: identificación de AgNPs en heces



Contenido total de Ag

| | |
|----------------------------|--------------|
| 30 días | |
| Heces / g Kg ⁻¹ | 16.13 ± 1.33 |

AgNPs o
iones Ag?



Caso práctico: identificación de AgNPs en heces

Preparación de muestra: digestión alcalina

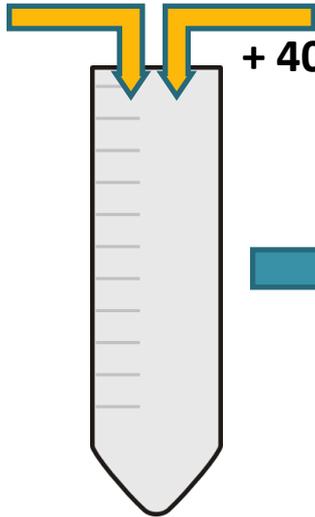


+ 2 mL TMAH (25% w/w)

+ 400 μ L Cisteína (0.5%)

+ Cisteína (0.1%)

+ Triton X-100 (0.05% w/w)



24h



Análisis

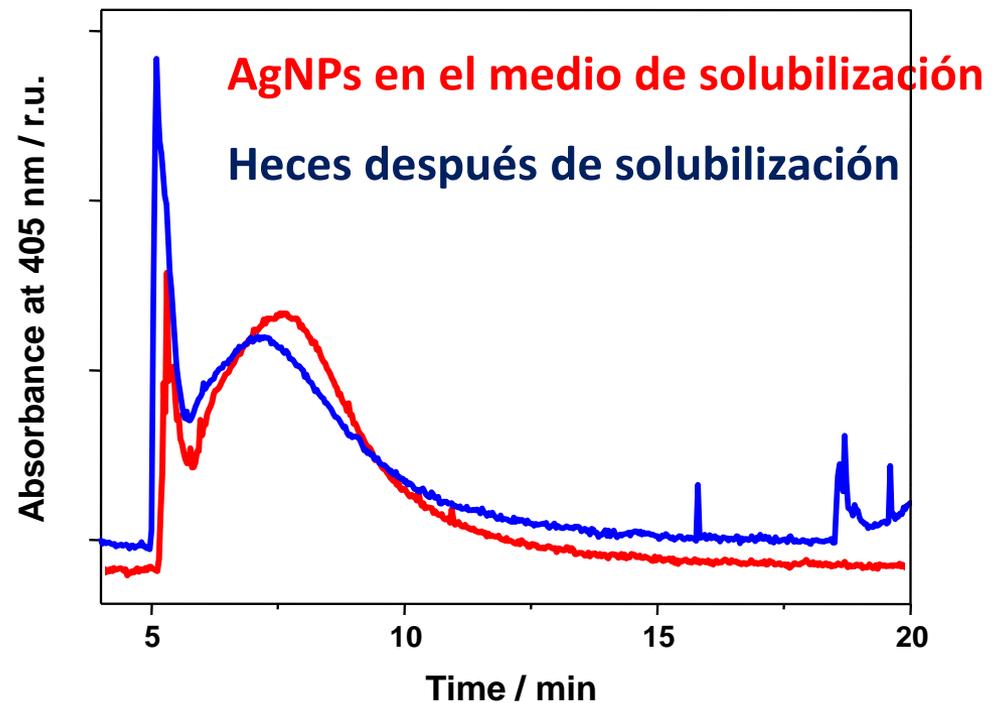
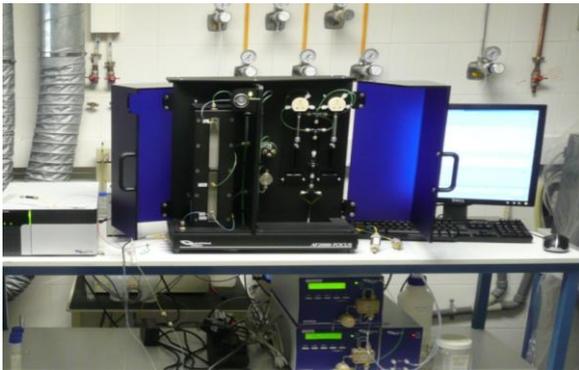


centrifugación

Caso práctico: identificación de AgNPs en heces

AsFIFFF

Uv-Vis



Ag en heces presente en forma nanoparticulada

Caso práctico: caracterización de PtNPs en plantas

Single particle ICP-MS characterization of platinum nanoparticles uptake and bioaccumulation by *Lepidium sativum* and *Sinapis alba* plants

