

# NANOCIÊNCIAS E NANOTECNOLOGIA:

## Pesquisa e Aplicações

Juan Ramón Collet-Lacoste  
(Organizador)



**EDITORA  
ARTEMIS**

2022

# NANOCIÊNCIAS E NANOTECNOLOGIA:

Pesquisa e Aplicações

Juan Ramón Collet-Lacoste  
(Organizador)



**EDITORIA  
ARTEMIS**

2022



O conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons Atribuição-Não-Comercial NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0). Direitos para esta edição cedidos à Editora Artemis pelos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento, desde que sejam atribuídos créditos aos autores, e sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A responsabilidade pelo conteúdo dos artigos e seus dados, em sua forma, correção e confiabilidade é exclusiva dos autores. A Editora Artemis, em seu compromisso de manter e aperfeiçoar a qualidade e confiabilidade dos trabalhos que publica, conduz a avaliação cega pelos pares de todos manuscritos publicados, com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

<b>Editora Chefe</b>	Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira
<b>Editora Executiva</b>	M. <sup>a</sup> Viviane Carvalho Mocellin
<b>Direção de Arte</b>	M. <sup>a</sup> Bruna Bejarano
<b>Diagramação</b>	Elisângela Abreu
<b>Organizador</b>	Prof. Dr. Juan Ramón Collet-Lacoste
<b>Imagem da Capa</b>	Liuzishan/123RF
<b>Bibliotecária</b>	Janaina Ramos – CRB-8/9166

#### Conselho Editorial

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ada Esther Portero Ricol, *Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”*, Cuba  
Prof. Dr. Adalberto de Paula Paranhos, Universidade Federal de Uberlândia  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Amanda Ramalho de Freitas Brito, Universidade Federal da Paraíba  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Clara Monteverde, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Júlia Viamonte, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal  
Prof. Dr. Ángel Mujica Sánchez, *Universidad Nacional del Altiplano, Peru*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Angela Ester Mallmann Centenaro, Universidade do Estado de Mato Grosso  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Begoña Blandón González, *Universidad de Sevilla, Espanha*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carmen Pimentel, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Catarina Castro, Universidade Nova de Lisboa, Portugal  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cirila Cervera Delgado, *Universidad de Guanajuato, México*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Padovesi Fonseca, Universidade de Brasília-DF  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Neves, Universidade Aberta de Portugal  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos, Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof. Dr. David García-Martul, *Universidad Rey Juan Carlos de Madrid, Espanha*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Deuzimar Costa Serra, Universidade Estadual do Maranhão  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dina Maria Martins Ferreira, Universidade Estadual do Ceará  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eduarda Maria Rocha Teles de Castro Coelho, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal  
Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers, Universidade de São Paulo  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhoras, Universidade Federal de Roraima, Brasil



Prof.ª Dr.ª Elvira Laura Hernández Carballido, *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México  
Prof.ª Dr.ª Emilas Darlene Carmen Lebus, *Universidad Nacional del Nordeste/ Universidad Tecnológica Nacional*, Argentina  
Prof.ª Dr.ª Erla Mariela Morales Morgado, *Universidad de Salamanca*, Espanha  
Prof. Dr. Ernesto Cristina, *Universidad de la República*, Uruguay  
Prof. Dr. Ernesto Ramírez-Briones, *Universidad de Guadalajara*, México  
Prof. Dr. Gabriel Díaz Cobos, *Universitat de Barcelona*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Gabriela Gonçalves, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal  
Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointer Malpass, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Gladys Esther Leoz, *Universidad Nacional de San Luis*, Argentina  
Prof.ª Dr.ª Glória Beatriz Álvarez, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina  
Prof. Dr. Gonçalo Poeta Fernandes, Instituto Politécnico da Guarda, Portugal  
Prof. Dr. Gustavo Adolfo Juarez, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina  
Prof.ª Dr.ª Iara Lúcia Tescarollo Dias, Universidade São Francisco, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Isabel del Rosario Chiyon Carrasco, *Universidad de Piura*, Peru  
Prof.ª Dr.ª Isabel Yohena, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina  
Prof. Dr. Ivan Amaro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil  
Prof. Dr. Iván Ramon Sánchez Soto, *Universidad del Bío-Bío*, Chile  
Prof.ª Dr.ª Ivânia Maria Carneiro Vieira, Universidade Federal do Amazonas, Brasil  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz, *University of Miami and Miami Dade College*, Estados Unidos  
Prof. Dr. Jesús Montero Martínez, *Universidad de Castilla - La Mancha*, Espanha  
Prof. Dr. João Manuel Pereira Ramalho Serrano, Universidade de Évora, Portugal  
Prof. Dr. Joaquim Júlio Almeida Júnior, UniFIMES - Centro Universitário de Mineiros, Brasil  
Prof. Dr. José Cortez Godínez, Universidad Autónoma de Baja California, México  
Prof. Dr. Juan Carlos Cancino Diaz, Instituto Politécnico Nacional, México  
Prof. Dr. Juan Carlos Mosquera Feijoo, *Universidad Politécnica de Madrid*, Espanha  
Prof. Dr. Juan Diego Parra Valencia, *Instituto Tecnológico Metropolitano de Medellín*, Colômbia  
Prof. Dr. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*, México  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil  
Prof. Dr. Leinig Antonio Perazolli, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil  
Prof.ª Dr.ª Livia do Carmo, Universidade Federal de Goiás, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Luciane Spanhol Bordignon, Universidade de Passo Fundo, Brasil  
Prof. Dr. Luis Fernando González Beltrán, Universidad Nacional Autónoma de México, México  
Prof. Dr. Luis Vicente Amador Muñoz, *Universidad Pablo de Olavide*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Macarena Esteban Ibáñez, *Universidad Pablo de Olavide*, Espanha  
Prof. Dr. Manuel Ramiro Rodríguez, *Universidad Santiago de Compostela*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Márcia de Souza Luz Freitas, Universidade Federal de Itajubá, Brasil  
Prof. Dr. Marcos Augusto de Lima Nobre, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil  
Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado, Universidade Federal de Sergipe, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Mar Garrido Román, *Universidad de Granada*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Margarida Márcia Fernandes Lima, Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida José de Oliveira, Universidade Federal da Bahia, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Maria Carmen Pastor, *Universitat Jaume I*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Maria do Céu Caetano, Universidade Nova de Lisboa, Portugal  
Prof.ª Dr.ª Maria do Socorro Saraiva Pinheiro, Universidade Federal do Maranhão, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Maria Lúcia Pato, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maritza González Moreno, *Universidad Tecnológica de La Habana*, Cuba  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mauriceia Silva de Paula Vieira, Universidade Federal de Lavras, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Odara Horta Boscolo, Universidade Federal Fluminense, Brasil  
Prof. Dr. Osbaldo Turpo-Gebera, *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*, Peru  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Vasconcelos Almeida, Universidade Federal de Lavras, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Arcoverde Cavalcanti, Universidade do Estado da Bahia, Brasil  
Prof. Dr. Rodrigo Marques de Almeida Guerra, Universidade Federal do Pará, Brasil  
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares, Universidade Federal do Piauí, Brasil  
Prof. Dr. Sergio Bitencourt Araújo Barros, Universidade Federal do Piauí, Brasil  
Prof. Dr. Sérgio Luiz do Amaral Moretti, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Inés del Valle Navarro, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Solange Kazumi Sakata, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo (USP), Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Teresa Cardoso, Universidade Aberta de Portugal  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Teresa Monteiro Seixas, Universidade do Porto, Portugal  
Prof. Dr. Valter Machado da Fonseca, Universidade Federal de Viçosa, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vera Lúcia Vasilévski dos Santos Araújo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil  
Prof. Dr. Wilson Noé Garcés Aguilar, *Corporación Universitaria Autónoma del Cauca*, Colômbia

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

N186 Nanociências e nanotecnologia: pesquisa e aplicações /  
Organizador Juan Ramón Collet-Lacoste. – Curitiba-  
PR: Artemis, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-87396-66-8

DOI 10.37572/EdArt\_290822668

1. Nanociência. 2. Nanotecnologia. 3. Pesquisa. I.  
Collet-Lacoste, Juan Ramón (Organizador). II. Título.

CDD 620.5

**Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166**



## PRÓLOGO

Las propiedades particulares de las Nps, muy diferentes en muchos aspectos a las de sus sólidos masivos, han abierto nuevos campos de estudio e investigación a todo nivel: teóricos y aplicados. Son más inestables que los sólidos masivos de los que se diferencian principalmente por su estructura electrónica que no suele ser continua. Esto es una ventaja a nivel de su reactividad y suelen presentar superficies específicas altas que son muy propicias para los procesos de catálisis, un ingrediente muy importante en los procesos cinéticos. Otra propiedad interesante es que no presentan defectos estructurales en su volumen como vacancias o dislocaciones, a diferencia de sus correspondientes sólidos masivos.

Las presentes monografías forman parte del título: “Nanociências e Nanotecnologia: Pesquisa e Aplicações”. Los artículos están ordenados de lo más general (e.g., producción y caracterización de las Nps) a los relacionados con aplicaciones prácticas (e.g., foto catálisis y a su relación principalmente con aplicaciones de origen biológico).

Estos muestran la potencialidad de las nanotecnologías en la comprensión de nuevas aplicaciones en campos tan variados como la catálisis, fotocatálisis, bio-remediación, contaminantes, ambientes acuáticos, antisépticos, bactericidas, virucidas, compuestos bio-activos, biosíntesis extracelular e intracelular, estudio de suelos, vegetales y probióticos, etc.

Juan Ramón Collet-Lacoste

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

THE FOLLOWING NEW CONSIDERATIONS ON THE FINKE CHEMICAL MECHANISM OF NANOPARTICLE SYNTHESIS FOR TRANSITION METALS

Juan Ramón Collet-Lacoste

Jorge Javier Acosta

Pablo César Favilla

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2908226681](https://doi.org/10.37572/EdArt_2908226681)

### **CAPÍTULO 2.....28**

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE NANOESTRUTURAS DE  $Ce_{1-x}Pr_xO_2$

Ana Cristina Tolentino Cabral

Isabela Cristina Fernandes Vaz

Francisco Moura Filho

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2908226682](https://doi.org/10.37572/EdArt_2908226682)

### **CAPÍTULO 3..... 39**

SÍNTESE E SEPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA USANDO POLIVINILPIRROLIDONA EM DIMETILFORMAMIDA

Celly Mieko Shinohara Izumi

Beatriz Rocha de Moraes

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2908226683](https://doi.org/10.37572/EdArt_2908226683)

### **CAPÍTULO 4..... 49**

REDUÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO VIA RADIAÇÃO IONIZANTE

Solange Kazumi Sakata

Raynara Maria Silva Jacovone

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2908226684](https://doi.org/10.37572/EdArt_2908226684)

### **CAPÍTULO 5..... 61**

APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS E BIMETÁLICAS EM FOTOCATÁLISE

Luelc Souza da Costa

Rômulo Batista Vieira

Diego Rodrigues de Carvalho

Elayne Valério Carvalho

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2908226685](https://doi.org/10.37572/EdArt_2908226685)

**CAPÍTULO 6.....87**

COMPLEX OXIDATION OF TMB CATALYZED WITH PEROXIDASE-LIKE AU NANOPARTICLES

Zhiming Liu

Wenjian Wu

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2908226686](https://doi.org/10.37572/EdArt_2908226686)

**CAPÍTULO 7..... 98**

USE OF NANOPARTICLES IN THE DEGRADATION OF CONTAMINANTS IN AQUATIC ENVIRONMENTS

Janet Jan-Roblero

Juan A. Cruz-Maya

Axel A. Treviño-Trejo

Oliver Navarrete-Godínez

Hugo A. Álvarez-Hernández

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2908226687](https://doi.org/10.37572/EdArt_2908226687)

**CAPÍTULO 8..... 108**

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE CADMIO MEDIANTE UN SISTEMA ACUOSO DE BIOMASA FÚNGICA

Norma Gabriela Rojas Avelizapa

María Oliva Hernández Jiménez

Luz Irene Rojas Avelizapa

Héctor Paul Reyes Pool

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2908226688](https://doi.org/10.37572/EdArt_2908226688)

**CAPÍTULO 9..... 116**

ESTUDIO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE CADMIO OBTENIDAS A PARTIR DE BIOMASA Y EXTRACTOS FÚNGICOS DE *Fusarium oxysporum*

Diana Alexandra Calvo Olvera

José Daniel Aguilar Loa

Norma Gabriela Rojas Avelizapa

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2908226689](https://doi.org/10.37572/EdArt_2908226689)



**CAPÍTULO 10.....126**

ELABORATION OF AN ANTISEPTIC GEL BASED ON BIOACTIVE COMPOUNDS OF *ORIGANUM VULGARE* AND *ALOE VERA* ENCAPSULATED IN SiO<sub>2</sub> Y ZnO-SnO<sub>2</sub> NANOPARTICLES FOR CONTROLLED RELEASE

Guadalupe Luna Cedillo

Francisco Javier Tzompantzi Morales

Sandra Luz Hernández Valladolid

Juan Manuel Padilla Flores

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_29082266810](https://doi.org/10.37572/EdArt_29082266810)

**CAPÍTULO 11.....135**

*Bacillus thuringiensis* AND *Micromonospora echinospora* IN *Lactuca sativa* OPTIMIZE NITROGENOUS FERTILIZER WITH A CRUDE EXTRACT OF CARBON NANOPARTICLES

Juan Luis Ignacio-De la Cruz

Juan Manuel Sánchez-Yañez

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_29082266811](https://doi.org/10.37572/EdArt_29082266811)

**SOBRE EL ORGANIZADOR.....143**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 144**

# CAPÍTULO 1

## THE FOLLOWING NEW CONSIDERATIONS ON THE FINKE CHEMICAL MECHANISM OF NANOPARTICLE SYNTHESIS FOR TRANSITION METALS

Data de submissão: 07/09/2021

Data de aceite: 24/09/2021

### Juan Ramón Collet-Lacoste<sup>1</sup>

Comisión Nacional de Energía Atómica  
U.A.M. Div. Corrosión  
Av. Gral. Paz 1499  
Prov. de Buenos Aires  
San Martín B1650KNA  
Argentina

<https://orcid.org/0000-0003-3720-2231>

### Jorge Javier Acosta

YPF Tecnología S.A  
EE.RR. Av. Del Petróleo S/N  
Prov. de Buenos Aires  
Berisso, B1923  
Argentina

<https://orcid.org/0000-0002-3940-987X>

### Pablo César Favilla

Comisión Nacional de Energía Atómica  
U.A.M. Div. Corrosión  
Av. Gral. Paz 1499  
Prov. de Buenos Aires  
San Martín B1650KNA  
Argentina

[Pablo.Favilla@matthey.com](mailto:Pablo.Favilla@matthey.com)

precursor transition metals is the obtaining of a near monodispersize distribution, even when using different reducing agents, protective agents and conditions. A clear separation between the processes of nucleation and growth of nanoparticles is a necessary condition. This is true for mostly all of the nobler transition metals. The mechanism for different metals differs only in the relative values of the parameters, such as temperature, diffusion coefficients or kinetic constants that lead to the formation of the nanoparticles. The aim of this work is to present certain considerations about the mechanism showing the formation of nuclei is a consequence of the fluctuations in concentration during their formation. These are conditioned by the oxidation state of the metal, the reduction potential and the pH of the solution of synthesis. This work also demonstrates that the standard deviation for the final diameters is a consequence of the spatial distributions of nanoparticles in the solution during the growth and that there is a limit to the largest attainable specific area when using chemical methods.

**KEYWORDS:** Transition metals. Nanoparticles synthesis. Nucleation and growth mechanism. Thermodynamic properties. Low temperature fuel cells.

## 1 INTRODUCTION

In a series of works Finke *et al.* showed the first examples of welldefined compositional

**ABSTRACT:** One of the characteristics of the synthesis of nanoparticles by reduction of

<sup>1</sup> Corresponding author. Tel.: +54 11 67727271. Fax.: +54 11 67727362.

synthesis for the formation of transition metal nanoparticles (NPs) by reduction of precursors. (Aiken et al., 1996; Besson et al., 2005; Hornstein et al., 2004; Özkar et al., 2002a, 2002b; Watzky et al., 2008, 1997; Widegren et al., 2001). The advantage of the Finke *et al.* technique is the monitoring of the total area of the NPs by the decrease in the pressure of hydrogen through the catalyzed reduction of the cyclohexene double bond on its surface.

These results show experimentally that the process is divided into two independent and consecutive steps in the case of systems in which NPs with a near monodispersesize distribution are obtained. Nuclei form in the first step, also called induction period (Özkar et al., 2002b; Watzky et al., 2008), in which no appreciable variation in hydrogen pressure is observed. The second or growth step evolves with a rapid increment of the electrochemically active surface, which results in a large variation in the hydrogen pressure owing to the catalytic effect of the metal. A remarkable fact of NPs synthesis by chemical reduction is that with different metal precursors, solvents, reducers and protective agents, a singularity is achieved: a nearmonodisperse material is always obtained. An example is the wide range of reducing agents that were used: gases such as hydrogen (Watzky et al., 2008, 1997), carbon monoxide (Kopple et al., 1980; Mucalo et al., 1989), formic acid method (H. Liu et al., 2006; Z. Liu et al., 2007; Prabhuram et al., 2003, 2004; Zhou et al., 2003), impregnation method followed by reduction with hydrogen at high temperature (H. Liu et al., 2006), oxidative solvents such as alcohols (Hirai et al., 1978; Roucoux et al., 2002), microwaveassisted polyol (Chu et al., 2010), polyol method (Acosta et al., 2017; Chen et al., 2005; Favilla et al., 2013; Oh et al., 2008; Yano et al., 2007), hydrides or salts such as sodium borohydride (A. B. R. Mayer et al., 1997; Andrea B. R. Mayer et al., 1997; Andrea B.R. Mayer, 1998; Andrea B R Mayer et al., 1998, 2000) or hydrazine, with similar results, i.e. nearmonodisperse NPs.

In order to avoid agglomeration of NPs, protective agents of steric or electrostatic nature can also be used. The steric stabilization is achieved by adding macromolecules such as oligomers and polymers (Evans, D.F., Wennerstrom, 1999; Everett, 1988; Hunter, 1987; Labib, 1988; Napper, 1983; Overbeek et al., 1981; Özkar et al., 2002a; Ross et al., 1988). In the case of the use of polyols as solvents and reducers, Polyvinylpyrrolidone PVP or carbonaceous supports are added, preventing the NPs mobility through the solution and thus hindering coalescence.

The electrostatic stabilization can be achieved using ionic solutions of compounds such as halides, polyoxoanions or carboxylates (Watzky et al., 2008, 1997). The adsorption of these compounds and their related counterions onto the metallic surface create an

electric doublelayer around the NPs generating electrostatic repulsion between them with the same results in all cases: agglomeration is avoided.

This behavior for different synthesis systems shows behind them kinetic and thermodynamic conditions or restrictions, which apply to all these systems. This is, however, only a final empirical consequence of the result. The questions that one asks are what the mechanism of nuclei formation is and what it depends on. The most direct speculation (based on classical chemical kinetics) is that the reducer reduces precursor atoms that then, by some diffusive mechanism, agglomerate to form nuclei. This mechanism is however highly unlikely because it is well known, that no matter how noble the metal is in the massive state, an isolated atom is totally unstable. The experimental measures for Ag (Belloni, 2002; Khatouri et al., 1993) show this instability quantitatively: the oxidation potential for an isolated silver atom is +1.8 V<sub>NHE</sub> at pH 0. This potential makes the metal unstable in water, so a simple coalescence of independent atoms is highly improbable as a mechanism. The formation of nuclei obviously requires a much more complex process.

The aim of this work is to demonstrate that the nucleus formation mechanism is the same for all transition metals and is a consequence of concentration fluctuations that occur in this stage. We will show how this nucleation process depends on the oxidation state of the metal, the pH of the solution and the electrochemical potential of the reducer. We will explain why a standard deviation of the final diameters is generated, and what its relationship to the NPs concentration in the synthesis solution is.

The proposed mechanism works within a range of precursor concentrations called “thermodynamic limit”. The importance of this thermodynamic limit lies in the fact that these are the conditions for which the areas of NPs are the greatest possible that can be obtained from chemical synthesis.

This theory thermodynamically complements the phenomenological theory exposed by Richard Finke *et al.*, hence the title of this work.

## 2 FUNDAMENTAL

### 2.1 THE GENERAL EXPRESSION OF THE MEAN VOLUME AND SPECIFIC AREA

The mean volume of spherical NPs  $\bar{V}_{np}$ , synthesized by chemical methods starting with an initial concentration of precursor  $c_p^i$ , with a final Gaussian distribution of their diameters and with relative standard deviation  $\alpha$ , is expressed by (Favilla et al., 2013):

$$\bar{V}_{np} = \frac{\pi}{6} \bar{d}^3 = \frac{MW}{(1 + 3\alpha^2)\rho_M} \frac{c_p^i}{\rho_{np}} = \frac{N_a a_0^3}{4(1 + 3\alpha^2)} \frac{c_p^i}{\rho_{np}} \quad (1)$$

where  $\bar{d}$  is the mean diameter of Nps, MW is the molecular weight of metal,  $\rho_M$  is the mass density of metal,  $\rho_{np}$  is the density of Nps per unit of volume of synthesis,  $N_a$  is the Avogadro's number and  $a_0$  is the lattice parameter.

The expression of the specific area  $\bar{A}$  as a function of  $\bar{d}$  is, on the other hand, equal to the area of a NPs divided by the product of the density and volume, or:

$$\bar{A} = \bar{A}_{TEM} = \frac{6}{\rho_M} \frac{(1 + \alpha^2)}{(1 + 3\alpha^2)} \frac{1}{\bar{d}} \quad (2)$$

This specific area can be calculated using Transmission Electron Microscopy (TEM), measuring the diameter of the NPs and estimating their mean value  $\bar{d}$  and the relative standard deviation  $\alpha$ . This specific area is hence called  $\bar{A}_{TEM}$ . Replacing the value of  $\bar{d}$  from Eq. (1) into Eq. (2), an expression for  $\bar{A}_{TEM}$  as a function of  $c_p^i$ ,  $\alpha$  and  $\rho_{np}$  is obtained:

$$\bar{A}_{TEM} = \frac{(1 + \alpha^2)}{(1 + 3\alpha^2)^{2/3}} \left( \frac{36 \pi}{MW \rho_M^2} \right)^{1/3} \left( \frac{\rho_{np}}{c_p^i} \right)^{1/3} \quad (3)$$

These expressions are as exact as precise are the measures of parameters they depend on. They are a consequence of a purely geometrical and statistical analysis of the final result of the synthesis. They carry no information on the mechanism itself.

One other thing to take into account is that the three parameters  $c_p^i$ ,  $\alpha$  and  $\rho_{np}$ , on which  $\bar{V}_{np}$  and  $\bar{A}_{TEM}$ , depend, do not have the same physical character. The value of  $c_p^i$  is defined by the experimenter before the test is started, while  $\rho_{np}$  and  $\alpha$  are a consequence of the different processes taking place in the system. The constraints which are observed between these parameters is a consequence of the mechanism and its importance is hence clear.

The mechanical properties of a system (density, concentration, pressure, etc.) are defined from the point of view of statistical thermodynamics, as fluctuations around an average value, due to the corpuscular nature of matter. If the fluctuations are small, the system can be described neglecting them, taking into account only the mean value and its relationships with other mean values. There are however, systems with fluctuations of properties that become important, especially in those systems with complex and irreversible chemical reactions. Concentration fluctuations are the principal cause of the system evolution in the case of NPs synthesis by chemical methods. These fluctuations leave an irreversible and characteristic mark in the system, putting a final thermodynamic limit to the result.

## 2.2 THE DIAMETER DISTRIBUTIONS AND FLUCTUATIONS

In all synthesis of near monodispersesize NPs by chemical methods, the experimental final distribution of the diameters that define  $\alpha$  is always Gaussian independently of the nature of the precursor or the reducer; it is neither the volume nor the mean area of the NPs. The explanation of this Gaussian distribution in the diameters is very simple and given by the growth mechanism. It is a consequence of the corpuscular character of matter, which is the same independently of the nature of the precursor or the reducer. From a phenomenological point of view, NPs growth rate  $v_g$  is completely controlled by precursor diffusion in the solution. Its change of mass  $m_M$  in time is proportional to the local concentration of the precursor at time  $t$  at  $\mathbf{r}$  and to the surface area of the NP ( $A_{np}$ ), which allows us to write:

$$v_g = \frac{dm_M}{dt} = k_c A_{np}(t) c_p(\mathbf{r}, t) = k_c \pi d^2(t) c_p(\mathbf{r}, t) \quad (4)$$

the mass differential is on the other hand equal to:

$$\frac{dm_M}{dt} = \rho_M \frac{dV(t)}{dt} = \rho_M \frac{\pi}{2} d^2(t) \frac{dd(t)}{dt} \quad (5)$$

and by replacing Eq. (5) into Eq. (4) we obtain:

$$\frac{dd(t)}{dt} = \frac{2k_c}{\rho_M} c_p(\mathbf{r}, t) \quad (6)$$

This equation tells us that the variation in diameter during the growth process only depends on the concentration of precursor in the surroundings of the NPs. The concentration defined in Eq. (6), because of its corpuscular nature, is a mean value that suffers variations locally. Its value in different points of the system is a function of the local properties that are not necessarily uniform at that level. In Section 3.1 we will go back to revisit the issue.

## 2.3 THE KINETICS OF NUCLEATION

This section will demonstrate that the formation of nuclei is a consequence of the fluctuations in the concentration independently of the nature of the precursor and the reducer. The phenomenological mechanisms of the formation of nuclei and the mechanism corresponding to the growth process are of a different nature, even when both are consequences of the reduction of the metallic precursor.

Systems that present these two conditions during the synthesis: i) a clear separation between nucleation and growth processes, ii) an inhibition of NP agglomeration, show experimentally that the probability of forming a nucleus is proportional to the square root of the initial concentration of precursor and that the standard deviation of final diameters is proportional to the square root of  $\rho_{np}$ .

These two requisites are what we call the “thermodynamic limit”, i.e. the maximum specific area that can be obtained for that initial condition of synthesis. This requires a continuous environment of initial concentrations and constant conditions (pH, concentration of protective agents, etc.) for which the final resulting NPs mean volume and specific area can be predicted by evaluation of certain parameters of the system.

The close relationship between fluctuations in the concentration and the formation of nuclei was previously discussed. (Turkevich et al., 1953) It had already been speculate that the formation of clusters of several atoms of precursor having enough reduction energy and the necessary spatial distribution (precursor + reducer molecules, called embryos) would irreversibly evolve to a new state: the nucleus. In effect, this dependence of the reduction potential on the number of precursor atoms that form the clusters was experimentally measured for Ag. (Belloni, 2002; Khatouri et al., 1993) His experiments show that the oxidation potential of an isolated atom is  $+1.8 V_{NHE}$ . With the increase in the number of atoms in the clusters, the potential diminishes, being equal to  $0.3 V_{NHE}$  for a cluster of 11 atoms (see Fig. 1 page 383 in Ref. (Belloni, 2002)). We deduce from the graph by Belloni *et al.* that any cluster made up of fewer than eight atoms will be unstable in water at pH=0. Embryos must have a minimum number of precursor atoms (critical number of atoms) to have a negative free energy of reduction that will allow the evolution of clusters into a nucleus.

What and how the structure of an embryo is, is unknown. All that matters is that once it is formed, it is very unstable and will collapse forming a nucleus. In these circumstances, the embryo has the necessary conditions to generate a massive electron exchange between the precursors and the molecules of reducer that form it. This would be a mechanism similar to the one Belloni *et al.* proposes to explain the reduction of grains of silver bromide in photographic films. (Belloni, 2002)(M. Mostafavi et al., 2002)

Fluctuations are events that occur repeatedly, that occur singly (only event to consider at that time) and independently, at instants of time that are random and with different intensities, which means they follow a Poisson statistics with uniform average rate occurrences per time unit. Those fluctuations strong enough to create an embryo with at least a critical number of atoms, or more, will have an average rate  $\lambda_N$  per volume

unit and will irreversibly react to become a nucleus. It is experimentally known that there is an induction time  $t_{\text{ind}}$  before NPs start their growth (i.e. a good separation between nucleation and growth processes). (Watzky et al., 1997) We can say that the value of  $\lambda_N$  equals the final number of NPs per volume unit divided by the induction time:

$$\lambda_N = \frac{\rho_{\text{np}}}{t_{\text{ind}}} \quad (7)$$

This process is characterized by its average rate  $\lambda_N$ , just as all Poisson processes are, but this tells us nothing about what those “positive” fluctuations depend on, those fluctuations strong enough to form a nucleus because of their thermodynamic conditions.

The concentration fluctuations in the solution at a given point  $\mathbf{r}$  are expressed by the difference:

$$\delta c_p(\mathbf{r}) = c_p(\mathbf{r}) - c_p^i \quad (8)$$

These fluctuations will be centered around  $c_p^i$  and their standard deviation will be equal to: (Keizer, 1982, 1987a, 1987b; Landau et al., 1988; Molski, 1996)

$$\sigma_c = \sqrt{\langle \delta c_p(\mathbf{r}) \delta c_p(\mathbf{r}') \rangle} \approx (c_p^i)^{1/2} \delta_D(\mathbf{r} - \mathbf{r}') \quad (9)$$

“Positive” fluctuations will therefore be proportional to  $\sigma_c$  giving an amount of formed nuclei per unit of volume  $\rho_{\text{np}}$  proportional to  $\sigma_c$ , allowing us to write:

$$\rho_{\text{np}} = k_{\text{np}} (c_p^i)^{1/2} \quad (10)$$

the parameter  $k_{\text{np}}$  being a constant that depends on the properties of the synthesis system in question. We must consider that during induction time, the concentration of the formed nuclei, consisting of a few atoms, is several orders of magnitude smaller than the precursor concentration. It can thus be considered that during nucleation, the precursor concentration is always equal to  $c_p^i$ .

Introducing Eq. (10) into (1) we obtain expression:

$$\bar{V} = \frac{\pi}{6} \bar{d}^3 = \frac{\text{MW}}{(1 + 3\alpha^2)\rho_M k_{\text{np}}} (c_p^i)^{1/2} = \frac{N_a a_0^3}{4(1 + 3\alpha^2) k_{\text{np}}} (c_p^i)^{1/2} \quad (11)$$

The verification of this relationship is a necessary and sufficient condition for the system to be in the thermodynamic limit.



### 3 EXPERIMENTAL

The NPs were prepared using the modified polyol method.(Chen et al., 2005) The precursor was Platinum (VI)  $H_2PtCl_6$ , Palladium (II)  $PdCl_2$  and Rhodium (III)  $RhCl_3$ . The solvent and reducing agent was an ethylene glycolwater solution (volume ratio 3:1). Catalysts were prepared with a protecting agent PVP to prevent aggregation of NPs. The amount of PVP added to the solution was measure in relation to metal quantity, the molar ratio used was PVP/metal 0.1 (referred to monomer unit of PVP). The support for all catalysts was carbon black powder (Vulcan XC72R, Cabot international) with area BET  $250\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ , in general added before begging the synthesis. Taking into account the precursor initial concentration, the amount of Vulcan XC72R is the necessary to obtain X% metal nominal loads (define as the weight percentage of metal in the catalyst consisting of metal and carbon).

Different studies of the variation of mean volume with different initial concentrations of precursor done by us for Pt, Pd and Rh are presented in this section.

Figure 1 shows the results obtained for the synthesis of Pd NPs at pH 12 in Ref. (Acosta et al., 2017) and pH 6 which follow Eq. (11). For the case of the synthesis at pH 12 and from the slope between 0.5 and 6 mM, a value for  $k_{np}$  of  $3.71\pm 0,06)10^{17}$  Part. moles $^{-1/2}\text{ cm}^{2/3}$  was calculated. At values of  $c_p^i$  below 0.5 mM there is a deviation from this behavior. The increase in the mean volume means a decrease in the value of  $\rho_{np}$  with respect to the one predicted by Eq. (10) which is caused by a not so net separation between nucleation and growth processes. We discuss this at the end of Section 3.3.

In the case of the synthesis at pH 6, a good correlation is observed. A  $k_{np}$  of  $2.5\pm 0,1)10^{17}$  Part.moles $^{-1/2}\text{ cm}^{2/3}$  was calculated.

Fig. 1. Relationship between the mean volume of Pd NPs and  $(c_p^i)^{1/2}$  (initial pH for synthesis: pH 12 and pH 6). Red dots mark the data that are away from the thermodynamic limit.

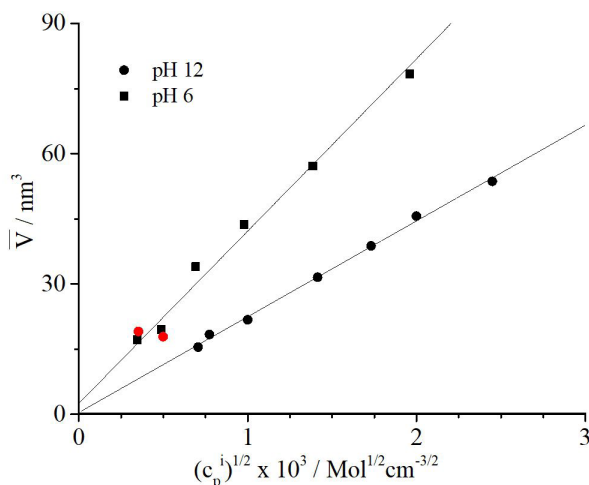


Figure 2 shows the results obtained for Rh NPs synthesis at an acid pH. A good correlation is observed up to 1.6 mM, which validates Eq. (11). The value at 3.6 mM shows an increase in the mean value ( $65.4 \text{ nm}^3$ ) with respect to the one that the equation predicts ( $40.8 \text{ nm}^3$ ). This difference can be attributed to an important coalescence of nuclei during nucleation which reduces the final number of NPs and the value of  $\rho_{\text{np}}$ . We discuss this at the end of section 3.3 as well. The value for  $k_{\text{np}}$  in Rh obtained from the slope is  $4.5 \pm 0.3)10^{17} \text{ Part. mol}^{-1/2} \text{ cm}^{2/3}$ .

Figure 3 shows the results obtained for Pt NPs synthesis at an acid pH. This graph also shows a linear correlation for  $c_p^i$  values below 2 mM, which is again in accordance with Eq. (11). As is the case for Rh, values above 2 mM show the nuclei coalescence during nucleation and a sharp decrease in the value of  $\rho_{\text{np}}$ . An experimental value for  $k_{\text{np}}$  below 2 mM is obtained from the slope that equals  $8.5 \pm 0.5)10^{17} \text{ Part. mol}^{-1/2} \text{ cm}^{2/3}$ .

Fig. 2. Relationship between the mean volume of Rh NPs and  $(c_p^i)^{1/2}$ . The red dot marks a datum that is away from the thermodynamic limit.

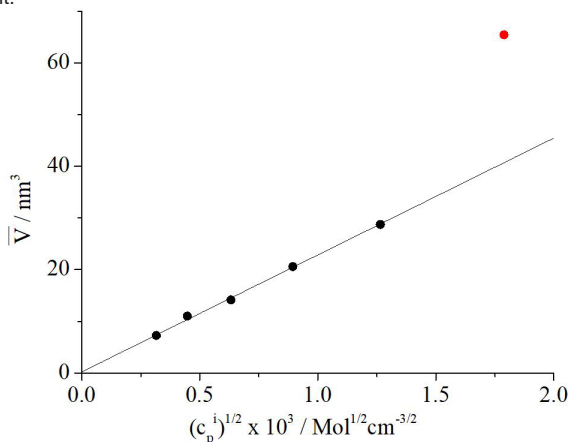


Fig. 3. Relationship between the mean volume of Pt NPs and  $(c_p^i)^{1/2}$ .

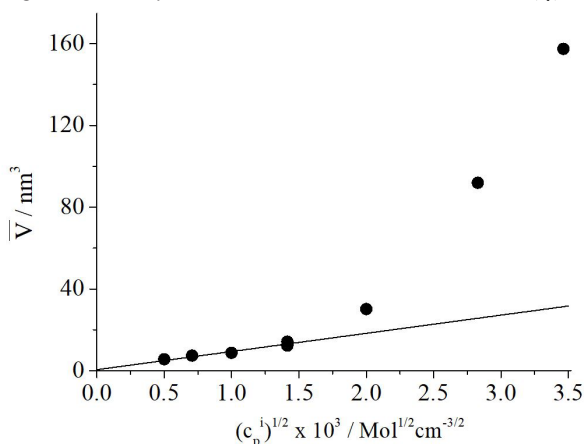
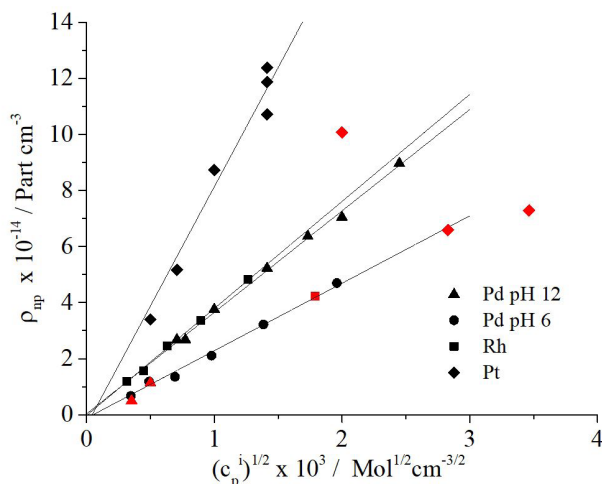


Figure 4 depicts a graph of  $\rho_{np}$  as a function of  $(c_p^i)^{1/2}$ . The values of  $\rho_{np}$  were obtained applying Eq. (1) from the calculated values of  $\bar{v}_{np}$  and  $\alpha$  obtained from the histograms of the diameter distribution. Results show a linear proportionality within the limits of the thermodynamic limit as is predicted by Eq. (10). The value  $\rho_{np}$  for all tests outside this limit is always inferior to the one Eq. (10) predicts (i.e. see red points in Fig. 4).

Fig. 4. NPs density in solution as a function of  $(c_p^i)^{1/2}$ . Red dots mark the data that are away from the thermodynamic limit.



### 3.1 THE RELATIONSHIP BETWEEN THE STANDARD DEVIATION OF THE FINAL DIAMETER $\sigma_d$ AND $\rho_{np}$

In Section 2.2 we showed that the experimental final distribution of the diameters is always Gaussian independently of both the precursor and the reducer nature. Equation (6) predicts that the variation of the diameter during growth is only a function of the local concentration of the precursor. As Finke *et al.* demonstrated, growth involves a fast surface autocatalytic reaction and is therefore completely controlled by diffusion of the precursor towards the NP. (Aiken *et al.*, 1996; Besson *et al.*, 2005; Hornstein *et al.*, 2004; Özkar *et al.*, 2002a, 2002b; Watzky *et al.*, 2008, 1997; Widegren *et al.*, 2001) If NPs were homogeneously distributed in the solution they would be indistinguishable, each NP having the same environment. In this hypothetical case, the observer would see that at the end of the synthesis all NPs would have the same diameter. The value of  $\rho_{np}$  is a mean value, as is  $c_p^i$  which means that there exists a local variation  $\rho_{np}(\mathbf{r})$  due to its corpuscular character. These local variations are very small and can be considered as independent from each other. This explains why the distribution function for the probability of measuring a given local concentration is Gaussian and centered round the mean value  $\rho_{np}$ .

The dispersion of this distribution can be characterized completely using the standard deviation  $\sigma_p$  (Landau et al., 1988) that equals:

$$\sigma_p = \sqrt{\langle \delta \rho_{np}(\mathbf{r}) \delta \rho_{np}(\mathbf{r}') \rangle} \approx (\rho_{np})^{1/2} \delta_D(\mathbf{r}-\mathbf{r}') \quad (12)$$

where  $\delta_D$  is an impulsive function or Dirac's delta. We developed a qualitative explanation for this mechanism in Ref. (Acosta et al., 2017).

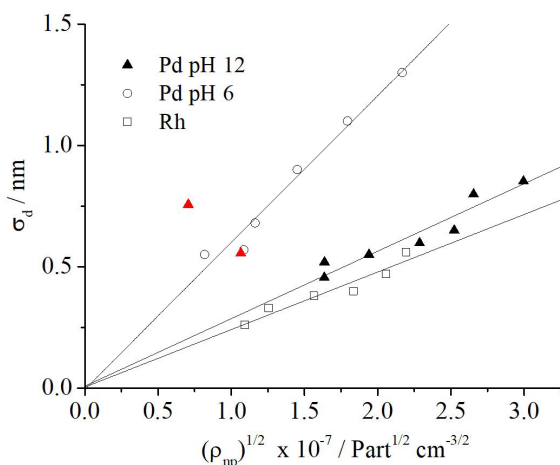
Given that the standard deviation of the diameters  $\sigma_d$  depends only on the local concentration of the precursor in the neighborhood of the NPs, that this concentration depends on the spatial distributions of NPs in the solution and that both distributions are Gaussian, we have that  $\sigma_d$  is proportional to  $\sigma_p$ . So using Eq. (12) we obtain:

$$\sigma_d = k_\sigma (\rho_{np})^{1/2} \quad (13)$$

Figure 5 shows the graph of values of  $\sigma_d$  obtained from the analysis of TEM micrographs versus the square root of  $\rho_{np}$ . Data obtained on Pt in the zone of the thermodynamic limit (i.e. below to 2 mM) have not been shown since the values of  $\sigma_d$  are practically independent from  $\rho_{np}$ , and NPs are much more numerous than in the other metal cases studied, making it difficult to determine their number because of the superimposition of NPs in the TEM micrographs.

Although we observe dispersions, the three cases in the graph show a good correlation and verify Eq. (13). Data, although there are different slopes, tend to converge to the origin, as this equation predicted.

Fig. 5. Standard deviation of the diameters as a function of the square root of the density of NPs. Red points show data that are away from the thermodynamic limit.



The following values of  $k_g$  were obtained from the slopes of the curves in Fig. 5:  $6.1 \pm 0.5)10^{-8}$  for Pd at pH 6,  $2.8 \pm 0.2)10^{-8}$  for Pd at pH 12 and  $2.4 \pm 0.2)10^{-8}$  for Rh in acid media (in Part:  $^{-1/2} \text{ nm cm}^{3/2}$ ).

### 3.2 ON THE SIZE OF THE NUCLEI AND THE NUCLEATION RATE

The experimental results of Belloni *et al.* for Ag (Belloni, 2002; Khatouri et al., 1993) show that the smaller the amount of atoms in a nucleus, the lesser noble the metal is. There is a minimum number of atoms, below which nuclei are unstable. This thermodynamic consideration allows us to define a critical or thermodynamic number of atoms over which nuclei are stable.

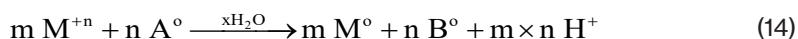
Considering the validity of the microreversibility principle or detailed equilibrium (De Groot et al., 1984) but from the point of view of the genesis or formation of nuclei, no nucleus will form unless the embryo formed during the fluctuation contains this minimum number of atoms.

From the electrochemical point of view, this number of atoms above which nuclei are stable also depends on the oxidation potential of the reducer. It can be stated from the chemical instability of the process or its spontaneity (i.e. GibbsDuhem  $\Delta G_{T,P} < 0$ ) that any embryos that have this number of atoms or more, are thermodynamically unstable and irreversibly become nuclei. This concept is what defines the critical formation diameter in this type of nucleation.

La Mer and Dinegar's model for the formation of colloids in over saturated solution states that the critical diameter surges from a compromise between the surface energy, depending on the area, and the value of the free energy of formation of a nucleus, depending on the embryo volume. (LaMer et al., 1950) It has been nevertheless shown that when nuclei are formed by reduction of transition metals, the critical diameter depends on the free energy for reduction in the cluster. The processes are different, hence different concepts of critical diameters in both cases.

If the precursor solution has its temperature and pressure well below the values for synthesis, the system is in a nonequilibrium state. Its kinetics is very slow because those concentration fluctuations that can lead to nuclei formation are negligible. At the temperature for synthesis, the frequency of the fluctuations become high enough to irreversibly take the system to the final state.

The global reaction of this process can be written as:



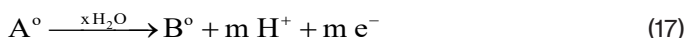
We have to take into account that the initial process (precursor + reducer solvent) is far from equilibrium, so the initial rate of the chemical reaction  $v$  does not depend on its chemical affinity (Glansdorff et al., 1971) and is:

$$v = \bar{k} a_{M^{n+}}^m a_{A^0}^n \quad (15)$$

This condition makes it impossible to define a thermodynamic potential for the initial process, but it is possible to define a local thermodynamic potential in which the Gibbs equation based on the local equilibrium hypothesis is assumed to be valid for each volume differential. This is the fundamental hypothesis on which all the theory of irreversible processes is based. Next, a generic expression of  $\Delta G$  for the formation of a metallic nucleus will be given, taking into account the oxidoreduction reactions for a system close to equilibrium and that as the  $\Delta G$  is an extensive property, the expression will be valid in a point or spatial volume differential. We thus have in generic form for the reduction of the metal, that:



This reduction is associated with the oxidation of the reducer that can be either added externally or, in the case of alcohols and polyols, is the solvent itself, so in general it can be written that:



It has been here assumed that the solvent (compound  $A^0$ ) also fulfills the function of a reducer decomposing into another compound  $B^0$  that in turn generates protons to the medium consuming water. In the case of ethylene glycol,  $A^0$  is the ethylene glycol and  $B^0$  the glycolic or oxalic acid. This reaction is very general, for example, the reducer might not consume water and its reaction might be independent of the pH, as for example the couples,  $Sn^{+2}/Sn^{+4}$  and  $Ce^{+3}/Ce^{+4}$ , or producing well reducing free radicals by radiolysis with  $\gamma$  rays. (Mehran Mostafavi et al., 1990; Torigoe et al., 2002)

Considering these two hemi reactions,  $\Delta G$  equals:

$$\Delta G = -n \times m F (E_{red}^{M^{+n}/M^0} - E_{red}^{A^0/B^0}) \quad (18)$$

where F is the Faraday constant and,

$$E_{\text{red}}^{M^{+n}/M^0} = E_{\text{red},M} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{M^0}}{a_{M^{+n}}} \quad (19)$$

$$E_{\text{red}}^{B^0/A^0} = E_{\text{red},B} - \frac{RT}{mF} \ln \frac{a_{A^0}}{a_{B^0} (a_{H^+})^m} \quad (20)$$

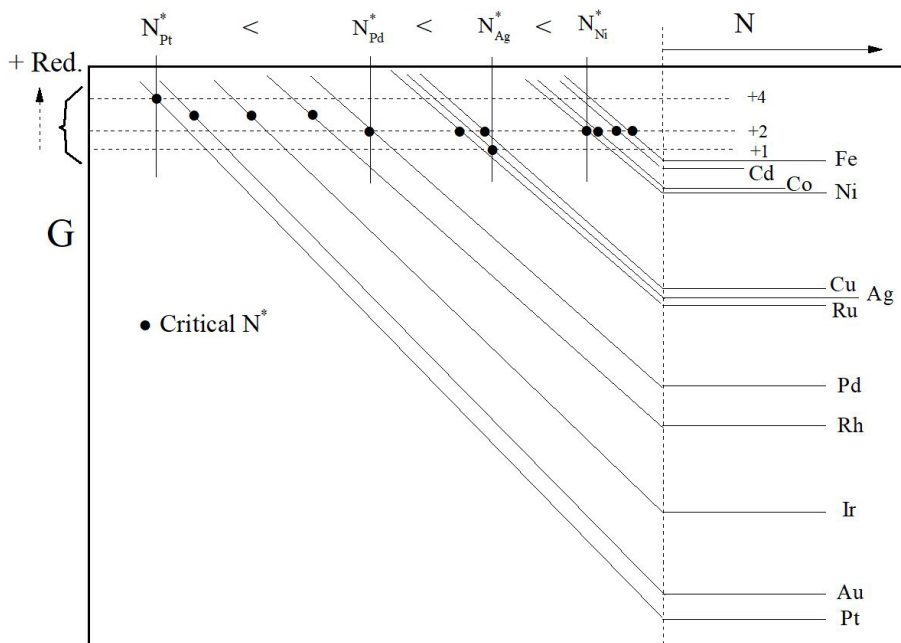
Introducing these two last equations into Eq. (18) and ordering the final expression we obtain that:

$$\Delta G = \Delta G^0 - n \times m \cdot 2.303 RT \text{ pH} + RT \ln \frac{(a_{B^0})^n}{(a_{A^0})^n} + RT \ln \frac{(a_{M^0})^m}{(a_{M^{+n}})^m} \quad (21)$$

Figure 6 shows a schematic representation of the free energy for different metals as a function of the number of atoms N that constitute the nucleus. For a given metal and value of N, the  $\Delta G$  of these nucleus equals the difference between the free energies defined by the full line for N and the one given by the horizontal dotted lines, each depending on the oxidation number of the metallic precursor, on the electrical potential of the reducing agent and in certain cases, on the pH.

The  $\Delta G$  can be divided into four terms. Considering one predetermined reducing agent, the first term of Eq. (21) is always a negative value (i.e. the nobler the metal, the more negative it is). The second term takes into account the pH of the solution and is related to the electrical potential of the reducer if it generates protons during the reaction; it is more negative the higher the pH. In this case the basic pH favors the reaction. The third term is the relationship between the activities of the oxidized and reduced species of the reducer and can be considered almost constant given the high concentration of the solvent  $a_{A^0}$  in the embryo and the amount of oxidized product  $a_{B^0}$ . This share is considered in the dotted lines in Fig. 6. The position of the dotted stripes depends on the reducing power of the reducer and on the pH; they are more positive the higher the reducing power and the higher the pH (this effect is symbolized in Fig. 6 by the dotted arrow in the upper left margin). The last term is the relationship between the activities of the metal in solution and the concentration of the precursor. It depends on the concentration of atoms of the precursor that constitute fluctuation  $a_{M^{+n}}$  and on the activity of the solid  $a_{M^0}$  that is highly dependent on the critical number of atoms in the nucleus. The oblique lines in the scheme in Fig. 6 represent this variation.

Fig. 6. Scheme of the variation in free energy as a function of the amount of atoms that constitute the NPs for different metals. ● Values of the critical  $N^*$  for different metals and for the same reducer (horizontal dotted line).



All solutions with embryos produced by the fluctuation with  $N$  number of atoms of precursor above the black dots in Fig. 6 will have  $\Delta G > 0$  and will therefore not transform into metallic nuclei. On the contrary, all those embryos with  $N$  precursor atoms that have  $\Delta G < 0$  will be unstable and transform spontaneously into metallic nuclei.

The black dots correspond to the number of atoms in the minimum embryo ( $N^*$ ) that are required to have a negative value for  $\Delta G$ , i.e. the critical  $N^*$ .

The variation of the free energy of the metal with the number of atoms of the embryo  $N$  in the scheme (that is, the oblique lines), is an approximate value given that the exact variation in the free energy as a function of the number of atoms of the NP is unknown. This approach is good enough to justify, however, many of the experimental facts observed in the synthesis of NPs about the size of nuclei and their rate of formation. Belloni's data for Ag show a relationship between the electric potential (a relative measure of the free energy) and the number  $N$ , very similar to those in Fig. 6. See Fig. 1 page 383 in Ref. (Belloni, 2002).

Experiment show, there is an inverse relationship between the rate of nucleation and the critical size of nuclei. The smaller the critical number of atoms  $N^*$  for the formation of the nucleus the more likely it is to form, thus increasing the rate of nucleation which



ultimately translates into an increase in the final density of NPs in solution. So metals that have statistically large values of  $N^*$  will form fewer nuclei during the induction time and will increase their diameters during the growth process (i.e. for the same initial concentration there will be fewer nuclei to share what is left of the precursor in solution).

