UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI

Școala Doctorală a Facultății de Inginerie Chimică și Protectia Mediului "Cristofor Simionescu"

și

UNIVERSITATEA LILLE

Școala Doctorală a Științei Materiei, Radiației și Mediului

HIDROXIZI DUBLU LAMELARI ȘI COMPOZITELE LOR DERIVATE: DESIGN, SINTEZĂ ȘI APLICAȚII SPECIFICE

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Coordonatori:

Prof. dr. ing. Gabriela CARJA

Prof. Rénato FROIDEVAUX

Doctorand: ing. Elena-Florentina GROSU

IAŞI, 2019

UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI R E C T O R A T U L

Către

Vă facem cunoscut că, în ziua de 05/04/2019 la ora 12⁰⁰ în Sala de Consiliu a Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului "Cristofor Simionescu", va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată:

"Hidroxizi dublu lamelari și compozitele lor derivate: design, sinteză și aplicații specifice"

elaborată de inginer chimist ELENA-FLORENTINA GROSU în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat este alcătuită din:

- 1 Teodor Măluțan, Profesor, Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași
- 2 Gabriela Carja, Profesor, Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași
- 3 Renato Froidevaux, Profesor, Universitatea Lille, Franța
- 4 Vanessa Prevot, Director Cercetare, Universitatea Clermont Auvergne, Franța
- 5 Catherine Sarazin, Profesor, Universitatea Picardy Jules Verne, Franța
- 6 Horia Iovu, Profesor, Universitatea Politehnică din București

președinte conducător de doctorat conducător de doctorat in cotutela referent oficial referent oficial referent oficial

Cu această ocazie vă invităm să participați la susținerea publică a tezei de doctorat.



Secretar universitate, lug -Ing.Cristina Nagîţ

Mulțumiri

Un vis pe care îl visezi singur e doar un vis, Un vis pe care îl visezi împreuna este realitate. John Lenon

Acest manuscris prezintă rezultate știintifice obținute in diferite laboratoare de cercetare din țări precum România, Franța și Belgia. Deoarece aceasta reușită nu ar fi fost posibilă fără prezența unor oameni deosebiți, această secțiune le este dedicată coordonatorilor, colegilor, prietenilor și familiei, datorită îndrumarii lor susținute, a ajutorului și încurajarilor în a-mi explora creativitatea, în a obține rezultate relevante și în final în valorificarea lor prin intermediul publicatiilor.

Pentru început, as vrea sa le mulțumesc celor doi coordonatori ai tezei de doctorat: profesor Gabriela Carja de la Universitatea Technică Gheorghe Asachi din Iasi, Roamânia și profesor Renato Froidevaux de la Universitatea Lille, Lille, Franța. Îi sunt foarte recunoscatoare doamnei profesor Gabriela Carja pentru oportunitatea de a lucra sub coordonarea dumneaiei in cadrul unui doctorat. In plus, îi mulțumesc pentru toate sfaturile oferite, răbdare, înțelegere și pentru toata implicarea în formarea mea ca viitor cercetator. Pe langă toate acestea, este important să meționez că recunoasterea stiintifica de care doamna profesor Gabriela Carja se bucura in lumea academica, percum și nenumaratele colaborari cu diferite universitați din lume, au facut ca această lucrare să fie posibilă. Profesorului Renato Froidevaux as vrea să îi mulțumesc pentru toate discuțiile constructive privind activitatea de cercetare. Mai mult, îi sunt recunoscatoare pentru toate eforturile depuse în gasirea de sprijin financiar în timpul stagiilor mele desfașurate la Universitatea Lille.

Le sunt recunoscătoare membrilor juriului: prof. Vanessa Prevot, prof. Catherine Sarazin, prof. Horia Iovu și prof. Teodor Măluțan prentru timpul acordat și reflexiile lor în ceea ce privește conținutul acestei teze de doctorat.

Aș vrea de asemenea să le mulțumesc domnei profesor Pegie Cool și dr. Elena Seftel de la Universitatea Antwerpen, Antwerpen, Belgia, pentru tot ajutorul și suportul oferit in timpul celor șase luni de stagiu Erasmus +.

Un rol foarte important în formarea mea l-au jucat colegii mei Magda și Kalim carora aș vrea sa le fiu recunoscatoare pentru entuziasmul, eleganța și claritatea în explicarea de metode și în oferirea de sfaturi, ce m-au menținut focusată asupra activitați de cercetare.