J. Jiménez-Lamana¹, J. Wojcieszek², M. Jakubiak³, M. Asztemborska³, J. Szpunar¹

¹Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement, CNRS-UPPA, UMR5254, Hélio parc, 2, Av. Angot, 64053 Pau, France

²Chair of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Warsaw University of Technology, Poland

³Isotopic Laboratory, Faculty of Biology, University of Warsaw, Warsaw, Poland

Nanopartículas



70 nm

Plantas

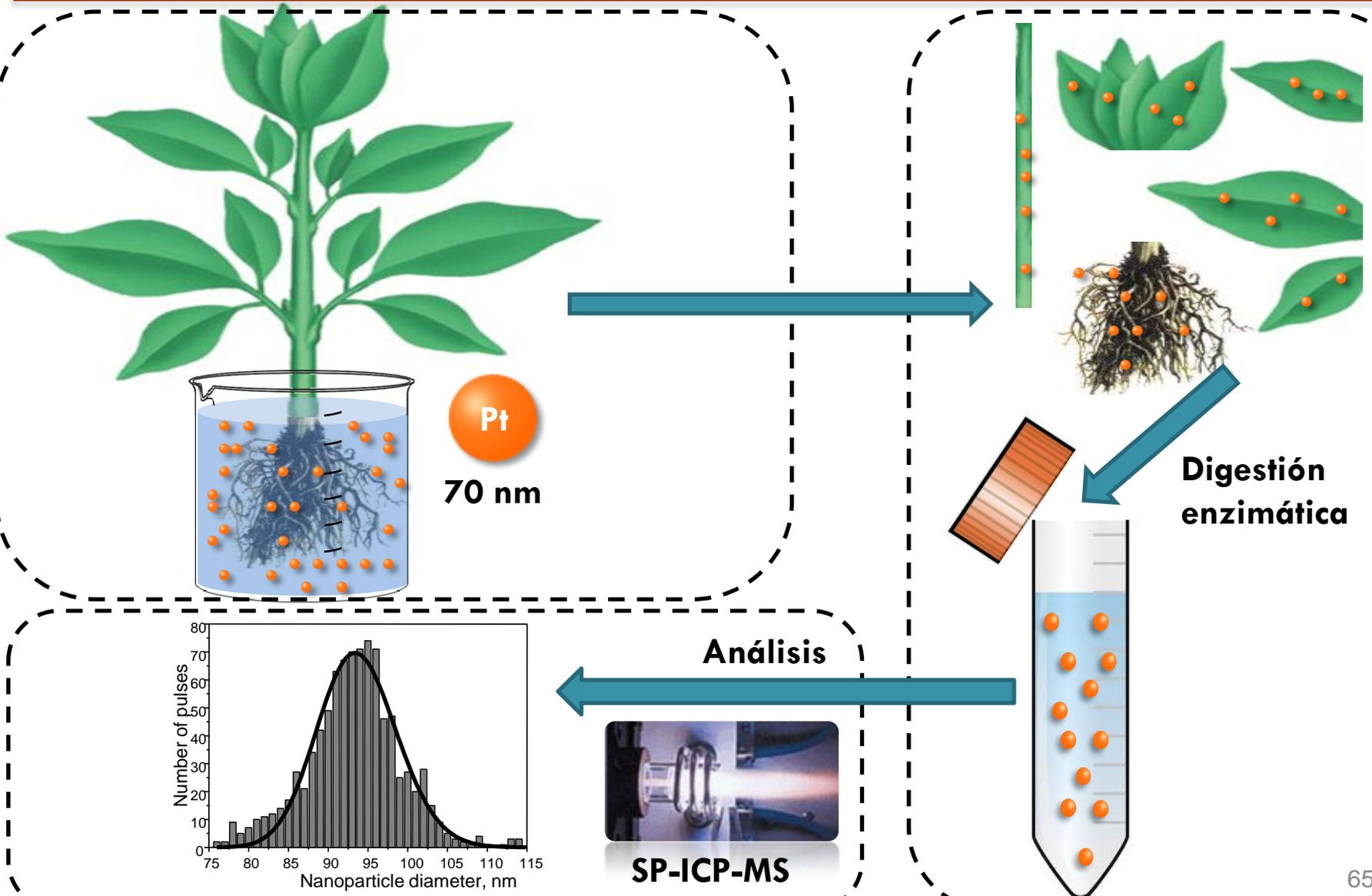


Lepidium sativum



Sinapis alba

Caso práctico: caracterización de PtNPs en plantas



Caso práctico: caracterización de PtNPs en plantas

Preparación de muestra: digestión enzimática



Caso práctico: caracterización de PtNPs en plantas

Digestión enzimática

Optimización

Raíces and brotes of *L. sativum*: número de nanopartículas extraídas

Condiciones finales

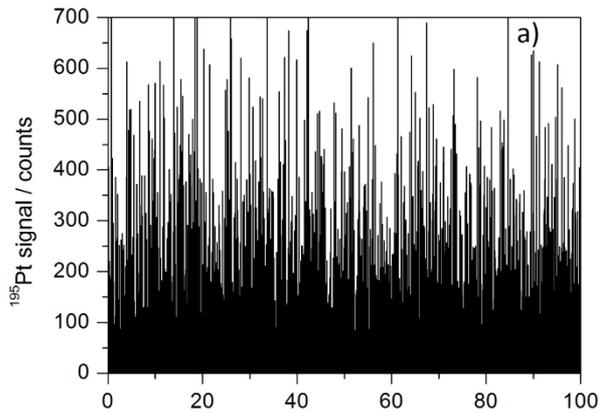
| Factor | Valor óptimo | |
|------------------------|--------------|--------|
| | Brotes | Raíces |
| Cantidad de muestra | 25 mg | 25 mg |
| Cantidad de enzima | 50 mg | 10 mg |
| Potencia de sonicación | 30% | 30% |
| Tiempo de sonicación | 5 min | 5 min |
| Tiempo de incubación | 24 h | 24 h |