Some useful concepts follow from the energetic scheme in Fig. 6, which are useful to interpret the experimental data observed for certain precursor:

- The nobler the metal, the smaller  $N^*$  tends to be.
- When the reducer produces protons, as is the case with polyols, nuclei will be smaller the higher the oxidation number of the precursor and the amount of protons produced in the reduction.
- For the same conditions, if the reducer produces protons, basic media will yield smaller NPs.

This model predicts several results present in literature, as the following examples show. We find that noble metals such as Au, Pt and Ir usually form high density nanometric colloids very easily, made up of monodisperse NPs with mean diameters between 1 and 4 nm. (Favilla et al., 2013; B. H. Kim et al., 2014) It is well known how simple it is to make nanometric colloids of Au. (Luo, 2007; Peng et al., 2008; Turkevich et al., 1951, 1953)

The data reported on Table 1 in Ref. (Watzky et al., 2008), show a very close value in the mean diameter (i.e. 2.1 nm) for nine synthesis of Ir NPs with different precursors. This shows that within the experimental error  $\rho_{np}$  is similar in their nine synthesis using different precursors but the same reducer and  $c_p^i$  (i.e. 1.2 mM). The formation of nuclei does not depend on the initial chemical composition of the precursor or on the metal complexes it might form in the solution.

The synthesis of Ag NPs using  $AgNO_3$  as the precursor yields NPs that are much bigger than the ones obtained for Pd under same conditions and with greater a dispersion in their diameters as well. In this case the oxidation number of the metal is I, the mean diameters obtained are of 1750 nm. (Hei et al., 2010; D. Kim et al., 2006; Yan et al., 2011)

In the work by Zhao *et al.*, the synthesis were carried out at pH 10 by the addition of ammonia, in order to obtain smaller mean diameters. The argument given by the authors is that complex  $Ag(NH_3)_2^+$  is more difficult to reduce than  $Ag^+$ . (Hei et al., 2010) This argument is contrary to the theory stated in this work because, if the complex were more difficult to reduce, NPs would have a bigger mean diameter given that, statistically, fewer nuclei would form. As previously noted, the measurements by Finke *et al.* in Ir (Watzky et al., 2008) show that the formation of nuclei is independent of any possible metal complexes in

the synthesis solution. The experiment shows how important the solution pH is: ammonia is a base that increases the initial pH.

The results for Pd at different pH values in Ref. (Acosta et al., 2017) clearly show that NPs are much smaller in a basic medium ( $\approx 4$  nm) than in an acidic medium ( $\approx 18$  nm).

Ionizing radiation generates free radicals that are very reducing and allow the formation of very small aggregates that are not formed by conventional chemical methods. In the case of Ag, the data obtained by Belloni *et al.* by  $\gamma$ -irradiation of solutions containing Ag and polyacrylate ions are conclusive, with the formation of aggregates of less than ten atoms stabilized by the polyacrylate. (Mehran Mostafavi et al., 1990)

One other interesting experiment result that matches this theory is the synthesis of NPs with Rh and Ag in the same solution. (Torigoe et al., 2002) In the case of these two metals no alloys are formed, fact that is explained by considering the big difference in the lattice parameters they have. It has also been observed that the ions of Rh do not adsorb on the aggregates of Ag and vice versa. Rh and Ag form isolated pure aggregates. This experiment yielded pure Ag NPs of diameters between 15 and 20 nm with a smaller NP density than Rh, which had a mean diameter of 1.52 nm, result that matches qualitatively what the diagram in Fig. 6 predicts.

In the case of syntheses by the polyol method for Ni and Co NPs, Fievet *et al.* obtain NPs larger than a micron. When they add a precursor in low concentrations such as Ag or Pd, to attain heterogeneous nucleation, they obtain NPs smaller than the micron and monodisperse. (Fievet et al., 1989) The explanation is that Ag and Pd form many more nuclei that will grow from the metal (i.e. core-shell type growth).

In the case of Cu, using polyol method in the presence of PVP, Park *et al.* obtain 45 nm in diameter NPs (Park et al., 2007), similar in size to those obtained with Ag (Hei et al., 2010; D. Kim et al., 2006; Yan et al., 2011), as the diagram in Fig. 6 predicts. With an increase in the reducing power of the solution, the synthesis of Cu NPs with  $\text{NaBH}_4$  in presence of PVP produced NPs of a mean diameter of 7 nm. (Aguilar et al., 2019) Silver, nobler than Cu, should generate smaller NPs, but this effect is compensated by the influence of the oxidation state of the precursor, II for Cu and I for Ag, thus generating NPs of similar mean diameter (see Fig. 6).

Bibliography shows the difficulty that exists for the syntheses of NPs in Ni. This is in accordance with what this work predicts in Fig. 6 for the value of  $N_{\text{Ni}}^*$ . Couto *et al.* made tests starting from  $\text{NiCl}_2$  dissolved in ethylene glycol. (Couto et al., 2007) They observed no formation of NPs in these conditions, even when they carried out the reaction at a high temperature. When they added  $\text{NaBH}_4$  they obtained NPs with mean diameters

between 3.47.7 nm depending on the amounts of PVP added. Wu and Chen obtained Ni monodispersed NPs of a mean diameter of 9.2 nm without protective agent, through the hydrazine reduction of NiCl<sub>2</sub> in ethylene glycol in the presence of appropriate amounts of NaOH. (Wu et al., 2003) The reducing power of NaBH<sub>4</sub> is well known and is higher than that of hydrazine. Great quantity of nuclei form in this case because the reduction potential of the reducer is strongly augmented. This is equivalent to increasing the value of the dotted lines in Fig. 6. The stronger the reducing power, the smaller the NPs (3.47.7 nm with NaBH<sub>4</sub> and 9.2 nm with hydrazine). These results match what Blossi *et al.* obtained when synthesizing Ni NPs in ethylene glycol with PVP and dodecylamine (DDA) as steric protectors by heating in a microwave oven to get NPs with final diameters larger than 80 nm. (Blossi et al., 2013)

This theory explains why it is important that the electrical reducing potential be high, because it increases the probability of nucleus formation and hence, the nucleation rate during induction time. It also shows there is a compromise between the specific area and the corrosion of NPs. The smaller the NPs the easier they oxidize and the more unstable the catalyst results. This is one of the problems present in fuel cells when their durability is concerned and sets a limit to the maximum specific area for each metal in particular.

### 3.3 ELECTROCHEMICAL MEASURES OF THE SURFACE AREA

We can obtain an expression for the specific area by combining Eq. (3) with Eq. (10), in the zone of the thermodynamic limit, which is independent of the final density of NPs in solution, so:

$$\bar{A}_{\text{TEM}} = \frac{(1 + \alpha^2)}{(1 + 3\alpha^2)^{2/3}} \left( \frac{36 \pi k_{\text{np}}}{\text{MW } \rho_{\text{M}}^2} \right)^{1/3} (c_{\text{p}}^i)^{-1/6} \quad (22)$$

Given that in the thermodynamic limit,  $\alpha$  factor is quasi constant and that the other parameters are intrinsic parameters for the metal and the method, the specific area only depends on  $(c_{\text{p}}^i)^{-1/6}$ . This expression allows us to relate the electrochemical area (from the voltogram peaks) and the physical characteristics obtained from TEM micrographs. The electrochemical surface area ECSA is determined from area  $Q^{\text{X}}$  in CVs<sup>-1</sup> of the adsorbed species “X” in the voltogram peak, taking the current of the electric doublelayer as the base line and using equation:

$$\text{ECSA} = \frac{Q^{\text{X}}}{n \Gamma^{\circ} v_s m_{\text{M}}} \quad (23)$$

where  $\Gamma^\circ$  is the specific charge of a monolayer of adsorbed atoms ( $210 \mu\text{C cm}^{-2}$ ),  $n$  the number of electrons exchanged per adsorbed atom,  $v_s$  the sweep rate and  $m_M$  the total mass of metal deposited on the electrode (see (Acosta et al., 2017)). The value of ECSA is proportional to the real electrode area and can be measured by three different methods: a) hydrogen desorption/adsorption peaks, b) metal oxidation peak and c) previously adsorbed carbon monoxide oxidation peak. Three electrochemical efficiency factors for the area are defined from these methods  $\eta_A^{\text{H}_2}$ ,  $\eta_A^{\text{Ox}}$  and  $\eta_A^{\text{CO}}$ , respectively, the superscripts referring to the electrochemical area measurement method used. This factor is defined as the quotient between the specific area calculated electrochemically by a given method and the  $\bar{A}_{\text{TEM}}$ , that is:

$$\text{ECSA} = \eta_A^X \bar{A}_{\text{TEM}} = \eta_A^X \frac{(1 + \alpha^2)}{(1 + 3\alpha^2)^{2/3}} \left( \frac{36 \pi k_{\text{np}}}{\text{MW} \rho_M^2} \right)^{1/3} (c_P^i)^{-1/6} \quad (24)$$

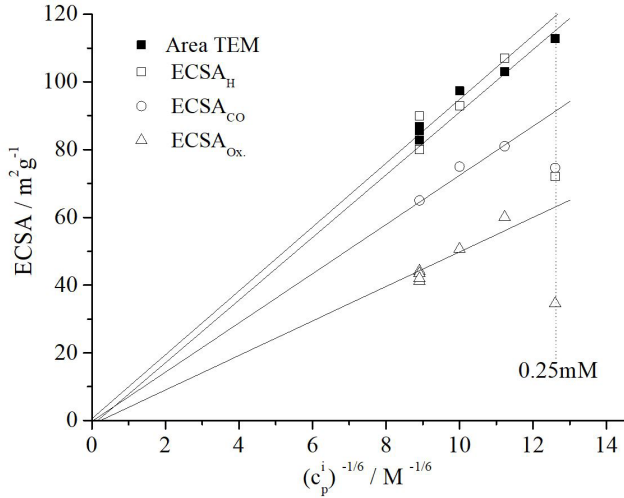
The area efficiency factor  $\eta_A^X$  has two different contributions: i) the profitability factor of the catalyst area  $\phi$  that is related to the useful part of the catalyst and ii) the value of the surface coverage of the adsorbed species "X",  $\theta^X$ , that depends on the nature of the interaction adsorbate/metal. It is equal to the quotient between the detected charge  $Q^X$  and the monolayer charge (equal to the number of exchanged electrons per adsorbate molecule, i.e. one for hydrogen and two for oxygen and carbon monoxide, multiplied by  $\Gamma^\circ$ ), this is:

$$\eta_A^X = \phi \theta^X \quad (25)$$

Factor  $\phi$  is independent of the adsorbate nature and takes into account the loss of real electroactive area of the NPs, as for example: NPs with no electrical contact to the carbonous support or parts of the catalyst area blocked by the adsorbed carbon grain. A value of one corresponds to a total use of NPs area.

Figures 7 and 8 show the calculations for ECSA in the cases of Pt and Rh and the peaks of hydrogen, oxygen and carbon monoxide desorption as a function of  $(c_P^i)^{-1/6}$ , for data within the thermodynamic limit. All cases show a proportional linear regression.

Fig 7. Variation of ECSA for Pt calculated by different methods with  $(c_p^i)^{-1/6}$ .



The quotient between the  $\bar{A}_{TEM}$  slope and the other slopes (from Figs. 7 and 8) yielded the value of the area efficiency factors for Pt and Rh. The value of  $\eta_A^{Ox}$  calculated from the peak of oxygen reduction matches a type  $\alpha$  (2x2) structure ( $\theta^{Ox} = 0.50$ ). (Todorova et al., 2003) The value of  $\eta_A^{CO}$  obtained from the peak for the reduction of CO is consistent with a type  $\alpha$  (2x2)-3CO structure ( $\theta^{CO} = 0.75$ ). (Rupprechter et al., 2004) The values of  $\eta_A^H$  from the hydrogen peak are consistent with a  $\alpha$  (1x1) structure ( $\theta^H = 1$ ) for Pt and Rh. The values of  $\eta_A^{Ox}$  and  $\eta_A^{CO}$  from Fig. 9 for Pd at pH 6 were also calculated. Table 1 shows a summary of the different area efficiency factors for all studied cases plus data for Pd at pH 12 from Acosta *et al.* (Acosta et al., 2017)

Fig. 8. Variation of ECSA for Rh calculated by different methods with  $(c_p^i)^{-1/6}$ .

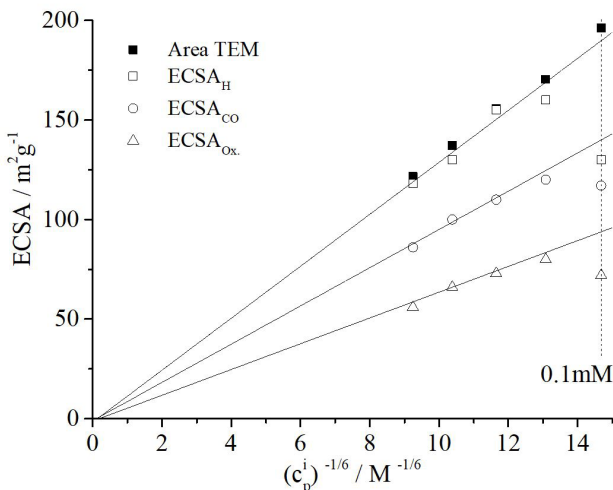


Fig. 9. Variation of ECSA for Pd at pH 6 calculated by different methods with  $(c_p^i)^{-1/6}$ .

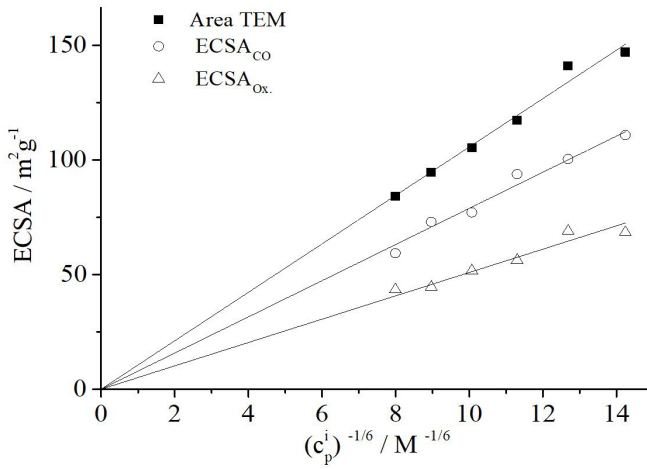


Table 1. Values of area efficiency factors obtained for the three different metals studied.

	Pt	Rh	Pd at pH 6	Pd at pH 12 in (Acosta et al., 2017)
$\eta_A^{H_2}$	0.98	0.95	--	--
$\eta_A^{Ox}$	0.54	0.47	0.48	0.51
$\eta_A^{CO}$	0.77	0.72	0.75	0.71

A value close to one for  $\phi$  can be assumed for the three cases, considering the error in values of  $\eta_A^x$ , that are less than 5%. An important decrease in ECSA for the value of  $c_p^i$  for Pt of 0.25 mM (Fig. 7) and for Rh 0.1 mM (Fig. 8), is observed. The value of  $\bar{A}_{TEM}$  is nevertheless consistent with the area that Eq. (22) predicts because in Pt and Rh the nucleation and growth processes are well separated. It seems that the smaller value of ECSA is a consequence of a diminished catalytic activity because of a high decrease in the mean diameter. This is an effect that is important in the production of fuel cell catalyzers.

In the case of Pd, on the contrary, this decrease is observed in both ECSA and  $\bar{A}_{TEM}$ . (Acosta et al., 2017) The decrease in the case of Pd of the value of  $\bar{A}_{TEM}$  is a consequence of the loss of a neat separation between the nucleation and growth processes.

## 4 CONCLUSION

Several concepts and conclusions can be drawn from the syntheses of NPs for transition metals:

- We demonstrated that for a given initial synthesis condition and for various metals, that there is a zone we call the “thermodynamic limit” and this just by modifying the initial concentration of the precursor. In this zone there are certain constraints that allow the obtaining of a maximum specific area for that particular initial synthesis condition.
- We showed that the number of nuclei is a consequence of the fluctuations in concentration through a mechanism of formation of embryos having a critical number of atoms of precursor that makes the system unstable and forces the irreversible transformation of the embryos into a metallic nucleus. The smaller the critical number of atoms for the formation of a nucleus, the more probable its irreversible transformation is, fact which increases the rate of nucleation, which finally translates into a higher final density of NPs. The critical number depends on the electrical reducing potential of the metal, on its oxidation state, on the pH of the solution and on the potential of the reducer. The NPs density in solution is proportional to the square root of the initial concentration of precursor.
- The final standard deviation in the diameters is a consequence of the local concentration of the precursor in the neighborhood of the NPs; this concentration depends on the distribution of the NPs in the solution. This last point turns the standard deviation in the final diameters into a consequence of the spatial distributions of the nuclei concentration, which is therefore proportional to the square root of the density of NPs in solution.
- For the same initial concentration of precursor, the mean diameter depends on the initial pH of the synthesis and is higher for low values of pH. Alkaline pHs enhance the nucleation process by increasing its rate.
- The mean diameter, its standard deviation, the mean volume and the specific area of NPs can be predicted for a given metal and for any initial concentration of precursor, if the values of  $k_{np}$  and  $k_{\sigma}$  are known. This is true within the thermodynamic limit and with equal synthesis conditions (i.e. same reducers and protective agents)
- Within the thermodynamic limit zone, the proportionality factors between the areas calculated using the mean diameters  $\overline{A}_{TEM}$  and the electrochemical areas ECSA, are constant.

- For the adsorption of oxygen and carbon monoxide on a catalyst surface, experimental results are consistent with a type  $\alpha$  ( $2 \times 2$ ) structure ( $\theta^{\text{ox}} = 0.50$ ) and  $\beta$  ( $2 \times 2$ )-3CO structure ( $\theta^{\text{co}} = 0.75$ ), respectively. In Pt and Rh adsorption of hydrogen is consistent with a  $\beta$  ( $1 \times 1$ ) structure ( $\theta^{\text{H}} = 1$ ). The value of the factor  $\phi$ , which takes into account the loss in electro active specific area, is close to one, within the experimental error, proving that all the area of the catalyst is being used in Vulcan XC72R as support.

## 5 ACKNOWLEDGMENTS

This work was financially supported by: Dpto. Materiales del Centro Atómico Constituyentes de la Comisión Nacional de Energía Atómica (UAMCACCNEA). The authors would like to especially thank R.E. Gonnet for her remarks concerning several parts in this paper.

## REFERENCES

- Acosta, J. J., Favilla, P. C., & Collet-Lacoste, J. R. (2017). Chemical Synthesis and Characterization of Carbon Supported Palladium Electro-Catalysts. *International Journal of Nanoscience*, 15(4), 1750007. doi: 10.1142/S0219581X17500077
- Aguilar, M. S., Esparza, R., & Rosas, G. (2019). Synthesis of Cu nanoparticles by chemical reduction method. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 29(7), 1510–1515. doi: 10.1016/S1003-6326(19)65058-2
- Aiken, J. D., Lin, Y., & Finke, R. G. (1996). A perspective on noncluster catalysis: Polyoxoanion and (n-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)<sub>4</sub>N<sup>+</sup> stabilized Ir(O)(-300) nanocluster “soluble heterogeneous catalysts.” *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 114(1–3), 29–51. doi: 10.1016/S1381-1169(96)00302-0
- Belloni, J. (2002). The role of silver clusters in photography. *Comptes Rendus Physique*, 3(3), 381–390. doi: 10.1016/S1631-0705(02)01321-X
- Besson, C., Finney, E. E., & Finke, R. G. (2005). A mechanism for transition-metal nanoparticle self-assembly. *Journal of the American Chemical Society*, 127(22), 8179–8184. doi: 10.1021/ja0504439
- Blosi, M., Albonetti, S., Costa, A. L., Sangiorgi, N., & Sanson, A. (2013). Easily scalable synthesis of Ni nanosols suitable for the hydrogenation of 4-nitrophenol to p-aminophenol under mild condition. *Chemical Engineering Journal*, 215–216, 616–625. doi: 10.1016/j.cej.2012.11.013
- Chen, M., & Xing, Y. (2005). Polymer-mediated synthesis of highly dispersed Pt nanoparticles on carbon black. *Langmuir*, 21(20), 9334–9338. doi: 10.1021/la051892p
- Chu, Y.-Y., Wang, Z.-B., Gu, D.-M., & Yin, G.-P. (2010). Performance of Pt/C catalysts prepared by microwave-assisted polyol process for methanol electrooxidation. *Journal of Power Sources*, 195(7), 1799–1804. doi: 10.1016/j.jpowsour.2009.10.039
- Couto, G. G., Klein, J. J., Schreiner, W. H., Mosca, D. H., de Oliveira, A. J. a., & Zarkin, A. J. G. (2007). Nickel nanoparticles obtained by a modified polyol process: Synthesis, characterization, and magnetic properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 311(2), 461–468. doi: 10.1016/j.jcis.2007.03.045



- De Groot, S. R., & Mazur, P. (1984). *Non-equilibrium thermodynamics*. Courier Dover Publications.
- Evans, D.F., Wennerstrom, H. (1999). The Colloidal Domain: Where physics, chemistry, biology and technology meet. In *The Colloidal Domain: Where physics, chemistry, biology and technology meet*.
- Everett, D. H. (1988). *Basic principles of colloid science* (Vol. 144). Royal Society of Chemistry London.
- Favilla, P. C., Acosta, J. J., Schvezov, C. E., Sercovich, D. J., & Collet-Lacoste, J. R. (2013). Size control of carbon-supported platinum nanoparticles made using polyol method for low temperature fuel cells. *Chemical Engineering Science*, *101*, 27–34. doi: 10.1016/j.ces.2013.05.067
- Fievet, F., Lagier, J., Blin, B., Beaudoin, B., & Figlarz, M. (1989). Homogeneous and heterogeneous nucleations in the polyol process for the preparation of micron and submicron size metal particles. *Solid State Ionics*, *32–33*, 198–205. doi: 10.1016/0167-2738(89)90222-1
- Glansdorff, P., & Prigogine, I. (1971). *Structure, stabilité et fluctuations* (Masson (ed.)). Paris.
- Hei, H., He, H., Wang, R., Liu, X., Zhang, G., Zhao, T., Sun, R., Yu, S., Zhang, Z., Zhou, L., Huang, H., & Du, R. (2010). Size-controlled preparation of silver nanoparticles by a modified polyol method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *366*(1–3), 197–202. doi: 10.1016/j.colsurfa.2010.06.005
- Hirai, H., Nakao, Y., & Toshima, N. (1978). Preparation of Colloidal Rhodium in Poly(vinyl Alcohol) by Reduction with Methanol. *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry*, *12*(8), 1117–1141. doi: 10.1080/00222337808063179
- Hornstein, B. J., & Finke, R. G. (2004). Transition-Metal Nanocluster Kinetic and Mechanistic Studies Emphasizing Nanocluster Agglomeration: Demonstration of a Kinetic Method That Allows Monitoring of All Three Phases of Nanocluster Formation and Aging. *Chemistry of Materials*, *16*(1), 139–150. doi: 10.1021/cm034585i
- Hunter, R. J. (1987). Foundations of Colloid Science. In *Foundations of Colloid Science* (Vol. 1).
- Keizer, J. (1982). Nonequilibrium statistical thermodynamics and the effect of diffusion on chemical reaction rates. *The Journal of Physical Chemistry*, *86*(26), 5052–5067. doi: 10.1021/j100223a004
- Keizer, J. (1987a). *The Thermodynamics of Nonequilibrium Statistical Processes*. Springer-Verlag, Inc.
- Keizer, J. (1987b). Diffusion effects on rapid bimolecular chemical reactions. *Chemical Reviews*, *87*(1), 167–180. doi: 10.1021/cr00077a009
- Khatouri, J., Mostafavi, M., Amblard, J., & Belloni, J. (1993). Ionization potential of clusters in liquids. *Zeitschrift Für Physik D Atoms, Molecules and Clusters für Physik D Atoms, Molecules and Clusters*, *26*(1), 82–86. doi: 10.1007/BF01425625
- Kim, B. H., Hackett, M. J., Park, J., & Hyeon, T. (2014). Synthesis, Characterization, and Application of Ultrasmall Nanoparticles. *Chemistry of Materials*, *26*(1), 59–71. doi: 10.1021/cm402225z
- Kim, D., Jeong, S., & Moon, J. (2006). Synthesis of silver nanoparticles using the polyol process and the influence of precursor injection. *Nanotechnology*, *17*(16), 4019–4024. doi: 10.1088/0957-4484/17/16/004
- Kopple, K., Meyerstein, D., & Meisel, D. (1980). Mechanism of the catalytic hydrogen production by gold sols. Hydrogen/deuterium isotope effect studies. *The Journal of Physical Chemistry*, *84*(8), 870–875. doi: 10.1021/j100445a016

- Labib, M. E. (1988). The origin of the surface charge on particles suspended in organic liquids. *Colloids and Surfaces*, 29(3), 293–304. doi: 10.1016/0166-6622(88)80124-0
- LaMer, V. K., & Dinegar, R. H. (1950). Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols. *Journal of the American Chemical Society*, 72(11), 4847–4854.
- Landau, L. D., & Lifshitz, E. M. (1988). *Física estadística* (Vol. 5). Academia de Ciencias URSS. Reverte.
- Liu, H., Song, C., Zhang, L., Zhang, J., Wang, H., & Wilkinson, D. P. (2006). A review of anode catalysis in the direct methanol fuel cell. *Journal of Power Sources*, 155(2), 95–110. doi: 10.1016/j.jpowsour.2006.01.030
- Liu, Z., Hong, L., & Tay, S. (2007). Preparation and characterization of carbon-supported Pt, PtSnO<sub>2</sub> and PtRu nanoparticles for direct methanol fuel cells. *Materials Chemistry and Physics*, 105(2–3), 222–228. doi: 10.1016/j.matchemphys.2007.04.045
- Luo, Y. (2007). One-step preparation of gold nanoparticles with different size distribution. *Materials Letters*, 61(4–5), 1039–1041. doi: 10.1016/j.matlet.2006.06.051
- Mayer, A. B. R., & Mark, J. E. (1997). Transition metal nanoparticles protected by amphiphilic block copolymers as tailored catalyst systems. *Colloid & Polymer Science*, 275(4), 333–340. doi: 10.1007/s003960050090
- Mayer, Andrea B. R., & Mark, J. E. (1997). Comparisons between cationic polyelectrolytes and nonionic polymers for the protection of palladium and platinum nanocatalysts. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 35(15), 3151–3160. doi: 0.1002/(SICI)1099-0518(19971115)35:15<3151::AID-POLA8>3.0.CO;2-Z
- Mayer, Andrea B.R. (1998). Formation of noble metal nanoparticles within a polymeric matrix: nanoparticle features and overall morphologies. *Materials Science and Engineering: C*, 6(2–3), 155–166. doi: 10.1016/S0928-4931(98)00049-6
- Mayer, Andrea B R, Hausner, S. H., & Mark, J. E. (2000). Colloidal Silver Nanoparticles Generated in the Presence of Protective Cationic Polyelectrolytes. *Polymer Journal*, 32(1), 15–22. doi: 10.1295/polymj.32.15
- Mayer, Andrea B R, Mark, J. E., & Morris, R. E. (1998). Palladium and Platinum Nanocatalysts Protected by Amphiphilic Block Copolymers. *Polymer Journal*, 30(3), 197–205. doi: 10.1295/polymj.30.197
- Molski, A. (1996). Fluctuation theory of the coupling between diffusion and reaction in 1D: coalescence with point reactivities. *Chemical Physics Letters*, 252(1–2), 42–50. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2614(96)00166-2
- Mostafavi, M., Dey, G. R., François, L., & Belloni, J. (2002). Transient and Stable Silver Clusters Induced by Radiolysis in Methanol. *The Journal of Physical Chemistry A*, 106(43), 10184–10194. doi: 10.1021/jp014257a
- Mostafavi, Mehran, Keghouche, N., Delcourt, M.-O., & Belloni, J. (1990). Ultra-slow aggregation process for silver clusters of a few atoms in solution. *Chemical Physics Letters*, 167(3), 193–197. doi: 10.1016/0009-2614(90)85004-V
- Mucalo, M. R., & Cooney, R. P. (1989). F.T.I.R. spectra of carbon monoxide adsorbed on platinum sols. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 2, 94. doi: 10.1039/c39890000094
- Napper, D. H. (1983). *Polymeric stabilization of colloidal dispersions: Vol. 7*. Academic Press London.

Oh, H.-S., Oh, J.-G., & Kim, H. (2008). Modification of polyol process for synthesis of highly platinum loaded platinum-carbon catalysts for fuel cells. *Journal of Power Sources*, 183(2), 600–603. doi: 10.1016/j.jpowsour.2008.05.070

Overbeek, J. T. G., & Goodwin, J. W. (1981). Colloidal dispersions. *Royal Society of Chemistry, London*, 1–23.

Özkar, S., & Finke, R. G. (2002a). Nanocluster formation and stabilization fundamental studies: Ranking commonly employed anionic stabilizers via the development, then application, of five comparative criteria. *Journal of the American Chemical Society*, 124, 5796–5810. doi: 10.1021/ja012749v

Özkar, S., & Finke, R. G. (2002b). Nanocluster Formation and Stabilization Fundamental Studies. 2. Proton Sponge as an Effective H<sup>+</sup> + Scavenger and Expansion of the Anion Stabilization Ability Series. *Langmuir*, 18(20), 7653–7662. doi: 10.1021/la020225i

Park, B. K., Jeong, S., Kim, D., Moon, J., Lim, S., & Kim, J. S. (2007). Synthesis and size control of monodisperse copper nanoparticles by polyol method. *Journal of Colloid and Interface Science*, 311(2), 417–424. doi: 10.1016/j.jcis.2007.03.039

Peng, S., Lee, Y., Wang, C., Yin, H., Dai, S., & Sun, S. (2008). A facile synthesis of monodisperse Au nanoparticles and their catalysis of CO oxidation. *Nano Research*, 1(3), 229–234. doi: 10.1007/s12274-008-8026-3

Prabhuram, J., Wang, X., Hui, C. L., & Hsing, I.-M. (2003). Synthesis and Characterization of Surfactant-Stabilized Pt/C Nanocatalysts for Fuel Cell Applications. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(40), 11057–11064. doi: 10.1021/jp0357929

Prabhuram, J., Zhao, T. S., Wong, C. W., & Guo, J. W. (2004). Synthesis and physical/electrochemical characterization of Pt/C nanocatalyst for polymer electrolyte fuel cells. *Journal of Power Sources*, 134(1), 1–6. doi: 10.1016/j.jpowsour.2004.02.021

Ross, S., & Morrison, I. D. (1988). Size and surface area. In *Colloidal systems and interfaces*. Wiley, New York.

Roucoux, A., Schulz, J., & Patin, H. (2002). Reduced Transition Metal Colloids: A Novel Family of Reusable Catalysts? *Chemical Reviews*, 102(10), 3757–3778. doi: 10.1021/cr010350j

Rupprechter, G., Kaichev, V. V., Unterhalt, H., Morkel, M., & Bukhtiyarov, V. I. (2004). CO dissociation and CO hydrogenation on smooth and ion-bombarded Pd(111): SFG and XPS spectroscopy at mbar pressures. *Applied Surface Science*, 235(1–2), 26–31. doi: 10.1016/j.apsusc.2004.05.120

Todorova, M., Lundgren, E., Blum, V., Mikkelsen, A., Gray, S., Gustafson, J., Borg, M., Rogal, J., Reuter, K., Andersen, J. N., & Scheffler, M. (2003). The Pd(1)-R27°-O surface oxide revisited. *Surface Science*, 541(1–3), 101–112. doi: 10.1016/S0039-6028(03)00873-2

Torigoe, K., Remita, H., Beaunier, P., & Belloni, J. (2002). Radiation-induced reduction of mixed silver and rhodium ionic aqueous solution. *Radiation Physics and Chemistry*, 64(3), 215–222. doi: 10.1016/S0969-806X(01)00453-4

Turkevich, J., Stevenson, P. C., & Hillier, J. (1951). A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discuss. Faraday Soc.*, 11(0), 55–75. doi: 10.1039/DF9511100055

Turkevich, J., Stevenson, P. C., & Hillier, J. (1953). The formation of colloidal gold. *The Journal of Physical Chemistry*, 57(7), 670–673.

Watzky, M. A., & Finke, R. G. (1997). Transition Metal Nanocluster Formation Kinetic and Mechanistic Studies. A New Mechanism When Hydrogen Is the Reductant: Slow, Continuous Nucleation and Fast Autocatalytic Surface Growth. *Journal of the American Chemical Society*, 119(43), 10382–10400. doi: 10.1021/ja9705102

Watzky, M. A., Finney, E. E., & Finke, R. G. (2008). Transition-metal nanocluster size vs formation time and the catalytically effective nucleus number: a mechanism-based treatment. *Journal of the American Chemical Society*, 130(36), 11959–11969. doi: 10.1021/ja8017412

Widegren, J. a., Aiken, J. D., Özkar, S., & Finke, R. G. (2001). Additional Investigations of a New Kinetic Method To Follow Transition-Metal Nanocluster Formation, Including the Discovery of Heterolytic Hydrogen Activation in Nanocluster Nucleation Reactions. *Chemistry of Materials*, 13(2), 312–324. doi: 10.1021/cm0006852

Wu, S. H., & Chen, D. H. (2003). Synthesis and characterization of nickel nanoparticles by hydrazine reduction in ethylene glycol. *Journal of Colloid and Interface Science*, 259(2), 282–286. doi: 10.1016/S0021-9797(02)00135-2

Yan, J., Zou, G., Wang, X., Bai, H., Mu, F., & Wu, A. (2011). Large-scale synthesis of Ag nanoparticles by polyol process for low temperature bonding application. *ICEPT-HDP 2011 Proceedings - 2011 International Conference on Electronic Packaging Technology and High Density Packaging*, 254–259. doi: 10.1109/ICEPT.2011.6066831

Yano, H., Kataoka, M., Yamashita, H., Uchida, H., & Watanabe, M. (2007). Oxygen reduction activity of carbon-supported Pt-M (M = V, Ni, Cr, Co, and Fe) alloys prepared by nanocapsule method. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 23(11), 6438–6445. doi: 10.1021/la070078u

Zhou, W., Zhou, Z., Song, S., Li, W., Sun, G., Tsiakaras, P., & Xin, Q. (2003). Pt based anode catalysts for direct ethanol fuel cells. *Applied Catalysis B: Environmental*, 46(2), 273–285. doi: 10.1016/S0926-3373(03)00218-2

## CAPÍTULO 2

### SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE NANOESTRUTURAS DE $Ce_{1-x}Pr_xO_2$

Data de submissão: 10/06/2022

Data de aceite: 30/06/2022

**Ana Cristina Tolentino Cabral**

Centro Universitário Funcesi

Itabira – MG

<http://lattes.cnpq.br/9804785785950382>

**Isabela Cristina Fernandes Vaz**

Universidade Federal de Itajubá

Itabira – MG

<http://lattes.cnpq.br/0317653706770363>

**Francisco Moura Filho**

Universidade Federal de Itajubá

Itabira – MG

<http://lattes.cnpq.br/9330470036613511>

**RESUMO:** Nos últimos anos, estudo de materiais cerâmicos vem evoluindo rapidamente, principalmente os relacionados com as cerâmicas denominadas funcionais. As diversas aplicações envolvendo estes materiais, principalmente como nanopartículas, justificam cada vez mais a necessidade de uma melhor compreensão da influência do método de síntese e da adição de dopantes na sua estrutura. O óxido de cério possui várias aplicações devido a sua condutividade de íons oxigênio, como catalisadores tipo três

vias, células a combustível de óxido sólido e membranas iônicas. Neste trabalho, sintetizou-se pós cerâmicos pelo método hidrotermal assistido por micro-ondas, obtendo nanoestruturas de óxido de cério puro e dopado com diferentes porcentagens molares de praseodímio (0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 e 2,0% mol). As nanoestruturas foram caracterizadas por difração de raios X (DRX), espectroscopia de espalhamento Raman, microscopia eletrônica de varredura com feixe eletrônico por emissão de campo (MEV-FEG) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). Os padrões de DRX e os espectros Raman indicam a formação de soluções sólidas cristalinas com estrutura cúbica do tipo fluorita, pertencentes ao grupo espacial  $Fm3m$  e já indicam que as partículas obtidas são nanométricas. As imagens de microscopia das nanoestruturas de  $Ce_{1-x}Pr_xO_2$  com diferentes concentrações (x) indicam que estas encontram-se altamente aglomeradas pela influências das forças de Van der Waals e com particulado primário na escala nanométrica. A morfologia das partículas tende a modificar de acordo com a adição do dopante praseodímio, variando de quase esférica para o óxido de cério puro para facetadas com a adição do dopante, conforme evidenciado pelo aumento no valor das distâncias entre as franjas mais frequentes, além da presença de falhas no empilhamento dos átomos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cerâmicas funcionais. Óxido de cério. Praseodímio. Hidrotermal assistido por micro-ondas.

## SYNTHESIS AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF $Ce_{1-x}Pr_xO_2$ NANOSTRUCTURES

**ABSTRACT:** In recent years, the study of ceramic materials has evolved rapidly, especially those related to so-called functional ceramics. The various applications involving these materials, mainly as nanoparticles, increasingly justify the need for a better understanding of the influence of the synthesis method and the addition of dopants in their structure. Cerium oxide has many applications due to its conductivity to oxygen ions, such as three-way catalysts, solid oxide fuel cells and ionic membranes. In this work, ceramic powders were synthesized by the microwave-assisted hydrothermal method, obtaining nanostructures of pure cerium oxide doped with different molar percentages of praseodymium (0; 0.4; 0.8; 1.2; 1.6 and 2.0% mol). The nanostructures were characterized by X-ray diffraction (XRD), Raman scattering spectroscopy, field emission gun - scanning electron microscopy (FEG-SEM) and transmission electron microscopy (TEM). XRD patterns and Raman spectra indicate the formation of crystalline solid solutions with a fluorite-like cubic structure, belonging to the Fm3m space group and already indicate that the particles obtained are nanometric. Microscopy images of  $Ce_{1-x}Pr_xO_2$  nanostructures with different concentrations (x) indicate that are highly agglomerated by the influence of Van der Waals forces and with primary particulate at the nanometer scale. The morphology of the particles tends to change according to the addition of the praseodymium dopant, ranging from almost spherical for pure cerium oxide to faceted with the addition of the dopant, as evidenced by the increase in the value of the distances between the most frequent fringes, in addition to the presence of flaws in the stacking of atoms.

**KEYWORDS:** Functional ceramics. Cerium oxide. Praseodymium. Microwave hydrothermal method.

### 1 INTRODUÇÃO

Óxido de cério ( $CeO_2$ ) é considerado uma importante cerâmica multifuncional com aplicação em várias áreas, tais como catálise, células solares, sensor de gás oxigênio, célula combustível de óxido sólido, dispositivos ópticos, material de polimento, entre outros. Tradicionalmente, os cristais de  $CeO_2$  são preparados por co-precipitação, método dos precursores poliméricos, decomposição de organometálicos e método sol-gel. Entretanto essas rotas requerem temperaturas elevadas, longos tempos de síntese ou utilizam precursores orgânicos. Recentemente, os métodos hidrotermal convencional (HC) e hidrotermal assistido por micro-ondas (HAMO) são empregados na preparação, no crescimento e no controle morfológico de diferentes materiais óxidos e, principalmente do óxido de cério. Particularmente, a grande vantagem do método HAMO é a capacidade de obter óxidos metálicos em condições de baixa temperatura (menor do que 200 °C), redução do tempo de processamento e do custo com o consumo de energia [Cabral et al., 2014; Cavalcante et al., 2012; Deus et al., 2014].

Uma tendência é o interesse no desenvolvimento e aplicação de materiais nanoestruturados de óxido de cério puro e dopados. A dopagem com outros elementos

de terras raras, como praseodímio e gadolínio, leva a formação de vacâncias de oxigênio permitindo a migração de íons de oxigênio através da rede cristalina, além do fato de materiais nanométricos apresentarem propriedades físicas e químicas diferentes de seus materiais análogos em *bulk* [Borchert et al., 2005]. O praseodímio apresenta algumas propriedades semelhantes do cério. Ambos são capazes de formar cátions com estados de oxidação 3+ e 4+ e têm raio iônico próximos (0,97 e 0,96 Å para Ce<sup>4+</sup> e para Pr<sup>4+</sup>, respectivamente, e 1,14 e 1,13 Å para Ce<sup>3+</sup> e para Pr<sup>3+</sup>, respectivamente), permitindo a formação de solução sólida com propriedades interessantes [He et al., 2011].

Desta forma, este trabalho possui como objetivo, além de sintetizar nanoestruturas cristalinas de óxido de cério puro e dopado com praseodímio, verificar a influência deste dopante na sua estrutura e morfologia.

Assim, neste trabalho foi realizado um estudo das nanoestruturas de Ce<sub>1-x</sub>Pr<sub>x</sub>O<sub>2</sub> com composição (x = 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2,0 %) obtidas pelo método HAMO. Em seguida, foi realizada análise estrutural, através da difração de raios X (DRX) e espectroscopia de espalhamento Raman. E por último a caracterização morfológica, onde a forma e o tamanho das nanoestruturas foram observados por intermédio da microscopia eletrônica de varredura com feixe eletrônico por emissão de campo (MEV-FEG) e microscopia eletrônica de transmissão (MET).

## 2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O procedimento experimental para preparação do CeO<sub>2</sub> puro e dopado com Pr baseou-se na dissolução do nitrato de cério IV e amônio (99% de pureza - Sigma) em meio aquoso, seguido de aquecimento à temperatura de 50 °C, sob agitação constante. Separadamente, o óxido de praseodímio III (Pr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (99% de pureza – Aldrich) foi dissolvido em solução de ácido nítrico e adicionado à solução de cério. A mistura resultante foi aquecida à temperatura de 70 °C sob agitação constante e seu pH ajustado por intermédio da adição de uma solução aquosa 1 molar de KOH (99,5% de pureza – Synth) até atingir um valor aproximado a 10.

As soluções resultantes (de pH 10) foram transferidas para um reator de teflon, que foi lacrado e inserido em um forno de síntese hidrotermal assistida por micro-ondas. O sistema foi mantido a 100 °C durante 5 minutos, com uma taxa de aquecimento fixada em 10 °C/min. Após a síntese HAMO, o reator foi resfriado à temperatura ambiente. A suspensão resultante foi centrifugada várias vezes com água destilada para neutralizar o pH da solução, até aproximadamente 7, com o auxílio de uma centrífuga. Os precipitados foram coletados e secos a 100 °C por 48 horas em estufa.

As medidas de DRX dos pós foram obtidas com um difratômetro modelo DMax/2500PC (Rigaku). O equipamento foi operado sob as condições, voltagem de aceleração de 40 kV e corrente de 15 mA. A fonte de radiação utilizada para as medidas foi a linha de emissão do cobre (Cu -  $K\alpha$ ,  $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ) e a taxa de varredura empregada de  $0,02 \text{ }^\circ/\text{s}$  para um intervalo em  $2\theta$  de  $10$  à  $75^\circ$ .

As medidas de espectroscopia de espalhamento Raman das amostras foram realizadas em temperatura ambiente com o auxílio de um espectrômetro modelo Synapse (HORIBA Jobin Yvon) acoplado com um microscópio óptico modelo BX41 (Olympus) e equipado com um laser de Nd-YAG ( $\lambda = 514,5 \text{ nm}$ ) operado em  $10 \text{ mW}$ . Para a região compreendida de  $200 \text{ cm}^{-1}$  a  $800 \text{ cm}^{-1}$ , foram feitas 32 varreduras com resolução espectral de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

Para analisar as nanoestruturas dos pós de  $\text{Ce}_{1-x}\text{Pr}_x\text{O}_2$ , foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura com feixe eletrônico por emissão de campo (MEV-FEG) modelo Supra 35-VP (Carl Zeiss). O preparo de cada amostra consistiu em dispersar aproximadamente  $1 \text{ mg}$  de pó de  $\text{Ce}_{1-x}\text{Pr}_x\text{O}_2$  em  $20 \text{ mL}$  de acetona. Em seguida, cada solução foi submetida a  $20$  minutos de ultrassom para dispersar as partículas nesse líquido. Na sequência, uma alíquota desta suspensão foi depositada sobre um substrato de silício e este aderido a um porta amostra de alumínio por fita condutiva de carbono. Após a evaporação do solvente, contatos elétricos foram feitos, interligando as bordas do substrato com a superfície do porta amostra, utilizando-se tinta de prata. Todas estas etapas foram realizadas sob condições de temperatura ambiente.

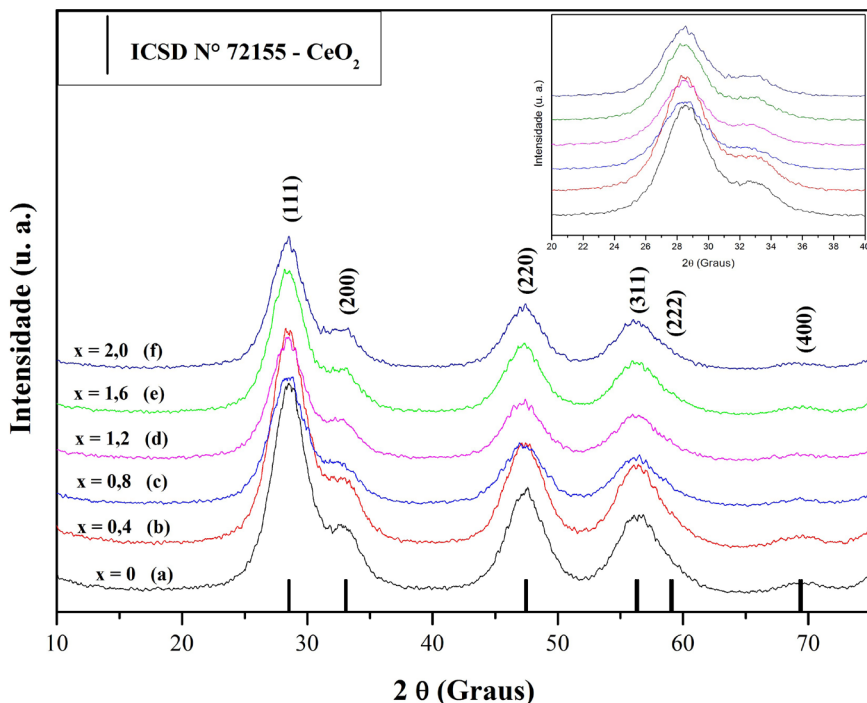
As imagens de microscopia eletrônica de transmissão foram realizadas em equipamento Tecnai G2-20 (FEI) operando a  $200 \text{ KV}$  e munido de câmera CCD (*charge-coupled device*) que é um dispositivo de carga acoplada utilizado para a captação de imagens. As amostras foram preparadas através da dispersão do respectivo pó em álcool isopropílico com auxílio de ultrassom. Uma gota desta suspensão foi depositada sobre filme de carbono suportado em grade de cobre.

### 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

A Figura 1 ilustra os padrões de DRX dos pós de  $\text{Ce}_{1-x}\text{Pr}_x\text{O}_2$  ( $x = 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6$  e  $2,0 \text{ \% mol}$ ) obtidos pelo método HAMO a  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  por  $5$  minutos. Observa-se que todos os pós são cristalinos, monofásicos, periódicos a longas distâncias, com estrutura cúbica do tipo fluorita e grupo espacial  $Fm\bar{3}m$ , de acordo com a ficha cristalográfica ICSD N° 72155 para o óxido de cério IV [Wolcyrz e Kepinski, 1992]. Além disso, a presença de picos de difração intensos e alargados, indica que os pós possuem um tamanho relativamente pequeno de cristalitos.



Figura 1 - Padrões de DRX dos pós de  $Ce_{1-x}Pr_xO_2$  com (a)  $x = 0$ ; (b)  $x = 0,4$ ; (c)  $x = 0,8$ ; (d)  $x = 1,2$ ; (e)  $x = 1,6$  e (f)  $x = 2,0$  sintetizados a  $100^\circ C$  por 5 minutos pelo método HAMO.



Para estimar o tamanho médio de cristalito ( $D_p$ ) utilizou-se a equação de Scherrer através de medições da largura à meia altura (FWHM) do pico mais intenso (111), após a sua deconvolução para a diminuição do erro. Conforme relatado na literatura, a equação de Scherrer é descrita da seguinte forma:

$$D_p = \frac{k \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad (1)$$

onde  $D_p$  é o diâmetro médio dos cristalitos;  $k$  é a constante de Scherrer, usualmente tomada como 0,94 indicado para partículas de morfologia esférica e estrutura cúbica;  $\lambda$  é o comprimento de onda do raio X;  $\theta$  é o ângulo de Bragg (em graus);  $\beta$  é a largura a meia altura do pico principal (em radianos) [Klug, Alexander, 1962].

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos pela equação de Scherrer, para o tamanho médio de cristalito dos pós de óxido de cério puro e dopado. Verificou-se que foram obtidos pós com tamanho médio de cristalitos nanométricos. Os valores encontram-se abaixo dos relatados na literatura para o óxido de cério puro que estão compreendidos entre 5 e 15 nm, dependendo da temperatura de decomposição térmica ou tratamento hidrotermal, como informado por Muccillo et al. (2005). Observou-se que o tamanho médio de cristalito praticamente não variou, levando-se em consideração o erro

relacionado com a técnica. Mas, a partir da composição de 1,6% mol de Pr, percebe-se uma variação um pouco superior. Este fato pode ser um indicativo que o praseodímio em certa concentração pode influenciar no tamanho dos cristalitos do óxido de cério.

Tabela 1 – Tamanho médio de cristalito ( $D_p$ )

Amostra	2 $\theta$ (Graus) (111)	Tamanho médio de cristalito (nm)
CeO <sub>2</sub>	28,5591	2,62
Ce <sub>0,996</sub> Pr <sub>0,004</sub> O <sub>2</sub>	28,4933	2,60
Ce <sub>0,992</sub> Pr <sub>0,008</sub> O <sub>2</sub>	28,4163	2,56
Ce <sub>0,988</sub> Pr <sub>0,012</sub> O <sub>2</sub>	28,4200	2,58
Ce <sub>0,984</sub> Pr <sub>0,016</sub> O <sub>2</sub>	28,4198	2,67
Ce <sub>0,980</sub> Pr <sub>0,020</sub> O <sub>2</sub>	28,4218	2,68

CeO<sub>2</sub> tem uma estrutura cúbica tipo fluorita, pertencendo ao grupo espacial *Fm3m*. Tem três átomos por célula unitária primitiva, estando o átomo de cério localizado na posição (0,0,0) e dois átomos de oxigênio em ( $\pm 0,25, \pm 0,25, \pm 0,25$ ) [Gürel e Eryigit, 2006]. De acordo com os cálculos e simetria da teoria de grupos [Rousseau et al., 1981], os cristais de CeO<sub>2</sub> possuem três modos vibracionais distintos (Raman e infravermelho) conforme indicado na Eq. (2):

$$\Gamma_{(Raman+Infrared)} = F_{2g} + 2F_{1u} \quad (2)$$

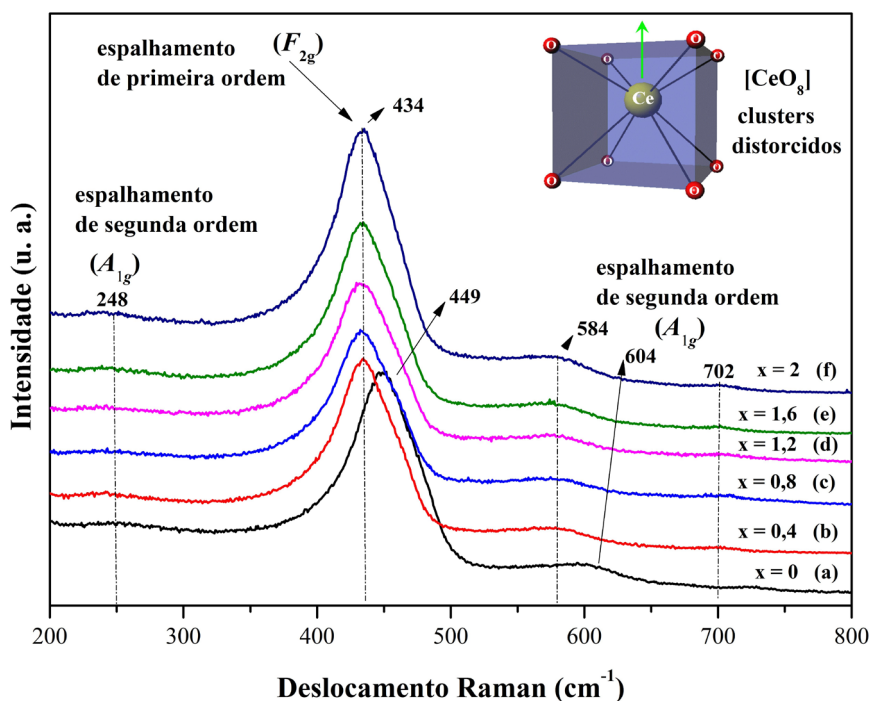
onde o modo  $F_{2g}$  triplamente degenerado é apenas Raman ativo enquanto um modo  $F_{1u}$  é apenas infravermelho ativo; o outro modo  $F_{1u}$  triplamente degenerado é o modo acústico.