Mulțumiri deosebite merg spre cei pe care nu am avut niciodata placerea să-i întalnesc, dar care au avut o reala implicare în această muncă, prin caracterizarea materialelor cu ajutorul a diferite instrumente, la care eu nu am avut acces. De asemenea, îi sunt recunoscatoare personalului administrativ al celor trei universități in care am studiat pentru tot sprijinul oferit în ultimii patru ani.

Îmi vin în minte multe momente în care m-am simțit descurajată. Provocările și momentele bune trăite în timpul anilor de doctorat ar fi lipsite de valoare fără prezența

dragilor mele colege și prietene Diana, Mihaela și Simona, care mi-au daruit încredere și multe încurajări în monente cheie ale pregatirii mele.

Mi-ar placea să mulțumesc pentru suport și dragoste familiei mele, și în special surorii mele care este o persoană asa de surprinzătoare. Câteva ganduri zboară de asemenea către acele persoane care din pacate nu vor avea oportunitatea să citească aceste rânduri, dar care au jucat un rol important în modelarea persoanei care sunt astăzi.

În final, aș vrea să dedic această reușită persoanei care a fost alături de mine în ultimii zece ani și care mi-a umplut viața de dragoste și fericire. Iubirea ta ma face o persoană mai bună.

Introducere

Oamenii nu au creat lumea nano. Natura a facut-o! Natura a ajuns aici prima și i-au trebuit 3,8 milioane de ani în a găsi căi inteligente în a utiliza dimensiunea nano a materiei. Acum, dacă noi vom înțelege secretele naturii la nivel nano, le-am putea utiliza pentru a imita toate lucrurile extraordinare pe care natura le-a facut.

Nanotechnologia și nanomaterialele sunt direcții de studiu relativ noi, intensiv abordate în ultimii ani, datorită potentialelor aplicații în biologie, fizică, chimie, medicina și inginerie.

O clasă importantă de materiale nano-structurate este clasa argilelor anionice. General numite și hidroxizi dublu lamelari (LDHs), aceste compozite sunt studiate din secolul XIX. Se remarcă prin faptul ca sunt extrem de versatile, iar formula lor generală permite încorporarea in structura lor a unui numar mare de cationi diferiți. În plus, aceste materiale dețin proprietatea unică numită *memorie structurală*, ce permite fabricarea de materiale nanostructurate auto-asamblate bazate pe LDHs. Datorită proprietăților lor specifice, argilele anionice au fost găsite ca fiind candidați perfecți pentru a fi utilizați în cataliză, biomedicină, electrochimie, fotocataliză, imobilizare de enzime și altele.

Având în vedere caracteristicile compozitelor LDH, obiectivele principale ale acestei lucrări au fost sinteza precursorilor de LDH, cu compoziție chimică diferită și cu un raport diferit între M^{2+}/M^{3+} , pentru utilizarea lor ulterioară în fabricarea de nanoparticule auto-asamblate (NPs) pe materiale de tip LDH. Prin tratamentul termic, au fost fabricati și oxizi micsti derivați. Nanocompozitele rezultate au fost folosite în fotodegradarea de poluanti organici, imobilizarea de enzime și utilizarea in biomedicina.

Manuscrisul tezei are două secțiuni principale: *Studiul de Literatura* și *Rezultatele Originale* ale cercetarii.

Studiul de Literatura este prezentat în capitolul 1. Acest capitol include informații generale despre materialele LDH, precum metode de sinteză, proprietăți specifice, tehnici de caracterizare și rezultate recente obținute în ceea ce privește utilizarea materialelor pe bază de LDH în fotocataliză, biomedicină și imobilizare de enzime.

Cercetarea originală are trei capitole. Capitolul 2 abordează sinteza de materiale noi bazate pe LDHs-uri (ZnAlLDH, ZnGaLDH) fabricate cu scopul fotodegradării poluanților organici. Au fost obtinute nanocompozite de tipul NPs/ZnLDH (NPs = Au, Ag, In, Ga), combinând co-precipitarea cu metode ca reconstrucție sau impregnarea. Toate materialele au fost caracterizate fizico-chimic prin utilizarea analizelor XRD, FTIR, UV-Vis, TG, EDX, XPS. În plus, compozitele au fost utilizate în fotodegradarea a diferite soluții apoase precum: fenol, p-nitrofenol, acetofenonă sau diclofenac. Concluziile capitolului subliniază faptul că materialele sintetizate sunt extrem de eficiente în degradarea sub lumina solara a poluantilor mai sus mentionati, iar introducerea metalelor nobile în structura lor a avut un impact benefic asupra activității lor fotocaltalitice.