Caso práctico: caracterización de PtNPs en plantas

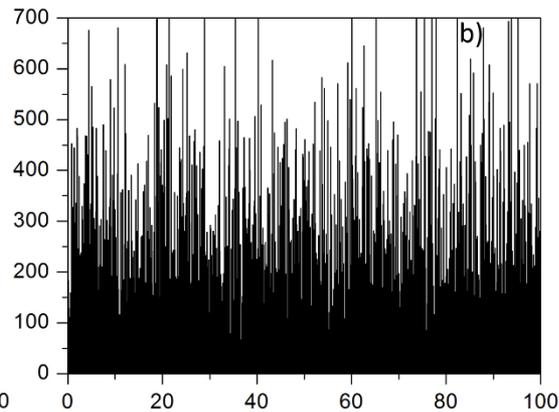
Análisis SP-ICP-MS

Sinapis alba

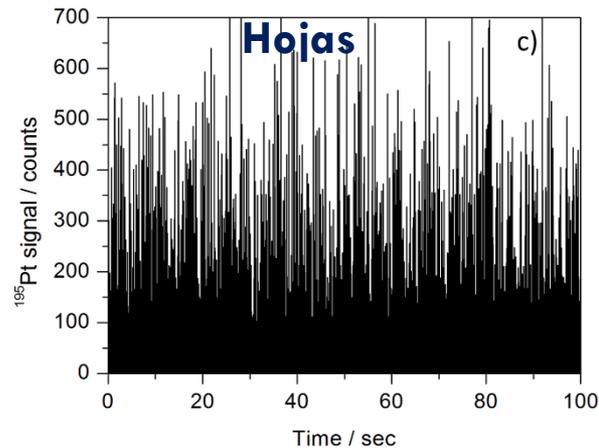
Raíces



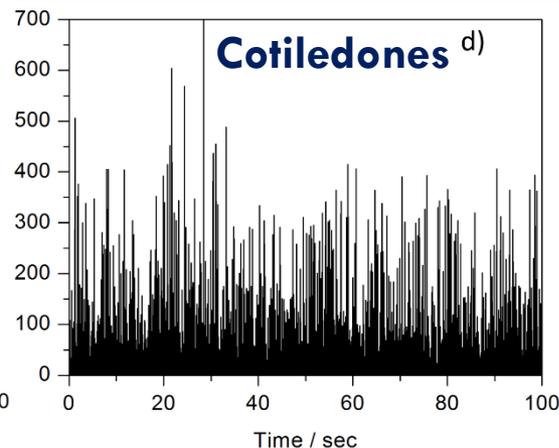
Tallos



Hojas



Cotiledones