A Figura 2 apresenta os espectros Raman dos pós de Ce<sub>1-x</sub>Pr<sub>x</sub>O<sub>2</sub> (x = 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 e 2,0% mol) dentro da faixa de 200 a 800 cm<sup>-1</sup>. A banda observada em 449 cm<sup>-1</sup> e 434 cm<sup>-1</sup> para as amostras pura e dopadas, respectivamente, é a banda de primeira ordem ( $F_{2g}$ ), referente ao modo de vibração simétrico dos átomos de oxigênio em torno de cada cátion, devido a unidade vibracional [CeO<sub>6</sub>] no qual apenas os átomos de oxigênio se movem, sendo que esse modo de vibração independe das massas dos cátions. Quando se compara os espectros Raman do óxido de cério puro aos das amostras dopadas com praseodímio observa-se um deslocamento dos modos Raman ativos, para menores números de onda, provavelmente devido à adição de clusters de [PrO<sub>8</sub>], uma vez que os cátions Pr<sup>3+</sup> possuem raios iônicos maiores do que os cátions Ce<sup>4+</sup>, sendo de 1,13 Å e de 0,97 Å, respectivamente. Este comportamento é, provavelmente, devido ao fato do cluster [PrO<sub>8</sub>] causar uma assimetria no ordenamento cristalino das partículas de pequenas dimensões a curto alcance, gerando uma desordem local e diminuindo

o número de onda dos modos vibracionais, juntamente com o alargamento da banda Raman [Spencer et al., 2001].

No espectro Raman de segunda ordem, são permitidos harmônicos deste e dos fônons de fronteira da zona, bem como combinações e diferenças de frequências em cada vetor  $\mathbf{q}$  de onda. Com nove ramificações de fônons, existem 45 modos Raman de segunda ordem são possíveis. De acordo com a Figura 2, os picos Raman de segunda ordem são 580, 660, 880, 1030 e 1160  $\text{cm}^{-1}$ . Um pico Raman fraco de segunda ordem em 604 e 584  $\text{cm}^{-1}$ , foram reportados em estudos anteriores em nanomateriais de  $\text{CeO}_2$  com fluorita cúbica [Liu et al., 2011].

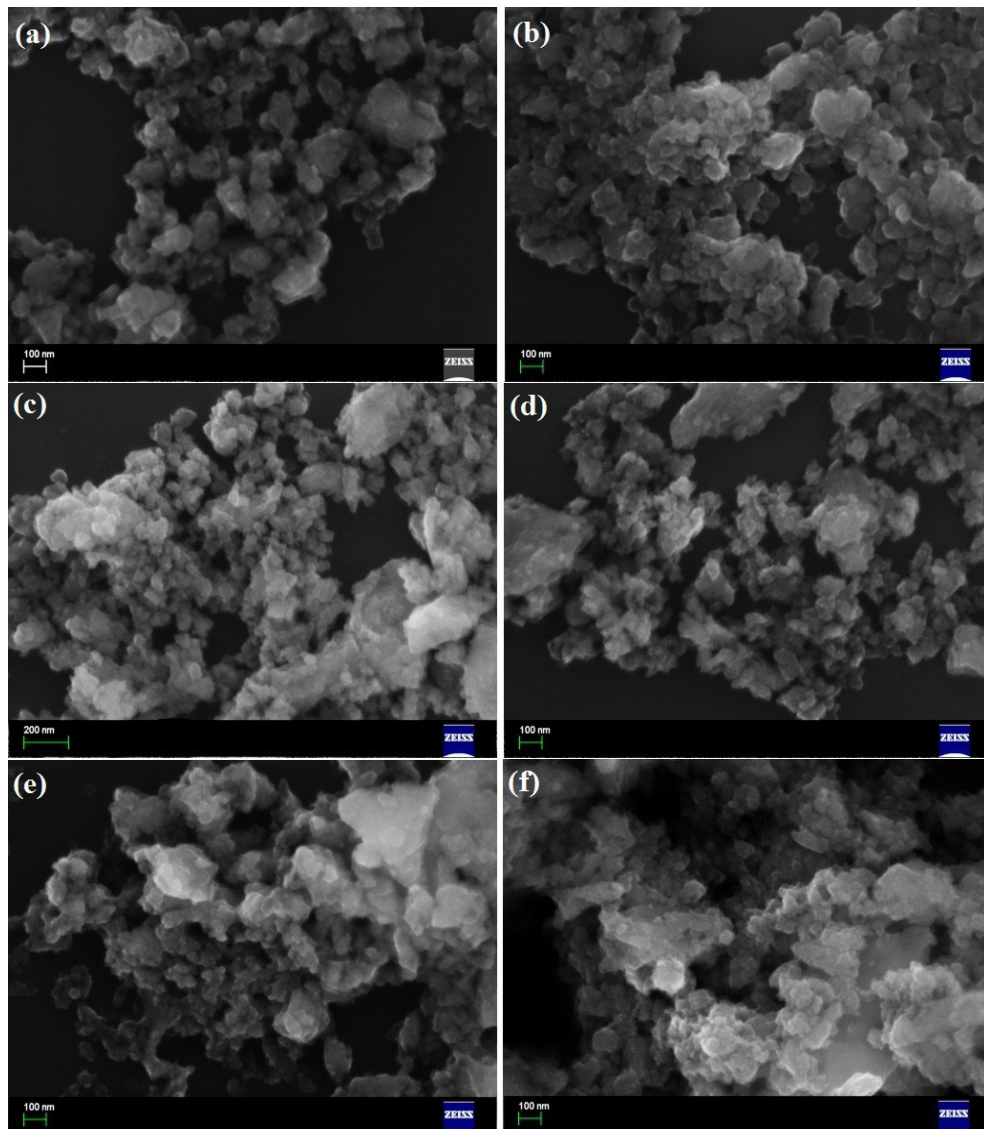
Figura 2 - Espectros de espalhamento Raman dos pós de  $\text{Ce}_{1-x}\text{Pr}_x\text{O}_2$  com (a)  $x = 0$ ; (b)  $x = 0,4$ ; (c)  $x = 0,8$ ; (d)  $x = 1,2$ ; (e)  $x = 1,6$  e (f)  $x = 2,0$  sintetizados a  $100^\circ\text{C}$  por 5 minutos pelo método HAMO.



As Figuras 3 (a-f) ilustram as micrografias de MEV-FEG dos cristais de  $\text{Ce}_{1-x}\text{Pr}_x\text{O}_2$  ( $x = 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6$  e  $2,0$  % mol). Devido ao tamanho dos cristais, as imagens não são muito bem definidas, já que não consegue uma magnificação adequada. Verificou-se nessas micrografias partículas de tamanho indefinido e a presença de aglomerados que pode ser explicada pela influência que as forças de Van der Waals causam nas nanopartículas devido ao emprego do mineralizador KOH no método de síntese [deus et al. 2014]. Além disso, partículas muito pequenas tendem a se agregar espontaneamente para reduzir a energia de superfície. De acordo com Chaves (2009), o aumento da

temperatura ou do tempo do tratamento hidrotérmico assistido por micro-ondas, tende a transformar estas formas distorcidas em formas mais definidas, característica de uma estrutura com caráter mais cristalino.

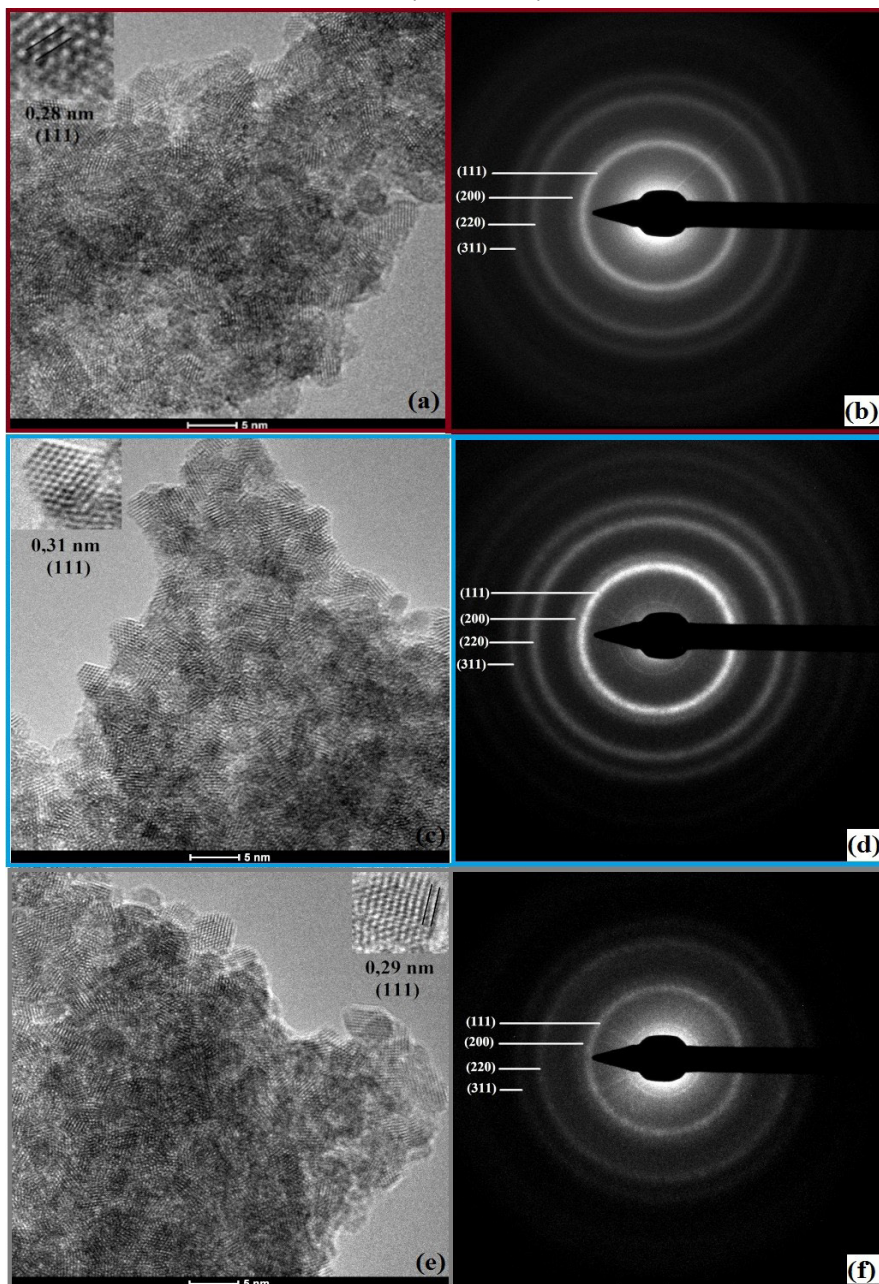
Figura 3 - Micrografias de MEV-FEG das nanoestruturas de  $Ce_{1-x}Pr_xO_2$  com (a)  $x = 0$ ; (b)  $x = 0,4$ ; (c)  $x = 0,8$ ; (d)  $x = 1,2$ ; (e)  $x = 1,6$  e (f)  $x = 2,0$  sintetizadas a  $100^\circ C$  por 5 minutos pelo método HAMO.



As Figuras 4 (a-f) ilustram as imagens de microscopia eletrônica de transmissão e difração de elétrons das nanoestruturas de  $Ce_{1-x}Pr_xO_2$  com  $x = 0$ ; 0,8 e 2% mol. Pode-se observar uma estrutura formada por policristais, sendo difícil afirmar o tamanho de

partícula devido à grande superposição de nanocristais, mas percebe-se que estes encontram-se abaixo de 5 nm, por comparação com a escala. Este resultado encontra-se um pouco superior aos valores calculados através da equação de Scherrer para o tamanho médio de cristalitos.

Figura 4 - Micrografias de MET e padrões de difração de elétrons das nanoestruturas de  $Ce_{1-x}Pr_xO_2$  com (ab)  $x = 0$ , (cd)  $x = 0,8$  e (ef)  $x = 2,0\%$  mol, sintetizadas a  $100^\circ C$  por 5 minutos pelo método HAMO.



Os padrões de difração de elétrons confirmam a natureza policristalina das amostras com estrutura cristalina cúbica do tipo fluorita do óxido de cério, uma vez que as reflexões (111), (200), (220) e (311) foram atribuídas. Não há anéis de difração adicionais no padrão de difração de elétrons em área selecionada decorrentes de outras impurezas cristalinas, confirmando que houve a formação de solução sólida entre o óxido de cério e o praseodímio.

As micrografias de MET mostram planos cristalográficos bem desenvolvidos, que são orientados aleatoriamente uns em relação aos outros, confirmando os resultados da difração de elétrons. As distâncias entre as franjas mais frequentes das nanoestruturas de  $Ce_{1-x}Pr_xO_2$  com  $x = 0; 0,8$  e  $2\%$  mol foram de aproximadamente  $0,28$  nm,  $0,31$  nm e  $0,29$  nm, respectivamente. Estes valores estão em concordância com o valor fixado para o plano (111) do óxido de cério, que normalmente é de  $0,30$  nm nas referências [Wang et al., 2010].

Uma primeira análise aponta que os aglomerados das nanopartículas dos materiais são similares. Mas, uma análise mais atenciosa das micrografias revela que a amostra de óxido de cério pura é formada por partículas quase-esféricas e as dopadas por partículas facetadas, apresentando alguma falha no empilhamento dos átomos, que pode ser observado através das imagens ampliadas.

## 4 CONCLUSÃO

Em resumo, nanopartículas de  $Ce_{1-x}Pr_xO_2$  foram sintetizadas com sucesso pelo método HAMO a  $100^\circ\text{C}$  por 5 min. Padrões de DRX e dados de espectroscopia Raman mostraram que as nanoestruturas obtidas são monofásicas com uma estrutura cristalina cúbica tipo fluorita com grupo espacial  $Fm3m$ , tendo sido evidenciada a banda característica do modo ativo Raman triplamente degenerado  $F_{2g}$ . As micrografias de MET revelam que as amostras consistem em partículas cristalinas com tamanho médio abaixo de 5 nm, que encontram-se aglomeradas com tendência a se agregar espontaneamente para reduzir a energia superficial. Esta técnica é interessante não só pelo curto tempo de tratamento térmico e baixa temperatura utilizada, mas também pela possibilidade de controlar as propriedades morfológicas e estruturais. Espera-se que este material possa encontrar aplicações potenciais em diversos campos como fotocatalisadores, catalisadores, dispositivos de armazenamento de hidrogênio e materiais ópticos ou elétricos.

## REFERÊNCIAS

- BORCHERT, H.; FROLOVA, Y. V.; KAICHEV, V. V.; PROSVIRIN, I. P.; ALIKINA, G. M.; LUKASHEVICH, A. I.; ZAIKOVSKII, V. I.; MOROZ, E. M.; TRUKHAN, S. N.; IVANOV, V. P.; PAUKSHTIS, E. A.; BUKHTIYAROV, V. I.; SADYKOY, V. A. **Electronic and chemical properties of nanostructured cerium dioxide doped with praseodymium.** Journal of Physical Chemistry B, v. 109, n. 12, p. 5728-5738, 2005.
- CABRAL, A. C.; CAVALCANTE, L. S.; DEUS, R. C.; LONGO, E.; SIMÕES, A. Z.; MOURA, F. **Photoluminescence properties of praseodymium doped cerium oxide nanoparticles.** Ceramics International, v. 40, p. 4445-4453, 2014.
- CAVALCANTE, L. S.; SCZANCOSKI, J. C.; SIU LI, M.; LONGO, E.; VARELA, J. A.  **$\beta$ -ZnMoO<sub>4</sub> microcrystals synthesized by the surfactant-assisted hydrothermal method: growth process and photoluminescence properties.** Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 396, p. 346-351, 2012.
- CHAVES, A. C. **Síntese, estudo cinético e análise microestrutural do Sistema cério-níquel obtido pelo método Pechini.** 2009. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2009.
- DEUS, R. C.; FOSCHINI, C. R.; SPITOVA, B.; MOURA, F.; LONGO, E.; SIMÕES, A. Z. **Effect of soaking time on the photoluminescence properties of cerium oxide nanoparticles.** Ceramics International, v. 40, p. 1-9, 2014.
- GÜREI, T.; ERYIGIT, R. **Ab initio pressure-dependent vibrational and dielectric properties of CeO<sub>2</sub>.** Physical Review B, v. 74, p. 014302-014306, 2006.
- HE, Q.; MUKERJEE, S.; PARRIS-ESCLAPEZ, S.; BUENO-LÓPEZ, A. **Effect of praseodymium oxide and cerium-praseodymium mixed oxide in the Pt electrocatalyst performance for the oxygen reduction in pafcs.** Journal of Applied Electrochemistry, v. 41, n. 8, p. 891-899, 2011.
- KLUG, H.; ALEXANDER, L. **X-Ray diffraction procedures.** New York, John Wiley and Sons, 1962.
- LIU, Bo, LIU, B.; LI, Q.; LI, Z.; YAO, M.; LIU, R.; ZOU, X.; LV, H.; WU, W.; CUI, W.; LIU, Z. LI, D.; ZOU, Bo, CUI, T.; ZOU, G. **High-pressure Raman study on CeO<sub>2</sub> nanospheres self-assembled by 5 nm CeO<sub>2</sub> nanoparticles.** Physica Status Solid B, v. 248, n.5, p. 1154-1157, 2011.
- MUCCILLO, E. N. S.; PROFÍRIO, T. C.; TADOKORO, S. K.; REY, J. F. Q.; ROCHA, R. A.; STEIL, M. C.; MUCCILLO, R. **Propriedades físicas do óxido de cério preparado por técnica de solução e a condutividade elétrica em função da pressão parcial de oxigênio em cerâmicas sinterizadas.** Cerâmica, v. 51, p. 157-162, 2005.
- ROUSSEAU, D. L.; BAUMAN, R. P.; Porto, S. P. S. **Normal mode determination in crystals.** Journal of Raman Spectroscopy, v. 10, p. 253-290, 1981.
- SPANCER, J. E.; ROBINSON, R. D.; ZHANG, F.; CHAN, S-W.; I. P. HERMAN, I. P. **Size-dependent properties of CeO<sub>2-y</sub> nanoparticles as studied by Raman scattering.** Physical Review B, v. 64, n. 24, p. 245407 (1-8), 2001.
- WANG, G.; UM, Q.; CHEN, T.; WANG, Y. **Synthesis, characterization and photoluminescence of CeO<sub>2</sub> nanoparticles by a facile method at room temperature.** Journal of Alloys and Compounds, v. 493, p. 202-207, 2010.
- WOLCZYK, M.; KEPINSKI, L. **Rietveld refinement of the structure of CeOCl formed in Pd/CeO<sub>2</sub> catalyst: notes on the existence of a stabilized tetragonal phase of La<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in La-Pd-O system.** Journal of Solid State Chemistry, v. 99, p. 409-413, 1992.

# CAPÍTULO 3

## SÍNTESE E SEPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA USANDO POLIVINILPIRROLIDONA EM DIMETILFORMAMIDA

Data de submissão: 10/06/2022

Data de aceite: 29/06/2022

**Celly Mieko Shinohara Izumi**

Universidade Federal de Juiz de Fora

Departamento de Química

Juiz de Fora – Minas Gerais

<http://lattes.cnpq.br/7821202163306775>

**Beatriz Rocha de Moraes**

Universidade Federal de Juiz de Fora

Departamento de Química

Juiz de Fora – Minas Gerais

<http://lattes.cnpq.br/2901660778346324>

**RESUMO:** A obtenção de nanopartículas metálicas estáveis e com tamanhos e formas controlados é crucial para a sua aplicação tecnológica. Neste trabalho, nanopartículas de prata (AgNPs) triangulares foram preparadas utilizando em meio de dimetilformamida na presença de polivinilpirrolidona. O tamanho das partículas obtidas pode ser controlado com o tempo de reação. A centrifugação do coloide obtido foi empregada para a obtenção de frações contendo AgNPs com diferentes tamanhos médios. As AgNPs produzidas podem ser redispersas em clorofórmio, etanol e água. Os espectros UV-VIS indicam que as AgNPs dispersas em etanol apresentam elevada estabilidade,

não se observa agregação após 26 dias. Além disso, é possível secar a dispersão contendo AgNPs produzindo um pó que pode ser redisperso obtendo-se novamente as AgNPs sem agregação. Estas nanopartículas foram empregadas como substrato SERS (Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície) utilizando o corante Rodamina 6G como molécula de prova e foi possível obter espectros SERS para o corante em até a concentração de  $1 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nanopartículas. Nanomateriais. Prata. SERS.

**SYNTHESIS AND SEPARATION OF SILVER NANOPARTICLES USING POLYVINYLPIRROLIDONE IN DIMETHYLFORMAMIDE**

**ABSTRACT:** Preparation of stable metallic nanoparticles with controlled sizes and shapes is crucial for their technological application. In this work, triangular silver nanoparticles (AgNPs) were prepared using dimethylformamide in the presence of polyvinylpyrrolidone. The size of the particles synthesized can be controlled by the reaction time. Centrifugation of the colloid obtained was used to achieve fractions containing AgNPs with different average sizes. The AgNPs produced can be redispersed in chloroform, ethanol, and water. The UV-VIS spectra indicate that AgNPs dispersed in ethanol have high stability, with no aggregation observed after 26 days. Furthermore, it is possible to



dry the dispersion containing AgNPs, producing a powder that can be redispersed to obtain the AgNPs again without aggregation. These nanoparticles were used as SERS substrate (Surface Enhanced Raman Spectroscopy) using Rhodamine 6G dye as a probe molecule. It was possible to obtain SERS spectra for the dye up to a concentration of  $1 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>.

**KEYWORDS:** Nanoparticle. Nanomaterial. Silver. SERS.

## 1 INTRODUÇÃO

As nanopartículas metálicas (NPs) atraem grande interesse na pesquisa devido às suas singulares propriedades eletrônicas, ópticas e catalíticas (GOESMANN; FELDMANN, 2010; KELLY et al., 2003). O interesse neste tema não é recente, a síntese de coloides de Au foi introduzida por Michael Faraday em 1857. Em particular, as nanopartículas de Au, Ag e Cu apresentam uma ressonância óptica na região do visível fortemente dependente do tamanho e forma da partícula conhecida como ressonância de plasmon de superfície (LSPR). A interação entre a luz incidente e os elétrons livres da superfície metálica causa oscilações coletivas dos mesmos com intensificação do campo elétrico local próximo à superfície da partícula (BARNES; DEREUX; EBBESEN, 2003; KELLY et al., 2003). Devido a esta grande intensificação do campo elétrico próximo à superfície, estruturas que suportam plasmon de superfície despertam grande interesse para aplicações em dispositivos ópticos e marcadores biológicos. As NPs também apresentam relevante importância em estudos analíticos e espectroscópicos através de técnicas e intensificadas por superfície como: fluorescência intensificada por superfície (SEF), espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS) e espectroscopia de absorção no infravermelho intensificada por superfície (SEIRA) (LE RU; ETCHEGOIN, 2009; TAM et al., 2007).

A *N,N*-dimetilformamida (DMF) é um solvente utilizado na síntese de nanopartículas de Ag e Au. Além de solvente, o DMF também pode atuar como agente redutor, reduzindo os íons metálicos promovendo a formação das NPs (PASTORIZA-SANTOS; LIZ-MARZÁN, 2009). Além de funcionar como estabilizantes, os agentes de recobrimento como a polivinilpirrolidona (PVP) também podem direcionar a formação de NPs com diferentes morfologias.

Neste trabalho, reportamos a preparação e separação e caracterização de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando o DMF como solvente e agente redutor na presença do PVP. A estabilidade das AgNPs foi estudada em diferentes solventes. Utilizando a Rodamina 6G como molécula prova, avaliamos a atividade SERS das AgNPs.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 REAGENTES E EQUIPAMENTOS

Os reagentes  $\text{AgNO}_3$ , polivinilpirrolidona (PVP), com massa molecular média 40,000 Da, *N,N*-dimetilformamida (DMF), etanol, clorofórmio e Rodamina - 6G (Sigma-Aldrich), foram utilizados com recebidos.

Os espectros UV-VIS foram registrados em um espectrômetro UV-1800 UV-VIS (Shimadzu), utilizando uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,0 mm.

Para a centrifugação dos coloides, empregou-se uma microcentrifuga Eppendorf Minispin plus. Os coloides foram centrifugados em frascos de polietileno usando o rotor modelo F45-12-11.

A imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram registradas em um microscópio de varredura eletrônica FEI Magellan equipado com um canhão de emissão de campo, FEG, (INMETRO, Duque de Caxias – RJ).

Os espectros Raman foram obtidos em um microscópio Raman Bruker SENTERRA Raman com um laser de He-Ne laser (632,8 nm) e um laser de diodo (785 nm). O feixe do laser foi focalizado na amostra utilizando lentes magnificação de 50x (NA = 0,51). A potência do laser foi mantida em 0,2 mW para evitar a degradação da amostra.

### 2.2 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs)

As nanopartículas de prata foram preparadas adaptando-se o procedimento descrito por Pastoriza-Santos e Liz-Marzán (PASTORIZA-SANTOS; LIZ-MARZÁN, 2002). Inicialmente, foram preparadas duas soluções em DMF. A primeira contendo 0,0370 g de  $\text{AgNO}_3$  em 5,0 mL de DMF e a segunda 0,1600 g de PVP em 5,0 mL de DMF. As duas soluções foram misturas em temperatura ambiente e mantidas em refluxo por 95 minutos.

### 2.3 ESTABILIDADE DO COLOIDE EM DIFERENTES SOLVENTES

A estabilidade dos coloides contendo as NPs foi investigada em diferentes solventes: DMF, água deionizada, clorofórmio e etanol.

Logo após a síntese, 1,5 mL do coloide foi centrifugado usando 14000 rpm ( $12271 \times g$ ) por 10 min e o sólido foi redisperso no solvente correspondente. A estabilidade dos coloides foi monitorada usando a espectroscopia de absorção no UV-VIS.

AgNPs dispersas em etanol foram secas em temperatura ambiente e o pó obtido foi armazenado em dessecado contendo sílica gel e protegido da luz. Para a redispersão, adicionou-se o pó ao etanol e a mistura foi agitada manualmente.

## 2.4 SEPARAÇÃO POR CENTRIFUGAÇÃO

As AgNPs de diferentes tamanhos foram separadas através da centrifugação do coloide em diferentes velocidades.

I) O coloide foi centrifugado a 14000 rpm ( $12271 \times g$ ) por 10 min para remover o excesso de íons  $\text{Ag}^+$  e PVP presentes após a reação. O sobrenadante foi descartado.

II) O sólido obtido foi redisperso em DMF e centrifugado novamente por 30 min em 14000 rpm. O sobrenadante obtido (Sobrenadante14K) foi guardado para caracterização. O sólido foi redisperso novamente em DMF e centrifugado por 10 min em 14000 rpm. Esse procedimento foi repetido 2 vezes descartando-se o sobrenadante. O sólido obtido foi denominado “Sólido14K”.

III) O “sólido 14K” foi redisperso em DMF e centrifugado por 30 min em 6000 rpm ( $2254 \times g$ ). O sobrenadante obtido (Sobrenadante6K) foi guardado para caracterização. O sólido foi redisperso novamente em DMF e centrifugado por 10 min em 6000 rpm. Esse procedimento foi repetido 2 vezes descartando-se o sobrenadante. O sólido obtido foi denominado “Sólido6K”.

IV) O “sólido 6K” foi redisperso em DMF e centrifugado por 30 min em 2000 rpm ( $250 \times g$ ). O sobrenadante obtido (Sobrenadante2K) foi guardado para caracterização. O sólido foi redisperso novamente em DMF e centrifugado por 10 min em 2000 rpm. Esse procedimento foi repetido 2 vezes descartando-se o sobrenadante. O sólido obtido foi denominado “Sólido2K”.

## 2.5 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA SERS

Preparou-se uma solução estoque de Rodamina 6G  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em etanol. Um volume adequado desta solução foi adicionado à 500  $\mu\text{L}$  da suspensão de AgNPs de forma que a concentração final de Rodamina 6G fosse  $1,0 \times 10^{-5}$ ,  $1,0 \times 10^{-6}$  ou  $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ . Essas misturas foram deixadas em repouso por 12 h e então centrifugadas e lavadas com DMF para remoção do excesso de corante. O sólido foi depositado em um slide de vidro e seco sob vácuo em temperatura ambiente.

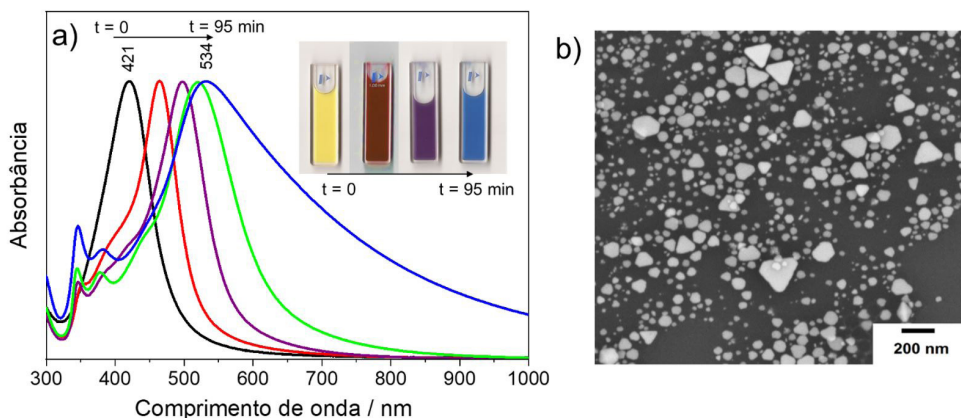
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 PREPARAÇÃO E SEPARAÇÃO DAS AgNPs

Na reação empregada neste estudo, o DMF age como um agente redutor, reduzindo os íons  $\text{Ag}^+$  formando as AgNPs recobertas com o PVP (PASTORIZA-SANTOS; LIZ-MARZÁN, 2009). Durante a preparação das nanopartículas de Ag (AgNPs) utilizando

o PVP40, observamos que a mistura reacional apresentava inicialmente uma coloração amarelada e após 95 minutos de reação o coloide tinha cor azul.

Figura 1: a) Espectros UV-VIS das alíquotas recolhidas em diferentes tempos de refluxo, no inserto: imagem das cubetas contendo algumas alíquotas recolhidas. b) Imagens MEV das AgNPs obtidas após 95 min de refluxo.



Foram retiradas alíquotas de coloide durante a síntese e os espectros de absorção no UV-VIS de cada uma delas são mostrados na Figura 1a. Inicialmente observa-se uma banda com máximo em 421 nm atribuída a ressonância de plasmon de AgNPs esféricas. Com o decorrer da reação, o máximo de absorção se desloca para maiores comprimentos de onda e novas bandas surgem em cerca de 350 e 380 nm. Esse perfil espectral é característico de nanoprismas triangulares (PASTORIZA-SANTOS; LIZ-MARZÁN, 2009; TANG et al., 2013). Após 95 minutos, o espectro UV-VIS apresenta uma banda larga com máximo em 534 nm indicando a presença de AgNPs com uma grande dispersão de tamanho. A posição do máximo da banda LSPR está relacionada ao tamanho das NPs, com o aumento do tamanho das NPs, a banda se desloca para maiores comprimentos de onda. Estes resultados sugerem que inicialmente formam-se AgNPs esféricas, durante o refluxo, nanoprismas triangulares são formados e estes nanoprismas crescem com o aumento de tempo de refluxo. Na imagem MEV das AgNPs obtidas após 95 min de refluxo (Figura 1b), podemos observar partículas triangulares com grande distribuição tamanho corroborando os resultados de UV-VIS.

As características de sedimentação de nanopartículas dependem do seu tamanho e forma e desta forma, a separação das AgNPs em diferentes faixas de tamanho pode ser realizada através da centrifugação (WANG; YAN; CHEN, 2013). Na Figura 2, são mostrados os espectros de absorção no UV-VIS e as imagens MEV de frações obtidas com diferentes condições de centrifugação. Na primeira etapa de centrifugação (14000 rpm), observamos que o espectro UV-VIS do sobrenadante e do sólido apresentam uma

banda com máximo em 438 nm e 540 nm, respectivamente. Esse resultado indica que AgNPs de tamanhos maiores permanecem no sólido sedimentado enquanto as AgNPs menores estão dispersas no sobrenadante. Quando o “sólido14K” é redisperso em DMF e centrifugado em 6000 rpm, observamos que o sobrenadante apresenta uma banda LSPR com máximo em menor comprimento de onda que o do sólido, sugerindo que houve mais uma vez uma separação por tamanho das AgNPs. As imagens SEM indicam que as AgNPs no “sobrenadante 6K” tem tamanho médio de 29 nm enquanto no “sólido 6K” 44 nm. Na última etapa de separação, “sólido 6K” foi redisperso e centrifugado novamente em 2000 rpm e o sobrenadante apresenta uma banda LSPR com máximo em menor comprimento de onda que o sólido.

Figura 2: Imagens de microscopia eletrônica de varredura das AgNPs e espectros UV-VIS das frações obtidas na separação por centrifugação. I) 14000 rpm, II) 6000 rpm e III) 2000 rpm.

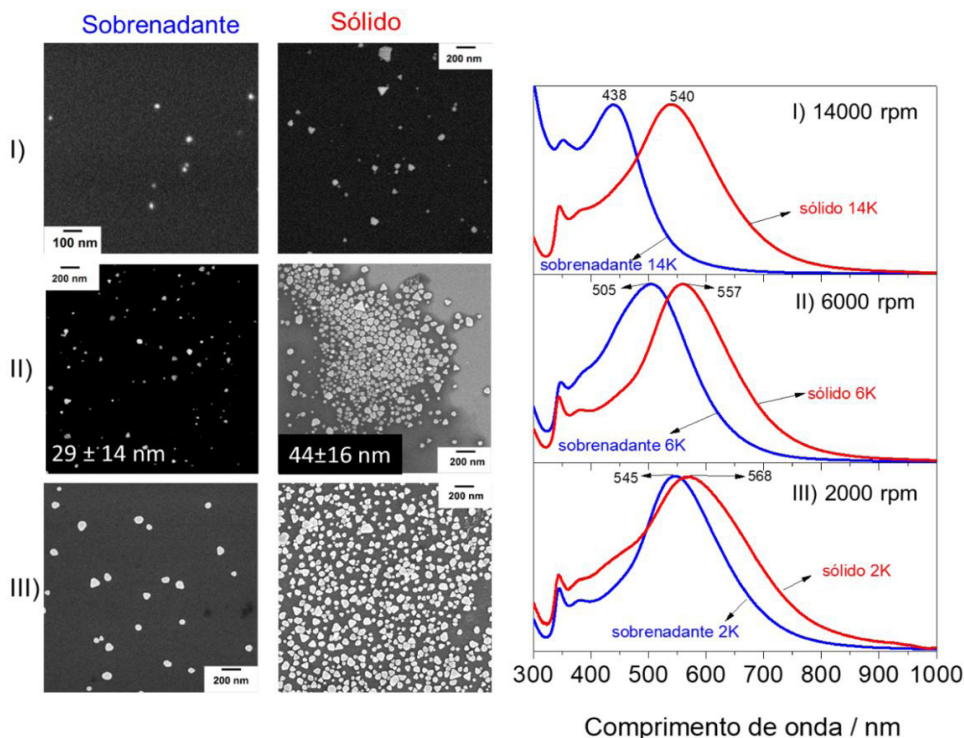


Tabela 1: Tamanho médio e desvio padrão dos sólidos sedimentados no processo de centrifugação em diferentes velocidades.

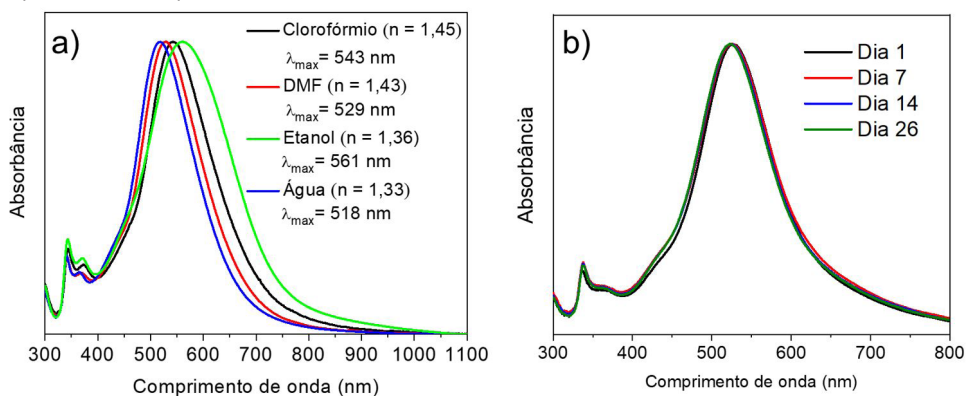
Amostra	Tamanho médio (nm)	Desvio padrão (%)
Sólido 14K	40	50
Sólido 6K	44	36
Sólido 2K	55	30

Na Tabela 1 são mostrados os resultados obtidos das imagens MEV para os sólidos sedimentados em cada etapa da centrifugação. O tamanho médio da AgNPs aumenta em cada etapa e a desvio padrão diminui, indicando uma menor distribuição de tamanho. Estes resultados demonstram que a centrifugação é um processo viável para a separação/purificação destas AgNPs em diferentes faixas de tamanho.

### 3.2 ESTABILIDADE DAS AgNPs

Muitas das aplicações das NPs necessitam de coloides estáveis em diferentes solventes. Verificamos o comportamento das AgNPs quando o DMF foi trocado por etanol, água e clorofórmio. Na Figura 3a podemos observar os espectros UV-VIS de AgNPs nos diferentes meios. Observa-se que o perfil espectral é mantido indicando que não há agregação significativa nesses solventes. Notamos que o máximo da banda de absorção se desloca em função do índice de refração do solvente. De acordo com a teoria de Mie, o máximo da banda de absorção do LSPR se desloca para maiores comprimentos de onda quando o há um aumento no índice de refração do meio (KELLY et al., 2003; MALINSKY et al., 2001). Essa tendência é observada para o clorofórmio, etanol e água, contudo há um desvio desse comportamento para o etanol. Esse desvio provavelmente ocorre devido a interações entre o solvente e as cadeias do PVP na superfície da AgNP (NASOURI; SHOUSHARI; MOJTAHEDI, 2015; YANG et al., 2004).

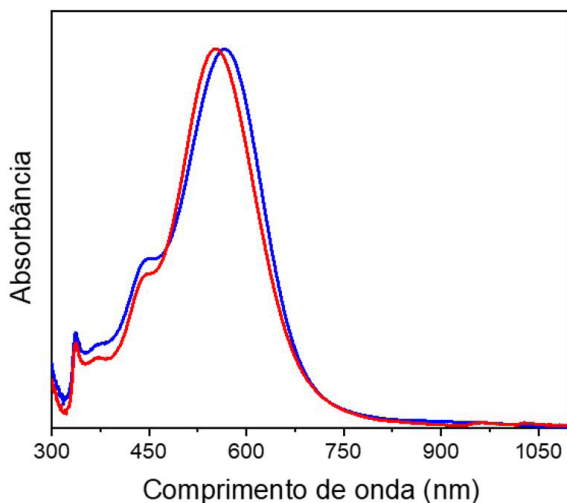
Figura 3: a) Espectros UV-VIS das AgNP em diferentes solventes e b) Evolução dos espectros UV-VIS das AgNPs dispersas em etanol por 26 dias.



A estabilidade dos coloides é uma propriedade importante para a utilização das AgNPs. Verificamos que as AgNPs apresentam uma boa estabilidade quando dispersas em etanol. Os espectros UV-VIS da dispersão das AgNPs em etanol não apresentaram mudanças significativas após 26 dias, demonstrando sua estabilidade. No entanto as dispersões nos outros solventes não apresentaram esse mesmo comportamento.

A preparação de “nanopós” contendo AgNPs é uma boa maneira para o armazenamento de nanopartículas, esse pó pode ser redisperso em um solvente para a posterior utilização das NPs. Contudo, em geral, durante o processo de secagem, as NPs sofrem um processo de agregação irreversível. A Figura 4 mostra os espectros UV-VIS das suspensões de AgNPs antes da secagem e depois do nanopó redisperso em etanol. Podemos observar que o perfil espectral não sofre modificações significativas indicando que não houve agregação ou mudanças expressivas nas AgNPs após a redispersão do pó. É importante salientar que a agitação manual das AgNPs foi suficiente para redispersão das em etanol, a camada de PVP da superfície deve ser a responsável por essa propriedade.

Figura 4: Espectros UV-VIS das AgNPs em etanol: (—) antes da secagem e (—) após redispersão.

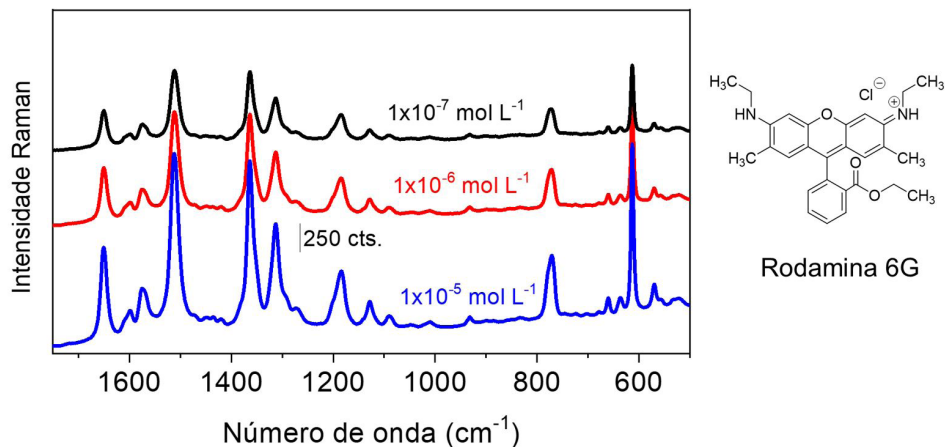


### 3.4 ATIVIDADE SERS

A atividade SERS das AgNPs foi avaliada utilizando o corante Rodamina 6G (R6G) usando a linha de excitação em 633 nm. O espectro SERS da R6G nas AgNPs empregando uma solução  $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  (Figura 5) apresenta bandas em  $1185 \text{ cm}^{-1}$  atribuído à deformação C–H no plano e as bandas em  $1313$ ,  $1364$ ,  $1512$  e  $1650 \text{ cm}^{-1}$  são atribuídas aos modos de estiramento C–C do anel xanteno e a banda em  $1574 \text{ cm}^{-1}$  ao estiramento das ligações C–O–C (Figura 5). As bandas em  $773$  e  $614 \text{ cm}^{-1}$  são relacionadas aos modos de deformação de ligações C–H e deformação no plano das ligações C–C–C do anel aromático (DE BARROS et al., 2020; HILDEBRANDT; STOCKHURGER, 1984; JENSEN; SCHATZ, 2006). Os resultados SERS sugerem que a R6G está ligada à superfície metálica através do grupo etilamina (VAN DYCK et al., 2018). Foi possível observar o sinal SERS da

R6G em concentrações até  $1 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> indicando que estas NPs têm potencial para aplicação como substrato SERS.

Figura 5: Espectros SERS da Rodamina 6G nas AgNPs em diferentes concentrações.



## 4 CONCLUSÃO

Nanoprismas triangulares de prata foram preparados utilizando o DMF como solvente e agente redutor na presença de PVP. É possível controlar o tamanho das nanopartículas com o tempo de reação e através da centrifugação utilizando diferentes velocidades de rotação. As AgNPs obtidas podem ser secas, armazenadas na forma de pó e redispersas novamente em etanol. As AgNPs apresentam atividade SERS quando utilizamos R6G como molécula prova.

## 5 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) - (CEX-APQ-01283/14).

Os autores agradecem ao Dr. Bráulio S. Archanjo da Divisão de Metrologia de Materiais (Dimat) do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) pela obtenção das imagens de microscopia eletrônica de varredura.

## REFERÊNCIAS

BARNES, W. L.; DEREUX, A.; EBBESEN, T. W. Surface plasmons subwavelength optics. **Nature**, v. 424, n. August, p. 824–830, 2003.



DE BARROS, A. et al. Dynamic Behavior of Surface-Enhanced Raman Spectra for Rhodamine 6G Interacting with Gold Nanorods: Implication for Analyses under Wet versus Dry Conditions. **ACS Applied Nano Materials**, v. 3, n. 8, p. 8138–8147, 2020.

GOESMANN, H.; FELDMANN, C. Nanoparticulate functional materials. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 49, n. 8, p. 1362–1395, 2010.

HILDEBRANDT, P.; STOCKHURGER, M. Surface-Enhanced Resonance Raman Spectroscopy of Rhodamine 6G adsorbed on colloidal silver. **Journal of Physical Chemistry**, v. 88, n. 24, p. 5935–5944, 1984.

JENSEN, L.; SCHATZ, G. C. Resonance Raman Scattering of Rhodamine 6G as Calculated Using Time-Dependent Density Functional Theory. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 110, n. 18, p. 5973–5977, 2006.

KELLY, K. L. et al. The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 3, p. 668–677, 2003.

LE RU, E. C.; ETCHEGOIN, P. G. Chapter 1 - A quick overview of surface-enhanced Raman spectroscopy BT - Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. In: Amsterdam: Elsevier, 2009. p. 1–27.

MALINSKY, M. D. et al. Chain length dependence and sensing capabilities of the localized surface plasmon resonance of silver nanoparticles chemically modified with alkanethiol self-assembled monolayers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 123, n. 7, p. 1471–1482, 2001.

NASOURI, K.; SHOUSHARI, A. M.; MOJTAHEDI, M. R. M. Thermodynamic Studies on Polyvinylpyrrolidone Solution Systems Used for Fabrication of Electrospun Nanostructures: Effects of the Solvent. **Advances in Polymer Technology**, v. 34, n. 3, p. 1–8, 2015.

PASTORIZA-SANTOS, I.; LIZ-MARZÁN, L. M. Synthesis of Silver Nanoprisms in DMF. **Nano Letters**, v. 2, n. 8, p. 903–905, 1 ago. 2002.

PASTORIZA-SANTOS, I.; LIZ-MARZÁN, L. M. *N,N*-Dimethylformamide as a Reaction Medium for Metal Nanoparticle Synthesis. **Advanced Functional Materials**, v. 19, n. 5, p. 679–688, 2009.

TAM, F. et al. Plasmonic Enhancement of Molecular Fluorescence. **Nano Letters**, v. 7, n. 2, p. 496–501, 2007.

TANG, B. et al. Shape evolution of silver nanoplates through heating and photoinduction. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 5, n. 3, p. 646–653, 2013.

VAN DYCK, C. et al. Deducing the Adsorption Geometry of Rhodamine 6G from the Surface-Induced Mode Renormalization in Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 122, n. 1, p. 465–473, 2018.

WANG, Y.; YAN, B.; CHEN, L. SERS Tags: Novel optical nanoprobe for bioanalysis. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 3, p. 1391–1428, 2013.

YANG, Q. et al. Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly(vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning. **Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics**, v. 42, n. 20, p. 3721–3726, 2004.

# CAPÍTULO 4

## REDUÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO VIA RADIAÇÃO IONIZANTE

Data de submissão: 12/06/2022

Data de aceite: 28/06/2022

**Solange Kazumi Sakata**

Instituto de Pesquisas Energéticas e  
Nucleares - IPEN  
São Paulo, SP

<http://lattes.cnpq.br/7715634436402530>

**Raynara Maria Silva Jacovone**

Instituto de Pesquisas Energéticas e  
Nucleares - IPEN  
São Paulo, SP

<http://lattes.cnpq.br/4364307348552912>

**RESUMO:** A radiação ionizante, o que inclui a radiação gama e feixe de elétrons, é considerada como “síntese verde” e “ambientalmente amigável” e vem se destacando como uma promissora rota sintética para obter óxido de grafeno reduzido. Essas reações ocorrem em meio aquoso, a temperatura e pressão ambiente, sem o uso de redutores tóxicos e geração de resíduos químicos tóxicos. Neste capítulo é apresentado uma compilação de estudos sobre redução do óxido de grafeno via radiação ionizante reportados na literatura na última década. A redução parcial do óxido de grafeno produz óxido de grafeno reduzido (rOG), um nanomaterial que combina as propriedades do grafeno e do óxido de grafeno: uma excelente condutividade elétrica e térmica e os demais grupos de oxigênio que permitem sua funcionalização. Na literatura,

são descritas diversas rotas sintéticas para produzir rOG: por método químico, térmico, eletroquímico, radiação não ionizante e biocatalíticas. Ionizing radiation, which includes gamma radiation and electron beam, is regarded.

**PALAVRAS CHAVE:** Óxido de grafeno reduzido. Radiação ionizante. Radiação gama. Feixe de elétrons.

### REDUCED GRAPHENE OXIDE VIA IONIZING RADIATION

**ABSTRACT:** Ionizing radiation, which includes gamma radiation and electron beam, is regarded as “environmentally friendly” and has become a promising synthetic route to obtain reduced graphene oxide (rGO). The reaction occurs in an aqueous medium, without using toxic chemicals nor generating hazardous wastes at room temperature and pressure. Partial reduction of graphene oxide leads to the reduced graphene oxide, a nanomaterial that combines both properties of graphene and graphene oxide: an excellent electrical and thermal conductivity and remaining oxygen groups that allow its functionalization. Different synthetic reduction routes have been reported to obtain rGO, such as thermal, electrochemical, biological and the traditional chemical reduction. This chapter presents a compilation of studies regarding the reduction of graphene oxide via ionizing radiation reported in literature the last decade.

**KEYWORDS:** Reduced graphene oxide. Ionizing radiation. Gamma radiation. Electron beam.

## 1 GRAFENO

O grafeno é constituído de uma folha plana bidimensional de átomos de carbono com hibridização  $sp^2$ , dispostos em anéis hexagonais (PAPAGEORGIU et al., 2017). Assim como o diamante, a grafita, os nanotubos e o fulereno, o grafeno é também um alótropo do carbono.

O grafeno possui excelentes propriedades físico-químicas como extrema rigidez, alta mobilidade de elétrons em temperatura ambiente ( $250.000 \text{ cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), alto módulo de elasticidade ( $\sim 1\text{TPa}$ ), excelente condutividade elétrica ( $64 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) e térmica ( $5.000\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ ), uma grande área superficial específica ( $\sim 2600\text{m}^2\text{g}^{-1}$  por monocamada), estabilidade química e excelente transparência óptica (97,3%) (PAPAGEORGIU et al., 2017; YE et al., 2017).