În capitolul 3 a fost investigata capacitatea materialelor de tipul ZnAlLDH, Au/ZnAlLDH și a derivaților lor calcinați de a imobiliza enzima Horseradish Peroxidaza (HRP). Materialele rezultate au fost utilizate în reacții enzimatice. S-a studiat, de asemenea, capacitatea HRP de a media eliberarea aurului de la suprafata materialului Au/ZnAlLDH. Mai mult, foto-activarea enzimei HRP și fotoregenerarea NADH prin utilizarea compozitului Au/ZnAlLDH, sub radiatie solara au fost de asemenea abordate.

Rezultatele cercetărilor privind materialele LDH pentru scopuri biomedicale au fost prezentate în Capitolul 4. Formulari de tipul Au/ZnAlLDH, Au/MgAlLDH și Au/MgFeAlLDH au fost sintetizate și caracterizate fizico-chimic. Hibrizii rezultati au fost testați împotriva virusului hepatitei B (HBV).

Ultima parte a fost dedicată concluziilor și perspectivelor generale. În final, au fost prezentate rezultatele activității de cercetare.

Cuprins	rezumat/teză
Introducer	5/ix
Abrevieri si	Simboluri/xi
Lista Figuri	or/xv
Lista Tabele	lor/xxv
PRIMA SEC	IUNE: Studiul de Literatura
1. Hidrox	izi dublu lamelari, nanocomposite pe baza de hidroxizi dublu lamelari si oxizii lor micsti i
1.1. Hic	roxizi dublu lamelari/3
1.1	1. Hidroxizi dublu lamelari - structură/3
1.1	2. Hidroxizi dublu lamelari - proprietăți/7
1.1	3. Hidroxizi dublu lamelari - metode de sinteză/10
1.1	4. Caracterizarea fizico-chimică a hidroxizilor dublu lamelari
1.1	5. Aplicații specifice ale hidroxizilor dublu lamelari în fotocataliză și nanomedicină/32
1.2. Na	ocompozite pe bază de hidroxizi dublu lamelari/38
1.2	1. Nanocompozite de tipul NPs/LDHs - metode de sinteză
1.2	2. Caracterizarea fizico-chimică a formulărilor de tipul NPs/LDHs
1.2	3. Aplicații specifice ale formulărilor NPs/LDHs în fotocataliză și nanomedicină/47
1.3. Ox	zi micsti derivati din hidroxizi dublu lamelari/52
1.3	1. Oxizi micsti derivati din hidroxizi dublu lamelarii -metode de sinteza/52
1.3	2. Caracterizarea fizico-chimică a oxizilor micsti derivati
1.3	3. Aplicații specifice ale oxizilor micsti derivati în fotocataliză și nanomedicină/57
1.4. Bic	compozite bazate pe hidroxizi dublu lamelari/59
1.4	1. Structura si proprietatile enzimelor/59
1.4	2. Metode de imobilizare a enzimelor si suporturi/65
1.4	3. Biocompozite de tipul Enzime-LDH/68
1.5. Co	cluzii/76