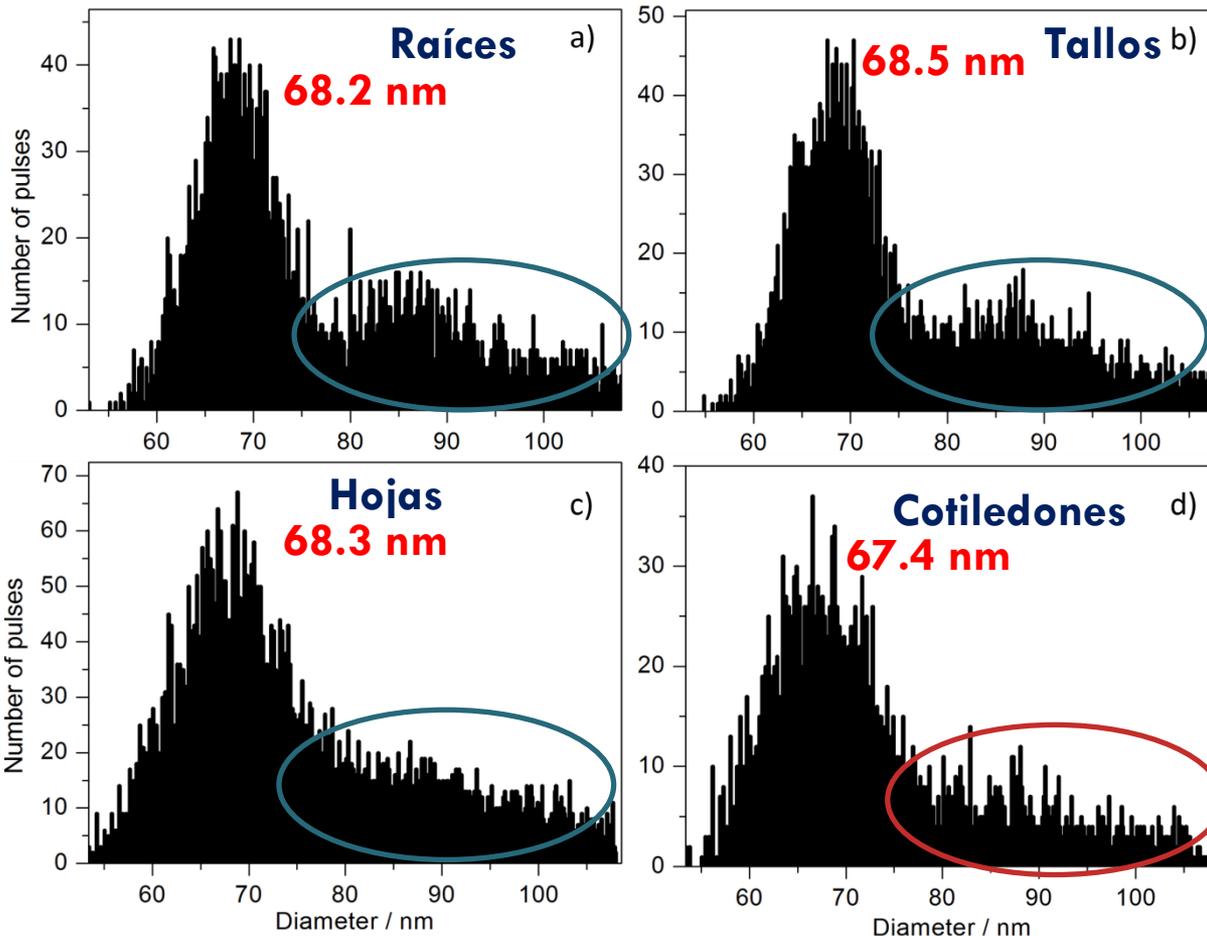
| Muestra | Número de NPs / NP L ⁻¹ |
|---------------|-----------------------------------------|
| Hojas | 5.30×10^8 |
| Cotiledones | 2.85×10^8 |
| Tallos | 3.11×10^{10} |
| Raíces | 6.18×10^{11} |