Essas propriedades conferem ao nanomaterial uma grande aplicabilidade em diversas áreas, como na produção de sensores, eletrodos para capacitores, baterias, células solares, entre outros (PATEL et al., 2019; YANG et al., 2020).

O potencial desse nanomaterial pode ser ampliado por meio da sua funcionalização, o que o torna precursor da síntese de novos materiais, como os nanocompósitos condutores. No entanto, não é possível funcionalizar folhas de grafeno, devido a ausência de grupos funcionais oxigenados em sua superfície. Nanomateriais derivados do grafeno como, o óxido de grafeno (OG) e o óxido de grafeno reduzido (rOG), são mais comumente utilizados e apresentam propriedades semelhantes ao grafeno além de grupos oxigenados que permite um certo grau de solubilidade em solventes polares (MOHAN et al., 2018).

## 2 ÓXIDO DE GRAFENO – OG

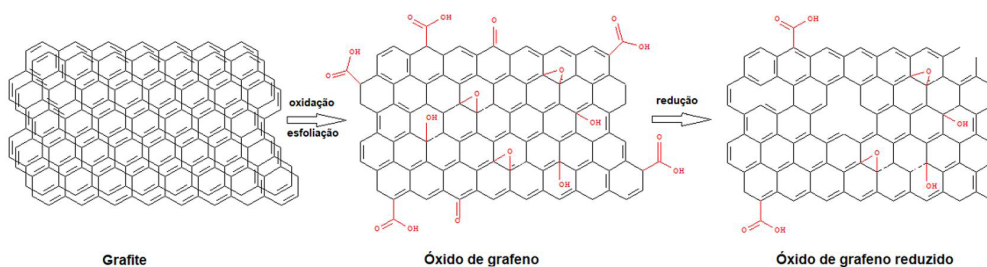
O óxido de grafeno possui estrutura semelhante ao grafeno, porém, contém grupos hidroxilas, epóxi, carbonilas e carboxilas em sua superfície. Esses grupos funcionais oxigenados conferem ao nanomaterial vantagens sobre o grafeno, como maior grau solubilidade e sítios reativos que podem ser posteriormente funcionalizados. Por outro lado, esses grupos geram defeitos estruturais que afetam propriedades como a condutividade elétrica, limitando a utilização de OG na área eletrônica (TARCAN et al., 2020).

O óxido de grafeno é obtido pela esfoliação do óxido de grafite e este, por sua vez é resultado da reação de oxidação do grafite com agentes oxidantes fortes, como descrito por STAUDENMAIER (1989) e HUMMERS e OFFEMAN (1958).

### 3 ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO – rOG

A redução completa do óxido de grafeno gera o grafeno, mas quando esta redução é parcial, obtém-se o óxido de grafeno reduzido (figura 1). Uma das vantagens deste nanomaterial é apresentar propriedades intermediárias ao grafeno, como excelente condutividade elétrica, e ao óxido de grafeno, como hidrofiliicidade, por contém grupos funcionais oxigenados residuais após o processo de redução. Além disso, a síntese do rOG é mais barata e fácil quando comparada a síntese de grafeno (TARCAN et al., 2020).

Figura 1 – Obtenção do oxido de grafeno reduzido a partir do grafite.



O óxido de grafeno pode ser obtido a partir do óxido de grafeno, por meio de diversas rotas sintéticas, por exemplo, químico, eletroquímico, fotoquímico, entre outros. É importante destacar que, diferentes de métodos de redução resulta em diferentes qualidades de rOG, e conseqüentemente, em diferentes propriedades, que dependem do grau de redução obtido em cada método distinto (PEI; CHENG, 2012).

#### 3.1 SÍNTESE DO rOG – MÉTODOS CONVENCIONAIS

A síntese química do rOG é um método amplamente utilizado pela comunidade científica. Este processo é mais econômico que os demais e ocorre em condições mais brandas, entretanto, requer o uso de reagentes redutores tóxico ou perigoso, como é o caso do boro hidreto de sódio e hidrazina (STANKOVICH et al. 2006, MUSZYNSKI; SEGER & KAMAT 2008; JOSE et al., 2018).

Outros processos não utilizam redutores tóxicos, por exemplo, o ácido ascórbico e citrato de sódio, apesar da eficiência destes reagentes o tempo de reação é longo, o que inviabiliza a sua utilização (VINH et al., 2019). Alternativas mais sustentáveis estão sendo investigadas como extratos de plantas (ISMAIL, 2019), aminoácidos (DUAN et al., 2019) e micro-organismos (VIRDIS; DENNIS, 2017), entre outros. Embora esses biorredutores sejam uma opção bastante atrativa, esses métodos possuem algumas desvantagens, como baixo rendimento e um longo tempo de reação.

A redução do OG via redução térmica não requer o uso de reagentes químicos (BAGRI et al., 2010). Consiste em submeter o OG a um ambiente com atmosfera inerte e altas temperaturas. A redução térmica do OG é uma eficaz via de obtenção do rOG, porém, o uso de altas temperaturas e pressão implica em grande consumo de energia e condições críticas de operação. Além disso, o controle da temperatura no processo é algo crucial, uma vez que um aquecimento muito rápido leva a uma brusca expansão da estrutura do material e um aquecimento muito lento, torna o processo muito longo e, portanto, inviável (PEI; CHENG, 2012; QIU et al., 2014).

Outra rota de obtenção para o rOG é pela síntese eletroquímica, que consiste na redução das folhas de OG pela troca de elétrons entre o nanomaterial e os eletrodos. Embora essa rota demonstre ser eficaz e ambientalmente atraente, por não utilizar redutor químico tóxico e ocorrer em condições brandas, a redução eletroquímica possui a limitação da escalabilidade do processo. (DREYER et al., 2010).

O óxido de grafeno reduzido também pode ser sintetizado via radiação não ionizante, o que abrange irradiação por micro-ondas e foto redução. A grande vantagem da rota por micro-ondas comparada ao tratamento térmico convencional é a rapidez e homogeneidade do aquecimento, a reação pode ser realizada em um micro-ondas comercial em apenas 1 minuto (PEI; CHENG, 2012, ZHU et al., 2010).

O método por foto redução, por sua vez, consiste em submeter o OG a uma fonte de luz, que pode ser um laser ou uma lâmpada UV. PARK; KIM (2015) sintetizaram rOG expondo filmes de OG a uma lâmpada de xenônio e observaram que o tratamento promoveu uma expressiva diminuição no valor da resistividade do nanomaterial, demonstrando a eficácia deste método.

Assim como o processo eletroquímico, a foto redução se destaca por ser um processo mais controlado, ambientalmente amigável e prático, porém processo tem como desvantagem a necessidade de uma grande área de operação para execução em larga escala.

### 3.2 SÍNTESE DE rOG - RADIAÇÃO IONIZANTE

A radiação ionizante, o que inclui a radiação gama e feixe de elétrons, é considerada por alguns pesquisadores como “síntese verde” e “ambientalmente amigável” e vem se destacando como uma promissora rota sintética para obter óxido de grafeno reduzido. Essas reações ocorrem em meio aquoso, a temperatura e pressão ambiente, sem o uso de redutores químico, sem a geração de resíduos químicos tóxicos e formação de subprodutos indesejáveis (KANG et al., 2015; HONG; JUNG; KIM, 2019).

Um compilado de estudos referente ao uso da radiação gama e feixe de elétrons para a síntese do óxido de grafeno reduzido será apresentado a seguir, entretanto, um breve resumo acerca da radiação ionizante e seus aspectos inerentes são necessários para melhor entendimento.

### 3.2.1 Radiação Ionizante

As radiações ionizantes são aquelas cujas partículas ou fótons possuem energia suficiente para remover um elétron de um átomo ou molécula. A radiação ionizante, ao interagir com a matéria, transfere energia para os átomos da mesma. O diferencial (ou o quociente diferencial) da energia depositada pela radiação por unidade de massa é denominada dose absorvida, cuja unidade de medida é o gray (Gy). Numericamente, 1 Gy equivale à energia de 1 J depositada numa massa de um 1 kg. A taxa de dose (D) é definida pela diferencial da dose absorvida por unidade de tempo, cuja unidade de medida no sistema internacional é Gy. s<sup>-1</sup> (SANTOS, 2017).

As principais fontes de radiação ionizante utilizadas na indústria são as de feixe de elétrons e de raios gama. Os elétrons, gerado em aceleradores, são partículas que possuem massa (~ 9,109x10<sup>-28</sup> g) e carga elétrica negativa, e devido à forte repulsão coulombiana entre os elétrons gerados pelo acelerador e os elétrons dos orbitais dos átomos que compõe a amostra irradiada, o poder de penetração é muito pequeno, da ordem de mm, dependendo da densidade do material irradiado.

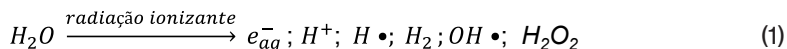
Os raios gama são ondas eletromagnéticas (fótons) de alta energia, sem massa e sem carga elétrica. Os irradiadores de raios gama produzem radiação devido ao decaimento natural de radioisótopos, como, o <sup>60</sup>Co e <sup>137</sup>Cs. As fontes de <sup>60</sup>Co são as mais utilizadas e produzem raios gama com energia entre 1,17 a 1,33 MeV, o que implica em uma taxa de dose muito baixa e, portanto, os raios gama apresentam um grande poder de penetração, na ordem de cm.

Os mecanismos de interações destas duas fontes de radiação com a matéria são semelhantes. A grande diferença é o poder de penetração, sendo que para os raios gama a penetração é maior que o do feixe de elétrons (OKUNO, 2018).

#### 3.2.1.1 Processo da radiólise

A radiólise da água é definida como a alteração da composição e dos níveis de energia, provenientes dos processos físicos e químicos, quando moléculas de água são expostas a radiação ionizante. Esse processo resulta na excitação da molécula de água

ou em sua quebra homolítica, gerando espécies radicalares, como mostra a equação dos produtos primários da radiólise da água (1):



Dentre os produtos primários há formação de três principais espécies: elétrons aquosos ( $e_{aq}^-$ ), radicais hidrogênio ( $H\bullet$ ) e radicais hidroxila ( $OH\bullet$ ). Os  $e_{aq}^-$  e os  $H\bullet$  são agentes redutores, enquanto o  $OH\bullet$  é um agente oxidante (BUXTON et al., 1988; FLYUNT et al., 2014).

Devido a formação de espécies com grande poder redutor, a radiação ionizante tem sido empregada na síntese e modificações de diversos materiais nos últimos anos, com destaque para nanopartículas metálicas e nanomateriais à base de carbono (FLORES-ROJAS; LÓPEZ-SAUCEDO; BUCIO, 2020).

Nas sínteses de rOG via radiação ionizante descritas a seguir, as amostras de OG foram dispersas em uma solução de água/solvente, em uma concentração entre 0,1–0,5 mg mL<sup>-1</sup>, submetida a atmosfera de nitrogênio para desoxigenação do meio reacional e posteriormente irradiadas.

### 3.2.2 Redução do óxido de grafeno via feixe de elétrons

Em 2011, CHEN et al, publicaram o primeiro estudo sobre a redução do óxido de grafeno reduzido via feixe de elétrons. A síntese foi realizada em um acelerador de elétrons de 5 MeV, com dose total absorvida de 500 kGy e corrente do feixe de 200  $\mu$ A. Embora o estudo tenha utilizado uma alta dose de radiação, a caracterização físico-química do nanomaterial indicou uma discreta mudança entre os resultados do material pré e pós irradiação. A análise por DRX indicou que a diminuição da distância entre as folhas do óxido de grafeno de 8,22 para 7,91 Å (4%).

Por outro lado, resultados mais promissores referente a utilização da irradiação na redução do OG foram obtidos por JUNG et al. (2014). A irradiação foi realizada em etanol/água, em feixe de elétrons de energia maior, 10 MeV, doses totais absorvidas entre 50 a 200 kGy-e a taxa de dose em 10 kGymin<sup>-1</sup>. Os espectros de FT-IR mostraram que as intensidades das bandas de absorção, relacionadas às funções oxigenadas, diminuíram significativamente com o aumento da dose total absorvida. Esse resultado indica a relação do grau de redução com a intensidade da dose absorvida, sendo também confirmado nas análises de espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) e termogravimetria (TGA).

KWON; JUNG; NA (2016), reportaram um estudo nas mesmas condições de irradiação descritas por JUNG et al. (2014), divergindo apenas na escolha do álcool utilizado, o isopropanol. Os espectros de XPS demonstraram que a porcentagem de átomos de oxigênio decresceu de 29,46% para 10,49%, e de átomos de carbono aumentou; de 70,54% para 89,51%, indicando a parcial remoção dos grupos oxigenados após a irradiação e, portanto, a formação do rOG.

FLYUNT et al. (2014) também estudaram o efeito da radiólise a influência de solventes na redução de materiais à base de grafeno utilizando um acelerador de elétrons linear a 10 MeV. Neste estudo, o OG foi irradiado no modo móvel, com dose total absorvida máxima de 21 kGy e taxa de dose de 1 a 3 kGy passada<sup>-1</sup>. Espectros de UV-Vis demonstraram que doses e taxas de doses menores são mais eficazes para a redução do OG e os melhores solventes na captura dos radicais oxidantes foram o metanol e etanol e isopropanol, porém, os subprodutos, respectivamente formaldeído e o acetaldeído são tóxicos ao meio ambiente. Deste modo, o isopropanol foi considerado o solvente mais adequado, pois seu subproduto, acetona, não apresenta risco elevado.

YANG et al. (2019) usando um feixe de elétrons com energia menor, 1,8 MeV e corrente de 5 Ma, avaliaram o grau de redução do óxido de grafeno, variando a dose de radiação absorvida entre 5 - 40 kGy, em temperatura ambiente q. As amostras foram caracterizadas por DRX, FT-IR, XPS, UV-vis e Raman. Para analisar o efeito da irradiação em altas doses, o OG foi irradiado a 180 kGy e a análise por XPS mostrou que a porcentagem de carbono aromático aumentou significativamente, de 52,73% para 91,28%, indicando um alto grau de redução. O resultado obtido pelos espectros Raman também mostrara um aumento expressivo da relação  $I_D/I_G$ , que indica o grau de redução e de defeitos no material, de 0,790 para 1,951, constatando que o OG irradiado a essa dose obteve um aumento de defeitos na malha e na aglomeração.

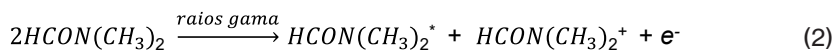
Os resultados apresentados anteriormente corroboram com os obtidos por KANG et al. (2015) que também avaliaram o efeito das irradiações em altas doses, as quais variaram entre 50 a 360 kGy e taxa de dose de 0,1 kGys<sup>-1</sup>. Os resultados das análises de Microscopia de força atômica (AFM) e análise da área superficial pelo método *Brunauer-Emmett-Teller* (BET) indicaram que a irradiação promove a redução e, simultaneamente, gera micro poros no plano de grafeno em todas as doses estudadas. Foram feitas medidas elétricas nas folhas do rOG e foi observado que a resistência diminuiu à medida com o aumento da dose, porém, quando esta excedeu 200 kGy, houve um aumento da resistência devido aos defeitos que tais doses provocam na malha do rOG.



Embora a síntese de óxido de grafeno reduzido por feixe de elétrons seja uma interessante técnica para obtenção deste nanomaterial, a radiação produzida pelo acelerador diminui rapidamente e deposita a maior parte da energia na superfície da amostra. Isso ocorre devido ao baixo poder de penetração do feixe de elétrons, o que limita as dimensões do sistema a ser irradiado, e por consequência, o uso dessa tecnologia (ZHANG et al., 2012).

### 3.2.3 Redução do óxido de grafeno via radiação gama

ZHANG et al (2012) reportaram os primeiros estudos sobre a interação da radiação por raios gama com o óxido de grafeno em diferentes solventes. A síntese foi conduzida a uma taxa de dose de 18 kGyh<sup>-1</sup> e dose máxima de 300 kGy e em dimetil formamida (DMF), um solvente polar aprótico que gera os elétrons, pelo processo de radiólise do DMF, como descrito pela equação 2. Os resultados de UV-vis indicaram a redução do óxido de grafeno após a irradiação



Ao irradiar o OG disperso em água e diferentes tipos de álcoois, solvente polar prótico, como etanol e isopropanol, os resultados mostraram que a melhor condição para a redução foi alcançada com taxa total absorvida de 35 kGy e taxa de dose de 0,88 kGyh<sup>-1</sup>. Semelhante ao apresentado por FLYUNT et al. (2014), no estudo com feixe de elétrons, foi constatado que o etanol tem o maior poder de captura de agentes oxidantes.

A redução do OG em outros solventes que capturam radicais oxidantes foi avaliada por outros grupos de pesquisa. LI et al. (2014) reduziram o OG em água/etilenodiamina, nas mesmas condições de irradiação empregadas por ZHANG et al. (2012) e foi observado um aumento de cerca de 3 vezes na razão C/O no espectro obtido por XPS. TUYEN et al. (2016) irradiaram o OG em monoglicerídeo/etanol, com dose máxima absorvida de 50 kGy e os espectros de FT-IR demonstraram que as intensidades das bandas de absorção relacionados às funções oxigenadas diminuíram significativamente, evidenciando a eficácia da obtenção do rOG nesse meio reacional.

A respeito das condições de irradiação, a dose absorvida e a taxa de dose são os parâmetros mais avaliados. XIE et al. (2013) avaliaram a influência da dose absorvida na redução do OG e observaram um aumento de 4 vezes na razão C/O no espectro obtido por XPS para amostras irradiadas até 35 kGy. Por outro lado, doses superiores a esta apresentaram decréscimo na razão C/O. O estudo também investigou a influência

da taxa de dose e foi constatado que quanto menor a taxa de dose, maior o grau de redução do OG. O valor da razão C/O diminuiu de 3,9 (0,9 kGyh<sup>-1</sup>) para 3,0 (2,4 kGyh<sup>-1</sup>). Os autores justificaram que em taxas de doses mais altas a reação na superfície do OG é excessivamente rápida, aumentando sua agregação e dificultando a difusão da radiação pelas folhas.

SHARIARY; ATHAWALE (2015) publicaram um estudo sobre a redução do óxido de grafeno empregando doses entre 2,88 - 14,40 kGy e taxa de dose relativamente baixa, 0,24 kGyh<sup>-1</sup>. As análises de FT-IR e Raman indicaram diminuição na intensidade das bandas características aos grupos oxigenados e o aumento na relação  $I_D/I_G$ , respectivamente, o que indica a formação do rOG. A melhor condição para a redução do OG foi obtida a uma dose de 11,52 kGy, e a resistência elétrica do rOG calculado foi de 182Ω, bem menor em comparação ao 600 kΩ do OG.

Em contrapartida, NOH et al. (2014), reportaram bons resultados elétricos para as células solares poliméricas construídas com rOG sintetizado com doses entre 50 -1.500 kGy e taxa de dose de 10 kGyh<sup>-1</sup>, valores esses muito superiores aos utilizados nos estudos anteriores. A condutividade do OG variou de 10<sup>-5</sup> para 10<sup>1</sup> Scm<sup>-1</sup> após a irradiação à 1.500 kGy.

XU et al. (2013) publicaram a primeira revisão sobre as nanoestruturas à base de carbono, submetidos a radiação gama. Neste estudo, foram apresentados resultados demonstrando que os raios gama são mais eficientes na alteração da estrutura e dos grupos funcionais do OG quando comparados ao uso de feixe de elétrons para a redução desse nanomaterial.

Recentemente, ZHANG et al. (2021) publicaram um estudo de citotoxicidade do OG e do rOG sintetizados com doses entre 50 – 400 kGy e taxa de dose de 2 kGyh<sup>-1</sup>. Experimentos *in vitro* em células do miocárdio de rato (H<sub>9</sub>C<sub>2</sub>) mostraram que, ambos nanomateriais inibiram a viabilidade celular, promoveram a apoptose e elevaram a liberação de LDH. O estudo também demonstrou quanto maior a dose absorvida na síntese de rOG, maior a citotoxicidade.

Um estudo comparativo entre o desempenho térmico e eletroquímico do óxido de grafeno obtido por síntese química e por radiação gama foi reportado por ATTA et al. (2021). O processo de irradiação ocorreu sob doses de radiação entre 20 – 80 kGy e taxa de dose de 2kGyh<sup>-1</sup>. O estudo revelou que o OG irradiado a 80 kGy possui maior estabilidade térmica e um aumento expressivo do valor da capacitância específica em relação ao sintetizado por hidrazina. A radiação  $\gamma$  gerou defeitos menores nos novos domínios hibridizados sp<sup>2</sup> na superfície do rOG quando comparados ao obtido por síntese química.

## 4 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA)/ CRP F22070 pelo suporte financeiro e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

## REFERÊNCIAS

ATTA, M. M., ASHRY, H. A., NASR, G. M., & EL-REHIM, A. **Electrical, thermal and electrochemical properties of  $\gamma$ -ray-reduced graphene oxide.** *International Journal of Minerals, Metallurgy and Materials*, 28(10), 1726-1734, 2021.

BAGRI, A.; MATTEVI, C.; ACIK, M.; CHABAL, Y. J.; CHHOWALLA, M.; SHENOY, V. B. **Structural evolution during the reduction of chemically derived graphene oxide.** *Nature Chemistry*, v. 2, n. 7, p. 581-587, 2010.

BUXTON, G. V.; GREENSTOCK, C. L.; HELMAN, W. P.; ROSS, A. B.; TSANG, W. **Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ( $\cdot\text{OH}/\text{O}^-$ ) in aqueous solution.** *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, v. 17, n. 2, p. 513-886, 1988.

CHEN, L.; XU, Z.; LI, J.; MIN, C.; LIU, L.; SONG, X.; CHEN, G.; MENG, X. **Reduction and disorder in graphene oxide induced by electron-beam irradiation.** *Materials Letters*, v. 65, n. 8, p. 1229-1230, 2011.

DREYER, D. R.; PARK, S.; BIELAWSKI, C. W.; RUOFF, R. S. **The chemistry of graphene oxide.** *Chemical Society Reviews*, v. 39, n. 1, p. 228-240, 2010.

DUAN, W.; LI, A.; CHEN, Y.; ZHANG, J.; ZHUO, K. **Amino acid-assisted preparation of reduced graphene oxide-supported PtCo bimetallic nanospheres for electrocatalytic oxidation of methanol.** *Journal of Applied Electrochemistry*, v. 49, n. 4, p. 413-421, 2019.

FLORES-ROJAS, G. G.; LÓPEZ-SAUCEDO, F.; BUCIO, E. **Gamma-irradiation applied in the synthesis of metallic and organic nanoparticles: A short review.** *Radiation Physics and Chemistry*, v. 169, p. 107962, 2020

FLYUNT, R.; KNOLLE, W.; KAHNT, A.; PRAGER, A.; LOTNYK, A.; MALIG, J.; GULDI, D.; ABEL, B. **Mechanistic aspects of the radiation-chemical reduction of graphene oxide to graphene-like materials.** *International Journal of Radiation Biology*, v. 90, n. 6, p. 486-494, 2014.

HUMMERS, W. S.; OFFEMAN, R. E. **Preparation of graphitic oxide.** *Journal of the American Chemical Society*, v. 80, p. 1339-1339, 1958.

ISMAIL, Z. **Green reduction of graphene oxide by plant extracts: a short review.** *Ceramics International*, v. 45, n. 18, p. 23857-23868, 2019.

JOSE, P. P. A.; KALA, M. S.; KALARIKKAL, N.; THOMAS, SABU; **Reduced graphene oxide produced by chemical and hydrothermal methods.** *Materials Today: Proceedings*, v. 5, n. 8, p. 16306-16312, 2018.

JUNG, J.; JUNG, C.; OH, M.; HWANG, I.; JUNG, C.; SHIN, K.; HWANG, J.; PARK, S.; CHOI, J. **Rapid, facile, and eco-friendly reduction of graphene oxide by electron beam irradiation in an alcohol-water solution.** *Materials Letters* v. 126, p. 151-153, 2014.

KANG, M.; LEE, D. H.; KANG, Y.; JUNG, H. **Electron beam irradiation dose dependent physico-chemical and electrochemical properties of reduced graphene oxide for supercapacitor.** *Electrochimica Acta*, v. 184, p. 427-435, 2015.

KWON, S.; JUNG, C.; NA, S. **Electron-beam-induced reduced graphene oxide as an alternative hole-transporting interfacial layer for high-performance and reliable polymer solar cells.** *Organic Electronics*, v. 34, p. 67-74, 2016.

LI, J.; ZHANG, B.; LI, L.; MA, H.; YU, M.; LI, J.  **$\gamma$ -ray irradiation effects on graphene oxide in an ethylenediamine aqueous solution,** *Radiation Physics and Chemistry*, v. 94, p. 80-83, 2014.

MOHAN, V. B.; LAU, K. T.; HUI, D.; BHATTACHARYYA, D. **Graphene-based materials and their composites: a review on production, applications and product limitations.** *Composites Part B: Engineering*, v. 142, p. 200-220, 2018.

MUSZYNSKI, R.; SEGER, B.; KAMAT, P. V. **Decorating graphene sheets with gold nanoparticles.** *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 112, n. 14, p. 5263-5266, 2008.

NOH, Y.; PARK, S.; HWANG, I.; CHOI, J.; KIM, S.; JUNG, C.; NA, S. **High-performance polymer solar cells with radiation-induced and reduction-controllable reduced graphene oxide as an advanced hole transporting material.** *Carbon*, v. 79, p. 321-329, 2014.

OKUNO, E. **Radiação: efeitos, riscos e benefícios.** São Paulo: Oficina de Textos, 2018.

PAPAGEORGIU, D. G.; KINLOCH, I. A.; YOUNG, R. J. **Mechanical properties of graphene and graphene-based nanocomposites.** *Progress in Materials Science*, v. 90, p. 75-127, 2017.

PARK, S. H.; KIM, H. S. **Environmentally benign and facile reduction of graphene oxide by flash light irradiation.** *Nanotechnology*, v. 26, n. 20, p. 205601, 2015.

PATEL, S. K.; CHAROLA, S.; JANI, C.; LADUMOR, M.; PARMAR, J.; GUO, T. **Graphene-based highly efficient and broadband solar absorber.** *Optical Materials*, v. 96, p. 109330, 2019.

PEI, S.; CHENG, H. **The reduction of graphene oxide.** *Carbon*, v. 50, n. 9, p. 3210-3228, 2012.

QIU, Y.; GUO, F.; HURT, R.; KULAOTS, I. **Explosive thermal reduction of graphene oxide-based materials: mechanism and safety implications.** *Carbon*, v. 72, p. 215-223, 2014.

SANTOS, P. S. **Estudo e otimização dos parâmetros de processamento por radiação gama em escala industrial considerando fatores operacionais.** 2017. 92 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: < <http://www.teses.usp.br> > Acesso em: 07 de janeiro de 2020.

SHAHRIARY, L.; ATHAWALE, A. A. **Synthesis of graphene using gamma radiations.** *Bulletin of Materials Science*, v. 38, n. 3, p. 739-745, 2015.

STANKOVICH, S.; DIKIN, D. A.; PINER, R. D.; KOHLHAAS, K. A.; KLEINHAMMES, A.; JIA, Y.; WU, Y.; NGUYEN, S. T.; RUOFF, R. S. **Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide.** *Carbon*, v. 45, n. 7, p. 1558-1565, 2007.

STAUDENMAIER, L. **Verfahren zur darstellung der graphitsäure.** *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, v. 31, n. 2, p. 1481-1487, 1898.

TARCAN, R.; TODOR-BOER, O.; PETROVAI, I.; LEORDEAN, C.; ASTILEAN, S.; BOTIZ, I. **Reduced graphene oxide today.** *Journal of Materials Chemistry C*, v. 8, n. 4, p. 1198-1224, 2020.

TUYEN, L. A.; HUY, H. T.; DUOC, N. T.; BINH, D.; HOMG, P. T. T. **The effect of gamma-irradiation on graphene oxide in a monoglyceride/ethanol solution.** *Nuclear Science and Technology*, v. 6, n. 3, p. 48-53, 2016.

VINH, T. L.; KHIEM, T. N.; CHINH, H. D.; TUAN, P. V.; TAN, V. T. **Adsorption capacities of reduced graphene oxide: effect of reductants.** *Materials Research Express*, v. 6, n. 7, 2019.

VIRDIS, B.; DENNIS, P. G. **The nanostructure of microbially-reduced graphene oxide fosters thick and highly-performing electrochemically-active biofilms.** *Journal of Power Sources*, v. 356, p. 556-565, 2017.

XIE, S.; ZHANG, B.; WANG, C.; WANG, Z.; LI, L.; LI, J. **Building up Graphene-Based Conductive Polymer Composite Thin Films Using Reduced Graphene Oxide Prepared by  $\gamma$ -Ray Irradiation,** *The Scientific World Journal*, v. 2013, p. 1-7, 2013.

XU, Z.; CHEN, L.; ZHOU, B.; LI, Y.; LI, B.; NIU, J.; SHAN, M.; GUO, Q.; WANG, Z.; QIAN, X. **Nano-structure and property transformations of carbon systems under  $\gamma$ -ray irradiation: a review.** *Rsc Advances*, v. 3, n. 27, p. 10579-10597, 2013.

YANG, Y.; CHEN, L.; LI, D. Y.; YI, R. B.; MO, J. W.; WU, M. H.; XU, G. **Controllable reduction of graphene oxide by electron-beam irradiation.** *RSC advances*, v. 9, n. 7, p. 3597-3604, 2019.

YANG, Y.; LIN, Q.; DING, B.; WANG, J.; MALGRAS, V.; JIANG, J.; AHAMAD, T. **Lithium-ion capacitor based on nanoarchitected polydopamine/graphene composite anode and porous graphene cathode.** *Carbon*, v. 167, p. 627-633, 2020.

YE, M.; ZHANG, Z.; ZHAO, Y.; QU, L. **Graphene Platforms for Smart Energy Generation and Storage.** *Joule*, v. 2, n. 2, p. 245-268, 2017.

ZHANG, J.; CAO, H. Y.; WANG, J. Q.; WU, G. D.; WANG, L. **Graphene oxide and reduced graphene oxide exhibit cardiotoxicity through the regulation of lipid peroxidation, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction.** *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 21, 2021.

ZHANG, Y.; MA, H. L.; ZHANG, Q.; PENG, J.; LI, J.; ZHAI, M.; YU, Z. Z. **Facile synthesis of well-dispersed graphene by  $\gamma$ -ray induced reduction of graphene oxide.** *Journal of Materials Chemistry*, v. 22, n. 26, p. 13064-13069, 2012.

ZHU, Y.; MURALI, S.; STOLLER, M. D.; VELAMAKANNI, A.; PINER, R. D.; RUOFF, R. S. **Microwave assisted exfoliation and reduction of graphite oxide for ultracapacitors.** *Carbon*, v. 48, n. 7, p. 2118-2122, 2010.

# CAPÍTULO 5

## APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS E BIMETÁLICAS EM FOTOCATÁLISE

Data de submissão: 10/06/2022

Data de aceite: 28/06/2022

### **Luelc Souza da Costa**

Grupo de Química de  
Materiais Avançados (GQMat)  
Departamento de Química  
Analítica e Físico-Química  
Universidade Federal do Ceará – UFC  
Campus do Pici  
Fortaleza - CE, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/5863988822917521>

### **Rômulo Batista Vieira**

Universidade do Estado da Bahia – UNEB  
Departamento de Tecnologia e  
Ciências Sociais – DTCS – Campus III  
Juazeiro – BA  
<http://lattes.cnpq.br/7235526332495510>

### **Diego Rodrigues de Carvalho**

Faculdade de Irecê – FAI  
Centro Territorial de Ensino  
Profissional de Irecê – CETEP  
Irecê – BA  
<http://lattes.cnpq.br/7216399042471205>

### **Elayne Valério Carvalho**

Grupo de Química de  
Materiais Avançados (GQMat)  
Departamento de Química  
Analítica e Físico-Química  
Universidade Federal do Ceará – UFC  
Campus do Pici  
Fortaleza - CE, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/2569065731662929>

**RESUMO:** Sabe-se que processos catalíticos são considerados a força motriz que mantém o estilo de vida da sociedade mundial atual. Desde processos industriais complexos até produtos de consumo diário que estão nas prateleiras de supermercados. Dessa forma, a busca por catalisadores mais eficientes, ambientalmente amigáveis e economicamente acessíveis tem sido estudado de forma sistemática pela comunidade científica em todo o globo. Tendo o processo de fotossíntese como modelo dos atributos mencionados anteriormente, a busca de catalisadores que possam ter seu desempenho melhorado sobre a incidência da luz tem ganhado cada vez mais demanda, dando origem aos fotocatalisadores. Nesse contexto, esta breve revisão apresenta aspectos teóricos sobre fotocatalise, fotocatalisadores, bem como conceitos teóricos sobre os mesmos, mostrando a importância desse tipo de processo para indústria química. Em seguida, apresentamos a aplicação e contextualização acerca da fotocatalise; como este processo ocorre e quais as vantagens de se utilizar tal estratégia. Dentre os inúmeros materiais aplicados a fotocatalise, esta revisão enfatiza a utilização das nanopartículas (NPs) metálicas e bimetalicas baseadas em metais nobres ou a combinação com outros elementos, e como as características fundamentais destes que surgem a partir da escala nanométrica influenciam sobre suas propriedades catalíticas. Devido às propriedades plasmônicas das NPs baseadas em metais

nobres, tais como Au, Pd, Ag e Pd ou liga metálicas como AuCu, PtFe, AuPd ou AuAg, o uso da luz promove este fenômeno de superfície e torna possível a utilização desta em processos catalíticos. Ao fim, serão apresentadas algumas aplicações do processo plasmônico em fotocatalise, mostrando que esse tipo de abordagem, de maneira crítica e como a aplicação de NPs metálicas e ligas metálicas, está dando início a uma nova família de fotocatalisadores com aplicações das mais diversas possíveis.

**PALAVRAS-CHAVE:** Catálise. Fotocatalise. Nanopartículas Metálicas. Metais Nobres. Efeito Plasmônico.

## APPLICATION OF METALLIC AND BIMETALLIC NANOPARTICLES IN PHOTOCATALYSIS

**ABSTRACT:** It is known that catalytic processes are considered the driving force that maintains the lifestyle of today's world society. From complex industrial processes to everyday consumer products that are on supermarket shelves. In this way, the search for more efficient, environmentally friendly and economically accessible catalysts has been systematically studied by the scientific community across the globe. Having the photosynthesis process as a model of the attributes mentioned above, the search for catalysts that can have their performance improved under the incidence of light has gained more and more demand, giving rise to photocatalysts. In this context, this brief review presents theoretical aspects about photocatalysis, photocatalysts, as well as theoretical concepts about them, showing the importance of this type of process for the chemical industry. Then, we present the application and contextualization about photocatalysis; how this process occurs and what are the advantages of using such a strategy. Among the numerous materials applied to photocatalysis, this review emphasizes the use of metallic and bimetallic nanoparticles (NPs) based on noble metals or in combination with other elements, and how the fundamental characteristics of these that arise from the nanometric scale influence their catalytic properties. Due to the plasmonic properties of NPs based on noble metals, such as Au, Pd, Ag and Pd or metallic alloys such as AuCu, PtFe, AuPd or AuAg, the use of light promotes this surface phenomenon and makes it possible to use it in catalytic processes. At the end, some applications of the plasmonic process in photocatalysis will be presented, showing that this type of approach, in a critical way and how the application of metallic NPs and metallic alloys, is starting a new family of photocatalysts with the most diverse possible applications.

**KEYWORDS:** Catalysis. Photocatalysis. Metallic Nanoparticles. Bimetallic Nanoparticles. Plasmonic Effect.

### 1 INTRODUÇÃO

A catálise é de importância vital para a economia do mundo, e que nos permite converter matérias-primas em valiosos produtos químicos e combustíveis de forma econômica, eficiente e ambientalmente amigável. Os catalisadores heterogêneos, por exemplo, têm numerosas aplicações industriais, em diversas áreas tais como na química, alimentar, farmacêutica, de automóveis e petroquímica, estima-se que 90%

de todos os processos químicos usam catalisadores heterogêneos. A utilização de sólidos nanoestruturados tem sido cada vez mais aplicado em setores emergentes além da catálise propriamente dita, tais como as células de combustível, química verde, nanotecnologia e biotecnologia. Na verdade, as pesquisas em catálise heterogênea são necessárias para nos permitir resolver problemas ambientais e energéticos cada vez mais complexos enfrentados pela nossa sociedade industrializada (DUMESIC; HUBER; BOUDART, 2008).

Do ponto de vista histórico, a catálise foi inicialmente reconhecida como um fenômeno natural e o termo “catálise” definido por volta de 1835 por *Jöns Jakobe Berzelius*, para descrever reações que ocorriam mais rapidamente quando se usavam certos compostos que não se consumiam no decorrer da reação. (CHORKENDORFF; NIEMANTSVERDRIET, 2003).

Desta forma, como esse fenômeno promovia um aumento na velocidade de reação, por muitas décadas a catálise fundamental tornou-se sinônimo de análise cinética (CHORKENDORFF; NIEMANTSVERDRIET, 2003). Com o aprimoramento das técnicas de caracterização tornou-se possível relacionar as propriedades catalíticas com a composição química e estrutura dos materiais. Além disso, com o avanço das técnicas computacionais foi possível estudar catalisadores sob diversas condições. Atualmente, a catálise se tornou uma especialidade científica com uma base conceitual firme. Diante disso, a IUPAC definiu a noção de catálise e catalisador como se segue:

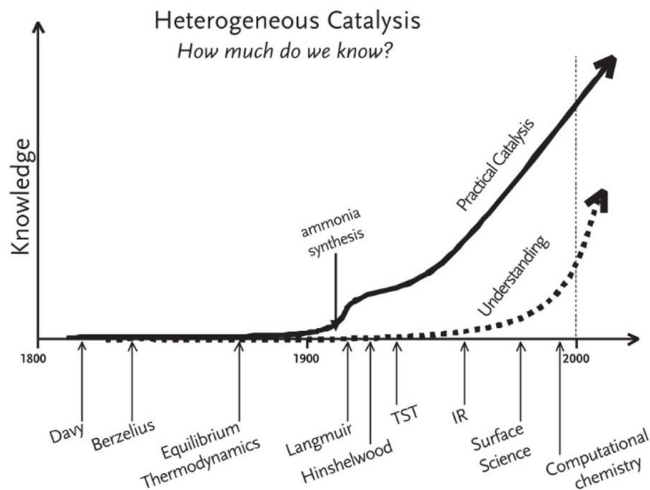
*“catálise é a ação de um catalisador”, e um “catalisador é uma substância que aumenta a velocidade da reação, sem alterar a variação de energia total de Gibbs padrão na reação”* (PARMON; EMELINE; SERPONE, 2002).

Atualmente os catalisadores não são utilizados apenas com o interesse no aumento da cinética, mas com o aumento na seletividade dos processos catalíticos.

Desta maneira, as pesquisas no ramo da catálise estão avançando de forma exponencial, várias questões relativas ao papel do catalisador, tais como a influência de tamanho, formato e composição do catalisador, dentre outros fenômenos nas reações que ainda não estão totalmente esclarecidos nas pesquisas e requerem estudos mais aprofundados, tanto experimentais quanto teóricos. Neste sentido, um panorama do desenvolvimento da catálise é apresentado por Chorkendorff e Niemantsverdriet (CHORKENDORFF; NIEMANTSVERDRIET, 2003) na **Figura 1**.



Figura 1: Gráfico indicando o aumento dos processos catalíticos e do conhecimento em função do tempo. (Adaptado de Chorkendorff, 2003).



De acordo com gráfico pode-se observar que o durante muitos anos os fundamentos da catálise não foram bem compreendidos, porém com o advento de novas técnicas de caracterização seu desenvolvimento teve um crescimento considerável e atualmente, aliado à química computacional, a área está em constante ascensão.

Dentro deste contexto exposto, este trabalho apresentará uma breve definição sobre catalisadores e alguns conceitos teóricos sobre os mesmos, mostrando a importância desse tipo de processo para indústria química. O foco principal do trabalho será sobre a fotocatalise; como este processo ocorre e quais as vantagens de se utilizar tal estratégia. Dentre as inúmeras aplicações da fotocatalise será abordada focando na aplicação de nanopartículas (NPs) mono e bimetálicas e como suas características fundamentais influenciam suas propriedades catalíticas. Ao fim serão apresentadas algumas aplicações atuais das NPs em fotocatalise, mostrando que esse tipo de abordagem está dando início a uma nova família de fotocatalisadores.

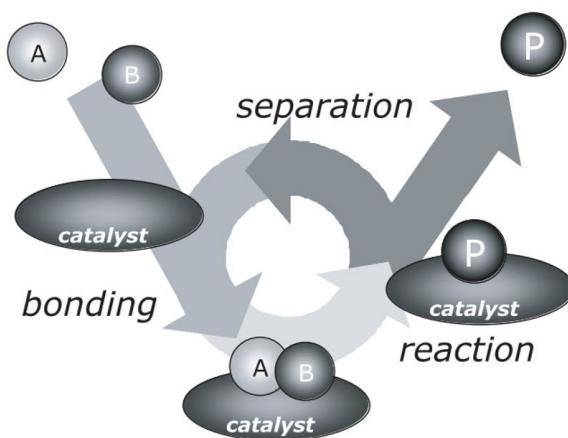
## 2 CATALISADORES: IMPORTÂNCIA E TIPOS DE CATÁLISE UTILIZADA

Um catalisador é um composto, normalmente sólido, que promove o desenvolvimento de uma determinada reação química. Isso é possível, pois o mesmo atua através da formação de ligações com as moléculas dos reagentes, permitindo que estes reajam para a formação de um produto, o qual se separa do catalisador, e deixa o mesmo inalterado de tal forma que esteja disponível para a reação seguinte. Todo processo catalítico é termodinamicamente favorável, ou seja, a reação a ser catalisada é sempre passível de ocorrer, no entanto o catalisador altera a cinética do processo,

fazendo com que este fenômeno ocorra em taxas mais elevadas, com menor energia ou maior seletividade (ZHANG; XU; WANG, 2014).

Em outras palavras, pode-se descrever a reação catalítica como um evento cíclico no qual o catalisador participa e conseqüentemente é recuperado na sua forma original no final do ciclo. Resumidamente considerando uma reação catalítica entre duas moléculas A e B formando um produto P, como ilustrado na **Figura 2**.

Figura 2: Esquema ilustrativo mostrando que qualquer reação catalítica é uma seqüência de etapas elementares onde moléculas de reagentes se ligam a superfície do catalisador, reagem e quando o produto desejado é formado, o mesmo é liberado pelo o catalisador o qual retorna para o ciclo para a próxima reação. (Adaptado de Chorkendorff, 2003).



O ciclo inicia-se com a ligação de moléculas A e B com o catalisador. Então A e B reagem dentro deste complexo para produzir um produto P, que também está ligado ao catalisador. Na etapa final, P separa-se do catalisador deixando o ciclo catalítico e o catalisador permanece no ciclo de reação no seu estado original.

A química do século XX não poderia ter se desenvolvido até o seu estado atual sem o advento dos catalisadores. Reações químicas, em geral, podem ser controladas através da temperatura, concentração, pressão e tempo de contato. O aumento da temperatura e da pressão permite que reações estequiométricas prossigam em uma taxa de produção elevadas, no entanto, para manter os reatores em tais condições com segurança tornam-se cada vez mais caro e desfavorável. Além disso, os parâmetros termodinâmicos podem limitar a formação dos produtos, como por exemplo, a conversão de  $N_2$  e  $H_2$  em  $NH_3$  requer temperaturas acima de  $600\text{ }^\circ\text{C}$ , pois a alta temperatura é necessária para quebrar a forte ligação do  $N_2$ , dificultando o processo. Portanto, na ausência de catalisadores, muitas reações que são comuns na química industrial não seriam possíveis e economicamente inviáveis.

### 3 A FOTOCATÁLISE E PRINCIPAIS RAMOS ONDE ATUA

O termo “fotocatálise” foi introduzido no início dos anos 1930. Desde então, este termo tem sido frequentemente utilizado na literatura científica. Nos primeiros trabalhos não se viu necessidade de abordar a nomenclatura até que o termo tivesse amadurecido o suficiente. O termo foi feito para representar a área da química com foco em reações catalíticas que ocorrem sob a ação da luz, conseqüentemente, a totalidade dos fenômenos relacionados tanto com a fotoquímica e catálise foi considerado domínio da fotocatalise. Tais fenômenos pareciam bastante exóticos e de interesse apenas para um grupo restrito de especialistas, diferentemente dos dias atuais, onde a busca de processos mais “limpos” têm se tornado intenso.

Os recentes interesses e estudos na fotoquímica ambiental, baseados na fotossíntese (DE *et al.*, 2016; PARMON; EMELINE; SERPONE, 2002), e em métodos químicos para transformações de energia solar têm contribuído grandemente para o conhecimento e compreensão dos vários fenômenos relacionados com a fotoquímica e a catálise. Muitos desses fenômenos diferem qualitativamente pela sua natureza e, em geral, são frequentemente encontrados em diferentes campos da química.

Algumas tentativas foram feitas para definir o termo “fotocatálise”. Com efeito, uma das comissões da IUPAC definiu fotocatalise como “*uma reação catalítica envolvendo a absorção de luz por um catalisador ou um substrato*” (BRASLAVSKY; HOUK, 1988; VERHOEVEN, 1996). Em um glossário posteriormente revisto também foi proposta uma definição complementar de uma fotocatalise assistida como: “*uma reação catalítica envolvendo a produção de um catalisador de absorção de luz*”.

Assim como nas reações catalíticas tradicionais, a fotocatalise pode ocorrer em fase homogênea ou heterogênea. Um dos exemplos mais conhecido envolvendo uma reação fotocatalítica homogênea é a fotossíntese, onde a clorofila das plantas é um fotocatalisador natural. A clorofila capta a luz solar para transformar a água e dióxido de carbono em oxigênio e glicose. No fotocatalisador heterogêneo, assim como na catálise heterogênea, o catalisador e os reagentes estão em fases distintas. Diferentemente de como processo catalítico pares elétrons/buraco ( $e^-/h^+$ ) são formados e atuam em reações de redução e oxidação respectivamente. A formação dessas entidades, ( $e^-/h^+$ ), se dão a partir da interação da luz com a superfície do material com características semicondutoras, que por sua vez irão atuar como agentes redutores e oxidativos e promover a transformação da a matéria em energia e/ou produtos com maior valor agregado (TILLEY, 2019; YANG *et al.*, 2019).

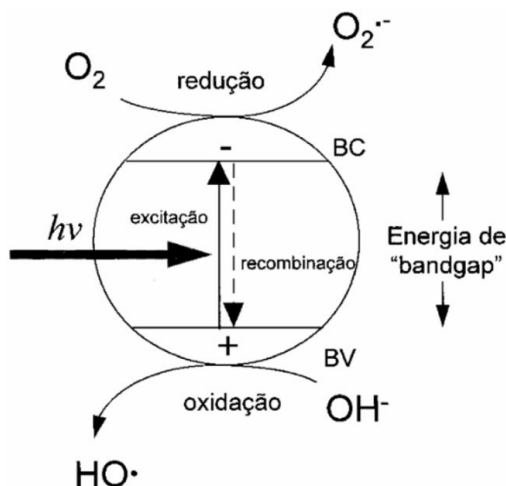
Nos últimos anos o número de trabalhos na literatura utilizando a fotocatalise vem crescendo. No entanto, a grande maioria desses trabalhos foca na utilização da

fotocatálise em Processos Oxidativos Avançados (POAs) como uma alternativa para o tratamento de efluentes contaminados (PINEDO ESCOBAR; MOCTEZUMA; SERRANO ROSALES, 2020). Apesar de algumas peculiaridades, os mecanismos de ação dos POAs na degradação dos contaminantes já são bem conhecidos, principalmente quando se trata de catálise heterogênea, nas quais a utilização de semicondutores, como o  $\text{TiO}_2$ , são os mais explorados. Além da titânia, outros semicondutores podem ser utilizados como fotocatalisadores, porém o  $\text{TiO}_2$  é considerado o mais fotoativo.

Como mencionado brevemente anteriormente, os materiais semicondutores possuem potencial para serem utilizados como fotocatalisadores. Boa parte dessas características advém estruturas eletrônicas possuírem por uma banda de valência (BV) preenchida e uma banda de condução (BC) vazia. Quando um fóton incide sobre a superfície de um semicondutor com energia  $h\nu$ , igual ou maior à energia de *band gap* ( $E_{bg}$ ) do semicondutor, um elétron ( $e^-$ ) é promovido da BV para BC, gerando um buraco ( $h^+$ ) na banda de valência, como ilustrado na **Figura 3**.

O elétron e o buraco podem recombinar-se, liberando a energia investida em forma de calor, ou reagir com aceptores e doadores de elétrons, respectivamente, que estejam adsorvidos na superfície do semicondutor (WANG; DOMEN, 2020). Tal fenômeno é apontado como o principal limitante para o rendimento do processo catalítico. Dentre as alternativas que se têm buscado para evitar a recombinação, a incorporação de cátions e nanopartículas (NPs) metálicas na estrutura têm sido visto como uma solução apropriada (GALANTE *et al.*, 2021). Adiante será mostrado como tal modificação pode melhorar a atividade dos semicondutores.

Figura 3. Esquema ilustrativo da partícula de um semicondutor. BV: banda de valência; BC: banda de condução. (Adaptado de Pinedo e colaboradores, 2020)



Uma alternativa que está sendo recentemente abordada é a utilização de NPs metálicas de metais nobres (MN) em fotocatalise. Essas partículas possuem propriedades óticas únicas o que gera uma oportunidade para explorar seus aspectos fotoquímicos e fotofísicos. Dessa forma, esses compostos possuem um enorme potencial para serem amplamente aplicados em processos fotocatalíticos. Para se ter uma ideia de como as NPs podem ser utilizadas em fotocatalise, é necessária uma melhor compreensão sobre as propriedades destas. Portanto, uma breve abordagem dos conceitos sobre as vantagens das NPs será descrita adiante.

#### 4 NANOPARTÍCULAS METÁLICAS E BIMETÁLICAS

Nos últimos anos, materiais nanoestruturados têm atraído um crescente interesse devido às suas propriedades únicas que diferem dos materiais *bulk* e as suas elevadas potencialidades para serem utilizadas no desenvolvimento de novas tecnologias. No regime nanométrico, as propriedades magnéticas, ópticas, catalíticas e de transporte de cargas energéticas dos materiais dependem fortemente da sua morfologia, isto é, do tamanho e forma devido à elevada relação superfície/volume e as propriedades eletrônicas únicas (COSTA *et al.*, 2021; COSTA; ZANCHET, 2017; KHAN *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2020; TANCREDI *et al.*, 2019).

Enquanto os efeitos de tamanho foram intensivamente estudados nas últimas décadas (TANCREDI *et al.*, 2019), a dependência com a forma passou a ser explorada apenas recentemente, devido à dificuldade intrínseca de produzir nanoestruturas com formas bem definidas e em grandes quantidades. No entanto, nos últimos anos, o aprimoramento de métodos de produção, em especial a síntese coloidal de NPs, propiciou a produção de amostras de alta qualidade, motivando o estudo experimental sistemático dos efeitos de forma e o desenvolvimento de novas aplicações (RODRIGUES; DA SILVA; CAMARGO, 2019).

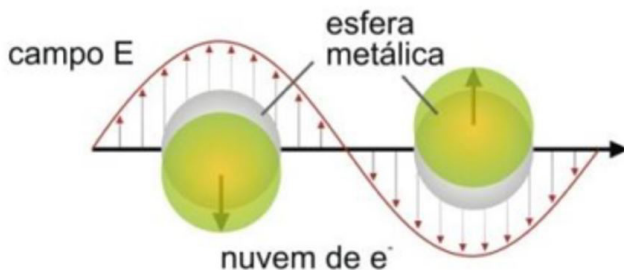
A fotocatalise com NPs vem tomando espaço na comunidade científica, pois baseia-se principalmente nas características fundamentais da resposta ótica de nanoestruturas metálicas após a emissão de luz. A manipulação da luz abaixo do limite de difração por meio de nanoestruturas metálicas tem se consolidado como uma nova área denominada plasmônica (ATWATER, 2007; SARDAR *et al.*, 2009). Uma das grandes perspectivas da plasmônica é a integração de componentes fotônicos nanométricos com as fontes de radiação macroscópicas convencionais e também a atuação como interface entre dispositivos fotônicos e eletrônicos (SARDAR *et al.*, 2009).

## 4.1 PROPRIEDADES ÓTICAS

Uma característica marcante de NPs coloidais de metais nobres, MN, é a forte coloração da solução. Faraday foi o primeiro a verificar as propriedades ópticas dos metais em solução (FARADAY, 1857), no entanto, a compreensão mais aprofundada sobre estas propriedades só foi possível com o formalismo desenvolvido por Mie (1908). A teoria de Mie descreve o espectro de extinção, resultado da absorção e espalhamento da luz pelas partículas, levando em consideração o meio em que se encontram (sua constante dielétrica), tamanho, forma, e vizinhança química das NPs em solução (NOGUEZ; GONZÁLEZ, 2012).

As NPs metálicas como Au e Ag dispersas em solução exibem uma forte banda de absorção na região do UV-Vis, que é atribuída à banda de ressonância de *plasmon* de superfície (SPR, do inglês *Surface Plasmon Resonance*) das NPs. A origem física para essa absorção de luz pelas NPs metálicas é a oscilação coletiva dos elétrons de condução induzida pela interação com um campo eletromagnético em uma frequência específica, conhecida como LSPR (do inglês, *localized surface plasmon resonance*), como ilustrado na **Figura 4**.

Figura 4: Esquema ilustrativo da SPR em NPs esféricas. (Adaptado de Santos, 2012)



Esta frequência é muito sensível às mudanças no ambiente, ou seja, a densidade eletrônica, o formato da partícula, o tamanho, a constante dielétrica do meio determinam o número, a frequência e a largura das bandas LSPR, portanto a modificação na composição e/ou formato das NPs podem deslocar a banda de absorção característica (LIN *et al.*, 2018; SANTOS, 2012).

Esta característica é uma grande ferramenta na caracterização de NPs metálicas, pois pequenas variações nas estruturas iniciais podem ser observadas e acompanhadas utilizando um espectrofotômetro que abrange a região de UV-Vis e Infravermelho próximo, uma técnica rápida, simples e precisa.

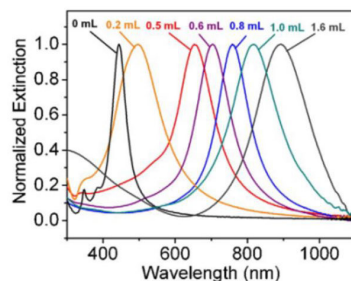
A facilidade no ajuste do comprimento de onda da SPR de NPs metálicas faz com que estas estruturas tenham muitas potencialidades. Por exemplo, a solução coloidal

de Au possui sua SPR localizada no visível, em torno em uma faixa de 520 até 650 nm, dependendo do tamanho e o formato das partículas em solução, podendo então, ser utilizado em sensores e exercendo um papel de destaque na fotocatalise, pois é possível ajustar o comprimento de onda ótimo a ser utilizado no sistema em estudo.

Além do tamanho e formato, é relatado que a variação na composição das nanopartículas pode fortemente influenciar a SPR, ou seja, a formação de NPs bimetálicas, do tipo liga (DESTRO *et al.*, 2018). ou de estrutura heterogênea, onde não há mistura entre os componentes, como por exemplo, as estruturas do tipo casca-caroço, *core@shell*, proporcionam também o ajuste do comprimento de onda para ótimo.

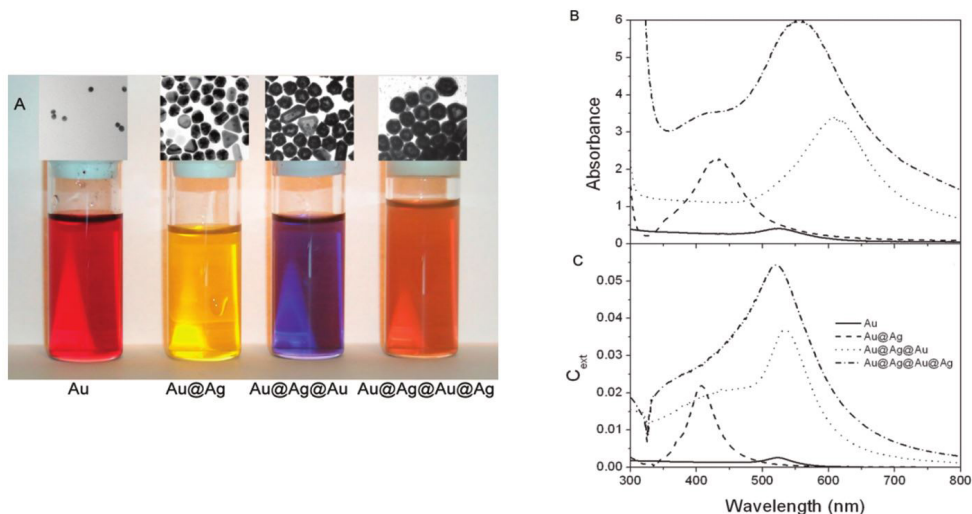
Especialmente Skrabalak e colaboradores (SKRABALAK *et al.*, 2007; XIA *et al.*, 2009) que investigaram a influência de incorporação de ouro em nanocubos de prata. Os autores relataram que conforme é adicionado um maior volume da solução de Au são formadas nanocaixas de paredes finas da liga entre Ag e Au, tendo uma grande influência no espectro de absorção das NPs produzidas. A **Figura 5** apresenta as imagens das soluções após adição de Au e seus respectivos espectros de absorção, comprovando que pequenas variações na composição/ estrutura dessas NPs acarretam alterações de suas propriedades ópticas.

Figura 5: (Esquerda) *Vials* preparados com a solução de 5 mL de 0,2 nmol L<sup>-1</sup> de nanocubos de Ag (40 nm) com diferentes volumes de uma solução 0,1 mmol L<sup>-1</sup> de HAuCl<sub>4</sub>. (Direita) os espectros de absorção correspondentes a cada volume adicionado. (Adaptada de Skrabalak, 2007)



Da mesma forma quando se tem nanoestruturas bimetálicas, por exemplo, do tipo *core@shell* que são compostas por MN, as mesmas irão apresentar variação no SPR quando comparado com seus componentes isolados. Marzán e colaboradores (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2005), sintetizando diferentes nanoestruturas do tipo *core@shell* de Au@Ag observaram o deslocamentos no espectro de absorção conforme pode ser visto na **Figura 6**.

Figura 6. Mudança na coloração das soluções coloidais de Au e Ag (a), espectros de absorção experimental e calculado através da teoria de Mie em (b) e (c) respectivamente. (Adaptado de Marzán e colaboradores, 2005)



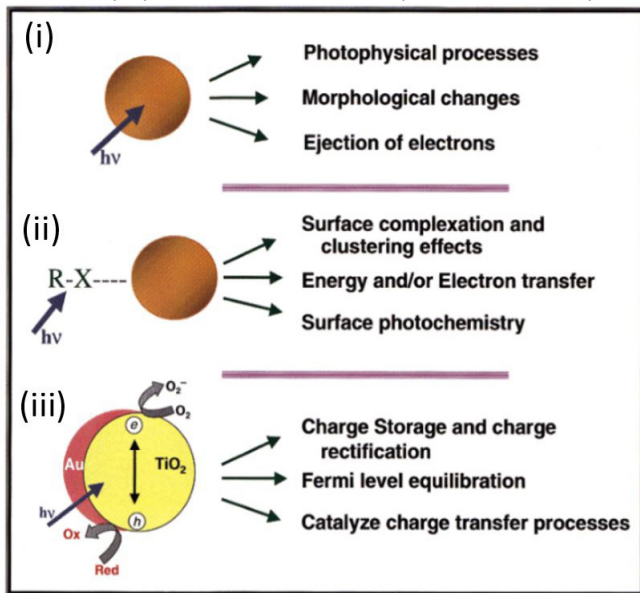
Portanto se as NPs de MN, metálicas e bimetálicas, possuem uma propriedade tão magnífica, como a fotoatividade após a irradiação da luz. Porque não buscar a utilização desse fenômeno em processos fotocatalíticos? Adiante serão descritas as principais contribuições sobre as vantagens de incluir NPs de MN em fotocatalise e mostrar que esse tipo de aplicação criou uma nova família de materiais fotocatalíticos.

## 5 APLICAÇÕES DAS NPs METÁLICAS E BIMETÁLICAS EM FOTOCATÁLISE

A aplicação das NPs de MN utilizando como base no efeito plasmônico em atividades fotoquímicas pode ser visualizada em três cenários diferentes, conforme mostrados na **Figura 7**. Estas incluem: (i) a excitação direta das NPs metálicas, (ii) a excitação indireta obtida através da ligação de um grupo cromóforo ou uma molécula de corante à superfície (iii) auxiliar processos fotocatalítico através da promoção da transferência de carga interfacial em nanocompósitos semicondutores (KAMAT, 2002). No entanto, um maior enfoque será dado nos fenômenos de excitação direta (i) e no auxílio de processos fotocatalíticos pela transferência de carga interfacial (iii), uma vez que o foco do trabalho é a aplicação de NPs em reações fotocatalisadas.



Figura 7. Esquema de como que pode ocorrer a atividade fotoquímica das NPs. (Adaptado de Kamat, 2002)

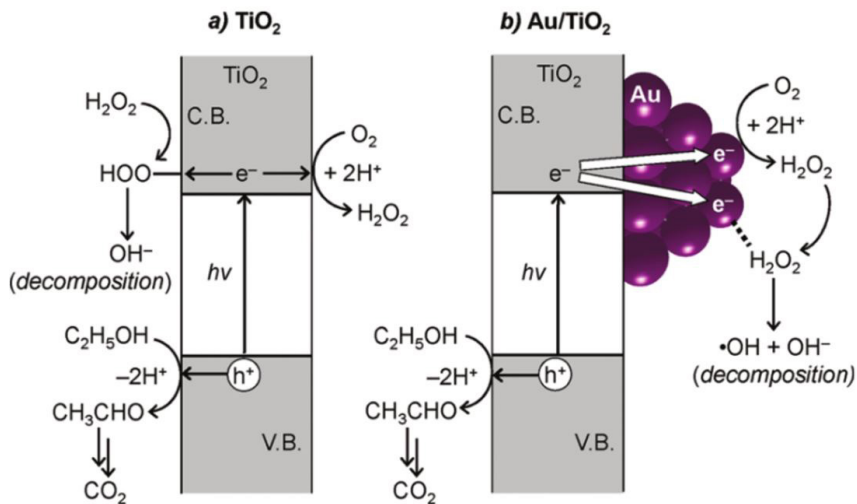


Em ambientes inertes, ou seja, não reativos, o SPR pode relaxar por re-emissão dos fótons ressonantes por espalhamento ou transportando cargas energéticas através da superfície nanoestruturada. Na presença de adsorbatos o SPR da NP pode relaxar pela a transferência de densidade eletrônica diretamente para o adsorvato em um mecanismo conhecido por CID (*chemical interface damping*). Dessa forma transferência temporária de elétrons de um metal plasmônico excitado para adsorbatos, diretamente através CID ou indiretamente pelo adsorvato capturar elétrons energéticos formados através do relaxamento dos plasmons de superfície, pode resultar em uma fotocatalise orientada de elétrons em nanoestruturas plasmônicas ou simplesmente auxiliando a fotocatalise em si (LINIC *et al.*, 2013).

### 5.1 UTILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS NA SUPERFÍCIE DE SEMICONDUTORES

O peróxido de hidrogênio,  $H_2O_2$ , é considerado um oxidante limpo por produzir apenas a água como subproduto e é usado principalmente na indústria. No entanto, o método de produção do  $H_2O_2$  é considerado “não verde”, pois requer alta energia para produção além de várias etapas de reação. Hirai e Colaboradores (TSUKAMOTO *et al.*, 2012) levantaram a hipótese que a reação de produção de  $H_2O_2$  pode ser realizada utilizando o fotocatalisador  $TiO_2$  em água supersaturada com  $O_2$  juntamente com um doador de elétrons, como um álcool como pode ser visto na Figura 8a.

Figura 8. Formação e decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  fotocatalisada em (a)  $\text{TiO}_2$  e (b)  $\text{Au}/\text{TiO}_2$  (Adaptado de Hirai e colaboradores, 2012)



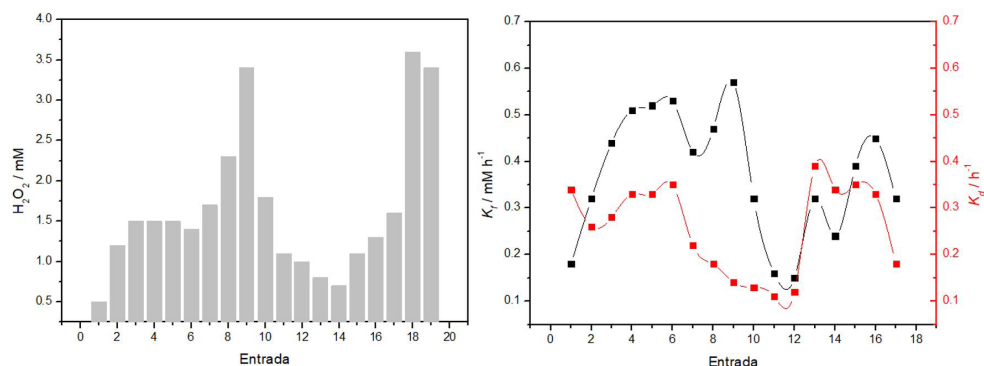
A reação de formação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  ocorre em temperatura ambiente sem gás  $\text{H}_2$  ( $\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ ). No entanto a quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  formada é pequena, pois o que é formado reage com os grupos  $\text{Ti-OOH}$  superficiais da titânia que por sua vez se decompõe por redução para  $\text{Ti-OH}$  ( $\text{Ti-OOH} + \text{H}^+ + e^- \rightarrow \text{Ti-OH} + \text{OH}^-$ ) (LI; CHEN; ZHAO, 2001). Com a inserção de partículas de Au na superfície da titânia como ilustrado na Figura 9b, os elétrons que são promovidos para a banda de condução são capturados pela a NP de Au devido a formação da barreira de Schottky na heterojunção do  $\text{Au}/\text{TiO}_2$  (LINSEBIGLER; LU; YATES, 1995). Esse efeito evita a formação do  $\text{Ti-OOH}$  que decompõe o  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

A presença das partículas de Au na titânia faz com que a redução do  $\text{O}_2$  seja seletiva e que ocorra na superfície do Au. Porém o  $\text{H}_2\text{O}_2$  formado fica fortemente adsorvido na superfície do Au fazendo com que ocorra a decomposição do mesmo com  $e^-$  ( $\text{H}_2\text{O}_2 + e^- \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$ ) (MIAH; OHSAKA, 2006; TSUKAMOTO *et al.*, 2012). Portanto, as partículas de Au promovem a formação e decomposição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de forma simultânea. Portanto a alternativa seria então promover a formação  $\text{H}_2\text{O}_2$  e instantaneamente suprimir a sua decomposição.

Portanto, os autores realizaram a incorporação de ligas bimetálicas contendo  $\text{Au-Ag}$  na superfície do  $\text{TiO}_2$ . Os efeitos dessa combinação foi uma maior eficiência na redução fotocatalítica do  $\text{O}_2$  e conseqüentemente uma maior produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  devido eficiência na separação no par ( $e^-/h^+$ ) outro fato extremamente importante foi à diminuição da degradação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  que se deu através da fraca adsorção na superfície da liga.

A Figura 9 apresenta a concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em solução após a fotoirradiação por 12 h no comprimento de onda 280 nm em 5 mL de água contendo 4% de etanol juntamente com 5 mg de catalizador a temperatura ambiente e atmosfera de  $\text{O}_2$ . Os resultados mostram que a reação contendo apenas a titânia, linha 1, mostrou conversão baixa de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Em contraste, a linha 2 mostra uma amostra de catalisador contendo NPs de Au de 9,1 nm, a taxa de conversão mais que dobrou em relação ao experimento anterior. Isso prova que a taxa de grupos Ti-OOH diminuem, levando a uma menor degradação de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Figura 9. Resultados da produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  fotocatalisada em vários catalisadores. (Adaptado de Miah e colaboradores, 2012)



Os autores mostram que com a utilização da liga Au-Ag, (entrada 7), observa-se um aumento significativo quando comparado com o experimento da entrada 2, onde foi utilizado a mesma proporção de Au (0,1) em relação ao semiconductor. A taxa de conversão continua a aumentar com o aumento da dosagem de Ag até alcançar o valor máximo de 3,4 mM de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Estas proporções de Au e Ag se mostraram as ideais para a reação fotocatalítica. Outros experimentos foram realizados utilizando Pt e Pd não apresentando valores representativos para produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  fotocatalisada. Os valores de constante de formação,  $K_f$ , e de decomposição,  $K_d$ , são apresentados na Figura 9. Os dados mostram que a  $K_f$  para o catalisador Au/ $\text{TiO}_2$  é maior quando comparado com apenas o  $\text{TiO}_2$  e comparavelmente elevada para  $K_d$ , confirmando que o catalisador a base de Au/ $\text{TiO}_2$  é termodinamicamente favorável tanto para a formação quanto para a decomposição de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Entretanto para o catalisador que se mostrou ter a maior taxa de conversão (entrada 9), mostrou a maior valor de  $K_f$  e um valor de quatro vezes menor de  $K_d$ , indicando que este catalisador nessa proporção de Au e Ag é altamente eficiente para produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e ao mesmo tempo suprime a decomposição do mesmo.

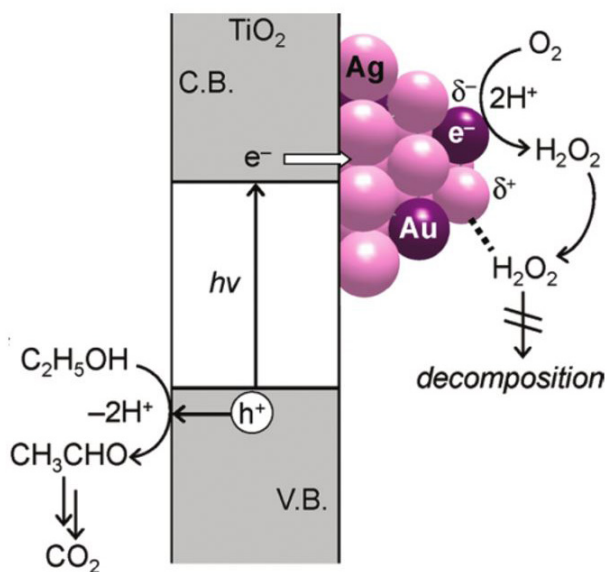
Os autores realizaram cálculos teóricos a fim de esclarecer como que o mecanismo da reação ocorre. Como a proporção de Ag é mais elevada em relação

ao Au ocorre uma doação de densidade eletrônica da Ag para o Au devido a elevada eletronegatividade do Au. Isto sugere que a Ag efetivamente aumenta a carga negativa nos átomos de Au na liga.

As energias de adsorção entre o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e cada metal foram calculadas. Os dados mostraram que a energia de adsorção entre o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o átomo de Au na liga foi de  $-13,7 \text{ kcal mol}^{-1}$  e entre o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o átomo de Ag foi de  $-17,4 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Isso sugere que o  $\text{H}_2\text{O}_2$  é adsorvido preferencialmente nos átomos de Ag.

Portanto a redução fotocatalítica na liga Au-Ag ocorre principalmente no átomo de Au, onde o mesmo se encontra negativamente carregado, como mostrado no mecanismo proposto na **Figura 10**. Os átomos de Ag, positivamente carregados, são inativos para a redução do  $\text{H}_2\text{O}_2$  adsorvido. Devido a isso que a quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  adsorvido em Au diminui e conseqüentemente diminuindo a decomposição do mesmo.

Figura 10. Mecanismo de reação de produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  fotocatalisada utilizando AuAg/ $\text{TiO}_2$  (Adaptado de Hirai de colaboradores, 2012)



Nesse trabalho se observa que os autores mostraram um trabalho bem aprimorado com resultados sólidos sobre a eficiência da utilização das NPs na superfície do  $\text{TiO}_2$ . A utilização de NPs bimetálicas, Au-Ag/ $\text{TiO}_2$  se mostrou altamente eficiente na reação de produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e evitando a decomposição do mesmo, complementando com estudos experimentais e teóricos para a o mecanismo proposto.

## 5.2 UTILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS COLOIDAIS E SUPORTADAS

Scaiano e colaboradores (WEE; SCHMIDT; SCAIANO, 2012) avaliaram a fotoxidação do 9-antraldeído para formação de antraquinona iniciada pela o efeito plasmônico na superfície das NPs de Au coloidais (AuNP) e suportadas sobre nanocristais de diamante (AuNCD). Os autores acompanharam a formação de antraquinona por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massas (GC-MS) em diferentes condições experimentais, conforme apresentado na **Tabela 1**.

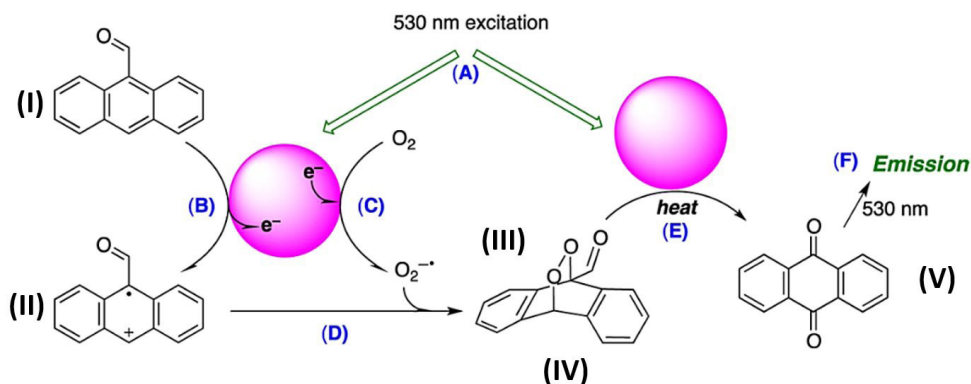
As partículas metálicas apresentaram diâmetro de 8 nm para as NPs coloidais e 23 nm para as NPs suportadas. O experimento com as AuNPs se mostrou 23% de conversão. Enquanto que AuNCD apresentou uma taxa de conversão de 81%, cerca de 3,5 vezes maior em comparação com as AuNP, coloidais, como mostrado na linha 4 e 5 da **Tabela 1**. Um dado interessante é que não se observou conversão de antraquinona na ausência de luz ou de NPs de Au. O fato de se utilizar Ar sintético ou apenas O<sub>2</sub>, não apresentou diferença na produção de antraquinona.

Tabela 1. Resultados da fotoxidação de 9-antraldeído através do efeito plasmônico de NPs de Au.

entry	excitation	conditions <sup>a</sup>	catalyst <sup>b</sup>	yield, <sup>c</sup> %
1	530 nm LED	air	—	0
2	dark	air	AuNP	0
3	dark	air	AuNCD	0
4	530 nm LED	air	AuNP	23
5	530 nm LED	air	AuNCD	81
6	530 nm LED	O <sub>2</sub>	AuNCD	82
7	530 nm LED	air/ <i>N,N</i> -dimethylaniline <sup>d</sup>	AuNCD	0
8	530 nm LED	air/ <i>N,N</i> -dimethylaniline	AuNP	0
9	530 nm LED	air/ <i>p</i> -dinitrobenzene	AuNCD	80
10	530 nm LED	air/ <i>p</i> -dinitrobenzene	AuNP	25
11	530 nm LED	N <sub>2</sub>	AuNCD	0

Os autores apontam que o mecanismo da reação ocorre com transferência de elétrons do 9-antraldeído para a NPs. Isso foi comprovado com a presença de *N,N*-dimeteilanilina, que é um doador de elétrons melhor do que a 9-antraldeído. Os resultados na linha 7 e 8 mostraram que não houve formação de antraquinona, uma vez que o mesmo não participou da reação. O mecanismo proposto é mostrado na **Figura 11**.

Figura 11. Mecanismo proposto por Scaiano e colaboradores para a fotoxidação do 9-antraldeído. As esferas de coloração rosa simbolizam as NPs (coloidais ou suportadas). E as letras em azul são as etapas de reação. (Adaptado de Scaiano e colaboradores, 2012)



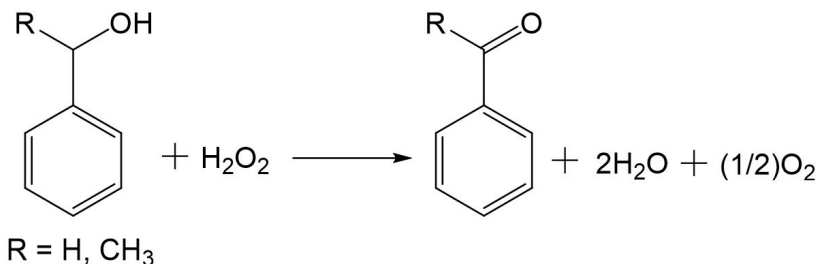
Após a excitação do plasmão de superfície das NPs na etapa A o reagente (I), doa elétrons para a superfície da partícula de Au gerando um cátion radicalar (II). Por sua vez o ambiente contendo  $O_2$ , este entra em contato com a partícula gerando o radical superóxido, (III). Os produtos gerados nas etapas B e C reagem gerando o subproduto endoperoxídeo (IV) que através da decomposição térmica gerada pela a incidência da luz e do efeito plasmônico, acarreta na formação do produto desejado, antraquinona (V) e emissão de luz que foram detectadas por técnicas de fluorescência avançadas.

De fato, foi comprovado que o efeito plasmônico é o responsável pela a fotoxidação do 9-antraldeído. Porém alguns questionamentos surgem, como por exemplo, o efeito do tamanho da partícula de Au sobre a taxa de conversão da reação. Questiona-se que se partículas pequenas, como as partículas coloidais de Au que possuem diâmetros de 8 nm, como afirmado pelos os autores, possuem taxas de conversão relativamente baixas quando comparadas com as partículas suportadas de 23 nm. Espera-se que devido a uma elevada área superficial relativa ao volume de partículas menores tenham um melhor desempenho do que partículas grandes.

Portanto uma possível explicação para tamanha diferença seja devido ao tempo em que a reação seja exposta a luz, gerando aquecimentos de aproximadamente 500 °C, levando à sinterização das partículas coloidais. Por sua vez as partículas suportadas resistem mais ao efeito do aquecimento permanecendo com tamanhos similares com o descrito pelos os autores. Uma alternativa simples de se comprovar tal hipótese seria a coleta do espectro antes e depois da reação, ou realizar análises de microscopia eletrônica de transmissão.

Em um segundo trabalho de Scaiano e colaboradores (HALLETT-TAPLEY *et al.*, 2011), foi avaliado a influência da irradiação por diferentes fontes de luz no desempenho

fotocatalítico de NPs de Au coloidais na oxidação de álcoois aromáticos, como o álcool benzílico e o álcool sec-fenilico na presença de  $H_2O_2$  como descrito na reação abaixo.



Dessa forma, os autores relatam a utilização de três tipos de fonte de irradiação, *laser*, *LED* e Micro-ondas. Essas fontes foram aplicadas em uma solução contendo NPs de Au de aproximadamente 15 nm álcool sec-fenilico ou benzílico com uma solução 50% de  $H_2O_2$ . A Tabela 3 sumariza os resultados obtidos a reação de oxidação fotocatalizada por NPs de Au.

Tabela 3. Resultados de percentagens de conversão do álcool sec-fenilico e benzilicos obtidos usando irradiação do tipo laser, LED e micro-ondas.

method	<i>sec</i> -phenethyl alcohol % conversion <sup>a</sup>	benzyl alcohol % conversion <sup>b</sup>
LD 100 shots/drop	44.3	27.0
LD blank (100 shots/drop)	2.8	1.0
LED 100 s	70.2	54.6
LED 20 min	95.2	66.3
LED blank (25 min)	25.7	9.1
microwave 1 min	81.7	18.4
microwave 10 min	98.2	31.5
microwave blank (10 min)	2.8	2.8

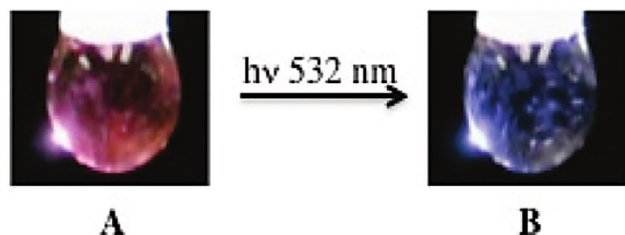
<sup>a</sup> Conversion to acetophenone. <sup>b</sup> Conversion to benzaldehyde.

O experimento utilizando o *laser drop*, consistiu de irradiar a solução reacional gota a gota com pulsos de laser de elevada intensidade e avalia a fotocatalise em pequenos volumes. A mistura foi irradiada com 100 pulsos/gota à 532 nm. Após o disparo do primeiro pulso a cor da solução muda instantaneamente da cor rosa para o azul-violeta, como mostrado na **Figura 12**.

Os autores relatam que a conversão máxima ocorreu com 44 % para acetofenona e 27% para benzaldeído. Estes resultados indicam que a nanoestrutura das NPs de Au e

mais especificamente as o fenômeno de plasmon de superfície é inteiramente responsável pela a reação de oxidação quando exposta a esse tipo de irradiação.

Figura 12. (a) Cor da gota antes (A) e depois (B) do primeiro pulso de laser de 532 nm. (Adaptado de Scaiano e colaboradores, 2011)



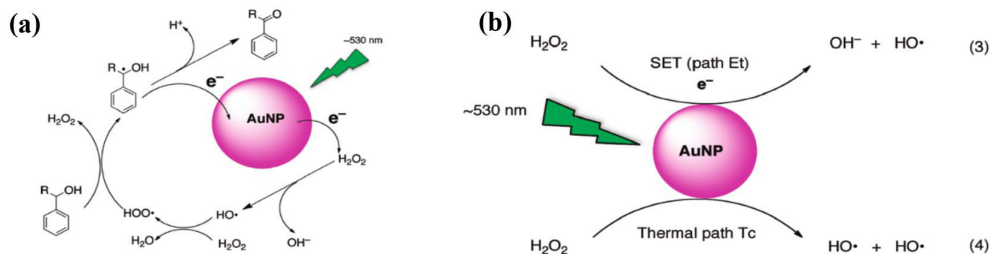
Com relação à irradiação com luz *LED* os autores relatam uma surpreendente conversão de 70% nos primeiros 100 segundos de exposição para a reação de oxidação do álcool sec-fenílico para acetofenona e 55% para o álcool benzílico com mesmo tempo de exposição, Tabela 3. A utilização de luz *LED* a 530 nm provou ser mais eficiente na excitação das NPs de Au e promover a oxidação dos álcoois do que a irradiação laser. Apesar da intensidade da irradiação *LED* ser menos intensa do que o laser, esta pode ser uma alternativa econômica e eficiente do ponto de vista energético para reações mediadas por plasmon de superfície.

Os autores utilizaram a irradiação de micro-ondas para a comparação com as técnicas de fotoexcitação (*laser* e *LED*) para assegurar que a geração de produtos de oxidação não era devido a simples aquecimento do solvente,  $H_2O$ . Na presença de NPs de Au, a conversão de 98% de acetofenona e de conversão de 32% de benzaldeído foi observada após 10 min de reação. Na ausência das NPs após a irradiação praticamente não houve conversão, mostrando que a geração de calor no meio devido à irradiação não promove a oxidação dos álcoois indicando que esse fenômeno é atribuído a fotoexcitação do plasmon de superfície das partículas pelo as fontes de luz.

Diante desses dados os autores propuseram o mecanismo da reação que é ilustrado na Figura 13a. O primeiro passo no mecanismo envolve a fotoexcitação do plasmon de superfície das NPs de Au que reage com  $H_2O_2$  para gerar o radical hidroxila,  $HO\cdot$ . Este poderoso radical pode ser formado por duas vias como ilustrado na Figura 13b, pela transferência de um único elétron para o  $H_2O_2$  ou pela a decomposição térmica de peróxido na superfície do Au (FASCIANI *et al.*, 2011), no entanto os autores não sabem indicar de onde provem este radical.



Figura 13. (a) Mecanismo proposto para a oxidação do álcool sec-fenilílico ( $R=CH_3$ ) e benzílico ( $R=H$ ) através excitação de plasmão de superfície das NPs de Au. (b) Mecanismo de formação do radical hidroxila. (Adaptado de Scaiano e colaboradores, 2011)



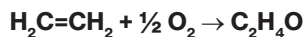
Os radicais  $HOO\cdot$  são consideravelmente mais seletivos nas reações de abstração de H do que os  $OH\cdot$ , permitindo a interação seletiva com os precursores de álcool, sem a formação de derivados indesejáveis. Radicais  $HOO\cdot$  continuam abstraindo átomos de hidrogênio secundário a partir do álcool benzílico favorecendo a formação de um radical intermediário cetila. O radical cetila passa por subseqüentes transferências de elétrons com a superfície de Au, seguido pela rápida perda de  $H^+$  para formar o produto carbonilado desejado.

Neste trabalho os autores buscaram variar parâmetros que poderiam influenciar as taxas de conversão na reação fotocatalisada o que deu grande contribuição na área de fotocatalise com utilização de NPs. No entanto, acredito que a sensibilidade das NPs coloidais foi o fator que contribuiu para variação nas taxas de conversão. Pois com a incidência de uma luz mais intensa se espera que a conversão seja alta, mas com a sinterização das partículas devido a elevada temperatura causada pelo o laser causou uma pequena queda com relação à reação excitada com *LED*. Porém a sinterização não foi muito intensa, pois pela a coloração das soluções que os autores relatam, mesmo após a excitação, as soluções continuaram com a cor violeta indicando a presença de NPs.

### 5.3 NPs UTILIZADA EM REAÇÕES DE INTERESSE INDUSTRIAL

Como mencionado anteriormente às reações catalíticas industriais operam em condições muito agressivas, o que acarreta em mais investimento em segurança, e pesquisa. Nesse ponto de vista, a utilização do efeito plasmônico seria extremamente vantajoso, uma vez que condições reacionais mais brandas poderiam ser alcançadas, em comparação com catalisadores tradicionais. Por exemplo, a reação de epoxidação de etileno é uma reação extremamente importante para indústria, onde este produto é uma importante substância química usada como um intermediário na produção de etilenoglicol

e outros produtos químicos. O catalisador típico para essa reação é Ag, onde a reação é conduzida em temperaturas relativamente elevada.

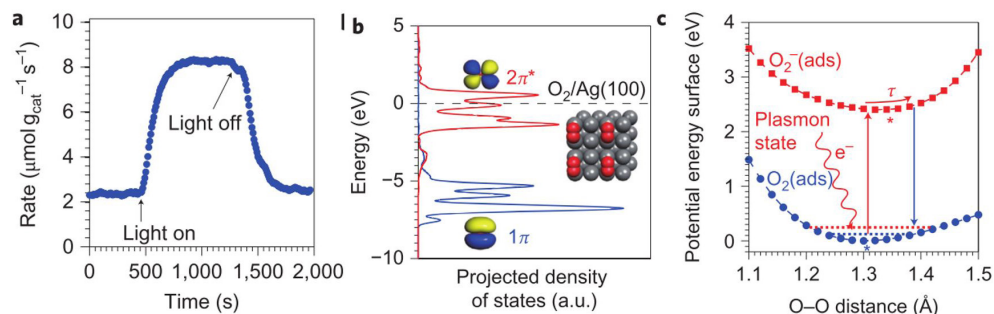


Sabe-se que a estrutura cristalina é um fator importante na catálise, onde planos cristalográficos específicos podem ser mais ativos do que outros. Neste contexto, Lini e colaboradores (LINIC; CHRISTOPHER, 2010) demonstraram a perda de atividade após a reutilização do catalisador em ciclos reacionais e que isso ocorre devido à elevada temperatura, que modifica a morfologia das NPs de Ag mudando assim a rede cristalina e consequentemente alterando suas propriedades catalíticas.

Através da fotocatalise o processo de dissociação do oxigênio pode ser ativado por elétrons energéticos nas NPs de Ag excitados com luz, portanto, a temperatura de funcionamento do processo catalítico poderia ser reduzida sem sacrificar a taxa de reação além de levar a uma maior vida útil as NPs Ag. Dessa forma, o mesmo grupo, Lini e colaboradores (CHRISTOPHER; XIN; LINIC, 2011), realizaram experimentos para confirmar a hipótese de que as NPs de Ag, sendo um metal plasmônico, poderia catalisar a reação de epoxidação de etileno com influência da luz visível, na ordem de intensidade da luz solar, a temperaturas entre 127 e 227 °C e pressão atmosférica.

Os resultados obtidos mostraram que à medida que a luz foi ligada, como indicado na **Figura 14a**, a velocidade da reação em estado estacionário aumentou cerca de quatro vezes em comparação com a do processo térmico tradicional (sem luz). O sistema respondeu de forma instantânea com o desligamento da luz. A velocidade do processo inverso foi na mesma ordem do processo direto, indicando que foi o efeito plasmônico o responsável pela a atividade fotocatalítica.

Figura 14. (a) Taxa de epoxidação de etileno no escuro com iluminação com luz visível. (b) densidade de estados molecular para O<sub>2</sub> adsorvido em na superfície da Ag. O nível de Fermi da Ag é representado com a linha horizontal pontilhada. (c) Excitação de plasmons de superfície de Ag, que permite a transferência de um elétron excitado para o O<sub>2</sub>, onde ocorre a formação do O<sub>2</sub><sup>-</sup> (Adaptado de Lini e colaboradores, 2011)



Para as reações de oxidação nas NPs de Ag aqui discutias, a dissociação molecular do  $O_2$  para formar oxigênio atômico adsorvido na superfície controla as taxas de reação (LINIC; BARTEAU, 2003; STEGELMANN *et al.*, 2004). Nesse caso como após a excitação por luz visível, ocorre uma transferência de elétrons energéticos da Ag para o  $O_2$ , através do efeito plasmônico, os elétrons transferidos ocupam o orbital  $2\pi^*$ , antiligante, do  $O_2$  resultando na formação do íon  $O_2^-$  que facilita a etapa de dissociação. Na **Figura 14b** mostra que a transferência de elétrons do nível de Fermi,  $E_F$ , da Ag para os orbitais  $2\pi^*$  do  $O_2$  é possível devido a densidade de estados do  $O_2$  estar relativamente próxima do  $E_F$  das partículas de Ag.

A energia necessária para preencher o orbital antiligante do  $O_2$  adsorvido em prata é aproximadamente 2,4 eV. Como indicado na **Figura 14c**, esta é a diferença de energia entre a superfície de energia potencial do estado excitado  $O_2^-$  (no qual o elétron adicional ocupa orbital  $2\pi^*$ ) e o mínimo de energia potencial superficial do estado fundamental ( $O_2$  na superfície da Ag). Esta energia corresponde à energia de plasmons de superfície de prata e, conseqüentemente, a energia dos elétrons energéticos formado no processo de plasmon de excitação nas nanoestruturas de prata que implica que uma transferência eficiente entre os elétrons da superfície da Ag para o estado antiligante do  $O_2$ .

A interação com da luz visível com as NPs de Ag resultou em um aumento significativo nas taxas de conversão e que os rendimentos nos produtos desejados são comparáveis aos obtidos com o mesmo catalisador operando apenas nas condições térmicas. Além da redução de 40 °C na temperatura de funcionamento tem um forte efeito sobre a estabilidade do catalisador.

Este trabalho contribui fortemente para a química industrial com a utilização da luz visível em um processo catalítico tradicional acarretou em taxas de conversão aceitáveis, com diminuição das condições térmicas e aumento da vida útil do catalisador em dez vezes em comparação com o processo térmico. Os autores poderiam realizar experimentos para determinar qual a temperatura mínima de operação desta reação com incidência da luz para buscar temperaturas de operação ainda menores. A utilização de ligas metálicas ou de estruturas heterogêneas neste caso poderia ser facilmente abordada pelo os autores e que poderia acarretaria em resultados interessantes.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como apresentado nesta breve revisão, a fotocatalise vem sendo explorada como uma nova alternativa de se catalisar reações. Além de ser muito vantajosa frente aos processos tradicionais pelo o fato de ocorrer através da incidência da luz, uma fonte de

energia que está disponível para nos casos onde a luz solar pode ser utilizada para ativar o catalisador.

Aqui mais especificamente foram destacadas as formas de como as nanopartículas metálicas interagem com a luz através do efeito plasmônico de superfície que é uma característica única dos metais nobres nanoestruturados. Através desse efeito é possível promover transferência de elétrons que podem catalisar reações químicas, gerar aquecimento na superfície ou auxiliar reações catalíticas.

As estruturas bimetálicas apresentam algumas vantagens por ser possível ajustar o efeito plasmônico para um comprimento de onda específico com a mistura de metais formando ligas ou na construção de estruturas heterogêneas. No entanto esse tipo de material ainda está restrito a utilização com semicondutores como no trabalho de Hirai apresentado nesta revisão.

Este tipo de aplicação vem se destacando, já que, pode se aplicar em muitas reações de importância industrial. Apesar de muitas reações já serem conhecidas, se trata de uma nova metodologia a partir de um ponto de vista mais ecológico e que atente melhor os princípios da química verde tais como: boa eficiência, reações mais rápidas em temperaturas baixas e recursos mínimos.

De um ponto de vista pessoal, acredito que os fotocatalisadores com NPs suportadas possuem uma grande vantagem frente às NPs coloidais utilizadas em reação fotocatalisadas, pois a grande vantagem do catalisador é de recuperar o mesmo ao final do processo ser reutiliza-lo em uma reação seguinte e vários ciclos. A etapa de recuperação do catalisador, no caso das NPs coloidais, pode ser crítica do ponto de vista industrial, além da sensibilidade dessas em temperaturas elevadas.

Evidentemente que o futuro da fotocatalise é promissor, a sociedade moderna anseia por processos mais limpos e de grande eficiência. Existem inúmeros tipos de NPs propostos na literatura com diferentes tamanhos formatos e composição e que podem ser aplicados neste novo ramo, que é a fotocatalise mediada por plasmon de superfície e que os presentes trabalhos estão em etapas iniciais da compreensão deste belíssimo efeito.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATWATER, Harry A. The Promise of Plasmonics. **Scientific American**, [s. l.], v. 296, p. 56, 2007.

BRASLAVSKY, S. E.; HOUK, K. N. GLOSSARY OF TERMS USED IN PHOTOCHEMISTRY. **Pure and Applied Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 7, p. 1055-1106, 1988.

CHORKENDORFF, I.; NIEMANTSVERDRIET, J.W. **Concepts of Modern Catalysis and Kinetics**. [S. l.: s. n.], 2003.

- CHRISTOPHER, Phillip; XIN, Hongliang; LINIC, Suljo. Visible-light-enhanced catalytic oxidation reactions on plasmonic silver nanostructures. **Nature chemistry**, [s. l.], v. 3, n. 6, p. 467–472, 2011.
- COSTA, Luelc Souza da *et al.* Hybrid magneto-luminescent iron oxide nanocubes functionalized with europium complexes: synthesis, hemolytic properties and protein corona formation. **Journal of Materials Chemistry B**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 428–439, 2021.
- COSTA, Luelc Souza da; ZANCHET, Daniela. Pretreatment impact on the morphology and the catalytic performance of hybrid heterodimers nanoparticles applied to CO oxidation. **Catalysis Today**, [s. l.], v. 282, p. 151–158, 2017.
- DE, Sudipta *et al.* Ni-based bimetallic heterogeneous catalysts for energy and environmental applications. **Energy & Environmental Science**, [s. l.], v. 9, n. 11, p. 3314–3347, 2016.
- DESTRO, Priscila *et al.* Formation of Bimetallic Copper-Gold Alloy Nanoparticles Probed by in Situ X-ray Absorption Fine Structure Spectroscopy. **European Journal of Inorganic Chemistry**, [s. l.], p. 1–9, 2018.
- DUMESIC, James A.; HUBER, George W.; BOUDART, Michel. Principles of Heterogeneous Catalysis. In: ERTL, Gerhard *et al.* (org.). **Handbook of Heterogeneous Catalysis**. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008. *E-book*.
- FARADAY, Michael. The experimental relations of gold (and other metals) to light. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, [s. l.], v. 147, p. 145–181, 1857.
- FASCIANI, Chiara *et al.* High-temperature organic reactions at room temperature using plasmon excitation: decomposition of dicumyl peroxide. **Organic letters**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 204–207, 2011.
- GALANTE, Miguel T. *et al.* Aminopolysiloxane as Cu<sub>2</sub>O Photocathode Overlay: Photocorrosion Inhibitor and Low Overpotential CO<sub>2</sub>-to-formate Selectivity Promoter. **ChemCatChem**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 859–863, 2021.
- HALLETT-TAPLEY, Geniece L. *et al.* Plasmon-Mediated Catalytic Oxidation of sec -Phenethyl and Benzyl Alcohols. **The Journal of Physical Chemistry C**, [s. l.], v. 115, p. 10784–10790, 2011.
- KAMAT, Prashant V. Photophysical, Photochemical and Photocatalytic Aspects of Metal Nanoparticles. **Journal of Physical Chemistry B**, [s. l.], v. 106, p. 7729–7744, 2002.
- KHAN, Latif U. *et al.* Red-Emitting Magnetic Nanocomposites Assembled from Ag-Decorated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> @ SiO<sub>2</sub> and Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:Eu<sup>3+</sup>: Impact of Iron-Oxide/Silver Nanoparticles on Eu 3+ Emission. **ChemistrySelect**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 1157–1167, 2018.
- LI, Xiangzhong; CHEN, Chuncheng; ZHAO, Jincai. Mechanism of Photodecomposition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on TiO<sub>2</sub> Surfaces under Visible Light Irradiation. **Langmuir**, [s. l.], v. 17, p. 4118–4122, 2001.
- LIMA, Carlos C. *et al.* Highly active Ag/C nanoparticles containing ultra-low quantities of sub-surface Pt for the electrooxidation of glycerol in alkaline media. **Applied Catalysis B: Environmental**, [s. l.], v. 279, p. 119369, 2020.
- LIN, Long *et al.* Ag Nanocrystals with Nearly Ideal Optical Quality: Synthesis, Growth Mechanism, and Characterizations. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 140, n. 50, p. 17734–17742, 2018.
- LINIC, Suljo *et al.* Catalytic and Photocatalytic Transformations Geometric and Plasmonic Properties. **Accounts of Chemical Research**, [s. l.], v. 46, n. 8, p. 1890–1899, 2013.

LINIC, S; BARTEAU, Mark A. Construction of a reaction coordinate and a microkinetic model for ethylene epoxidation on silver from DFT calculations and surface science experiments. **Journal of Catalysis**, [s. l.], v. 214, n. 2, p. 200–212, 2003.

LINIC, Suljo; CHRISTOPHER, Phillip. Overcoming Limitation in the Design of Selective Solid Catalysts by Manipulating Shape and Size of Catalytic Particles: Epoxidation Reactions on Silver. **ChemCatChem**, [s. l.], v. 2, n. 9, p. 1061–1063, 2010.

LINSEBIGLER, Amy L; LU, Guangquan; YATES, John T. Photocatalysis on  $\text{TiO}_n$  Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results. [s. l.], p. 735–758, 1995.

MIAH, Md Rezwan; OHSAKA, Takeo. Cathodic detection of  $\text{H}_2\text{O}_2$  using iodide-modified gold electrode in alkaline media. **Analytical chemistry**, [s. l.], v. 78, n. 4, p. 1200–1205, 2006.

NOGUEZ, Cecilia; GONZÁLEZ, Ana L. Localized Surface Plasmons of Multifaceted Metal Nanoparticles. In: SAU, Tapan K.; ROGACH, Andrey L. (org.). **Complex-shaped Metal Nanoparticles: Bottom-Up Syntheses and Applications**. Wiley-VCHed. [S. l.: s. n.], 2012. p. 361–393.

PARMON, V; EMELINE, A V; SERPONE, N. GLOSSARY OF TERMS IN PHOTOCATALYSIS AND RADIOCATALYSIS. **International Journal of Photoenergy**, [s. l.], v. 4, p. 91–131, 2002.

PINEDO ESCOBAR, José Alfonso; MOCTEZUMA, Edgar; SERRANO ROSALES, Benito. Heterojunctions for Photocatalytic Wastewater Treatment: Positive Holes, Hydroxyl Radicals and Activation Mechanism under UV and Visible Light. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, [s. l.], v. 18, n. 7, 2020.

RODRIGUES, Thenner S.; DA SILVA, Anderson G.M.; CAMARGO, Pedro H.C. Nanocatalysis by noble metal nanoparticles: Controlled synthesis for the optimization and understanding of activities. **Journal of Materials Chemistry A**, [s. l.], v. 7, n. 11, p. 5857–5874, 2019.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, Benito *et al.* Multishell bimetallic AuAg nanoparticles: synthesis, structure and optical properties. **Journal of Materials Chemistry**, [s. l.], v. 15, p. 1755–1759, 2005.

SANTOS, K. DE O. **Nanopartículas de prata e prata-paládio estabilizadas pela polietilenoimina linear funcionalizada: formação, caracterização e aplicações catalíticas**. 2012. - Universidade Federal de Santa Catarina, [s. l.], 2012.

SARDAR, Rajesh *et al.* Gold nanoparticles: past, present, and future. **Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids**, [s. l.], v. 25, n. 24, p. 13840–13851, 2009.

SKRABALAK, Sara E *et al.* Facile synthesis of Ag nanocubes and Au nanocages. **Nature Protocols**, [s. l.], v. 2, p. 2182–2190, 2007.

STEGELMANN, C. *et al.* Microkinetic modeling of ethylene oxidation over silver. **Journal of Catalysis**, [s. l.], v. 221, n. 2, p. 630–649, 2004.

TANCREDI, Pablo *et al.* Exploring the synthesis conditions to control the morphology of gold-iron oxide heterostructures. **Nano Research**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 1781–1788, 2019.

TILLEY, S. David. Recent Advances and Emerging Trends in Photo-Electrochemical Solar Energy Conversion. **Advanced Energy Materials**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 1–13, 2019.

TSUKAMOTO, Daijiro *et al.* Photocatalytic  $\text{H}_2\text{O}_2$  Production from Ethanol/ $\text{O}_2$  System Using  $\text{TiO}_2$  Loaded with Au–Ag Bimetallic Alloy Nanoparticles. **ACS Catalysis**, [s. l.], v. 2, p. 599–603, 2012.

VERHOEVEN, J. W. GLOSSARY OF TERMS USED IN PHOTOCHEMISTRY. **Pure and Applied Chemistry**, [s. l.], v. 68, n. 12, p. 2223–2286, 1996.

WANG, Qian; DOMEN, Kazunari. Particulate Photocatalysts for Light-Driven Water Splitting: Mechanisms, Challenges, and Design Strategies. review-article. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 120, n. 2, p. 919–985, 2020.

WEE, Tse-Luen (Erika); SCHMIDT, Luciana C.; SCAIANO, Juan C. Photooxidation of 9-Anthraldehyde Catalyzed by Gold Nanoparticles: Solution and Single Nanoparticle Studies Using Fluorescence Lifetime Imaging. **The Journal of Physical Chemistry C**, [s. l.], v. 116, n. 45, p. 24373–24379, 2012.