- Presencia de NPs
- NPs transportadas a todos los órganos de la planta
- Mayor cantidad de PtNPs en raíces

Caso práctico: caracterización de PtNPs en plantas

Análisis SP-ICP-MS

Sinapis alba



NP's transportadas intactas

Aglomeración



No significativa en cotiledones

No hay disolución de PtNPs durante asimilación y transporte

Conclusiones

- **Necesidad de obtener diferentes tipos de información en el análisis de nanomateriales**
- **Enfrentar a muestras muy diversas con características muy diferentes (matriz, concentración...)**
- **Amplio rango de herramientas y técnicas de análisis: dependiendo del tipo de muestra y características**
- **Combinación de diferentes técnicas para obtener toda la información posible**

Agradecimientos

UIMP

Universidad Internacional
Menéndez Pelayo



European
Commission



Instituto Universitario de Investigación
en Ciencias Ambientales
de Aragón
Universidad Zaragoza



GRACIAS POR SU ATENCIÓN



Bibliografía

Bibliografía de interés

- F. Laborda, E. Bolea, G. Cepriá, M. T. Gómez, M. S. Jiménez, J. Pérez-Arantegui, and J. R. Castillo, *Anal. Chim. Acta*, 904 (2015) 10–32
- S. Wagner, S. Legros, K. Loeschner, J. Liu, J. Navratilova, R. Grombe, T.P.J. Linsinger, E.H. Larsen, F. von der Kammer, T. Hofmann, *J. Anal. At. Spectrom.* 30 (2015) 1286-1296
- S. K. Brar and M. Verma, *TrAC Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 4–17
- A. Dudkiewicz, K. Tiede, K. Loeschner, L. H. S. Jensen, E. Jensen, R. Wierzbicki, A. B. a. Boxall, and K. Molhave, *TrAC Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 28–43
- J.A. Gallego-Urrea, J. Tuoriniemi, M. Hassellöv, *TrAC Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 473-483.
- M. Baalousha, B. Stolpe, J.R. Lead, *J. Chromatogr. A*, 1218 (2011) 4078-4103
- F. Laborda, E. Bolea, J. Jiménez-lamana, *Trends Environ. Anal. Chem.* 9, (2016) 15–23
- W. Cheng, R.G. Compton, *Trends Anal. Chem.* 58 (2014) 79-89

Bibliografía

Bibliografía citada en la presentación

- ¹ Y. Dan, W. Zhang, R. Xue, X. Ma, C. Stephan, H. Shi, *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015) 3007–3014
- ² K. Loeschner, J. Navratilova, R. Grombe, T.P.J. Linsinger, C. Kjøbler, K. Mølhav, E.H. Larsen, *Food Chem.* 181 (2015) 78–84
- ³ Y. Dan, W. Zhang, R. Xue, X. Ma, C. Stephan, H. Shi, *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015) 3007–3014
- ⁴ E.P. Gray, J.G. Coleman, A.J. Bednar, A.J. Kennedy, J.F. Ranville, C.P. Higgins, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 14315–14323
- ⁵ J. Jiménez-Lamana, F. Laborda, E. Bolea, I. Abad-Álvarez, J. R. Castillo, J. Bianga, M. He, K. Bierla, S. Mounicou, L. Ouerdane, S. Gaillet, J.-M. Rouanet, and J. Szpunar, *Metallomics*, 6 (2014) 2242–9
- ⁶ V. Nischwitz, H. Goenaga-Infante, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012) 1084-1092
- ⁷ J. Heroult, V. Nischwitz, D. Bartczak, H. Goenaga-Infante, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 3919–3927.
- ⁸ S.M. Majedi, B.C. Kelly, H.K. Lee, *Anal. Chim. Acta*, 789 (2013) 47-57
- ⁹ L. Li, G. Hartmann, M. Döblinger, M. Schuster, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 7317–7323
- ¹⁰ S. Su, B. Chen, M. He, Z. Xiao, B. Hu, *J. Anal. At. Spectrom.* 29 (2014) 444–453
- ¹¹ S.K. Mwilu, E. Siska, R.B.N. Baig, R.S. Varma, E. Heithmar, K.R. Rogers, *Sci. Total Environ.* 472 (2014) 316–323