XIA, Younan *et al.* Shape-controlled synthesis of metal nanocrystals: simple chemistry meets complex physics?. **Angewandte Chemie (International ed. in English)**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 60–103, 2009.

YANG, Wooseok *et al.* Strategies for enhancing the photocurrent, photovoltage, and stability of photoelectrodes for photoelectrochemical water splitting. **Chemical Society Reviews**, [s. l.], v. 48, n. 19, p. 4979–5015, 2019.

ZHANG, Zhi-Cheng; XU, Biao; WANG, Xun. Engineering nanointerfaces for nanocatalysis. **Chemical Society reviews**, [s. l.], v. 43, p. 7870–7886, 2014.

# CAPÍTULO 6

## COMPLEX OXIDATION OF TMB CATALYZED WITH PEROXIDASE-LIKE AU NANOPARTICLES<sup>1</sup>

Data de submissão: 19/05/2022

Data de aceite: 10/06/2022

**Zhiming Liu**

Academy of Chemical Defense  
Academy of Military Science  
Beijing, China

<https://orcid.org/0000-0003-1819-7967>

**Wenjian Wu**

College of Science  
National University of  
Defense Technology  
Changsha, China

**ABSTRACT:** Metal nanoparticles with catalytic properties are very promising to be used as detectors in biochemical reactions. Herein reveals the catalytic properties and relevant *in-situ* self-assembly abilities of hybrid films of Au nanoparticles (Au NPs) and cellulose for the oxidation of benign chromogen 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) with hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). The peroxidase-like properties of hybrid films are inherited from those of colloidal Au NPs and increase with their contents of Au NPs. It is discovered that the oxidized products of TMB grow *in-situ* and assemble into rod-like and tumbleweed-like nanofiber assemblies

<sup>1</sup> Originally Published: Nanotechnology, 2017, 28, 385602 (7pp).

on hybrid films. The rod-like nanofibers show a magnificent polarizing phenomenon under polarized light because of polycrystalline globular nanoparticles inside. The *in-situ* self-assembly of polarizing nanofibers of chromogen catalyzed with hybrid films creates an opportunity for the synthesis of novel organic nanomaterials and the enhanced detection of biochemical products under polarized light.

**KEYWORDS:** Self-Assembly. Nanofiber. Tetramethylbenzidine. Hybrid Film. Au Nanoparticle.

### 1 INTRODUCTION

Historically, gold (Au) has been regarded as being catalytically inert. However, it is surprisingly discovered that Au NPs with either positive or negative surface charges show peroxidase-like activity to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the presence of TMB [1-3], which has a stronger affinity to negatively charged surfaces of Au NPs [2]. It is revealed that the origin of the peroxidase-like activity seen from Au NPs is contributed by the Au NPs [3], and the Au NPs is 55 times less active than the native enzyme [4]. Although Au NPs are observed to enhance the activities of glucose oxidase and horseradish peroxidase (HRP) [5, 6], and some



of them even possess intrinsic peroxidase [3-6], there are not any reports about hybrid materials of Au NPs being used directly as catalysts of  $H_2O_2$  for the oxidation of organic chromogens such as TMB. As a non-carcinogenic compound, TMB has been widely used as a new reagent for swift colorimetric detection of biomolecules in analytical samples [7-9]. The self-assembly and transformation of nanostructures is found to be controlled by enzymatic kinetics in a system consisting of HRP,  $H_2O_2$ , and TMB [10]. Furthermore, these complex nanofibers of oxidized TMB are expected to have wide applications in organic electronics and photonic devices [11-16]. Meanwhile, compared with the enzyme-controlled self-assembly approach which has attracted considerable attention of scientists [10, 17], hybrid materials with enzyme-like catalytic properties are more promising for synthesizing novel smart materials with controlled nanostructures because of the *in-situ* catalyzing ability, easy separation from solutions, and wide adaptability to chemical reagents, etc.

## 2 EXPERIMENTAL DETAILS

Herein, catalytic properties of hybrid films of Au NPs and cellulose to  $H_2O_2$  for the oxidation of TMB are studied. The oxidized products of TMB can grow *in-situ* on the hybrid films and assemble into structures with different morphologies, including both straight and curved rod-like nanofibers, tumbleweed-like nanofiber assemblies, and polycrystalline straw-berry-like nanoparticles within rod-like nanofibers. The rod-like nanofibers exhibit glorious polarizing phenomenon because of polycrystalline characteristics of the globular nanoparticles inside.

Two kinds of Au colloids with average sizes of Au NPs around 13 nm (abbreviated Au13) and 50 nm (abbreviated Au50) under transmission electron microscope (TEM, JEOL JEM 1400 EX, 120 keV) are prepared by the citrate reduction of  $HAuCl_4$ . The Au colloids of Au13 and Au50 exhibit characteristic surface plasmon resonance (SPR) bands centered at 520 nm and 547 nm under UV-Vis spectrometer (Perkin-Elmer Lambda II), respectively. Dynamic light scattering (DLS, Malvern Zetasizer Nano-ZS) tests show that Zeta potentials of both the Au NPs of Au13 and Au50 are negatively charged, and their average hydrodynamic sizes are larger than those tested under TEM.

100  $\mu$ L Au13 (0.209 mg/mL) or Au50 (0.511 mg/mL) is added into 1 mL TMB reaction solution composed of 0.42 mM TMB and 10 mM  $H_2O_2$  in an aqueous sodium phosphate citrate buffer with pH of 5.0 to initiate the redox reaction at room temperature for 24 h. The suspension is centrifuged under 13 krpm for 20 min to precipitate Au NPs after the reaction. The supernatant is tested with UV-Vis spectrometer. 10  $\mu$ g/mL HRP is used as a contrast of Au colloid to catalyse the oxidation of TMB and the 10-fold dilution

of the resulting solution is tested for contrast. In a TMB/HRP/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system, the first blue product of oxidized TMB is TMB<sup>+</sup> which is the protonated cation of TMB diamine with major absorbance peaks at 370 and 652 nm (exhibiting a blue color), and the final product is TMB<sup>2+</sup> which is the protonated dication of TMB diimine with maximum absorbance at 450 nm (exhibiting a yellowish color) [18, 19]. And TMB diamine is in equilibrium with CTC which is the complex of TMB and TMB diimine.

### 3 RESULTS AND DISCUSSIONS

The absorbance peaks of oxidized TMB catalyzed with Au NPs around 370 nm, 450 nm and 652 nm indicate the presence of both CTC and TMB diimine in the product (**Figure 1a**). Au NPs of both Au13 and Au50 show peroxidase-like catalytic properties to TMB in the reaction solution, although their activities are much lower than that of HRP. Hybrid films with 3.0%, 6.5%, 13.7% and 20.6% Au13 and hybrid films with 4.9%, 9.5%, 12.8%, 14.5% and 23.2% Au50 (mass contents in weight) are synthesized according to the method published before [20, 21]. As to verify the peroxidase-like properties of hybrid films with Au13 and Au50, pieces of these two kinds of hybrid films with different wet mass in each group (5 mg for hybrid films with Au13 and 8.5 mg for hybrid films with Au50) are used to test their catalytic properties to TMB. And a piece of pure cellulose film without Au NPs is applied as control. The testing method of hybrid films is the same as that of Au NPs except there is no need to centrifuge the resulting solution to remove hybrid films.

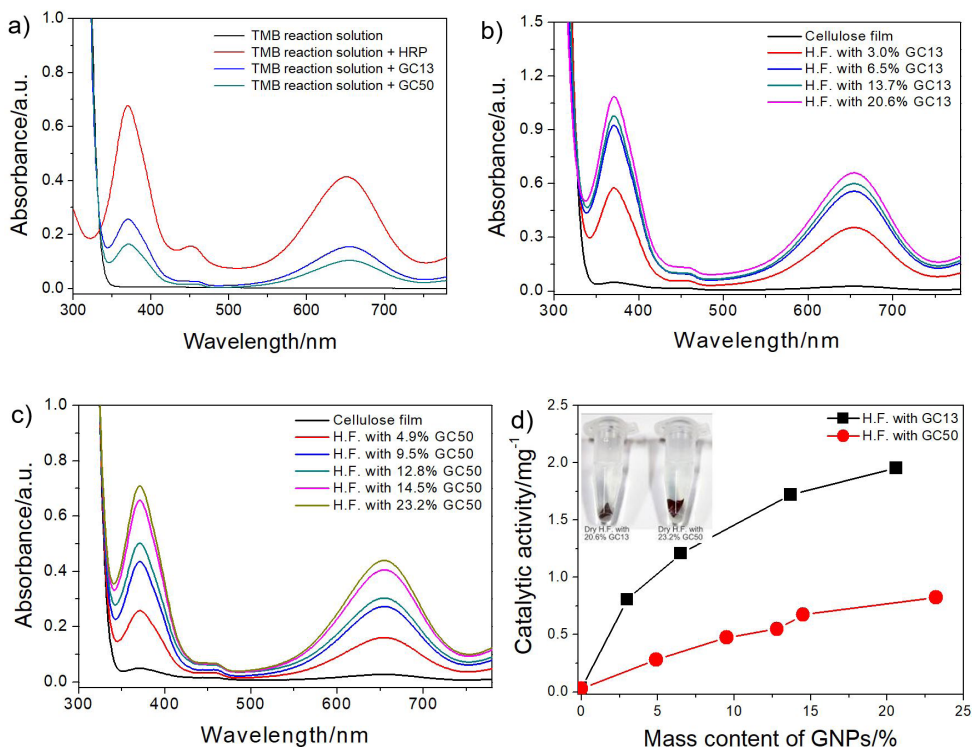
The CTC characteristic absorbance of blue reaction solution increases with the concentration of Au NPs of hybrid films with Au13 (**Figure 1b**) or Au50 (**Figure 1c**). It reveals the peroxidase-like property of hybrid films is inherited from Au NPs and hydrated Au NPs in the hybrid films are incorporated in the catalytic processes, since there is no significant characteristic absorbance of oxidized TMB produced when the pure cellulose film is applied. The catalytic activity of hybrid film is quantified by the characteristic absorbance at 652 nm normalized with the dry mass of each hybrid film (**Figure 1c**).

Hybrid films with Au13 show much higher catalytic activities compared with hybrid films with Au50 (**Figure 1d**). It indicates hybrid films with smaller Au NPs will exhibit higher catalytic activities compared with those of hybrid films with larger Au NPs even when they have the same mass content of Au NPs. And this phenomenon is in accordance with the fact that the catalytic activity may be related with the surface area of Au NPs of a hybrid film, since the surface area of Au NPs of a hybrid film with small Au NPs is larger than that with large Au NPs. When the size of Au NPs changes from 50 nm to 13 nm, the

surface area of Au NPs increases 3.85 folds as to their relevant hybrid films with the same mass content of Au NPs. However, although the catalytic activity of hybrid film with 13.7% Au13 is 1.8 folds higher than that of hybrid film with 14.5% Au50, it seems that the increase of catalytic efficiency is not as high as predicted.

Since it is revealed that the superficial Au atoms are a contributing factor to the observed peroxidase-like activity of Au NPs [6], the phenomenon above may be caused by the relative decrease of superficial atoms with effective catalytic properties as to the hybrid films with fewer and larger Au NPs. The dehydration of hybrid films is conducted to obtain dry hybrid films to examine their peroxidase-like properties in different physical states, by drying wet hybrid films on plastic Petri dishes in air at room temperature and 50% moisture for 24 hours. It is very interesting that the dehydration of hybrid films depletes their peroxidase-like properties and leave the relevant reaction solutions clear because of the dehydration of Au NPs of dry hybrid films (*inset in Figure 1d*).

**Figure 1.** (a) UV-Vis spectra of TMB reaction solutions with different catalysts. (b) Absorbance spectra of TMB reaction solutions catalyzed by hybrid films with different contents of Au13 compared with that cultured with a cellulose film. (c) Absorbance spectra of TMB reaction solutions catalyzed by hybrid films with different contents of Au50 compared with that cultured with a cellulose film. (d) Comparison of peroxidase-like activities of hybrid films with Au13 and Au50 (with a starting point of cellulose film). The inset in part (d) illustrated the TMB reaction solutions with hybrid films in dry physical states.



Although the hybrid films with 20.6% Au13 or 23.2% Au50 have the highest concentration of Au NPs and catalytic activities in their corresponding groups of hybrid films, their relevant dry films don't show any peroxidase-like properties in TMB reaction solutions. The phenomenon above may be caused by the valence changes of superficial atoms on Au NPs during the dehydration process which embodies metal-like properties to the closely packed Au NPs of dry hybrid films. However, it's very attractive that the peroxidase-like property of wet hybrid films maintains after rinsing the wet hybrid films with deionized H<sub>2</sub>O thoroughly.

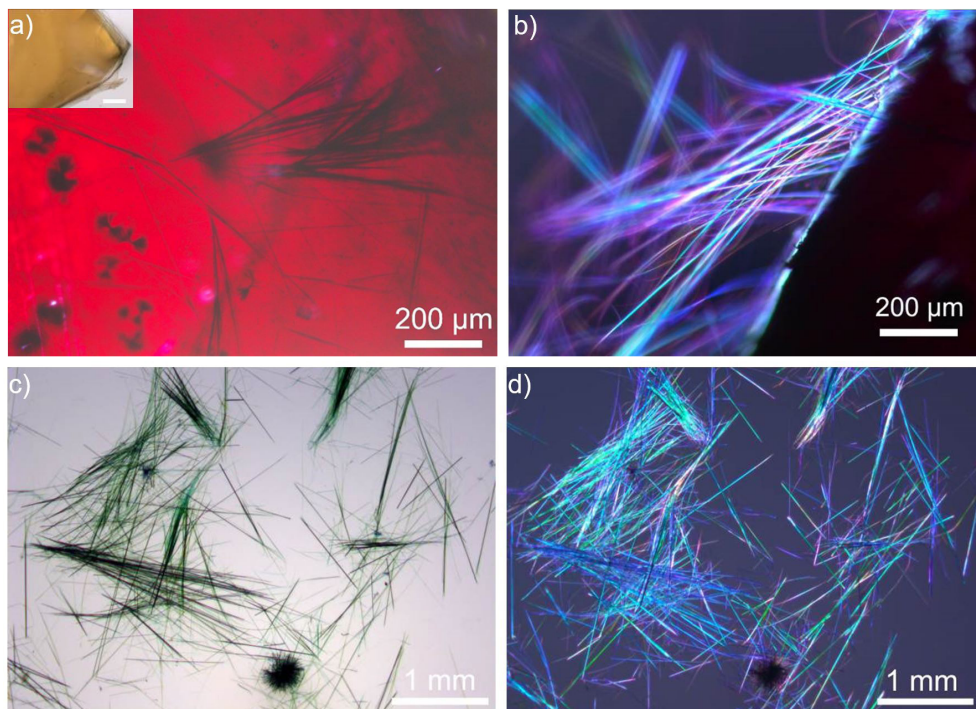
It is discovered that the oxidized products of TMB assemble *in-situ* and grow into nanofibers on hybrid films when the reaction solutions are kept still for 24h at room temperature. However, the self-assembly phenomenon is not observed in the TMB reaction solutions catalyzed by HRP, Au13 or Au50 (relevant with **Figure 1a**). It confirms the exclusive role of Au NPs assembled on the surface of hybrid film in the formation of fibrous TMB products. The existence of fibrous products of oxidized TMB is very obvious in TMB reaction solutions catalyzed by hybrid films with Au13. The amount of fibrous products seems increasing with the contents of Au NPs of hybrid films. And the decreasing blue color of TMB reaction solutions also reveals the assembly of oxidized TMB catalyzed by hybrid films with higher content of Au13 is more complete. However, the existence of fibrous products in TMB reaction solutions catalyzed by hybrid films with Au50 is not significant, which should be responsible for the obvious blue color of their relevant TMB reaction solutions. The assembly and growth of fibrous products on hybrid films is greatly influenced by both size and content of Au NPs in hybrid films.

There are two kinds of fibrous products of oxidized TMB formed on the surface of hybrid film with 20.6% Au13 (**Figure 2a**). One is rod-like nanofibers, and the other is tumbleweed-like assemblies. The rod-like nanofibers root on the hybrid film, which should be the result of *in-situ* self-assembly of oxidized TMB on the surfaces of Au NPs in hybrid films. Meanwhile, the bare surface of cellulose film (**inset in Figure 2a**) cultured in TMB reaction solution convinces that fibrous products formed on surfaces of hybrid films are catalyzed by Au NPs of hybrid films. Cellulose in hybrid films is just the supporting matrix of Au NPs and it is not involved in the formation of fibrous TMB products. Meanwhile, the tumbleweed-like assemblies with an average diameter around 140 μm are not localized on the hybrid films and some of them are not fully developed into globular structures. The red color of hybrid film with 20.6% Au13 originates from the characteristic surface plasma resonance bands of Au NPs in the hybrid film [18].

It is discovered for the first time that rod-like nanofibers extended from the hybrid film show a magnificent polarization phenomenon under polarized light which enhances

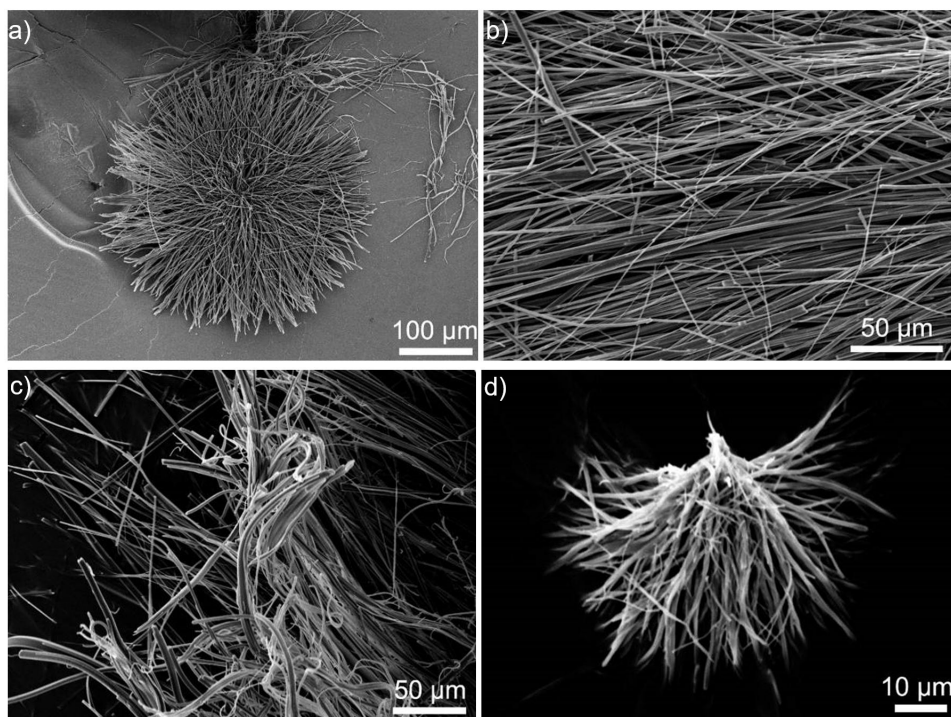
their visibility greatly (**Figure 2b**). Fibrous products of oxidized TMB are separated from hybrid films in a process of shaking the Eppendorf tube containing TMB reaction solutions, picking out bare hybrid films, centrifuging and transferring the sediment of fibrous products into deionized water. The maximal length of rod-like nanofibers is more than 1 mm (**Figure 2c**), which is above the length scale of nanobelts precipitated out of the solution of TMB/HRP/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system [10]. The nanofibers exhibit a green color under nonpolarized light (**Figure 2c**) indicating they are composed of both blue CTC and yellow TMB diamine [20, 21]. The shining rod-like nanofibers under polarized light reveals their crystalline characteristics. However, the tumbleweed-like nanofiber assemblies show a deep blue color (**Figure 2c**) and don't exhibit any polarization phenomenon under polarized light (**Figure 2d**), revealing the tumbleweed-like nanofiber assemblies should be composed of amorphous CTC of TMB only. It is in accordance with the assumption that nanobelts precipitated out of the solution of TMB/HRP/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system are composed of CTC of TMB [10]. So, the TMB diimine which is the other oxidized product of TMB in rod-like nanofibers should be in the form of crystalline substance.

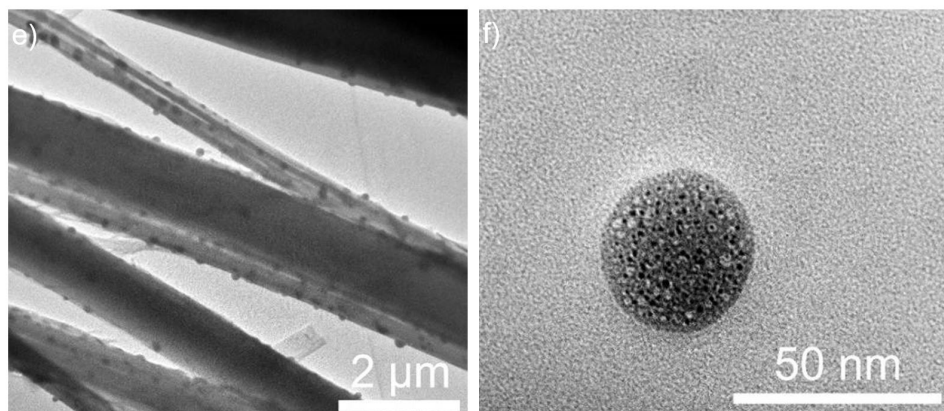
**Figure 2.** (a) Optical image of fibrous products of oxidized TMB rooted on hybrid film with Au13. The inset in part (a) illustrates the bare cellulose film cultured in TMB reaction solution with a scale bar of 200  $\mu\text{m}$ . (b) Optical image of rod-like nanofibers extended from the hybrid film with Au13 under polarized light. (c) Optical image of green rod-like nanofibers and a tumbleweed-like assembly with a deep blue color. (d) Optical image of shining rod-like nanofibers and a dark tumbleweed-like assembly under polarized light.



Scanning electron microscopy (SEM, JEOL IT 300, 10 kV) images of the fibrous products not only confirm the existence of rod-like (**Figure 3a**) and tumbleweed-like (**Figure 3b**) fibrous products of oxidized TMB, but also reveal the growing process of these two kinds of nanofibers (**Figure 3c and 3d**). Although the rod-like nanofibers are very straight and separated from each other in their upside parts, the bound and curled morphology of their root areas indicate they are confined on the surfaces of hybrid films at the beginning of their growth (**Figure 3c**). The undeveloped tumbleweed-like nanofiber assemblies show that they are assembled by separate nanofibers tangled together in their root areas (**Figure 3d**). TEM images of the nanofibers reveal their inner structures (**Figure 3e**). There are globular nanoparticles assembled into the rod-like nanofibers. And the globular nanoparticles show unique surfaces of strawberry-like morphologies (**Figure 3f**). The inhomogeneous morphologies of globular nanoparticles are very different from their analogies of nanoparticles formed in the solution of TMB/HRP/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system at high HRP concentrations [10]. It may be attributed to the compositional difference in these two kinds of nanoparticles, with the former strawberry-like nanoparticles being composed of diimine and the latter being composed of azo dimer, because of the weaker catalyzing ability of hybrid films compared with that of HRP.

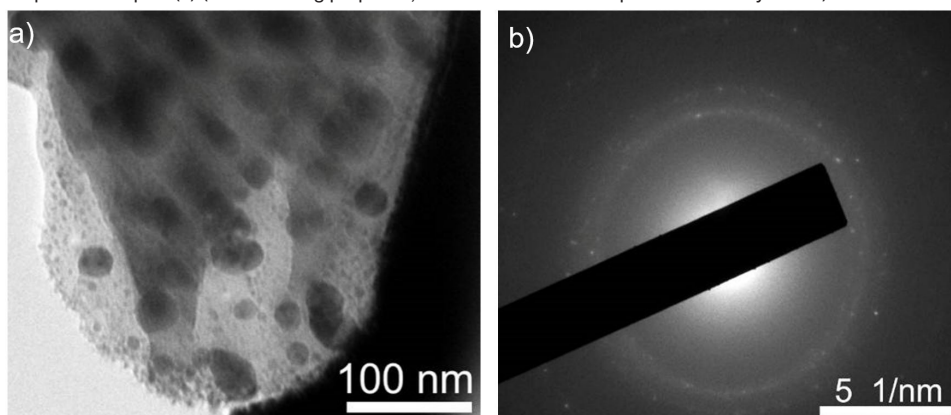
**Figure 3.** (a) SEM image of tumbleweed-like nanofiber assemblies. (b) SEM image of rod-like nanofibers. (c) SEM image of the root area of rod-like nanofibers. (d) SEM image of an undeveloped tumbleweed-like nanofiber assembly. (e) TEM image of rod-like nanofibers with nanoparticles inside. (f) TEM image of a strawberry-like nanoparticle.





The diameter of globular nanoparticles ranges from 6 nm to 120 nm (**Figure 4a**). The selected area electron diffraction (SAED) patterns confirm the polycrystalline properties of these nanoparticles (**Figure 4b**). A close examination of the rings show that they consisted a large number of spots, each arising from Bragg reflection from an individual crystallite. The interplanar spacing of the three inner rings of **Figure 4d** is 0.0486 nm, 0.0417 nm and 0.0307 nm, respectively, being more than 20 times less than that of the crystal data of 4,4'-Diamino-2,2',6,6'-tetramethylbiphenyl which is an isomer of TMB [24].

**Figure 4.** (a) TEM image of rod-like nanofibers with nanoparticles inside. (b) SAED image of the globular nanoparticles in part (a) (For recording purposes, the central diffraction spot is masked by a wire).



So, there is a hypothesis that the polycrystalline nanoparticles have high-index surfaces and exhibit ordered defects on their surfaces because of the molecular lattice distortion. However, there isn't any significant electron diffraction pattern observed from the outer layers of these nanofibers, indicating the nanofibers are composed of

both amorphous substances and polycrystalline nanoparticles. Comparisons of Fourier transform infrared spectrometer (FTIR, Perkin-Elmer Spectrum™ 100 spectrometer) positions of the most intense peaks of TMB, TMB<sup>+</sup>, TMB<sup>2+</sup> [22, 23] and the fibrous products and nuclear magnetic resonance (NMR, Agilent 100/54/ASP spectrometer operating at 400 MHz)) positions verifies that the fibrous products are composed of both CTC and TMB diamine. The results above further reveal that CTC of TMB forms the amorphous nanobelts and TMB diimine forms the polycrystalline nanoparticles.

## 4 CONCLUSION

In summary, it is discovered for the first time that the oxidized products of TMB can grow and assemble *in-situ* into fibers with unique structures on the surface of hybrid film of Au NPs and cellulose. The rod-like nanofibers show a significant polarizing phenomenon under polarized light. The rod-like nanofibers are proposed to be complex assemblies of amorphous CTC and polycrystalline globular nanoparticles of TMB diimine, and the excess amount of CTC forms tumbleweed-like nanofiber assemblies. The catalytic properties of hybrid films are not only helpful to the oxidation of reducing chemicals, but also providing a unique *in-situ* self-assembly environment for the products because of their high concentrations around Au NPs of hybrid films. This tactic can be applied to the self-assembly of nanostructures with multiple compositions and complex inner structures and it creates opportunities for the enhanced detection of biochemical products under polarized light also.

## REFERENCES

- [1] X.-X. Wang, Q. Wu, Z. Shan and Q.-M. Huang 2011 BSA-stabilized Au clusters as peroxidase mimetics for use in xanthine detection. *Biosens. Bioelectron.* **26**, 3614-9.
- [2] F. Yu, Y. Huang, A. J. Cole and V. C. Yang 2009 The artificial peroxidase activity of magnetic iron oxide nanoparticles and its application to glucose detection. *Biomaterials* **30**, 4716-22.
- [3] S. Wang, W. Chen, A.-L. Liu, L. Hong, H.-H. Deng and X.-H. Lin 2012 Comparison of the peroxidase-like activity of unmodified, amino-modified, and citrate-capped gold nanoparticles. *ChemPhysChem* **13**, 1199-204.
- [4] H. Wei and E. Wang 2013 Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes. *Chem. Soc. Rev.* **42**, 6060-93.
- [5] P. Pandey, S. P. Singh, S. K. Arya, V. Gupta, M. Datta, S. Singh and B. D. Malhotra 2007 Application of thiolated gold nanoparticles for the enhancement of glucose oxidase activity. *Langmuir* **23**, 3333-7.
- [6] D. Lan, B. Li and Z. Zhang 2008 Chemiluminescence flow biosensor for glucose based on gold nanoparticle-enhanced activities of glucose oxidase and horseradish peroxidase. *Biosens. Bioelectron.* **24**, 934-8.



- [7] B. Li, Y. Du, T. Li and S. Dong 2009 Investigation of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine as colorimetric substrate for a peroxidatic DNAzyme. *Anal. Chim. Acta* **651**, 234-40.
- [8] P. Ni, Y. Sun, H. Dai, J. Hu, S. Jiang, Y. Wang and Z. Li 2015 Highly sensitive and selective colorimetric detection of glutathione based on Ag [I] ion-3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB). *Biosens. Bioelectron.* **63**, 47-52.
- [9] R. P. Alves-Balvedi, L. P. Caetano, J. M. Madurro and A. G. Brito-Madurro 2016 Use of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine as new electrochemical indicator of DNA hybridization and its application in genosensor. *Biosens. Bioelectron.* **85**, 226-31.
- [10] L. Gao, J. Wu and Di Gao 2011 Enzyme-controlled self-assembly and transformation of nanostructures in a tetramethylbenzidine/horseradish peroxidase/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system. *ACS Nano* **5**, 6736-42.
- [11] H. Awano and H. Ohigashi 1989 Electrodeposition of the cationic radical salt of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine. *Synth. Met.* **32**, 389-94.
- [12] H. Awano, H. Murakami, T. Yamashita and H. Ohigashi 1991 Electro-deposition of the cationic radical salts of some aromatic diamines from acetonitrile solution. *Synth. Met.* **39**, 327-41.
- [13] N. D. Luong, J. Oh, Y. Lee, J. Huh, J. J. Park, J. M. Kim and J.-D. Nam 2011 Self-assembled tetramethylbenzidine conductive nanofibers synchronized with gold nanoparticle formation. *Appl. Surf. Sci.* **257**, 3233-5.
- [14] H. Liu, Q. Zhao, Y. Li, Y. Liu, F. Lu, J. Zhuang, S. Wang, L. Jiang, D. Zhu, D. Yu and L. Chi 2005 Field emission properties of large-area nanowires of organic charge-transfer complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 1120-1.
- [15] Y. Liu, Z. Ji, Q. Tang, L. Jiang, H. Li, M. He, W. Hu, D. Zhang, L. Jiang, X. Wang, C. Wang, Y. Liu and D. Zhu 2005 Particle-size control and patterning of a charge-transfer complex for nanoelectronics. *Adv. Mater.* **17**, 2953-7.
- [16] Y. Li, T. Liu, H. Liu, M.-Z. Tian and Y. Li 2014 Self-assembly of intramolecular charge-transfer compounds into functional molecular systems. *Acc. Chem. Res.* **47**, 1186-98.
- [17] R. J. Williams, A. M. Smith, R. Collins, N. Hodson, A. K. Das and R. V. Ulijn 2009 Enzyme-assisted self-assembly under thermodynamic control. *Nature Nanotech.* **4**, 249-54.
- [18] P. D. Josephy, T. Eling and R. P. Mason 1982 The horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of 3,5,3',5'-tetramethylbenzidine. *J. Biol. Chem.* **257**, 3669-75.
- [19] P. D. Josephy, R. P. Mason and T. Eling 1982 Cooxidation of the clinical reagent 3,5,3',5'-tetramethylbenzidine by prostaglandin synthase. *Cancer Res.* **42**, 2567-70.
- [20] Z. Liu, M. Li, L. Turyanska, O. Makarovskiy, A. Patané, W. Wu and S. Mann 2010 Self-assembly of electrically conducting biopolymer thin films by cellulose regeneration in gold nanoparticle aqueous dispersions. *Chem. Mater.* **22**, 2675-80.
- [21] L. Turyanska, O. Makarovskiy, A. Patané, N. V. Kozlova, Z. Liu, M. Li and S. Mann 2012 High magnetic field quantum transport in Au nanoparticle-cellulose films. *Nanotechnology* **23**, 045702.
- [22] M. D. Backer and F. X. Sauvage 2007 *In situ* FTIR spectroelectrochemistry and spectral simulations using DFT: efficient complementary tools to elucidate complex electrochemical mechanisms. *J. Electroanal. Chem.* **602**, 131-7.

[23] M. Liu, Y. Zhang, Y. Chen, Q. Xie and S. Yao 2008 EQCM and *in situ* FTIR spectroelectrochemistry study on the electrochemical oxidation of TMB and the effect of large-sized anions. *J. Electroanal. Chem.* **622**, 184-92.

[24] A. S. Batsanov, P. J. Low and M. A. J. Paterson 2006 4,4'-diamino-2,2',6,6'-tetramethylbiphenyl. *Acta Crystallogr. Sect. E, Struct. Rep. Online* E62, o2973-5.

# CAPÍTULO 7

## USE OF NANOPARTICLES IN THE DEGRADATION OF CONTAMINANTS IN AQUATIC ENVIRONMENTS

Data de submissão: 20/06/2022

Data de aceite: 08/07/2022

**Hugo A. Álvarez-Hernández**

Laboratorio de Biotecnología Ambiental  
Escuela Nacional de  
Ciencias Biológicas  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México

**Janet Jan-Roblero**

Laboratorio de Biotecnología Ambiental  
Escuela Nacional de  
Ciencias Biológicas  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México  
<https://orcid.org/0000-0001-6177-0189>  
jjanr@ipn.mx; jjan\_r@yahoo.com.mx

**Juan A. Cruz-Maya**

Unidad Profesional Interdisciplinaria en  
Ingeniería y Tecnologías Avanzadas  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México  
<https://orcid.org/0000-0001-7635-4954>  
jacm.maya@gmail.com

**Axel A. Treviño-Trejo**

Laboratorio de Biotecnología Ambiental  
Escuela Nacional de  
Ciencias Biológicas  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México

**Oliver Navarrete-Godínez**

Laboratorio de Biotecnología Ambiental  
Escuela Nacional de  
Ciencias Biológicas  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México

**ABSTRACT:** Food, pharmaceutical, textile industries, among others, are the main sources of environmental contamination due to their untreated wastewater discharge containing toxic compounds to the ecosystem. The increase in the consumption of the products from these industries has caused a serious problem of environmental contamination and it is necessary to take measures to control and eliminate these contaminants. Degradation of contaminants is an alternative to solve this problem, thus, there are conventional methods that are used for this purpose and are categorized into physical, chemical and biological methods. Among the biological methods is bioremediation which consists of using microorganisms or their metabolites for the degradation of contaminants. With the aim of improving bioremediation techniques, currently nanobiotechnology has been proposed as an attractive alternative for its various advantages compared to other techniques. Nanobiotechnology consists of generating nanoparticles of different structures and compositions that are applied to remedy contaminated environments, such as textile dyes in wastewater. The qualities

that hold the nanoparticles are: large surface area, high surface/volume ratio and high adsorption capacity; these qualities provide greater efficiency for the degradation of contaminants in comparison with other methods. This chapter focuses on the different types of nanoparticles that are used in the bioremediation of contaminants in aquatic environmental, such as magnetic nanoparticles, carbon nanoparticles, polymers, titanium or silver nanoparticles. Besides, the use of complex nanoparticles for the immobilization of enzymes that participate in the degradation of contaminants is contemplated. This chapter provides to the reader with an update and a different approach to the contamination problem in aquatic environments.

**KEYWORDS:** Bioremediation. Contaminants. Aquatic environment. Nanoparticles.

## 1 CONTAMINATION OF WATER BY XENOBIOTICS

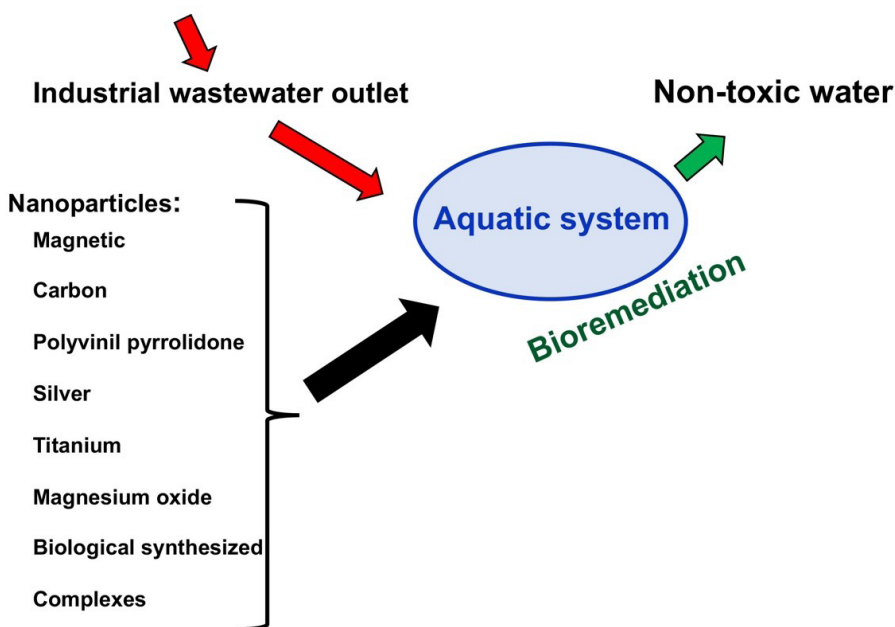
In recent years, textile, pharmaceutical and other industries have contributed enormously to environmental pollution as a result that these industries do not have programs to control the wastewater they generate, this causes untreated wastewater to be released into the environment and cause contamination of water or soil (Karimi-Maleh et al., 2020; Chen et al., 2020). Untreated wastewater discharged into the environment causes the accumulation of pollutants in different environments and these toxic pollutants can reach cities causing an unsustainable problem. To solve the problem of toxic contaminants, it has been proposed to use technologies that degrade or transform contaminants. These technologies are categorized as physical, chemical or biological, and within biological technology is bioremediation. Bioremediation consists of using living organisms or their metabolites that have the capacity to biotransform pollutants into non-polluting (non-toxic) compounds for the environment and that these non-pollutants do not alter the stability of an ecosystem (Garg and Roy, 2022). Microorganisms are living beings with great interest to be used in bioremediation processes, they are ubiquitous and can live anywhere on the planet, which is attributable to their incredible cellular metabolism, which allows them to settle and adapt in a variety of circumstances including environmental pollution. Pollutants can be used by microorganisms as a source of carbon and energy. The isolation of microorganisms with the ability to use or biotransform contaminants is of great interest and they are ideal for the remediation of contaminated environments (Singh and Roy, 2021). Due to this capacity of microorganisms, bioremediation has potential in the destruction, removal, immobilization, or purification of various chemical wastes present in the environment (Karimi-Maleh et al., 2020).

Bioremediation has been applied in contaminated places and used to degrade or biotransform contaminants present in wastewater such as hydrocarbons, oil, heavy metals, pesticides, pharmaceuticals, dyes and other chemicals (Su et al., 2020). Therefore,

the development and implementation of advanced methods for wastewater treatment is a technological priority. One of these scientific advances is the science of nanomaterials or commonly called nanobiotechnology. The construction of materials at the nanometer level has allowed advantages compared to larger-scale materials, since nanomaterials have fundamental changes in their physical and chemical properties and this has generated important advantages for their use in engineering sciences. Nanomaterials have given interesting results such as high efficiency, fast recovery, larger surface areas and nano-adsorbents, and due to these advantages, the use of nanomaterials has been applied in the remediation of contaminants present in water (Anjum et al., 2019). This chapter provides a review of the use of different nanomaterials to effectively bioremediate various xenobiotics in aquatic environments (**Figure 1**).

Figure 1. Schematic illustration of the use of nanoparticles to bioremediate an aquatic environment.

### Food, pharmaceutical, textil industry



## 2 ADVANTAGES OF NANOMATERIALS IN BIOREMEDIATION

The high consumption of dyes, foods, drugs and other industrial compounds has generated a greater production of these, which finally become potential contaminants to the environment, mainly to water. Therefore, there is a growing demand for the use of new technologies for the removal of aquatic contaminants. Nanobiotechnology is a new proposal to solve the problem of water pollution, since it consists of generating

nanoparticles of different chemical composition called nanoparticles, with an ultrafine size, high reactivity and high capacity for interaction with pollutants to detoxify chemical inorganic and/or organic compounds (Brar et al., 2010). An example is iron nanoparticles, which have been widely used in various disciplines as catalysts, sensors, and environmental cleaners due to their ability to adsorb and degrade different water contaminants (Navia-Mendoza et al., 2021); however, they are not the only nanoparticles with these properties, there is currently a wide variety of nanoparticles with their own characteristics that have been used in bioremediation, the different types of nanoparticles will be mentioned below.

### 3 MAGNETIC NANOPARTICLES

Iron oxide nanoparticles ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) have magnetic properties and are used as magnetic sources for the removal of textile dyes (Hojjati-Najafabadi et al., 2022). The principle of contaminant removal consists of a magnetic separation by the iron oxide nanoparticle where the contaminant is extracted from the aquatic environment; the use of iron oxide nanoparticles is low cost, biocompatible, highly stable and easy to synthesize (Zhang et al., 2021). A disadvantage of the use of this nanoparticle is its high surface energy and magnetic attractive force, due to this, magnetic nanoparticles tend to lose their magnetic property and will agglomerate in aqueous solution, however, a resolving alternative is to cover the surface of the magnetic nanoparticle with layers of active compounds to improve its properties.

### 4 CARBON NANOPARTICLES

These nanoparticles are made of carbon nanofibers and carbon nanotubes that have carbon molecules firmly held together by covalent bonds. Carbon nanoparticles have the ability to adsorb molecules due to their hydrophobic properties, by covalent bonds, or by electrostatic effects (Saifuddin et al., 2013). Carbon nanoparticles have high capacities for the adsorption of compounds and also have a high affinity for polluting compounds such as textile dyes. The disadvantage of the use of carbon nanoparticles is that they are relatively expensive, which limits their use for the adsorption of pollutants from wastewater (Cai et al., 2017).

### 5 NICKEL POLYVINIL PYRROLIDONE NANOPARTICLES

Chemical derivatives of nickel polyvinyl pyrrolidone have been used to produce nanoparticles and these nanoparticles have the ability to remove textile dyes from

aqueous solutions with a removal efficiency of 98.7% in 120 min (Kale and Kane, 2017). The size and shape of the nanoparticles made with polyvinyl nickel pyrrolidone observed under transmission electron microscopy show a dispersion in the nanoparticle matrix and with a size of 20-44 nm.

## 6 SILVER NANOPARTICLES

Silver nanoparticles have a strong antibacterial effect and have been used for this purpose in microbiology. They have catalytic capacity towards textile dyes although their degradation capacity is low, consequently their use is not convenient. In addition, silver nanoparticles mounted on silicone disks prevent bacterial contamination in the environment, which is another particularity of these nanoparticles (Marimuthu et al., 2020).

## 7 TITANIUM NANOTUBES

Titanium or titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ) is of considerable interest since these compounds have the ability to generate photocatalysis; due to the low price of these compounds, they are good candidates for the degradation of pollutants. Photocatalysis is a process that occurs during the degradation of xenobiotics such as textile dyes. In addition, because the nanoparticles have large surface areas, they achieve high photocatalysis efficiencies and therefore high percentages of dye degradation. The generation of titanium nanoparticles with large and specific surface area is by means of the Kasuga's technique, this technique produces titanium nanotubes with a homogeneous structure. Kasuga's technique consists of using sodium-titanium hydrides, producing sodium particles that are localized on top of the nanotube, as well as in the gaps in the nanotube walls. In addition, an aqueous solution of HCl or other cations removes the sodium particles from the walls of the nanotube. The presence of residual sodium inside the  $\text{TiO}_2$  nanotube is relevant since it confers adsorption capacities very equivalent to the activity of carbon, thus being the property of removal of contaminants by these titanium nanotubes in addition to the photocatalytic activity (Sandoval et al., 2017).

## 8 NANOPARTICLES OF MAGNESIUM OXIDE (MgO)

MgO nanoparticles have adsorption properties of xenobiotic compounds, for example Reactive Black 5 and Reactive Orange 122 dyes are efficiently adsorbed at 500 and 333.34 mg/g, respectively, by MgO nanoparticles (Randiligama et al. 2020).

## 9 BIOLOGICALLY SYNTHESIZED NANOPARTICLES

Nanoparticles can be synthesized using biological agents as the main support and these nanomaterials can also include metal compounds as well as metal oxides. Nanoparticles generated by biological agents can be used in the degradation of xenobiotics such as textile dyes. Plants, bacteria and fungi are the potential raw material for the synthesis of nanomaterials of biological origin, since these living beings produce bioactive compounds. The bioactive compounds produced by these biological entities facilitate the formation of nanomaterials because these bioactive compounds play a key role in nanoparticle stability and reduction. For example, *Cassythia filiformis* is used to synthesize silver nanoparticles, *Cynara cardunculus* for the synthesis of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles, or *Pseudomonas putida* for Bio-nanoPb (Bhakya et al., 2015).

## 10 NANOPARTICLE COMPLEXES WITH ENZYMES/MICROORGANISMS

Another application of nanoparticles is to use them as supports to immobilize compounds, enzymes or microorganisms; enzymatic immobilization by nanoparticles increases the reaction efficiency compared to that compounds, enzymes or microorganism in free form (not immobilized). In particular, nanoparticles have been used as a support to immobilize enzymes, especially enzymes that participate in the degradation of xenobiotics. The immobilization of enzymes by nanoparticles can be achieved by different methods, such as covalent binding of the enzyme to the nanoparticle, physical adsorption, encapsulation of the enzyme by the nanoparticle, entrapment of the enzyme, and cross-linking with the target enzyme. Of all the methods, physical adsorption is the simplest and most common (Bilal et al., 2018). The choice of the structure and composition of the nanoparticle is important for successful enzymatic immobilization, since some nanoparticles with unsuitable structures or compositions can inhibit or denature the enzyme that is immobilized in the nanoparticle. The nanoparticles of choice to immobilize enzymes are those nanoparticles made of sodium alginate, agarose, chitin/chitosan, polyvinyl alcohol, polyacrylamide, macropores of ion exchange resins, hydrophobic gel-solutions, carbon nanotubes and nanopores of silica gel (Bilal et al., 2019).

In addition, the bifunctional nanoparticles have a double function, support and an additional function; such as the photocatalysis-type nanoparticles that have an immobilized enzyme that participates in the degradation of the contaminant. In this way, the degradation of the contaminant is carried out by the photocatalysis of the nanoparticle itself and by the enzymatic activity given by the immobilized enzyme. Some photocatalytic nanoparticles are made with graphitic carbon nitride modified titanium oxide ( $\text{TiO}_2/\text{g}$ -



C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>), or molybdenum oxide modified with copper sulfide and sulfide (MoO<sub>3</sub>@MoS<sub>2</sub>-CuS), or titanium oxide (TiO<sub>2</sub>), or silver-modified titanium oxide and zinc oxide (ZnO), among others. These are widely used as a support to immobilize enzymes and are very abundant in nature, they are low cost, non-toxic and have a high oxidation power (Acharya et al., 2018). However, these nanoparticle matrices have limitations since they can denature the immobilized enzyme, or the enzyme is affected by exposure to the solvent, or the lack of reuse of the nanoparticle.

As mentioned, enzymatic immobilization by nanoparticles is of great interest for nanobiotechnology in the treatment of contaminated wastewater, for this reason immobilizing the enzymes that participate in the degradation of textile dyes has been one of the main approaches. The removal of inorganic and organic dyes in wastewater has been achieved by the immobilization of the peroxidase enzyme on carbon-based nanoparticles; carbon nanoparticles can be carbon nanotubes, carbon nanosheets, and carbon nanoparticles, or metal-based nanoparticles, polymer-based magnetic nanoparticles, and zero-valence nanoparticles (Mehmood et al., 2021). Example of metal-based nanoparticles include iron oxide nanoparticles and their modified forms, such as maghemite nanoparticles, starch functionalized maghemite nanoparticles, magnetite nanoparticles, magnetite nanospheres and ethylenediamine functionalized nanochains, among others, which are used as supports for the immobilization of peroxidase.

Other enzymes that have been immobilized with nanoparticles are lipases and laccases, these enzymes participate in the degradation of microplastics. The nanoparticles used as a support for the immobilization of the enzyme are inorganic and organic. Inorganic nanoparticles have gained recognition for immobilizing lipases or laccases due to their thermal, mechanical, and chemical stability compared to organic nanoparticles (Hartmann and Kostrov, 2013). In addition, inorganic nanoparticles have the advantages of having a well-defined porous geometry and good distribution, large surface area, and a high surface/volume ratio, which contributes to a higher loading capacity of the immobilized enzyme (Zhou et al., 2013).

With respect to organic nanoparticles, carbon-based nanoparticles are preferred for immobilizing lipases and laccases. While inorganic nanoparticles have gained popularity in recent years. However, carbon-based nanoparticles are of great interest, particularly carbon nanotubes, whose use is common to immobilize enzymes such as lipases and laccases, and this is because they have a modifiable surface, a high surface/volume ratio, as well as, they have chemical, thermal and mechanical stability (Cacicedo et al., 2019). There are two types of carbon nanotubes, single-walled and multi-walled.

The first consists of a single layer of graphite with a central tube; while the second, the multiwall, has multiple layers of graphite around the central tube (Feng and Ji, 2011).

Other carbon-based materials that are also used to immobilize enzymes are those made from chitosan, polymer-crosslinked macropores, and resins (Su et al., 2018). However, the immobilization of enzymes by carbon-based nanoparticles significantly enhances contaminant-degrading activities. The efficiency of this activity frequently relies on meticulous care during the synthesis of the immobilized nanoparticle-enzyme complex, since a good enzymatic immobilization ensures the success of the activity under experimental and environmental conditions. In addition, it is desirable that the immobilization of the enzyme can be reused several times so that its application is achievable in the bioremediation of contaminated water.

## 11 CONCLUSION

Nanomaterials offer an alternative for the remediation of polluted water; however, further studies are required to have better efficiency in the degradation of pollutants in the environment. In addition, it is required to synthesize modified nanoparticles with greater effectiveness, high efficiency, friendly to the environment, easy to handle and low cost. More studies in nanobiotechnology are necessary to apply these technologies in ecosystems and their commercialization in the remediation of contaminated sites, however, the different existing nanoparticles generate a range of possibilities to solve particular problems of water pollution.

## 12 ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by Instituto Politécnico Nacional (IPN), Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP) grant 20220781. The work was carried out during the sabbatical year granted by the IPN to JJR, who is grateful for this support provided. JJR and JACM are grateful for the support provided by IPN through the EDI and COFAA sponsorships and for the SNI-CONACYT award.

## REFERENCES

Acharya, R., Naik, B., and Parida, K. (2018). Visible-light-induced photocatalytic degradation of textile dyes over plasmonic silver-modified TiO<sub>2</sub>. In: S. ul-Islam, and B. Butola (Ed.), *Advanced textile engineering materials* (pp. 389-418). New York: John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/9781119488101.ch10>

Anjum, M., Miandad, R., Waqas, M., Gehany, F., and Barakat, M. (2019). Remediation of wastewater using various nano-materials. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 4897-4919. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.10.004>

Bhakya, S., Muthukrishnan, S., Sukumaran, M., Muthukumar, M., Kumar, S. T., and Rao, M. (2015). Catalytic degradation of organic dyes using synthesized silver nanoparticles: a green approach. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 6, 312. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000312>

Bilal, M., and Iqbal, H. M. N. (2019). Lignin peroxidase immobilization on Ca-alginate beads and its dye degradation performance in a packed bed reactor system. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 20, 101205. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101205>

Bilal, M., Rasheed, T., Iqbal, H. M. N., Hu, H., Wang, W., and Zhang, X. (2018). Horseradish peroxidase immobilization by copolymerization into cross-linked polyacrylamide gel and its dye degradation and detoxification potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 983-990. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.062>

Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., and Surampalli, R.Y. (2010). Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge - evidence and impacts. *Waste Management*, 30(3):504-20. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.10.012>

Cacicedo, M.L., Manzo, R.M., Municoy, S., Bonazza, H.L., Islan, G.A., Desimone, M., Bellino, M., Mammarella, E.J., and Castro, G.R. (2019). Chapter 7 - immobilized enzymes and their applications. In: R. S. Singh, R. R. Singhania, A. Pandey, and C. Larroche (Eds.), *Advances in Enzyme Technology* (pp. 169-200). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64114-4.00007-8>

Cai, Z., Sun, Y., Liu, W., Pan, F., Sun, P., and Fu, J. (2017). An overview of nanomaterials applied for removing dyes from wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 24,15882-15904. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9003-8>

Chen, S., Jiang, S., and Jiang, H. (2020). A review on conversion of crayfish-shell derivatives to functional materials and their environmental applications. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 5(4), 238-247. <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2020.10.002>

Feng, W., and Ji, P. (2011). Enzymes immobilized on carbon nanotubes. *Biotechnology Advances*, 29(6), 889-895. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.07.007>

Garg, S., and Roy, A. (2022). Chapter 18 - Phytoremediation: an alternative approach for removal of dyes. In: R. A. Bhat, F. M. P. Tonelli, G. H. Dar, and K. Hakeem (Eds.), *Phytoremediation: biotechnological strategies for promoting invigorating* (pp. 369-386). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89874-4.00005-4>

Hartmann, M., and Kostrov, X. (2013). Immobilization of enzymes on porous silicas - benefits and challenges. *Chemical Society Reviews*, 42, 6277-6289. <https://doi.org/10.1039/C3CS60021A>

Hojjati-Najafabadi, A., Mansoorianfar, M., Liang, T.X., Shahin, K., and Karimi-Maleh, H. (2022). A review on magnetic sensors for monitoring of hazardous pollutants in water resources. *Science of the total environment*, 824,153844. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153844>

Kale, R.D., and Kane, P.B. (2017). Color removal using nanoparticles. *Textiles and Clothing Sustainability*, 2, 1-7. <https://doi.org/10.1186/s40689-016-0015-4>

Karimi-Maleh, H., Kumar, B.G., Rajendran, S., Qin, J., Vadivel, S., Durgalakshmi, D., Gracia, F., Soto-Moscoso, M., Orooji, Y., and Karimi, F. (2020). Tuning of metal oxides photocatalytic performance using Ag nanoparticles integration. *Journal of Molecular Liquids*, 314,113588. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113588>

Marimuthu, S., Antonisamy, A.J., Malayandi, S., Rajendran, K., Tsai, P.-C., Pugazhendhi, A., and Ponnusamy, V.K. (2020). Silver nanoparticles in dye effluent treatment: a review on synthesis, treatment methods, mechanisms, photocatalytic degradation, toxic effects and mitigation of toxicity. *Journal of Photochemistry Photobiology B Biology*, 205, 11823. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.11823>

Mehmood, A., Saleem, F., Khan, A., Mubarak, N. M., Tan, Y. H., Karri, R. R., Khalid, M., Walvekar, R., Abdullah, E. C., Nizamuddin, S. and Mazari, S. A. (2021). Magnetic nanocomposites for sustainable water purification - a comprehensive review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 19563-19588. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12589-3>

Navia-Mendoza, J.M., Filho, O.A.E., Zambrano-Intriago, L.A., Maddela, N.R., Duarte, M.M.M.B., Quiroz-Fernández, L.S., Baquerizo-Crespo, R.J., and Rodríguez-Díaz, J.M., 2021. Advances in the application of nanocatalysts in photocatalytic processes for the treatment of food dyes: a review. *Sustainability* 13, 11676. <https://doi.org/10.3390/su132111676>

Randiligama, H., Mantilaka, M., and Paliyawadana, T. (2020). Urea-assisted synthesis of nanospherical and plate-like magnesium oxides for efficient removal of reactive dye wastes. *Journal of Nanomaterials*. 2020, 6189061. <https://doi.org/10.1155/2020/6189061>

Saifuddin, N., Raziah, A. Z., and Junizah A. R. (2013). Carbon nanotubes: a review on structure and their interaction with proteins. *Journal of Chemistry*, 676815. <https://doi.org/10.1155/2013/676815>

Sandoval, A., Hernandez-Ventura, C., and Klimova, T.E. (2017). Titanate nanotubes for removal of methylene blue dye by combined adsorption and photocatalysis. *Fuel*, 198, 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.11.007>

Singh, A., and Roy, A. (2021). Fungal communities for the remediation of environmental pollutants. In: A.N. Yadav (Ed.), *Recent Trends in Mycological Research, Fungal Biology* (pp. 127-165). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-68260-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-68260-6_6)

Su, A., Shirke, A., Baik, J., Zou, Y., and Gross, R. (2018). Immobilized cutinases: preparation, solvent tolerance and thermal stability. *Enzyme and Microbial Technology*, 116, 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2018.05.010>

Su, M.H., Azwar, E., Yang, Y., Sonne, C., Yek, P.N.Y., Liew, R.K., Cheng, C.K., Show, P.L., and Lam, S.S. (2020). Simultaneous removal of toxic ammonia and lettuce cultivation in aquaponic system using microwave pyrolysis biochar. *Journal of Hazardous Materials*, 396, 122610. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122610>

Zhang, T., Jin, X., Owens, G., and Chen, Z. (2021). Remediation of malachite green in wastewater by ZIF-8@Fe/Ni nanoparticles based on adsorption and reduction. *Journal of Colloid and Interface Science*, 594, 398-408. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.03.065>

Zhou, Z., Lu, C., Wu, X., and Zhang, X. (2013). Cellulose nanocrystals as a novel support for CuO nanoparticles catalysts: facile synthesis and their application to 4-nitrophenol reduction. *RSC Advances*, 3, 26066-26073. <http://dx.doi.org/10.1039/c3ra43006e>

# CAPÍTULO 8

## SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE CADMIO MEDIANTE UN SISTEMA ACUOSO DE BIOMASA FÚNGICA<sup>1</sup>

Data de submissão: 30/05/2022

Data de aceite: 14/06/2022

### Norma Gabriela Rojas Avelizapa

Centro de Investigación en  
Ciencia Aplicada en  
Tecnología Avanzada del  
Instituto Politécnico Nacional  
Unidad Querétaro, México  
Laboratorio de Biotecnología  
Ambiental Querétaro  
Querétaro- México  
<https://orcid.org/0000-0001-5349-4612>

### María Oliva Hernández Jiménez

Centro de Investigación en  
Ciencia Aplicada en  
Tecnología Avanzada del  
Instituto Politécnico Nacional  
Unidad Querétaro, México  
Laboratorio de Biotecnología  
Ambiental Querétaro  
Querétaro- México  
CV

### Luz Irene Rojas Avelizapa

Universidad de Veracruz  
Facultad de Ciencias  
Biológicas Agropecuarias  
Laboratorio de  
Biotecnología Microbiana  
Región Orizaba, Córdoba-México  
<https://orcid.org/0000-0003-2224-3663>

<sup>1</sup> El proyecto A1-S-31777 fue financiado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)

### Héctor Paul Reyes Pool

Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ingeniería  
Departamento de Investigación y  
Posgrado, Querétaro  
Querétaro- México  
<https://orcid.org/0000-0002-6742-3839>

**RESUMEN:** La síntesis de nanopartículas de sulfuro de cadmio (NPs CdS) ha sido ampliamente estudiada debido a las diversas aplicaciones a las que pueden ser destinadas debido a sus propiedades fisicoquímicas, no obstante, aunque los métodos biológicos para su síntesis han sido prometedores, aún presentan algunas limitaciones para obtener y caracterizar las nanopartículas empleando técnicas verdes por lo que es importante indagar nuevas estrategias para la síntesis de NPs CdS y facilitar su caracterización. El objetivo de este trabajo fue sintetizar nanopartículas de CdS utilizando un extracto acuoso de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, del cual se evaluó su poder reductor mediante la técnica FRAP para posteriormente caracterizar la solución coloidal de los nanopartículas mediante espectrofotometría UV-Vis y Fluorescencia, Potencial Zeta, Microscopía Electrónica de Barrido y Microscopía Electrónica de Transmisión con un sistema EDS. Los resultados evidenciaron que el extracto acuoso del hongo produce NPs CdS esféricas de tamaño promedio de 2.38 nm y PZ de -6.6

mV. Lo anterior indica que el método desarrollado permite la síntesis de NPs CdS, mismas que, por sus características, pueden considerarse como amigables con el ambiente y con potencial aplicación en forma directa.

**PALABRAS CLAVE:** Puntos cuánticos. Extracto. Hongo.

## SYNTHESIS OF NANOPARTICLES BY A FUNGAL BIOMASS AQUEOUS SYSTEM

**ABSTRACT:** The synthesis of cadmium sulfide nanoparticles (CdS NPs) has been studied deeply due the possibility of using them in several applications that allows taking advantages of their physicochemical properties. Therefore, biological methods of synthesis have been promising to develop new strategies of nanoparticles production, however, they present some limitations compared with common methods that include large quantities of reagents, and for this reason, it is important to improve the strategies for CdS NPs synthesis in order to use them in colloidal solutions and making easier their characterization. The aim of this work was to synthesize CdS nanoparticles using an aqueous extract of the *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* biomass which reducing power was evaluated by FRAP. Subsequently, the nanoparticles colloidal solution was characterized by UV-Vis and Fluorescence Spectrophotometry, Zeta Potential, Scanning Electronic Microscopy and Transmission Electron Microscopy with an EDS system. Results showed that the aqueous fungal extract produces spherical CdS NPs with mean size of 2.38 nm and a PZ value of -6.6 mV. This indicates that the developed method is able to synthesize CdS NPs, which, due their characteristics, are ecofriendly and could be used directly for applications.

**KEYWORDS:** Quantum dots. Extract. Fungi.

## 1 INTRODUCCIÓN

La síntesis de nanopartículas de CdS (NPs CdS) es de gran relevancia debido a sus aplicaciones en biosensores, en bioimágenes, celdas solares, fotocatalisis, etc., y son de gran interés aquellas que son denominadas como puntos cuánticos ya que debido a su tamaño (de 1-10 nm) presentan fisicoquímicas que les permiten ampliar las aplicaciones a las que pueden ser destinadas. Con el objetivo de emplearlas para diversos fines, se han buscado alternativas para su síntesis, ya que las metodologías comunes incluyen el uso de diversos reactivos químicos tóxicos en altas concentraciones; en su lugar se pueden emplear microorganismos como bacterias y hongos (Kuppusamy et al., 2016; Moghaddam, 2015). En particular, el uso de la biomasa fúngica presenta un potencial muy valioso para obtener compuestos bioactivos naturales estructuralmente complejos, pero por lo general, el excedente de materia orgánica de nanopartículas en solución, dificulta la caracterización y genera pérdidas de nanopartículas al adherirse a la misma. Por otro lado, el mecanismo de biosíntesis de las nanopartículas de semiconductores implica la reducción de metales inorgánicos en la solución, mediado por enzimas como

nitrito y sulfato reductasa presentes en la mayoría de las especies fúngicas (Hamedí et al., 2017; Khandel & Kumar, 2018). No obstante, es posible extraer los compuestos químicos de la biomasa y dada la naturaleza química de éstos, se pueden usar como agentes reductores para sintetizar nanopartículas, que, a su vez, representen una mejora de la síntesis biológica comúnmente usada, la cual involucra el uso de biomasa fúngica húmeda (Husseiny et al., 2015; Sandoval et al., 2017).

## 2 METODOLOGÍA

Para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas de CdS, se empleó el extracto acuoso, el cual se preparó a partir de la biomasa seca de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Hernández, 2021), posteriormente se analizó su poder reductor mediante la técnica FRAP, la cual fue desarrollada por Oyaizu, (1986), con algunas modificaciones (Hernández, 2021), utilizando ácido ascórbico como control positivo. Una vez habiendo analizado la capacidad del extracto de reducir el complejo TPTZ III a II, se tomaron 6 mL de extracto para ponerlos en contacto con una solución de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  1 mM y 0.6 g de azufre residual proporcionado por el Instituto Mexicano del Petróleo (México), la mezcla de reacción se dejó incubando durante 24 h a 150 rpm y 30 °C, para después filtrar al vacío y caracterizar la solución coloidal mediante Espectrofotometría de Fluorescencia, considerando los siguientes parámetros: lecturas del espectro cada 1-2 nm, longitud de excitación de 365 nm, apertura del slit de excitación y de emisión de 2.5 nm y tiempo de integración de 0.5 s (Sandoval et al., 2017). Asimismo, mediante la técnica de Espectrofotometría de Ultravioleta-Visible, se realizó un barrido de 200 a 800 nm con resolución de 1 nm. Para ambas determinaciones, se empleó un control biológico (con extracto fúngico y agua), así como un control inorgánico (con azufre residual y solución de nitrato de cadmio).

La estabilidad coloidal de la solución de nanopartículas se evaluó con un Analizador de partículas (Litesizer 500) empleando una celda omega, la cual permite crear campos eléctricos en la posición de la medición, lo que resulta en mediciones reproducibles del potencial zeta (Anton Paar GmbH, 2020).

Por último, la morfología y el tamaño de las nanopartículas se evaluaron mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), ambos instrumentos tienen un sistema de Espectroscopia de Rayos X por Energía Dispersiva (EDS) para determinar la composición elemental de las nanopartículas sintetizadas.

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Considerando los reportes que demuestran que los hongos tienen la capacidad de producir biomoléculas tales como enzimas, proteínas y otras moléculas de naturaleza orgánica, se sabe que éstas tienen la capacidad de reducir metales y compuestos inorgánicos utilizados como precursores para la síntesis de nanopartículas (Adebayo et al., 2021), por lo tanto, el estudio del poder reductor del extracto acuoso fue imprescindible; mediante la técnica FRAP (Figura 1), se obtuvo como resultado que dicha capacidad reductora es comparable a un control positivo, en este caso, el ácido ascórbico. A primera instancia, esto sugirió que el poder reductor es adecuado para llevar a cabo la síntesis de NPs CdS, no obstante, es importante destacar que este parámetro no es el único que interviene en la síntesis de nanopartículas, ya que se puede ver involucrada la especie del hongo, el solvente con el que se extrae, temperatura, etc. (Elamawi et al., 2018), por lo que es necesario estudiar la producción de éstas de manera general y mediante la caracterización de las mismas.

Se empleó la técnica espectrofotométrica UV-Vis para el análisis de la resonancia del plasmón superficial de la solución coloidal de nanopartículas de CdS y su espectro se muestra en la Figura 2A, se observa que las NPs CdS absorben a 320 nm, sugiriendo que se trata de puntos cuánticos con tamaños aproximados a 3 o 4 nm, según reportes de Borovaya et al., 2016; Kumar et al., 2007. En el caso de la señal en el espectro de Fluorescencia (Figura 2B), la banda de emisión que sugiere la presencia de nanopartículas de sulfuro de cadmio se encuentra a 515 nm (Singh y Chauhan, 2009; Hernández, 2021). Es importante mencionar que los nanomateriales semiconductores presentan fluorescencia debido a sus propiedades fisicoquímicas y estructurales (Flessau et al., 2014; Gaviria et al., 2020), por lo que este tipo de nanopartículas tienen la capacidad para ser utilizadas, por ejemplo, como biosensores. Por otro lado, la síntesis de estas NPs empleando el extracto acuoso permite que el proceso pueda ser enfocado en la química verde y en consecuencia, se siguen los principios de la misma que indican que la concentración de reactivos en este tipo de síntesis tiene que ser baja, considerando concentraciones en mM (Kim et al., 2015). Otro punto importante del método desarrollado es que el análisis de partículas es más sencillo de caracterizar comparado con soluciones coloidales de NPs sintetizadas mediante biomasa fúngica, ya sea por la proliferación del hongo en la solución o por el excedente de materia orgánica presente en dicha matriz (Hernández, 2021).



Figura 1. Poder reductor del extracto acuoso de la biomasa fúngica como precursor en la síntesis de NPs CdS.

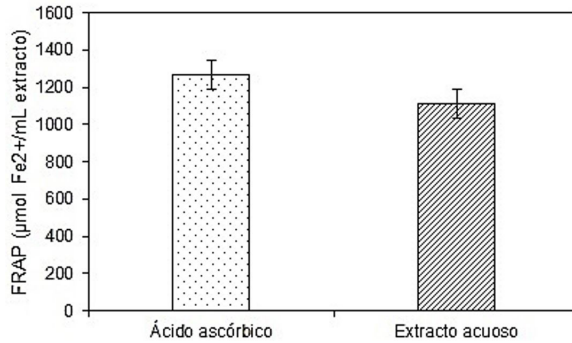
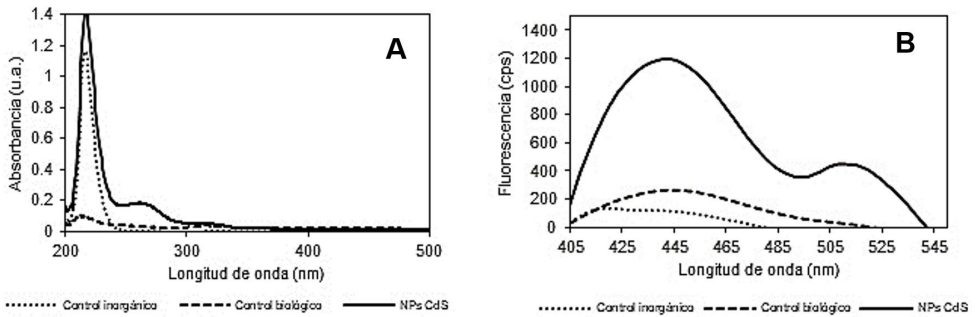
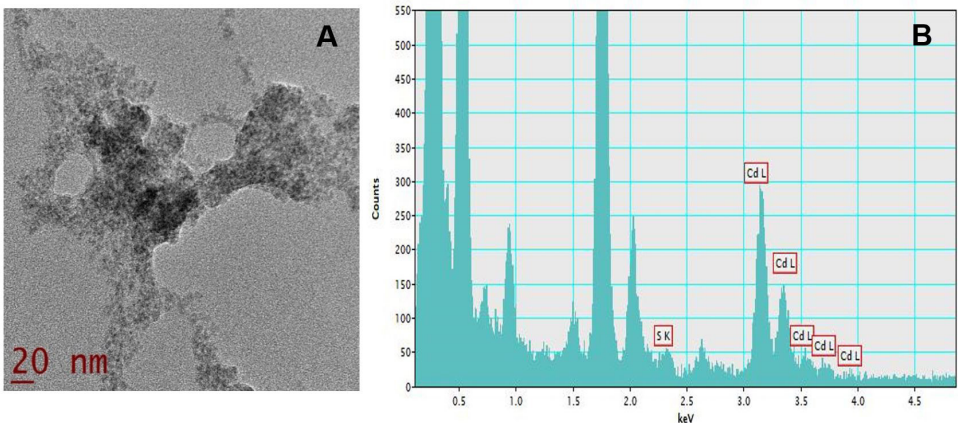


Figura 2. Espectros de A) absorción y B) emisión de la obtención de nanopartículas a partir del extracto acuoso de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*



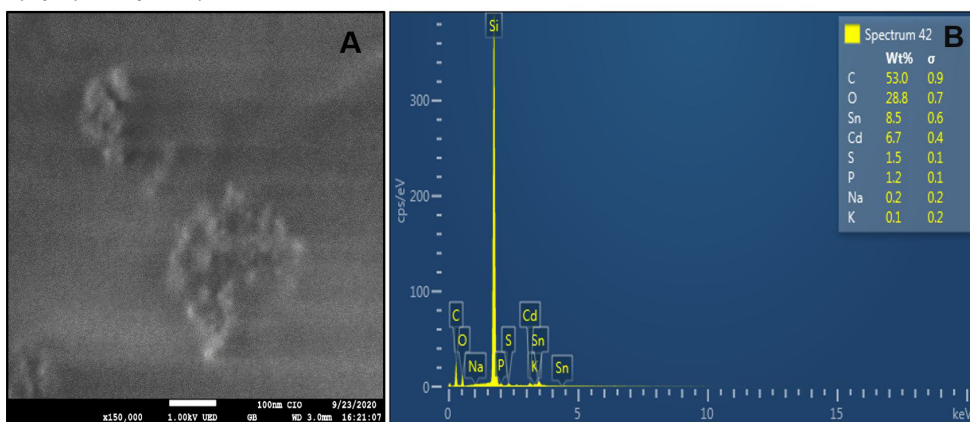
Como parte de la caracterización de las NPs CdS, se empleó la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión con el fin de analizar la morfología y el tamaño de partícula, encontrando que el diámetro promedio es de  $2.38 \pm 0.93$  nm. En la Figura 3 se muestra dicha micrografía y el espectro EDS correspondiente, en el que se indica la presencia de Cd y S.

Figura 3. A) Micrografía TEM de NPs CdS sintetizadas con extracto acuoso de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y B) Espectro EDS.



Adicionalmente, se llevó a cabo un análisis mediante Microscopía Electrónica de Barrido, confirmando la presencia de las NPs CdS (Figura 4). Se puede decir que la aglomeración de las partículas se puede deber a su valor de potencial Zeta, el cual fue de -6.6 mV. Este valor indica la presencia de cargas predominantes negativas, las cuales se sugiere, provienen de los metabolitos secundarios del hongo que funcionan como estabilizantes. Sin embargo, se ha reportado que a potenciales bajos (menores a -10 mV o mayores a +10 mV) las soluciones coloidales de nanopartículas tienden a aglomerarse (Yahaya et al., 2020). Por lo tanto, el estudio particular de cada uno de estos parámetros podría permitir tener una mayor estabilidad coloidal del sistema.

Figura 4. A) Micrografía SEM de NPs CdS sintetizadas con extracto acuoso de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y B) Espectro EDS.



## 4 CONCLUSIÓN

Las nanopartículas de sulfuro de cadmio sintetizadas mediante el extracto acuoso de biomasa fúngica son una buena estrategia para la síntesis de este tipo de nanomateriales, no sólo por el poder reductor elevado del extracto, sino también, porque se trata de un método basado en la química verde teniendo menor interferencias en la caracterización de las nanopartículas obtenidas.

## 5 PERSPECTIVAS

Considerando el potencial que tiene el sistema acuoso de nanopartículas de sulfuro de cadmio en diversas aplicaciones, es de vital importancia trabajar en la optimización de la síntesis, lo cual incluye estudiar el comportamiento de la solución coloidal con variaciones de pH y llevar a cabo estrategias enfocadas en análisis metabolómico que permitan elucidar los compuestos responsables de la síntesis para

de esa manera, conocer con mayor profundidad la reacción y así, buscar tener mayor control en la síntesis de las NPs CdS.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adebayo, E., Azeez, M., Alao, M., Oke, A., y Aina, D. (2021). Fungi as veritable tool in current advances in nanobiotechnology. *Helijon*, 7(11), 2405-8440.

Anton Paar GmbH. (2020). Highly Stable and Reproducible Particle Analysis Measurements. AZoM.

Borovaya, M., Burlaka, O., Naumenko, A., Blume, Y. y Yemets, A. (2016). Extracellular synthesis of luminescent CdS quantum dots using plant cell culture. *Nanoscale Res Lett*, 100(11), 1-8.

Elamawi, R., Al-Harbi, R. y Hendi, A. (2018). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma logibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi. *Egypt J Biol Pest Control*. 28(28).

Flessau, S., Wolter, C., Pöset, E., Kröger, E. y Kipp, T. (2014). Fluorescence spectroscopy of individual semiconductor nanoparticles in different ethylene glycols. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 22: 10235-11068.

Gaviria, M., Cano, J. y Peñuela, G. (2020). Nanomaterial-based fluorescent biosensors for monitoring environmental pollutants: A critical review. *Talanta Open*, 2(1), 100006.

Hamed S., Ghaseminezhad M., Shokrollahzadeh S., Shojaosadati SA. (2017). Controlled biosynthesis of silver nanoparticles using nitrate reductase enzyme induction of filamentous fungus and their antibacterial evaluation. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 45(8), 1588-1596.

Hernández, J. O. (2021) *Evaluación de la capacidad de Fusarium oxysporum para producir nanopartículas de sulfuro de cadmio a partir de un residuo de azufre* [Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio Institucional-Universidad Autónoma de Querétaro.

Husseiny, S., Salah, T. y Anter, H. (2015). Biosynthesis of size controlled silver nanoparticles by *Fusarium oxysporum*, their antibacterial and antitumor activities. *UJBAS*, 4(3), 225-231.

Khandel, P. & Kumar, S. (2018). Mycogenic nanoparticles and their bio-prospective applications: current status and future challenges. *JNC*, (8), 369–391.

Kim, H., Seo, Y. y Kim, K. (2016). Concentration Effects of Reducing Agents on Green Synthesis of Gold Nanoparticles: Size, Morphology, and Growth Mechanism. *Nanoscale Res Lett*, 11(230).

Kumar, A., Ahmad, A., Ayoobul, A. y Khan, M. (2007). Extracellular biosynthesis of CdSe quantum dots by the fungus *Fusarium oxysporum*. *J. Biomed. Nanotechnol*, 3(2), 190-194.

Kuppusamy, P., Yusoff, M., Pragas, G. y Govindan, N. (2016). Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. *Saudi Pharm. J.*, 24(4), 473-484.

Moghaddam, A., Namvar, F., Moniri, M., Tahir, P., Azizi, S. y Mohamad, R. (2015). Nanoparticles biosynthesized by fungi and yeast: a review of their preparation, properties and medical applications. *Molecules*, 20(9), 16540-16565.

Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese J. Nutr.*, 307(44).

Sandoval, C., D. I., Gómez, D., Rojas, N. y Vidales, M. (2017). Synthesis of Cadmium Sulfide nanoparticles by biomass of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J. Nano Res.*, (46):179-191.

Sherif Moussa Hussein, Taher A. Salah, Hend A. Anter, (2015). Biosynthesis of size controlled silver nanoparticles by *Fusarium oxysporum*, their antibacterial and antitumor activities, *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.*, 4(3), 225-231.

Singh, V. y Chauhan, P. (2009). Structural and optical characterization of CdS nanoparticles prepared by chemical precipitation method. *J. Phys. Chem. Solids*, 70(7), 1074-1079.

Yahaya, M., Zainal, Z., Abdul, S., Md, F., Noor, A. e Issa, M. (2020). Eco-Friendly Sustainable Fluorescent Carbon Dots for the Adsorption of Heavy Metal Ions in Aqueous Environment. *Nanomater*, 10(2), 315.

# CAPÍTULO 9

## ESTUDIO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE CADMIO OBTENIDAS A PARTIR DE BIOMASA Y EXTRACTOS FÚNGICOS DE *Fusarium oxysporum*<sup>1</sup>

Data de submissão: 24/05/2022

Data de aceite: 14/06/2022

### Diana Alexandra Calvo Olvera

Instituto Politécnico Nacional  
Centro de Investigación en  
Ciencia Aplicada y  
Tecnología Avanzada  
Unidad Querétaro, Qro., México  
<https://orcid.org/0000-0003-4481-0729>

### José Daniel Aguilar Loa

Instituto Politécnico Nacional  
Centro de Investigación en  
Ciencia Aplicada y  
Tecnología Avanzada  
Unidad Querétaro, Qro., México  
<https://orcid.org/0000-0002-5686-7856>

### Norma Gabriela Rojas Avelizapa

Instituto Politécnico Nacional  
Centro de Investigación en  
Ciencia Aplicada y  
Tecnología Avanzada  
Unidad Querétaro, Qro., México  
<https://orcid.org/0000-0001-5349-4612>

**RESUMEN:** Las nanopartículas de sulfuro de cadmio (CdSNPs) sintetizadas por vía fúngica presentan propiedades fisicoquímicas

<sup>1</sup> El proyecto A1-S-31777 fue financiado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)

que pueden ser aplicadas en diversas áreas, por lo que actualmente se estudian los diferentes métodos de síntesis biogénica de nanopartículas (NPs) para lograr ciertas características de interés. El hongo *Fusarium oxysporum* es un microorganismo ampliamente estudiado en la síntesis de diversas NPs, debido a la amplia variedad de moléculas con capacidad reductora que produce, mismas que posiblemente participan en el proceso de síntesis y recubrimiento de los nanomateriales. Por ello, este capítulo pretende evidenciar las diferencias entre el uso de la biomasa fúngica y el filtrado libre de células de *F. oxysporum* para la síntesis de CdSNPs.

**PALABRAS CLAVE:** Biosíntesis extracelular. Biosíntesis intracelular. Filtrado de células extracelular. Filtrado libre de células.

### STUDY OF CADMIUM SULFIDE NANOPARTICLES OBTAINED FROM *Fusarium oxysporum* BIOMASS AND FUNGAL EXTRACTS

**ABSTRACT:** Cadmium sulfide nanoparticles (CdSNPs) synthesized by fungal pathway present physicochemical properties that can be applied in different areas, so different methods of biogenic synthesis of nanoparticles (NPs) are currently being studied to achieve certain characteristics of interest. The fungus *Fusarium oxysporum* is a microorganism widely studied in the synthesis of diverse NPs, due to the wide variety of molecules with reducing capacity that it produces, which

possibly participate in the process of synthesis and coating of nanomaterials. Therefore, this chapter aims to evidence the differences between the use of fungal biomass and cell-free filtrate of *F. oxysporum* for the synthesis of CdSNPs.

**KEYWORDS:** Cell-free filtrate. Extracellular filtrate. Intracellular biosynthesis. Extracellular biosynthesis.

## 1 INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas semiconductoras son un material compuesto por diversos elementos no metálicos que incluyen los grupos II-VI, III-V y IV-VI de la tabla periódica, así como diferentes iones metálicos (Kumar, 2019). Dentro de estos grupos de elementos se incluyen los cationes de Zn, Cd y Hg en combinación con los aniones de S, O, Te, y Se para formar nanomateriales como los de ZnO, ZnS, CdTe, CdS por mencionar algunos. Estos materiales presentan propiedades ópticas, eléctricas y térmicas únicas debido a la naturaleza conductora y aislante de los elementos que la conforman (Kumar, 2019).

Las CdSNPs son nanoestructuras semiconductoras que han ganado importancia en diversos campos a causa de las propiedades ópticas, eléctricas y químicas que exhiben. Dichas propiedades están dadas por la energía de banda prohibida, la cual se incrementa de 2.42 electronvoltios (eV) hasta 3 – 4 eV cuando el material de CdS a granel llega a tamaños inferiores a 100 nm. Lo anterior les confiere características de interés para una amplia variedad de aplicaciones en el campo de la biomedicina, óptica y electrónica (Kozhevnikova et al., 2015).

## 2 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE CADMIO

Las CdSNPs pueden ser sintetizadas por métodos físicos, químicos y biológicos. En los métodos biológicos se utilizan organismos vivos como plantas, bacterias y hongos, así como materia orgánica como biomasas para llevar a cabo el proceso de reducción y nucleación de las nanopartículas; estos métodos tienen como ventaja que los procesos requieren materiales menos tóxicos, de menor costo y generan menor daño a la salud y al ambiente, pues hacen uso de procesos enzimáticos, moléculas y compuestos propios de los organismos que las generan (Jacob et al., 2016). Por lo anterior, se ha reportado que las nanopartículas sintetizadas por éstos métodos presentan una alta estabilidad coloidal y biocompatibilidad, debido posiblemente a que las nanopartículas presentan un recubrimiento con biomoléculas. No obstante, en la mayoría de las ocasiones la obtención y purificación de nanopartículas biogénicas suele ser complicada dependiendo del tipo de organismo que se utilice para su producción (Jacob et al., 2016). En el caso de la síntesis y recubrimiento de nanopartículas por vía fúngica, las proteínas, enzimas y moléculas

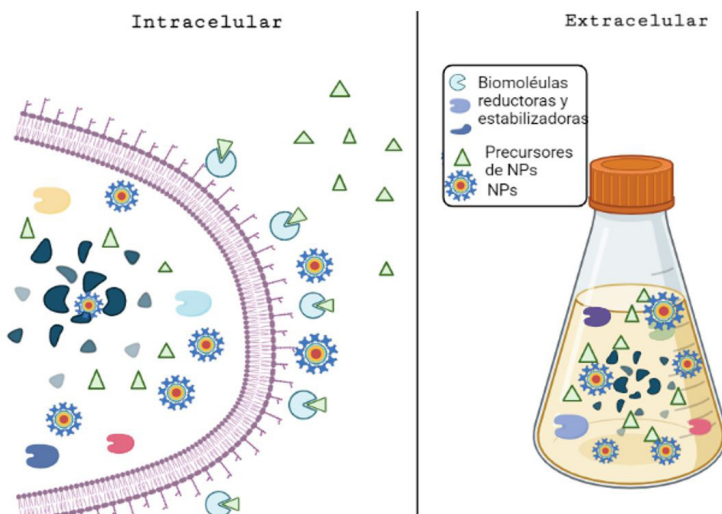
implicadas se encuentran en la pared celular de los hongos o son secretadas al medio, lo que facilita el uso de la biomasa, el filtrado extracelular o el filtrado libre de células de los hongos (Siddiqi & Husen, 2016).

### 3 SÍNTESIS DE CdSNPs A PARTIR DE HONGOS

Los hongos son microorganismos con alto potencial para sintetizar nanopartículas de diferentes materiales, debido a que secretan o pueden tener en su pared celular una gran cantidad de enzimas, proteínas, y moléculas implicadas en la reducción y estabilización de las NPs, por lo que la síntesis puede llevarse a cabo intra y extracelularmente utilizando la biomasa o el filtrado libre de células (Jacob et al., 2016), además de generar menos residuos tóxicos y presentar recubrimientos biogénicos derivados del hongo que les confieren mayor estabilidad y biocompatibilidad (Siddiqi & Husen, 2016).

Para la síntesis de nanopartículas mediante hongos es necesario cultivar el hongo en agar nutritivo y transferirlo a un medio líquido rico en nutrientes para producir la biomasa fúngica, posteriormente los metabolitos fúngicos producidos entrarán en contacto con el precursor inorgánico formando las NPs (Siddiqi & Husen, 2016). La síntesis de las NPs mediante hongos puede realizarse de dos maneras; síntesis intracelular mediante la biomasa fúngica, donde las NPs se sintetizan dentro de la célula y síntesis extracelular mediante el filtrado libre de células, donde las NPs se sintetizan en el medio, como se observa en la siguiente figura (Fig.1) (Patil et al., 2021r).

Fig. 1 Esquema de los mecanismos de síntesis intracelular y extracelular en hongos.



## 4 SÍNTESIS DE CdSNPs A PARTIR DE LA BIOMASA FÚNGICA

En la síntesis intracelular, las NPs son producidas dentro de la célula, los iones metálicos se unen a la pared celular mediante interacciones electrostáticas y son reducidos por las biomoléculas presentes en la pared celular formando las NPs (Kashyap et al. 2013). Se han postulado algunos mecanismos y moléculas implicadas en los procesos de biosíntesis, sin embargo, aún no se han dilucidado por completo. En el caso de *F. oxysporum* se ha reportado que es capaz de producir NPs de diversos materiales como la plata, oro, circonio, silicio, titanio, platino, titanio de bario y sulfuro de cadmio mediante la secreción de enzimas y biomoléculas (Bansal et al., 2006; Priyabrata Mukherjee, et al., 2002; Riddin et al., 2006).

Los hongos son capaces de producir una amplia gama de moléculas proteicas y enzimas, sin embargo estas varían de acuerdo a la especie y a las condiciones de crecimiento; se ha observado que el tipo de biomolécula y la cantidad producida son diferentes entre el filtrado extracelular y la biomasa, ya que en el filtrado extracelular, el hongo se somete a estrés al no tener los nutrientes necesarios para su crecimiento por lo que secretan una gran cantidad de biomoléculas, las cuales son las responsables de la reducción y recubrimiento de las NPs, por lo que dependiendo del tipo de síntesis utilizado las características finales de las NPs pueden ser diferentes (Hamedi et al., 2017).

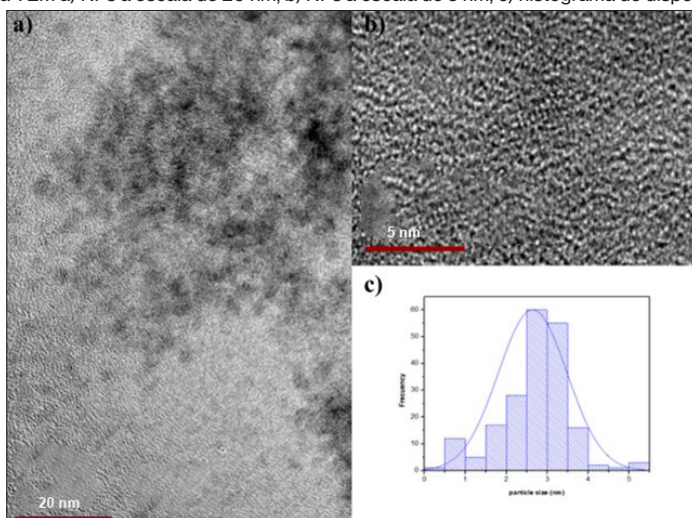
Vetchinkina y col. (2018) evaluaron la síntesis intracelular y extracelular de NPs de HAuCl<sub>4</sub> con 4 diferentes hongos *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, y *Grifola frondosa* y observaron que dependiendo del tipo de síntesis, la forma y tamaño de las NPs se ve afectada; mediante síntesis intracelular se formaron NPs de 50 -100 nm de diámetro y de diferentes formas (hexagonal, tetragonal y triangular) mientras que con el filtrado extracelular se obtuvieron NPs más homogéneas, esféricas y de menor tamaño 2- 20 nm de diámetro, así mismo evaluaron la actividad de los siguientes compuestos Mn-peroxidasa, lacasas y tirosinasas encontrando que la cantidad variaba de acuerdo al tipo de hongo, no obstante había una mayor producción de todos los compuestos en el filtrado extracelular en comparación con el de la biomasa, por lo que la reducción de iones y formación de partículas está directamente relacionada con el metabolismo de los hongos.

A causa de la gran variedad de componentes biológicos que presenta la biomasa y aquellos excretados al medio acuoso; los nanomateriales que son sintetizadas utilizando la biomasa pueden dar como resultado nanopartículas heterogéneas en tamaño, estructura y composición, con baja pureza, y con un excedente de materia orgánica que puede interferir para su correcta caracterización y con sus potenciales aplicaciones (Reyes et



al., 2009). En nuestro grupo de trabajo se sintetizaron CdSNPs utilizando un residuo de azufre y la biomasa de *F. oxysporum f. sp. lycopersici*; el hongo se creció en 30 ml de MGY (g/L) (6 g extracto de malta, 10 g glucosa, 3 g extracto de levadura, 5 g peptona) en agitación constante por 4 días a 30°C, la biomasa resultante se recuperó por filtración al vacío y se incubó 6 g de biomasa con 62.5 mL de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  0.1 mM y 0.62 g del residuo de azufre por 12 h a 30°C, obteniendo CdSNPs esféricas de  $2.64 \pm 0.84$  nm de diámetro, sin embargo en la micrografía de TEM (Fig. 2), las NPs se observan aglomeradas y rodeadas de un excedente de material orgánica, lo cual concuerda con el diámetro hidrodinámico determinado mediante DLS (Dispersión de luz dinámica) de  $195.61.94 \pm 4.04$  nm.

Fig. 2 Micrografía TEM a) NPs a escala de 20 nm, b) NPs a escala de 5 nm, c) histograma de dispersión de tamaños.



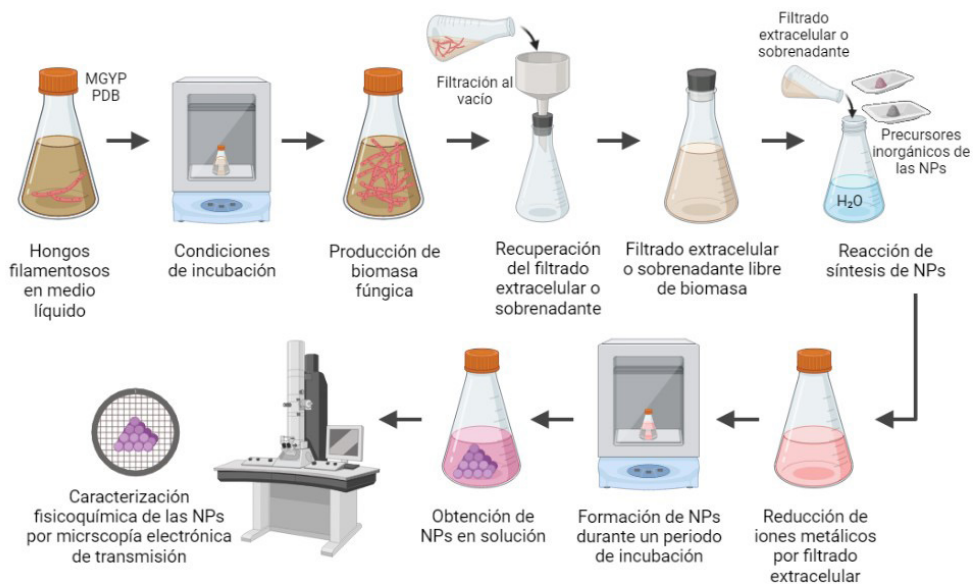
Actualmente se explora nuevas metodologías de síntesis de nanomateriales a partir de extractos acuosos a partir de la biomasa de hongos filamentosos con la finalidad de eliminar la mayor parte de impurezas y componentes biológicos no esenciales para su síntesis y así optimizar la producción de NPs y conseguir NPs más puras. No obstante, algunos autores han reportado que no se logró sintetizar NPs a partir del filtrado extracelular de *F. oxysporum f. sp. lycopersici* y que fue necesario el uso de su biomasa para lograr la síntesis (Sandoval-Cárdenas, 2017).

## 5 SÍNTESIS DE CdSNPs A PARTIR DEL FILTRADO EXTRACELULAR Y FILTRADO LIBRE DE CÉLULAS

La síntesis fúngica de CdSNPs a partir del filtrado extracelular es el proceso en el cual se obtienen nanomateriales que son sintetizados y recubiertos mediante biomoléculas presentes en el medio de cultivo o sobrenadante donde fue crecido

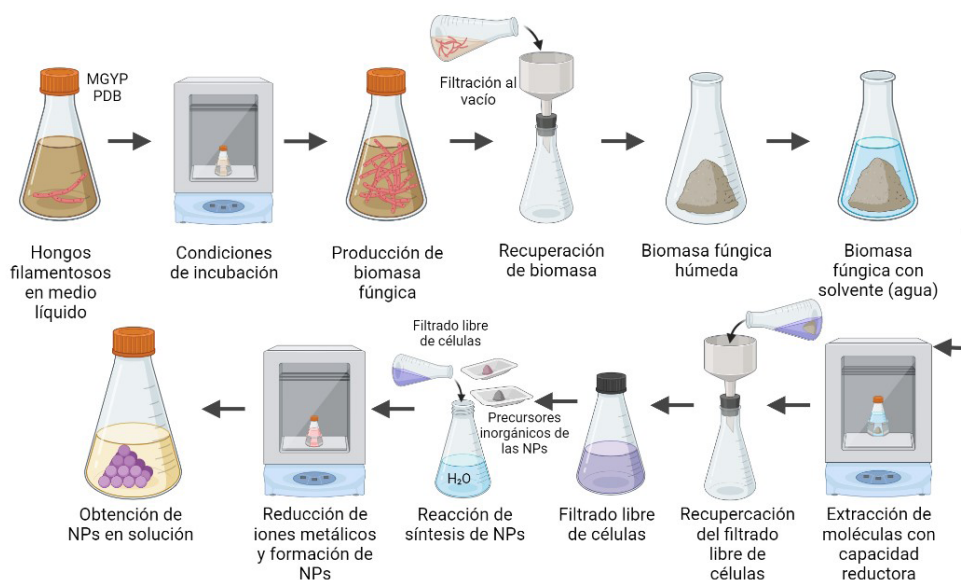
el hongo (Fig. 3). Esto debido a que en dicho medio se encuentran compuestos que son liberados por el hongo como producto de su metabolismo primario y secundario (Sandoval-Cárdenas, 2017), de los cuales algunos compuestos activos, generalmente provenientes del metabolismo secundario tienen la capacidad reductora necesaria para llevar a cabo la síntesis y recubrimiento de las nanopartículas; sin embargo, el filtrado extracelular puede llegar a ser poco efectivo (Hamedi et al., 2017). Hamedi y col. (2017) han demostrado que el uso del filtrado extracelular del hongo *F. oxysporum* obtenido de la fase estacionaria del cultivo, es poco eficiente en la síntesis de nanopartículas de plata (AgNP). Por otro lado, Sandoval-Cárdenas (2017) utilizaron el filtrado extracelular de *F. oxysporum* para la síntesis de CdSNPs sin éxito. En general, la síntesis de NPs biogénicas mediante el filtrado extracelular de hongos en comparación con la síntesis mediada por el uso del filtrado libre de células, resulta en la obtención de nanopartículas más grandes y de mayor heterogeneidad en cuanto a su tamaño y estructura, así como en un proceso poco eficiente (Hamedi et al., 2017). Lo anterior se sugiere es causa de la participación de diversos componentes biológicos sobre el recubrimiento de las NPs, pues para el caso del filtrado extracelular, una cantidad abundante de componentes del medio de cultivo y de metabolitos secretados por los hongos, pueden estar involucrados en el recubrimiento de los nanomateriales, mientras que los componentes biológicos del filtrado libre de células que participan en el recubrimiento de las NPs, son menos abundantes y diversos al ser extraídos a partir de la biomasa de los hongos con algún solvente en específico.

Fig. 3 Esquema general de la síntesis de CdSNPs a partir del filtrado extracelular.



La síntesis fúngica de NPs mediante el filtrado libre de células tiene lugar cuando se obtienen nanomateriales biogénicos sintetizados y recubiertos con biomoléculas que se extraen de la biomasa fúngica al ponerla en contacto con algún solvente específico por un tiempo determinado (Fig. 4). Lo anterior se debe a que el uso de solventes sobre la biomasa de los hongos extrae ciertos componentes biológicos, dependiendo de las características fisicoquímicas de ambos, lo que reduce el número de componentes que no contribuyen en la síntesis y recubrimiento de las nanopartículas y mejora la homogeneidad de los nanomateriales obtenidos en cuanto a su tamaño, composición y estructura (Madakka et al., 2018).

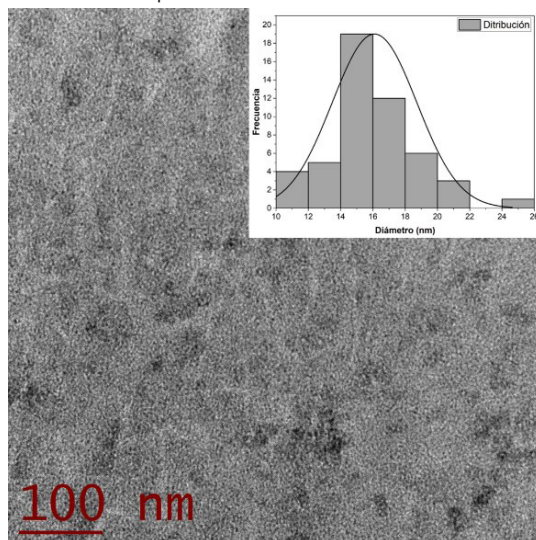
Fig. 4 Esquema general de la síntesis de CdSNPs a partir del filtrado libre de células.



El uso de solventes para la extracción de compuestos orgánicos a partir de plantas y biomasa de microorganismos se ha reportado en numerosas investigaciones (Hernández-Jiménez, 2021). En el campo de las nanopartículas se explora el uso de solventes como el agua para la extracción de moléculas con capacidad reductora como enzimas reductasas, carbohidratos, fenoles, flavonoides y moléculas mediadoras como el ATP, NADH y NADPH para convertir la sal metálica en nanopartícula (Hietzschold et al., 2019), así como también la extracción de aminoácidos, proteínas u otras moléculas que contengan los grupos funcionales carboxilo ( $-\text{COOH}$ ), amino ( $-\text{NH}_2$ ), hidroxilo ( $-\text{OH}$ ) y tiol ( $-\text{SH}$ ) necesarios para el proceso de recubrimiento de las nanopartículas, mismos que les brindarán características de afinidad hacia ciertos compuestos y con ello, hacia alguna aplicación en particular (Sandoval-Cárdenas, 2017).

Hasta donde se tiene conocimiento, no se ha reportado el uso del filtrado libre de células para la síntesis de CdSNPs. No obstante, existen reportes que utilizan el filtrado libre de células obtenido de la biomasa de hongos filamentosos del género *Fusarium* para la producción de nanopartículas de plata (Hamedi et al., 2017; Madakka et al., 2018), donde el uso de agua como solvente para la producción del filtrado libre de células para la síntesis de nanopartículas, resultó altamente eficiente en comparación con otros métodos de síntesis biogénica, pues se obtienen nanopartículas más pequeñas y con menor heterogeneidad en tamaño (Hamedi et al., 2017). Por lo anterior, en nuestro grupo de trabajo recientemente se estudió con éxito la síntesis de CdSNPs a partir del filtrado libre de células de *F. oxysporum* obtenido al poner en contacto 25 mL de agua destilada estéril con la biomasa del hongo al 6% (1.5 g) crecida en medio MGYP (Hernández-Jiménez, 2021). A partir de ésta investigación se ha encontrado que es posible sintetizar CdSNPs con diámetro promedio de  $16.1 \pm 2.6$  nm a partir de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{S}^\circ$  como precursores inorgánicos (Fig. 6). Al momento de redactar este documento, no se tienen información sobre otros grupos de trabajo que reporten la síntesis de CdSNPs a partir del filtrado libre de células de *Fusarium* obtenido con solventes distintos al agua, así, nuestro grupo de investigación encontró que el filtrado libre de células obtenido a partir de metanol presenta concentraciones similares de poder reductor y NADH al filtrado libre de células obtenido a partir de agua (Fig. 5), por lo que se confirma la capacidad de extracción de compuestos reductores y cofactores redox como el NADH por dicho solvente, los cuales son necesarios para diferentes reacciones enzimáticas y químicas de reducción y oxidación, necesarias para la síntesis biológica de las nanopartículas (Hietzschold et al., 2019).

Fig. 5 CdSNPs sintetizadas a partir del filtrado libre de células de *Fusarium oxysporum*.



## 6 CONCLUSIÓN

Se ha observado que las características finales de las NPs como forma, tamaño y dispersión varían de acuerdo al método de síntesis utilizado, debido a los componentes biológicos presentes en la biomasa, filtrado extracelular y filtrado libre de células que resultan del metabolismo del hongo. En el presente documento se reportan algunos resultados de la investigación de nuestro grupo de trabajo donde se demostró que es posible sintetizar CdSNPs con diferentes características cuando se utiliza biomasa y filtrado libre de células de *F. oxysporum*, obteniendo NPs más pequeñas ( $2.64 \pm 0.84$  nm), aglomeradas y con exceso de materia orgánica para el primer caso, mientras que con el filtrado libre de células se observan NPs de mayor tamaño ( $16.1 \pm 2.6$  nm), dispersas y sin excedente orgánico, por lo que de acuerdo a la aplicación de interés, será el método de síntesis a utilizar.

## REFERENCIAS

- Ahmad, A., Mukherjee, P., Mandal, D., Senapati, S., Khan, M. I., Kumar, R., & Sastry, M. (2002). Enzyme-Mediated Extracellular Synthesis of CdS Nanoparticles by the Fungus, *Fusarium oxysporum*. 12108–12109.
- Bansal, V., Poddar, P., Ahmad, A., & Sastry, M. (2006). Room-temperature biosynthesis of ferroelectric barium titanate nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 128(36), 11958–11963. <https://doi.org/10.1021/ja063011m>
- Bansal, V., Rautaray, D., Ahmad, A., & Sastry, M. (2004). Biosynthesis of zirconia nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Journal of Materials Chemistry*, 14(22), 3303–3305. <https://doi.org/10.1039/b407904c>
- Bansal, V., Rautaray, D., Bharde, A., Ahire, K., Sanyal, A., Ahmad, A., & Sastry, M. (2005). Fungus-mediated biosynthesis of silica and titania particles. *Journal of Materials Chemistry*, 15(26), 2583–2589. <https://doi.org/10.1039/b503008k>
- Hamedi, S., Ghaseminezhad, M., Shokrollahzadeh, S., & Shojaosadati, S. A. (2017). Controlled biosynthesis of silver nanoparticles using nitrate reductase enzyme induction of filamentous fungus and their antibacterial evaluation. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 45(8), 1588–1596. [https://doi.org/10.1080/21691401.2016.1267011/SUPPL\\_FILE/IANB\\_A\\_1267011\\_SM3288.TIF](https://doi.org/10.1080/21691401.2016.1267011/SUPPL_FILE/IANB_A_1267011_SM3288.TIF)
- Hernández-Jiménez, M. O. (2021). Evaluación de la capacidad de *Fusarium oxysporum* para producir nanopartículas de sulfuro de cadmio a partir de un residuo de azufre. [Universidad Autónoma de Querétaro]. <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/3105>
- Hietzschold, S., Walter, A., Davis, C., Taylor, A. A., & Sepunaru, L. (2019). Does Nitrate Reductase Play a Role in Silver Nanoparticle Synthesis? Evidence for NADPH as the Sole Reducing Agent [Rapid-communication]. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 7(9), 8070–8076. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b00506>
- Jacob, J. M., Lens, P. N. L., & Balakrishnan, R. M. (2016). Microbial synthesis of chalcogenide semiconductor nanoparticles: a review. *Microbial Biotechnology*, 9(1), 11–21. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12297>

- Kozhevnikova, N. S., Vorokh, A. S., & Uritskaya, A. A. (2015). Cadmium sulfide nanoparticles prepared by chemical bath deposition. *Russian Chemical Reviews*, 84(3), 225–250. <https://doi.org/10.1070/rcr4452>
- Kumar, M. (2019). Semiconductor Nanoparticles Theory and Applications. *International Journal of Applied Engineering Research*, 14(2), 491–494. <http://www.ripublication.com>
- Madakka, M., Jayaraju, N., & Rajesh, N. (2018). Mycosynthesis of silver nanoparticles and their characterization. *MethodsX*, 5, 20–29. <https://doi.org/10.1016/J.MEX.2017.12.003>
- Mohammed, Y. M. M., & Khedr, Y. I. (2021). Applications of *Fusarium solani* YMM20 in bioremediation of heavy metals via enhancing extracellular green synthesis of nanoparticles. *Water Environment Research*, 93(9), 1600–1607. <https://doi.org/10.1002/WER.1542>
- Patil, A. G., Kounaina, K., Aishwarya, S., Harshitha, N., Satapathy, P., Hudeda, S. P., Zameer, F. (2021). Myco-Nanotechnology for Sustainable Agriculture: Challenges and Opportunities. In *Fungal Biology* (pp. 457-479). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-60659-6\\_20](https://doi.org/10.1007/978-3-030-60659-6_20)
- Riddin, T. L., Gericke, M., & Whiteley, C. G. (2006). Analysis of the inter- and extracellular formation of platinum nanoparticles by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* using response surface methodology. *Nanotechnology*, 17(14), 3482–3489. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/17/14/021>
- Reyes, L. R., Gómez, I., & Garza, M. T. (2009). Biosynthesis of Cadmium Sulfide Nanoparticles by the Fungi *Fusarium* sp. *International Journal of Green Nanotechnology: Biomedicine*, 1(1), B90-B95. <https://doi.org/10.1080/19430850903149936>
- Sandoval-Cárdenas, D. I. (2017). Síntesis por vía microbiana de nanopartículas de sulfuro de cadmio a partir de un residuo industrial (Issue April 2010) [Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada-IPN]. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2354.9680>
- Siddiqi, K. S., & Husen, A. (2016). Fabrication of Metal Nanoparticles from Fungi and Metal Salts: Scope and Application. *Nanoscale Research Letters*, 11(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1311-2>
- Vetchinkina, E., Loshchinina, E., Kupryashina, M., Burov, A., Pylaev, T., & Nikitina, V. (2018). Green synthesis of nanoparticles with extracellular and intracellular extracts of basidiomycetes. *PeerJ*, 6, e5237-e5237. <https://doi.org/10.7717/peerj.5237>

# CAPÍTULO 10

## ELABORATION OF AN ANTISEPTIC GEL BASED ON BIOACTIVE COMPOUNDS OF *ORIGANUM VULGARE* AND *ALOE VERA* ENCAPSULATED IN SiO<sub>2</sub> Y ZnO-SnO<sub>2</sub> NANOPARTICLES FOR CONTROLLED RELEASE

Data de submissão: 27/05/2022

Data de aceite: 14/06/2022

### Guadalupe Luna Cedillo<sup>1</sup>

Universidad Tecnológica del  
Centro de Veracruz  
Nanotechnology Department  
Cuitláhuac, Veracruz. México

<http://orcid.org/0000-0003-4876-0773>

### Francisco Javier Tzompantzi Morales<sup>2</sup>

Universidad Autónoma  
Metropolitana – Iztapalapa  
Departamento de Química  
México

<http://orcid.org/0000-0002-3056-9500>

### Sandra Luz Hernández Valladolid<sup>1</sup>

Universidad Tecnológica del  
Centro de Veracruz  
Nanotechnology Department  
Cuitláhuac, Veracruz. México

<http://orcid.org/0000-0001-6962-6413>

### Juan Manuel Padilla Flores<sup>1</sup>

Universidad Tecnológica del  
Centro de Veracruz  
Nanotechnology Department  
Cuitláhuac, Veracruz. México

<http://orcid.org/0000-0002-9038-2959>

<sup>1</sup> Universidad Tecnológica del Centro de Veracruz, Av. Universidad No.350, Carretera Federal Cuitláhuac-La Tinaja, Congregación Dos Caminos, 94910 Cuitláhuac, Veracruz – Llave, México.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa, Departamento de Química, San Rafael Atlixco No. 186, México 09340, D.F., México.

**ABSTRACT:** The purpose of this project was to develop an antiseptic gel based on bioactive compounds of *Origanum vulgare* and *Aloe vera* incorporated with SiO<sub>2</sub> and ZnO - SnO<sub>2</sub> nanoparticles, to obtain a broad spectrum of bactericidal and virucidal action. Currently, in Mexico, the sanitary crisis caused by SARS-CoV-2 has had a significant impact on Mexican families, since hygiene and disinfection is the main concern of Mexicans. This problem has led the population to purchase antiseptic gels with a narrower spectrum of action, in order to reduce the cost of disinfection products. ZnO nanoparticles present antimicrobial properties, which together with SnO<sub>2</sub> nanoparticles, which have photocatalytic properties, generate a synergy. Likewise, the liberating properties of the SiO<sub>2</sub> nanoparticles show a better antimicrobial activity as a function of the antiseptic gel based on bioactive compounds of *Origanum vulgare* and *Aloe vera*.

**KEYWORDS:** Nanotechnology. Nanoparticles. Controlled Release. Antiseptics. Bactericidal. Virucidal and bioactive compounds.

## 1 INTRODUCTION

Nanotechnology is the study and development of systems at the nanometer scale (1 nm is equivalent to 10<sup>-9</sup>m), in which totally new properties and phenomena are observed, which are governed by the laws of quantum mechanics, these new properties

are those that scientists take advantage of to create new materials (nanomaterials) or nanotechnological devices. Ortiz Aguilar (2019) explains that nanomaterials can occur naturally, however, there are also manufactured nanomaterials, which are intentionally designed with specific properties (mechanical, electrical, optical and catalytic) and these nanomaterials can be presented in the form of nano-objects, materials that are characterized by having one, two or three external dimensions at the nanoscale.

SiO<sub>2</sub>, SnO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles are nanostructured materials that have been studied for their properties, which include antibacterial action. For the fabrication of these nanomaterials, different synthesis methods have been used, either chemical or physical, which provide good properties.

In Mexico, the health crisis caused by SARS-CoV-2 had a significant impact on Mexican families, as the unemployment rate in Mexico increased, indicating a slow recovery of the country's economy. The Mexican population is applying sanitary measures to avoid contagion in their homes, with an estimated increase in the use of antiseptic gels in homes. However, due to the sanitary crisis, the prices of sanitizers, such as antiseptic gels, have risen, since hygiene and disinfection is the main concern of Mexicans. This problem leads the population to purchase antiseptic gels with a lower spectrum of action, in order to reduce the cost of disinfection products. On the other hand, there is a problem related to the epidemiology of wounds in Mexico. The health sector (2018) mentions the epidemiological characteristics and costs to wound care in medical units, as well as for the affected population in this area, since the prices of antiseptics present high costs for the treatment of acute and chronic wounds. It is estimated that 26.6% of the Mexican population presents traumatic injuries, and 23.4% corresponds to diabetic foot ulcers.

## 2 OBJECTIVE

To elaborate an antiseptic gel based on bioactive compounds of *Origanum vulgare* and *Aloe vera*, incorporated with SiO<sub>2</sub> and ZnO-SnO<sub>2</sub> nanoparticles, which allows having a broad bactericidal and virucidal spectrum to be used as a sanitary measure and improve the antimicrobial action against microorganisms present in wounds.

## 3 EXPERIMENTAL PART

### 3.1 OBTAINING THE AQUEOUS EXTRACT OF *ORIGANUM VULGARE*

*Origanum vulgare* leaves were collected on the federal highway in Fortín, Ver. The leaves were selected complete and free of pests. They were then washed with abundant tap water and the leaves were dried by dehydration for 6 h at 40°C in a smoking oven. Once



dried, they were ground in a grinder. The crushed material was subjected to continuous extraction with 95% ethanol using the Soxhlet method. Finally, a simple distillation was performed to obtain the pure extract.

### 3.2 OBTAINING THE EXTRACT OF ALOE VERA

*Aloe vera* leaves were collected and selected homogeneously and representatively in shape, size and color, discarding those that showed damage or other alterations. The *Aloe vera* leaves were washed in a bath with water and sodium hypochlorite to eliminate microorganisms. Once the leaves were washed and dried, they were cut longitudinally on a tray, then with a spoon, the mucilage was gently scraped until it was completely separated from the cortical parenchyma, then the gel was stored in airtight containers.

### 3.3 PREPARATION OF NANOPARTICLES

#### *SiO<sub>2</sub> nanoparticles*

400 mL of distilled water and the surfactant were placed in an agitation of 700 rpm for 5 min. Subsequently, 16 mL of NH<sub>4</sub>OH were added by drip, leaving the solution to agitate for 10 min. The temperature was raised to 95°C, leaving it to react by a constant agitation at 700 rpm. To maintain the temperature, a sand bath system was mounted. The product was then allowed to cool to room temperature. It was centrifuged at 15,000 rpm for 15 minutes with three washes of an ethanol-water solution (1:1). Once obtained, 15 mL of *Origanum vulgare* extract was added, allowing the mixture to rest. Subsequently, the mixture was placed in a water bath at 40°C until a pasty consistency was obtained. It was calcined at 400°C for 1h. At the end of the process of obtaining nanoparticles, a light green dry material was obtained.

#### *SnO<sub>2</sub> nanoparticles*

Two g of tin chloride (SnCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O), used as tin precursor, was added to 42 mL of *Origanum vulgare* extract and left in agitation until its complete dissolution; obtaining a mixture. Subsequently, the sample was placed in a water bath at 60°C until a pasty consistency was obtained. It was then calcined at 400°C for 60 min. At the end of the process, a dry light gray material was obtained.

#### *ZnO nanoparticles*

2 g of zinc nitrate was dissolved in 50 mL of distilled water in a beaker with constant stirring for 10 min, using a magnetic stirrer. After stirring, 5 mL of *Origanum vulgare* extract

was added. The mixture was heated from 60°C to 90°C. The color of the resulting solution changed from a transparent white to a light green paste confirming the formation of ZnO NPs. The obtained paste was transferred to a ceramic crucible and kept in a muffle furnace heated at 400°C for 2h. The resulting powder was used for characterization and preparation of the antiseptic gel.

### 3.4 CHARACTERIZATION OF NANOPARTICLES

#### *UV-Vis Spectroscopy Analysis*

UV-Visible spectrophotometer was used to confirm the formation of SiO<sub>2</sub>, SnO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles. The UV-Vis spectra of the samples were performed in Perkin Elmer spectrophotometer, in the range of 200 to 800 nm.

### 3.5 PREPARATION OF ANTISEPTIC GEL BASE

2 g of carbopol were dissolved in 120 mL of alcohol in a beaker with a stirring of less than 150 rpm. Subsequently, 2 mL of glycerin was added, maintaining a constant agitation. When the mixture was homogenized, 1 mL of trihydroxyethylamine was added. Finally, when the gel obtained consistency, it was bottled.

### 3.5 PREPARATION OF AN ANTISEPTIC GEL BASED ON NATURAL EXTRACTS AND NANOPARTICLES

2 g of carbopol were dissolved in 120 mL of alcohol in a beaker with a stirring of less than 150 rpm. Subsequently, 2 mL of glycerin was added, maintaining a constant agitation. When the mixture was homogenized, 1 mL of trihydroxyethylamine and 5 mL of *Aloe vera* extract were added. After the gel obtained consistency, it was packaged. To impregnate the SiO<sub>2</sub> and ZnO - SnO<sub>2</sub> nanoparticles, a sonicator was used with a duration of 30 min. Finally, the gel samples were left to rest.

### 3.6 PREPARATION OF CULTURE MEDIA

In the preparation of the culture media using nutrient agar, 23 g of the medium was rehydrated in 1L of distilled water. It was then allowed to stand for 10 to 15 min. Once rested, it was heated at constant stirring to boiling point for 1 min to dissolve it completely. It was then autoclaved at 121°C for 15 min.

In casein peptone culture media, 20 g of the medium was rehydrated in 1 L of distilled water. It was then allowed to stand for 15 to 20 min. Once resting, it was heated

by stirring constantly to boiling point for 2 min to dissolve completely. It was then sterilized in autoclave at 121°C for 17 min.

Once sterilization was complete, the media were poured into each of the corresponding petri dishes, where they were allowed to cool to room temperature. Finally, the media were labeled for use in other tests.

### 3.7 DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY

To analyze the antimicrobial activity of the antiseptic gel based on extracts with the incorporation of  $\text{SiO}_2$  and  $\text{SnO}_2$  -  $\text{ZnO}$  nanoparticles, disc diffusion methods were performed, where gram-positive and gram-negative bacterial species were used. The sterile discs loaded with different concentrations of nanoparticles solution (1 mg/ mL) were aseptically maintained in petri dish media, previously cleaned with a broth solution of test bacteria.

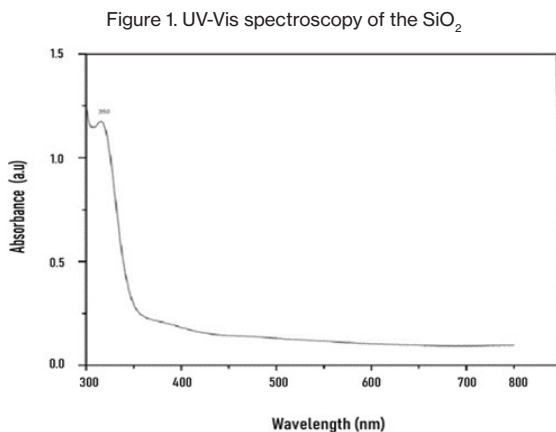
In addition, the base antiseptic gel was used as a positive control, while samples of the natural extract-based antiseptic gel with the incorporation of nanoparticles were used as negative controls. The antimicrobial activity was scored in the clear zones surrounding the corresponding discs.

## 4 RESULTS AND DISCUSSION

### *UV-Vis Spectroscopy Analysis*

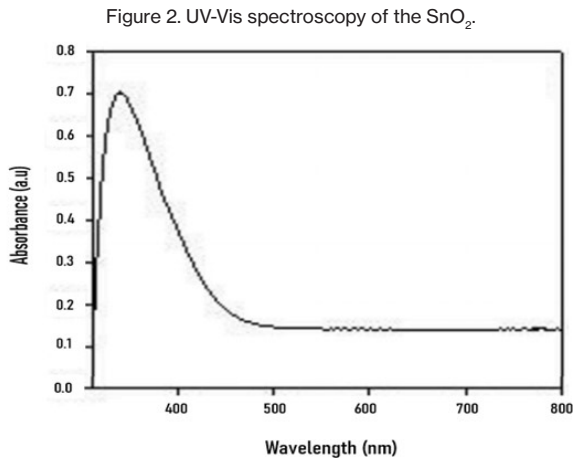
#### *$\text{SiO}_2$ nanoparticles*

The  $\text{SiO}_2$  nanoparticles were analyzed using UV-Vis spectroscopy in the range between 300 to 800 nm. In Figure 1, the peak absorbance of these nanoparticles is observed at 350 nm, due to their surface plasmon resonance.



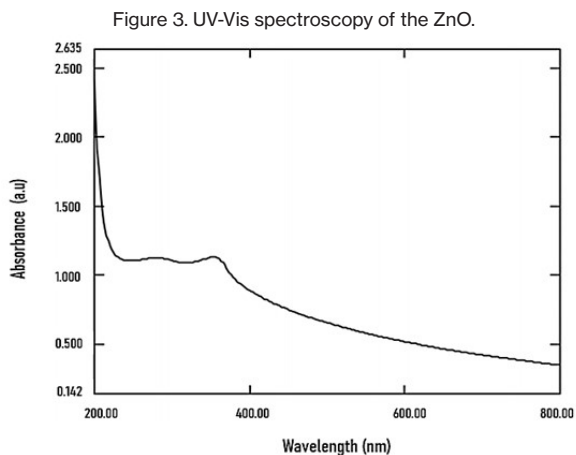
### *SnO<sub>2</sub> nanoparticles*

UV-Vis spectroscopy analysis was performed at room temperature. The absorption spectrum of SnO<sub>2</sub> nanoparticles was recorded in a wavelength range between 200 to 800 nm. In Figure 2, the absorbance peak of SnO<sub>2</sub> nanoparticles at 260 nm is observed. The energy value of the forbidden band is 2.84 eV.



### *ZnO nanoparticles*

The confirmation of *Origanum vulgare* extract of ZnO nanoparticles was observed by the color change from white to light green. In Figure 3, the UV spectrum of the synthesized ZnO nanoparticles is shown. The absorbance peak is at 354 nm, due to the surface plasmon resonance of these nanoparticles.

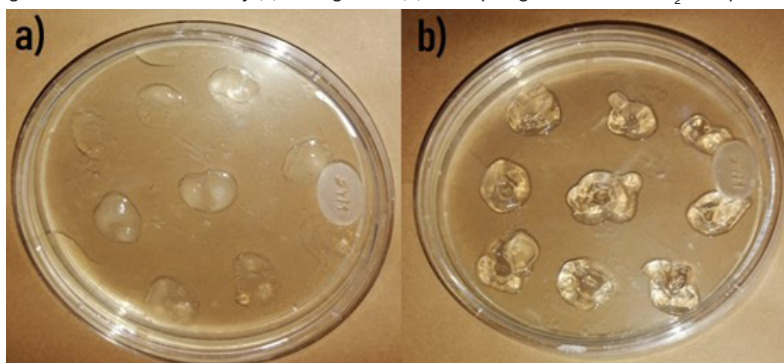


### Determination of antimicrobial activity of antiseptic gel

The nanoparticles used for the preparation of the antiseptic gel are used in various applications due to their antimicrobial properties. In the present study, agar disc diffusion test was used to measure the efficiency of the antiseptic gel based on natural extracts with the incorporation of  $\text{SiO}_2$  and  $\text{ZnO} - \text{SnO}_2$  nanoparticles against gram negative and gram positive bacteria. The inhibition zone was analyzed by the disk diffusion method for 4 h with the corresponding nanoparticles, using different concentrations for the preparation of the antiseptic gel.

Figure 4 shows the antimicrobial activity of the antiseptic gel samples, in the case of Figure 4(a) it can be determined that the base gel presents a superficial antimicrobial activity against the positive bacteria, this is attributed to the large surface area to volume ratio of the nanoparticles used, providing a better inhibitory contact with the microorganisms. The antimicrobial properties of the nanoparticles interact with the microorganisms by adhering to the surface of the bacterial cell membranes, penetrating and affecting the permeability of the bacterial membranes.

Figure 4. Antimicrobial activity (a) base gel and (b) antiseptic gel with  $\text{ZnO-SnO}_2$  nanoparticles.



Tables 1 and 2 show the size of the disinfected diameter using the antiseptic gel based on natural extracts with the incorporation of  $\text{SiO}_2$  and  $\text{ZnO} - \text{SnO}_2$  nanoparticles.

Table 1. Recording of the diameter of the disinfected area of the  $\text{ZnO-SnO}_2$  nanoparticles.

Registro de área desinfectada (mm)				
	1 h	2 h	3 h	4 h
<b>Blanco</b>	5 mm	6 mm	7 mm	8 mm
<b>0.25 g / L</b>	5 mm	7 mm	9 mm	11 mm
<b>0.5 g / L</b>	9 mm	10 mm	15 mm	17 mm
<b>1 g / L</b>	10 mm	11 mm	14 mm	17 mm

Table 1 shows the records regarding the diameter of the disinfection area using ZnO-SnO<sub>2</sub> nanoparticles in the antiseptic gel samples. The record of the disinfection area was recorded in millimeters. As can be seen in the table, the antiseptic gel without the bioactive components of *Origanum vulgare* and *Aloe vera* extracts with the incorporation of nanoparticles at different concentrations, presented a lower area than the samples of the antiseptic gel incorporated by natural extracts already mentioned and ZnO-SnO<sub>2</sub> nanoparticles.

The study to evaluate the effectiveness of the antiseptic gel had a duration of 4 h, where the samples showed an effectiveness in reducing microorganisms present in the medio de cultivo of gram-negative and gram-positive.

The sample with a concentration of 0.5 g/L showed a higher effectiveness in the antimicrobial activity on gram-negative and gram-positive bacteria. However, the samples with a concentration of 1 g/L of ZnO-SnO<sub>2</sub> nanoparticles also presented a greater effectiveness, however, there was not a great difference with respect to the samples with a concentration of 0.5 g/L, which is why it was analyzed that this concentration allows a prolonged release of the bioactive compounds of the *Origanum vulgare* and *Aloe vera* extracts.

Table 2. Recording of the diameter of the disinfected of the SiO<sub>2</sub> nanoparticles

<b>Registro de área desinfectada (mm)</b>				
	<b>1 h</b>	<b>2 h</b>	<b>3 h</b>	<b>4 h</b>
<b>Blanco</b>	5 mm	6 mm	7 mm	8 mm
<b>0.25 g / L</b>	5 mm	6 mm	8 mm	9 mm
<b>0.5 g / L</b>	5 mm	7 mm	8 mm	10 mm
<b>1 g / L</b>	6 mm	8 mm	9 mm	11 mm

Table 2 shows the record corresponding to the antimicrobial evaluation of the antiseptic gel based on the bioactive components of *Origanum vulgare* and *Aloe vera* extract with different concentrations of SiO<sub>2</sub> nanoparticles with respect to the antiseptic gel without components, which was considered as a blank.

The sample that presented the best effectiveness for the reduction of microorganisms was the one with the concentration of 1 g/L of SiO<sub>2</sub> nanoparticles with the bioactive compounds of the *Origanum vulgare* and *Aloe vera* extracts. However, this sample did not present the same effectiveness with both gram-negative and gram-positive microorganisms.

## 5 CONCLUSIONS

UV-Vis spectroscopy confirmed the formation of SiO<sub>2</sub>, ZnO and SnO<sub>2</sub> nanoparticles.

The study of the antimicrobial activity showed that the antiseptic gel based on *Origanum vulgare* and *Aloe vera* extract with the incorporation of 0.5 g/L of ZnO - SnO<sub>2</sub> nanoparticles developed a synergy, increasing the efficiency of the antimicrobial activity due to its photocatalytic properties, allowing the reduction of gram-negative and gram-positive bacteria.

The release character of SiO<sub>2</sub> can be observed through the increase of the inhibition area with respect to the release of *Origanum vulgare* and *Aloe vera* extracts over time.

Therefore, it is concluded that the antiseptic properties of alcohol, as well as those of *Origanum vulgare* and *Aloe vera* extracts, the SiO<sub>2</sub> releasing character, and the photoactive properties of ZnO-SnO<sub>2</sub>, present a synergy resulting in a better antimicrobial activity.

## 6 ACKNOWLEDGMENTS

Agradecemos a la Universidad Tecnológica del Centro de Veracruz, por todo el apoyo brindado y por permitirnos el uso de su infraestructura para desarrollar este proyecto. Asimismo, le agradecemos al Dr. Vicente Rodríguez González del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C. (IPICYT), como también al Dr. Francisco Javier Tzompantzin Morales del departamento de Química de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM).

## BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

Ortiz Aguilar, J. E. (2019). *Actividad antimicrobiana de nanopartículas cerámicas sintetizadas por un método verde para uso en aplicaciones biomédicas*. [Tesis de grado, Universidad Autónoma de Occidente]. <https://red.uao.edu.co/bitstream/handle/10614/11795/T08856.pdf?sequence=6&isAllow>

Morales, R., Pascual, H. y Tandío, J. (2004). *Jardín Botánico de Madrid*. Ibersaf.

Arcila, C., Loarca, G., Lecona, S. y González, E. (2004). Oregano: Properties, composition and biological activity. *Scielo*, 54(1), 100 – 111. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S)

López, D. (2019). Identification of possible toxicological risks and their sanitary regulations of the use of nanomaterials in products for human consumption in Mexico. *Revista Médica*, 10(3), 221 – 228. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2019/md193e.pdf>

Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. y Gurtner, G. (2019). Wound healing: A cellular perspective. *Physiological reviews*, 99(1), 665-706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>

Wang, P., Huang, B., Horng, H., Yeh, C. y Chen, Y. (2018). Wound healing. *Journal of the Chinese Medical Association: JCMA*, 81(2), 94-101. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.11.002>

# CAPÍTULO 11

## *Bacillus thuringiensis* AND *Micromonospora echinospora* IN *Lactuca sativa* OPTIMIZE NITROGENOUS FERTILIZER WITH A CRUDE EXTRACT OF CARBON NANOPARTICLES

Data de submissão: 20/06/2022

Data de aceite: 08/07/2022

**Juan Luis Ignacio-De la Cruz<sup>1</sup>**

Environmental Microbiology Laboratory  
Chemical Biological Research Institute  
Michoacana University of  
San Nicolas de Hidalgo  
Morelia, Michoacán, Mexico  
<https://orcid.org/0000-0002-5638-3720>

**Juan Manuel Sánchez-Yañez\***

Environmental Microbiology Laboratory  
Chemical Biological Research Institute  
Michoacana University of  
San Nicolas de Hidalgo  
Morelia, Michoacán, Mexico  
<https://orcid.org/0000-0002-1086-7180>

**ABSTRACT:** The healthy growth of *Lactuca sativa* (lettuce) requires nitrogen fertilizer (NIFE) such as  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , to avoid hyperfertilization the dose is reduced and optimized with *Bacillus thuringiensis* and *Micromonospora echinospora* with a crude extract of carbon nanoparticles (CENC). The objective of this work was to analyze the growth of *L. sativa* with *B. thuringiensis* and *M.*

*echinospora* at 50%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  with a CENC. In that sense *L. sativa* seeds were treated with *B. thuringiensis* and *M. echinospora* at 50%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ : and 10 ppm of CENC and through the phenology/biomass response variables to seedling, the experimental data was validated by ANOVA/Tukey HSD ( $P < 0.01$ ). The results showed a healthy growth of *L. sativa* with *B. thuringiensis* and *M. echinospora* at  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  50% and 10 ppm CENC. This supports that the positive response of *L. sativa* with *B. thuringiensis* and *M. echinospora* with  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  at 50%, was enhanced by the CENC for the maximum optimization of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  with preservation of the productivity of soil.

**KEYWORDS:** Soil. Vegetable. Plant probiotics. Carbon nanoparticles.

### 1 INTRODUCTION

The healthy growth of *Lactuca sativa* (lettuce) requires nitrogen fertilizer (NIFE) as a  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , applied in excess causes loss of productivity and environmental pollution (De Grazia et al., 2001; Carranza et al., 2009; Sernaqué & López, 2012), an ecological alternative solution to prevent these problems. It is to reduce  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  to 50% applying in *L. sativa* and then optimize it by seed inoculation with *Bacillus thuringiensis* and *Micromonospora echinospora* genera and endophytic species of

<sup>1</sup> Environmental Microbiology Laboratory, (1\*corresponding author syanez@umich.mx), Chemical Biological Research Institute, Michoacana University of San Nicolas de Hidalgo, Francisco J Mujica s/n, Col Felicitas del Rio, post code 58000, Morelia, Mich, Mexico.



growth-promoting bacteria that transform compounds from seed and root metabolism into phytohormones (Araujo et al., 2012; Chaturvedi et al., 2016; Vurukonda et al., 2018), which can be improved with a crude extract of carbon nanoparticles (CENC), to accelerate and make efficient that *B. thuringiensis* and *M. echinospora* generate phytohormones for enhancing proliferation of radical system to improve the  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  uptake without remaining that deteriorates the soil or the environment (Chung et al., 2011; Chaturvedi et al., 2016; Jordan et al., 2020). In the literature, limited research exists related to inoculate seed with plant growth promoting bacteria and crude or pure carbon nanoparticles, but if the application of carbon nanoparticles with nitrogen fertilization such as reported by Khodakovskaya et al., 2012 in *Nicotiana tabacum* (tobacco) with NIFE and 5-500 ppm multi-walled nanotubes improved by a 55 to 64% plant growth compared to *N. tabacum* with NIFE alone. Therefore, the objective of this work was to analyze the growth of *L. sativa* with *B. thuringiensis* and *M. echinospora* with  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  at 50% and enhanced by CENC.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 COLLECTION AND PREPARATION OF SOIL SAMPLE

A soil collected from a site located at 19° 37' 10" north latitude 101° 16' 41.99" west longitude, with an altitude of 2013 meters above sea level, with a temperate climate of an agricultural area called "Uruapilla" of the municipality was used. of Morelia, Mich., on the highway Morelia-Pátzcuaro, Mexico. Later moved to the Environmental Microbiology Laboratory of the Biological Chemical Research Institute (IIQB) of the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Before starting the experiment, a physicochemical analysis of the soil was carried out according to NOM-021-SEMARNAT-2000. The soil was sieved with a No. 20 mesh, then solarized for 40 h to reduce pests and diseases. *L. sativa* seeds were disinfected with 0.2% NaClO for 5 min, then washed 6 times with sterile tap water; they were disinfected in 70% (v/v) alcohol for 5 min, washed 6 times with sterile tap water.

### 2.2 ORIGIN OF *B. thuringiensis* AND *M. echinospora* FOR *L. sativa*

The strain of *B. thuringiensis* was isolated from the interior of teosinte roots (*Zea mays var. mexicana*) in nutrient agar. The axenic culture of the isolated *B. thuringiensis* was reproduced in nutrient broth for 48h to mix in a 1: 1 ratio with *M. echinospora* that was isolated from alfalfa (*Medicago sativa*) nodules in Congo red mannitol yeast extract agar (Sanchez-Yañez, 2007), the same culture medium to reproduce it before inoculating it into

*L. sativa* seeds. Then, for every 10 *L. sativa* seeds, they were inoculated with 1.0 mL (v/v) of *B. thuringiensis* and/or *M. echinospora* (Sánchez-Yáñez, 2007).

### 2.3 CRUDE EXTRACT OF CARBON NANOPARTICLES FOR *L. sativa* SEEDS WITH *B. thuringiensis* AND *M. echinospora*

Obtaining a CENC was made from the leaves of *Albizia julibrissin*, which were disinfected by immersion with 0.5% NaOCl for a minute and rinsed with sterile deionized H<sub>2</sub>O, then the leaves were cut into pieces. 5 cm and dried at 80°C/12 h, of which 30 g suspended in 300 mL of deionized H<sub>2</sub>O were used, which were heated to 70°C/30 min, then the aqueous extract of *A. julibrissin* was filtered in Whatman No. 1 it was centrifuged at 4000 rpm/10 min, refrigerated at 4°C (Abdelmoteleb et al., 2017). For further characterization of this aqueous extract, field emission scanning electron microscopy (FESEM) (JEOL-JSM5910LV and JEOL-JSM7600F) coupled with an energy dispersive spectrometer (EDS) was used to determine the morphology and chemical composition of the nanostructures in the crude extract of *A. julibrissin*. Then with 1.0 mL of a concentration of 10 ppm of the CENC dispersed in 0.85% NaCl with detergent commercial “La Corona” at 0.5% (p/v). The seeds treated with *B. thuringiensis* and/or *M. echinospora* and the CENC were sown in 100 g of soil in a greenhouse container fed with NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. The experimental design was a randomized block design with 6 treatments, 2 controls and 6 replicates: *L. sativa* irrigated only with water or absolute control (AC); *L. sativa* without *B. thuringiensis* or *M. echinospora* and 100% NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> or relative control (CR); *L. sativa* with *B. thuringiensis* and/or *M. echinospora* NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> enhanced with 10 ppm of a CENC. The response variables used were: phenology: plant height (PH) and root length (RL); and biomass: aerial and root fresh weight (FAW/FRW) and aerial and root dry weight (DAW/DRW) at seedling. The results were validated by ANOVA/Tukey HSD (P<0.01) (Sánchez-Yáñez, 2007).

## 3 RESULTS AND DISCUSSION

Table 1. Physicochemical properties of agricultural for *Lactuca sativa*.

*Parameter	Value	Interpretation
pH	5.67	Moderately acidic
Organic matter (%)	10.44	Very high
Texture (%)	31.8 (clay), 26.92 (sand), 42.0 (silt)	Clayey silt
Total nitrogen ppm	3.20	poor
Phosphorus ppm	21.9	poor
Sodium (Na <sup>+</sup> ) ppm	153.38	High
Potassium (K <sup>+</sup> ) ppm	168.61	High

*Parameter	Value	Interpretation
Microelements (ppm):		
Iron (Fe <sup>2+</sup> )	13.91	High
Zinc (Zn <sup>2+</sup> )	0.37	Low
Copper (Cu <sup>2+</sup> )	0.54	Low
Manganese (Mn <sup>2+</sup> )	4.62	Low <sup>1</sup>

\*NOM-021-SEMARNAT-2000.

Table 1 shows the physicochemical properties of the soil before the experiment, with a low content of total N with 3200 ppm and P with 21.9 ppm, with a poor C:N:P (carbon:nitrogen:phosphorus) ratio due to the on land use that caused salinity and a low available concentration of metals necessary for plant growth in accordance with NOM-021-SEMARNAT-2000.

Table 2. Effect of *Bacillus thuringiensis* and *Micromonospora echinospora* on the phenology of *Lactuca sativa* at seedling stage with NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 50% plus a crude extract of carbon nanoparticles.

Treatment* <i>Lactuca sativa</i>	Plant height (cm)	Radical length (cm)
Absolute control irrigated just water	8.52 <sup>c*</sup>	2.07 <sup>c</sup>
Relative control without <i>B. thuringiensis</i> either <i>M. echinospora</i> NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> 100% no CENC	9.37 <sup>b</sup>	2.17 <sup>c</sup>
T1 = <i>B. thuringiensis</i> NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> 50% 10 ppm CENC	9.51 <sup>b</sup>	2.48 <sup>b</sup>
T2 = <i>M. echinospora</i> NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> plus 10 ppm CENC	9.74 <sup>b</sup>	2.71 <sup>b</sup>
T3 = <i>B. thuringiensis</i> / <i>M. echinospora</i> NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> al 50% plus 10 ppm CENC	10.98 <sup>a</sup>	3.23 <sup>a</sup>

\*n=6; \*\*Values with different letters indicate statistical difference (P>0.01) according to ANOVA/Tukey.

Table 2 shows the seedling phenology of *L. sativa* with *B. thuringiensis* and *M. echinospora* with 50% NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 10 ppm CENC with 10.98 cm of PH and 3.23 cm of RL, both numerical values with statistical difference with the 9.74 cm of PH and 2.71 cm of RL of *L. sativa* with *M. echinospora* and 10 ppm of CENC at 50% of NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; with the 9.51 cm of PH and the 2.48 cm of RL of *L. sativa* with *M. echinospora* and 10 ppm of ECNC at 50% of NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; The results support that *B. thuringiensis* and *M. echinospora* converted organic compounds from metabolism in the roots into phytohormones, improved uptake and optimization of NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> at 50% by including the CENC which enhanced uptake of NIFE (Araujo et al., 2012; Lahiani et al., 2015; Shekhawat et al., 2021). The above is possible because nanomaterials with a size less than 100 nm present a high adsorption capacity, which allows them to improve the retention of NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, then to be released according to the nutritional need of *P. vulgaris*, which through

a dense radical system optimized NIFE to 50% (Safdar et al., 2022). In comparison with the 9.37 cm of PH and the 2.07 cm of RL of *L. sativa* without *B. thuringiensis* /*M. echinospora* with 100%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  without CENC or relative control.

Table 3. Effect of *Bacillus thuringiensis* and *Micromonospora echinospora* on the biomass of *Lactuca sativa* seedling with 50%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  with a crude extract of carbon nanoparticles.

Treatment* <i>Letuca sativa</i>	Fresh weight (g)		Dry weight (g)	
	Aeral	Radical	aereal	Radical
Absolute control irrigated just water	0.086 <sup>d**</sup>	0.022 <sup>d</sup>	0.017 <sup>c</sup>	0.005 <sup>b</sup>
Relative control without <i>B. thuringiensis</i> either <i>M. echinospora</i> $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 100% no CENC	0.114 <sup>c</sup>	0.030 <sup>c</sup>	0.026 <sup>b</sup>	0.007 <sup>b</sup>
T1 = <i>B. thuringiensis</i> $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 50% 10 ppm CENC	0.145 <sup>b</sup>	0.039 <sup>b</sup>	0.036 <sup>a</sup>	0.010 <sup>a</sup>
T2 = <i>M. echinospora</i> $\text{NH}_4\text{NO}_3$ plus 10 ppm CENC	0.140 <sup>b</sup>	0.041 <sup>b</sup>	0.035 <sup>a</sup>	0.010 <sup>a</sup>
T3 = <i>B. thuringiensis</i> / <i>M. echinospora</i> $\text{NH}_4\text{NO}_3$ al 50% plus 10 ppm CENC	0.156 <sup>a</sup>	0.048 <sup>a</sup>	0.039 <sup>a</sup>	0.012 <sup>a</sup>

\*n=6, \*\*Values with different letters indicate statistical difference (P>0.01) according to ANOVA/Tukey.

Table 3 shows the seedling fresh weight of *L. sativa* with *B. thuringiensis* and *M. echinospora*,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  at 50% and 10 ppm CENC where 0.156 g of FAW and 0.048 g of FRW were recorded. The results support that *B. thuringiensis* and *M. echinospora* converted organic compounds from metabolism in the roots into phytohormones, improved uptake by the CENC and optimization of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  at 50% (Tripathi et al., 2011; Compant et al., 2010; Goryluk-Salmonowicz et al., 2018). According to Siddiqui et al., 2015, carbon-based nanomaterials such as CENC can pass through the cell walls of plants; there release NIFE to maintain the healthy growth of *P. vulgaris*. Those numerical values with statistical difference with the 0.144 g of FAW and the 0.030 g of FRW of *L. sativa* without *B. thuringiensis* and *M. echinospora*, with 100%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  without CENC or relative control.

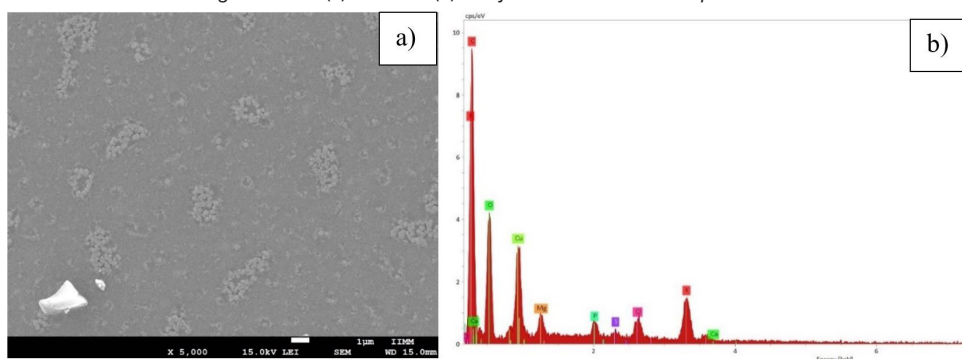
The same way with *L. sativa* and  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  at 50% and 10 ppm of CENC where 0.039 g of ADW and 0.039 g of RDW were recorded, numerical values with statistical difference compared. This supports that it was possible to improve the conversion of organic compounds inside the root of *L. sativa* by *B. thuringiensis* and/or *M. echinospora* with  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  at 50% by CENC for maximum uptake of NIFE without risk of loss of soil productivity or environmental pollution (De Rosa et al., 2010; Kodakvskaya et al., 2012; Vurukonda et al., 2018; Adeleke et al., 2021). The above is supported based on literature, since some nanomaterials such as nanocarbon can adsorb nitrogen from ammonia and release hydrogen ions, which allows plants such as *L. sativa* to absorb more water and nutrients (Hong et al., 2013; Nair et al., 2010). As a result, the absorption and optimization

of NIFE improved and maintained the healthy growth of *L. sativa*, compared to 0.26 g ADW and 0.007 g RDW from *L. sativa* without *B. thuringiensis* and *M. echinospora* with 100%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  and CENC or relative control.

### 3.1 PARTIAL CHARACTERIZATION OF CRUDE EXTRACT OF NANOPARTICLES

In **Figure 1a**, the SEM micrograph shows the morphology and size of the particles present in the CENC of *A. julibrissin*, which are spherical with a size of less than 300 nm, where some tended to be dispersed while others formed agglomerates. In **Figure 1b**, the EDS analysis of the CENC recorded carbon as the main element with 64% and oxygen with 35% atomic, in addition, some traces of chemical elements such as K, Ca, Mg, Cl that could be involved in the composition of *A. julibrissin* were also recorded.

Figure 1. SEM (a) and EDS (b) analysis of ECNC of *Albizia pluriforma*.



## 4 CONCLUSION

The effect of *B. thuringiensis* and *M. echinospora* in *L. sativa* with 50%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  was improved by the CENC, although the mechanism is not precise, it was evident that both the phytohormonal action related to the optimization of the nitrogen fertilizer by both genus and species was positively influenced by the CENC.

## 5 ACKNOWLEDGMENTS

To project 2.7 (2022) supported by CIC-UMSNH, and Phytonutrientes de Mexico BIONUTRA, S. A. de C.V., Maravatío, Mich., México.

## REFERENCES

1. Abdelmoteleb, A., Valdez-Salas, B., Ceceña-Duran, C., Tzintzun-Camacho, O., Gutiérrez-Miceli, F., Grimaldo-Juárez, O., & González-Mendoza, D. (2017). Silver nanoparticles from *Prosopis glandulosa* and their potential application as biocontrol of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Bacillus cereus*. *Chemical Speciation & Bioavailability*, 29(1), 1-5.

2. Adeleke, B. S., Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2021). Genomic analysis of endophytic *Bacillus cereus* T4S and its plant growth-promoting traits. *Plants*, 10(9), 1776.
3. Araujo, F. F., Souza, E. C., Guerreiro, R. T., Guaberto, L. M., & De Araújo, A. S. F. 2012. Diversity and growth-promoting activities of *Bacillus* sp. in maize. *Revista Caatinga*, 25(1), 1-7.
4. Carranza, C., Lancho, O., Miranda, D., & Chaves, B. 2009. Análisis del crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) "Batavia" cultivada en un suelo salino de la Sabana de Bogotá. *Agronomía colombiana*, 27(1), 41-48.
5. Chaturvedi, H., Singh, V., & Gupta, G. (2016). Potential of bacterial endophytes as plant growth promoting factors. *J. Plant Pathol Microbiol*, 7(9), 1-6.
6. Chung, H., Son, Y., Yoon, T. K., Kim, S., & Kim, W. 2011. The effect of multi-walled carbon nanotubes on soil microbial activity. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(4), 569-575.
7. Compant, S., Clément, C., & Sessitsch, A. (2010). Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(5), 669-678.
8. De Grazia, J., Tiftonell, P. A., & Chiesa, Á. 2001. Efecto de la época de siembra, radiación y nutrición nitrogenada sobre el patrón de crecimiento y el rendimiento del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Invest. Agr. Prod. Prot. Veg*, 16(3), 356-365.
9. De Rosa, MC, Monreal, C., Schnitzer, M., Walsh, R. y Sultan, Y. (2010). Nanotecnología en fertilizantes. *Nature nanotechnology*, 5 (2), 91.
10. Goryluk-Salmonowicz, A., Orzeszko-Rywka, A., Piórek, M., Rekosz-Burlaga, H., Otłowska, A., Gozdowski, D., & Błaszczuk, M. (2018). Plant growth promoting bacterial endophytes isolated from Polish herbal plants. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 17(5), 37-46.
11. Hong, J., Peralta-Video, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2013). Nanomaterials in agricultural production: benefits and possible threats? *Sustainable nanotechnology and the environment: advances and achievements*, 73-90.
12. Jordan, J. T., Oates, R. P., Subbiah, S., Payton, P. R., Singh, K. P., Shah, S. A., ... & Cañas-Carrell, J. E. (2020). Carbon nanotubes affect early growth, flowering time and phytohormones in tomato. *Chemosphere*, 256, 127042.
13. Khodakovskaya, M. V., De Silva, K., Biris, A. S., Dervishi, E., & Villagarcia, H. (2012). Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. *ACS nano*, 6(3), 2128-2135.
14. Lahiani, M. H., Chen, J., Irin, F., Poretzky, A. A., Green, M. J., & Khodakovskaya, M. V. (2015). Interaction of carbon nanohorns with plants: uptake and biological effects. *Carbon*, 81, 607-619.
15. Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y., & Kumar, D. S. (2010). Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant science*, 179(3), 154-163.
16. Norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. México: 2013.
17. Safdar, M., Kim, W., Park, S., Gwon, Y., Kim, Y. O., & Kim, J. (2022). Engineering plants with carbon nanotubes: a sustainable agriculture approach. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 1-30.

18. Sánchez-Yáñez JM. Breve Tratado de Microbiología Agrícola, Teoría y Práctica. Ed. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, CIDEM, Secretaria de Desarrollo Agropecuario del Gobierno del Estado de Michoacan. CONSUTENTA, SA de CV Morelia, Mich, México. 2007. ISBN: 978-970-95424-1-7.
19. Sernaqué, F., & López, J. (2012). Evaluación de tres tipos de fertilizantes en *Lactuca sativa* ("lechuga"). *Ciencia y Desarrollo*, 15(2), 57-62.
20. Shekhawat, G. S., Mahawar, L., Rajput, P., Rajput, V. D., Minkina, T., & Singh, R. K. (2021). Role of engineered carbon nanoparticles (CNPs) in promoting growth and metabolism of *Vigna radiata* (L.) Wilczek: Insights into the biochemical and physiological responses. *Plants*, 10(7), 1317.
21. Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Firoz, M., & Al-Khaishany, M. Y. (2015). Role of nanoparticles in plants. *Nanotechnology and plant sciences*, 19-35.
22. Tripathi, S., Sonkar, S. K., & Sarkar, S. (2011). Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by water soluble carbon nanotubes. *Nanoscale*, 3(3), 1176-1181.
23. Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E. (2018). Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International journal of molecular sciences*, 19(4), 952.

## SOBRE EL ORGANIZADOR

El Dr. Juan Ramón Collet-Lacoste es licenciado en ciencias químicas de la Universidad de Buenos Aires (UBA) y PhD de la Universidad de Paris Sud (XI). Su especialidad es la físico química, en la rama de la termodinámica de los procesos irreversibles (TPI), especialmente en el estudio de los procesos cinéticos en los sistemas electroquímicos.

Ha desarrollado varios trabajos relacionados a los mecanismos de reacción y transporte de materia sobre electrodos metálicos, así como el desarrollo de electrodos para celdas de combustible de baja temperatura (fuel cells).

Es un especialista en la técnica de impedancia electroquímica, en la cual ha publicado varios artículos en revistas internacionales.

Desde el punto de vista experimental, ha trabajado en el desarrollo de celdas de combustible con Nps de platino y paladio y de electrolizadores alcalinos de baja temperatura.

Actualmente realiza trabajos sobre la oxidación acuosa del aluminio en gradientes de temperatura. Este trabajo esta relacionado a los elementos combustibles de los reactores experimentales multipropósito para la fabricación de radioisótopos de uso médico.



## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Antiseptics 126, 127

Aquatic environment 98, 99, 100, 101

Au Nanoparticle 87, 96

### B

Bactericidal 126, 127

Bioremediation 98, 99, 100, 101, 105, 106, 125

Biosíntesis extracelular 116

Biosíntesis intracelular 116

### C

Carbon nanoparticles 99, 101, 104, 135, 136, 137, 138, 139, 142

Catálise 29, 62, 63, 64, 66, 67, 81

Cerâmicas funcionais 28

Contaminants 98, 99, 100, 101, 102

Controlled release 126

### E

Efeito Plasmônico 62, 71, 76, 77, 80, 81, 82, 83

Extracto 108, 109, 110, 111, 112, 113, 120

### F

Feixe de elétrons 49, 52, 53, 54, 55, 56, 57

Filtradhussao extracelular 116

Filtrado libre de células 116, 118, 120, 121, 122, 123, 124

Fotocatálise 61, 62, 64, 66, 67, 68, 70, 71, 72, 78, 80, 81, 82, 83

### H

Hidrotermal assistido por micro-ondas 28, 29

Hongo 108, 109, 111, 113, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124

Hybrid film 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 95

## L

Low temperature fuel cells 1, 24

## M

Metais nobres 61, 62, 68, 69, 83

## N

Nanofiber 48, 87, 88, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 101

Nanomateriais 34, 39, 54, 57

Nanoparticles 1, 2, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 38, 39, 40, 48, 58, 59, 62, 84, 85, 87, 88, 93, 94, 95, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 109, 114, 115, 116, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 142

Nanoparticles synthesis 1, 85

Nanopartículas 28, 34, 37, 39, 40, 41, 42, 43, 46, 47, 54, 61, 64, 67, 68, 70, 72, 76, 83, 85, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 116, 117, 118, 119, 121, 122, 123, 124, 125, 134

Nanopartículas Metálicas 39, 40, 54, 61, 62, 68, 83

Nanotechnology 24, 59, 87, 96, 125, 126, 141, 142

Nucleation and growth mechanism 1

## O

Óxido de cério 28, 29, 30, 31, 32, 33, 37, 38

Óxido de grafeno reduzido 49, 50, 51, 52, 53, 54, 56

## P

Plant probiotics 135

Praseodímio 28, 30, 33, 37

Prata 31, 39, 40, 41, 47, 70, 82, 85

Puntos cuánticos 109, 111

## R

Radiação gama 49, 52, 53, 56, 57, 59

Radiação ionizante 49, 52, 53, 54

## S

Self-assembly 87, 88, 91, 95, 96

SERS 39, 40, 42, 46, 47, 48

Soil 99, 135, 136, 137, 138, 139, 141

## T

Tetramethylbenzidine 87, 96

Thermodynamic properties 1

Transition metals 1, 3, 12, 22

## V

Vegetable 135

Virucidal and bioactive compounds 126