A DOUA SECȚIUNE: Rezultate Originale

L	DH, NP/LDH și oxizii lor micsti derivați pentru fotodegradarea solară a poluanților organic 16
2.1	L Generalitati
2.2	Nanoparticule de aur și argint pe ZnAlLDHs cu un raport Me ²⁺ /Me ³⁺ = 2/1; 3/1; 4/1 și ZnGaLDHs cu un raport Me ²⁺ /Me ³⁺ = 2/1 pentru fotodegradarea solară a fenolului, p- nitrofenolului și acetofenonei
	 2.2.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnAlLDHs cu un raport Me²⁺/Me³⁺ de 2/1; 4/1 și ZnGa (2/1) și a oxizilor lor micsti derivați
	 2.2.2. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a Au/ZnAlLDHs cu un raport Me²⁺/Me³⁺ = 2/3 3/1; 4/1 și Ag sau Au/ZnGa (2/1) și oxizii lor amestecați derivați
	2.2.3. Materiale auto-asamblate de tipul Au/ZnAl(2/1)LDH pentru fotodegradarea solara fenolului
	2.2.4. Materiale de tipul Au/ZnAlLDHs cu un raport Me ²⁺ /Me ³⁺ de 2/1; 4/1 pentru fotodegradarea solară (fenol + p-nitrofenol)
	2.2.5. Materialel de tipul Au/ZnAlLDHs cu Me ²⁺ /Me ³⁺ ratio of 2/1; 3/1; 4/1 pentru fotodegradarea solara a acetofenonei
	2.2.6. Materiale de tipul Au sau Ag pe ZnGa(2/1)LDH pentru fotodegradarea solara acetofenonei
2.3	 ZnLDHs cu raportul Me²⁺/Me³⁺ = 2/1; 3/1 și formularile lor de tipul ZnLDHs-C₃N₄ pentru fotodegradarea solare a diclofenacului
	2.3.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnLDHs, a oxizilor lor micsti derivați și a formulărilor de tipul ZnLDHs-C ₃ N₄
	2.3.2. Materiale de tipul ZnLDHs, oxizii lor micsti derivați și formulări de tipul ZnLDHs-C ₃ N pentru fotodegradarea solara a diclofenacului
2.4	I. Nanoparticulele de In sau Ga pe ZnAlLDH şi ZnGaLDH cu un raport Me ²⁺ /Me ³⁺ = 3/1 şi oxizilor lor micsti derivaţi pentru fotodegradarea solara a fenolului şi p-nitrofenolului. 48/
	2.4.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnMeLDHs, a ansamblurilor nanostructura de tipul In sau Ga/ZnMeLDHs și a oxizilor amestecați derivați
	2.4.2. Materiale de tipul ZnAl(3/1)LDH, ZnGa(3/1)LDH, ansamblurile lor nanostructurate c tipul In sau Ga/ZnAl(3/1)LDH și In sau Ga/ZnGaLDH si oxizii lor micsti derivati pentru fotodegradarea solara a p-nitrofenolului53/
	2.4.3. Materiale de tipul ZnAl(3/1)LDH, ansamblurile lor nanostructurate de tipul In sau Ga/ZnAl(3/1)LDH si oxizii lor micsti derivati pentru fotodegradarea solara a amestecului de fenol +p-nitrofenolului
2.5	5. Concluzii/

Cuprins

3.	Sisteme biohibride bazate pe hidroxizi dublu lamelari pentru aplicatii catalitice				
	3.1. Generalitati				
	3.2. Imobilizarea peroxidazei pe materiale de tip hidroxizi dublu lamelari				
	3.2.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a LDHs și a hibriilor HRP-LDHs				
	3.2.2. Determinarea cantității HRP imobilizate pe suporturile LDH și LDH-550 64/187				
	3.2.3. Determinarea parametrilor kinetici pentru HRP libera și bihibrizii de tipul LDHs-HRP. 				
	3.3. Degradarea fenolului și degradarea foto-enzimatică în prezența biohidridului HRP- ZnAl(2/1)LDH				
	3.3.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnAl(2/1)LDH și a HRP-ZnAl(3/1)LDH 67/194				
	3.3.2. Descompunerea fenolului prin fotodegradare, degradare enzimatică și foto-enzimatică în prezența ZnAI (2/1), HRP și ZnAI-HRP				
	3.4. Investigarea sistemelor de tipul HRP - Au/ZnAILDH				
	3.4.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a Au/ZnAlLDH				
	3.4.2. Influența HRP asupra eliberării nanoparticulelor de Au de pe suprafata AuNPs/ZnAl (3/1)				
	3.5. Activarea HRP și regenerarea NADH de la NAD ⁺ prin folosirea Au/ZnAlLDH in prezenta radiatiei luminoase				
	3.5.1. Activarea HRP de către Au/ZnAlLDH în prezența radiatiei luminoase				
	3.5.2. Regenerarea NADH de la NAD $^{+}$ în prezența Au/ZnAlLDH si a radiatiei solare 80/221				
4.	Nanoparticule de aur auto-asamblate pe hidroxizi dublu lamelari pentru inhibarea virusului hepatitei B				
	4.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnAl(2/1)LDH, MgAl(2/1)LDH, MgFeAl(2/1)LDH si a nanocompozitelor autoasamblate de tipul Au/LDHs				
	4.2. Studiul privind inhibarea virusului hepatitei B utilizând materialele de tipul Au/LDHs. 88/236				
	4.3. Concluzii/244				
Соі	Concluzi generale si perspective				
Diseminarea rezultatelor de cercetare					
Bibliografie (selectivă)					

Studiul de Literatura

Știința nu cunoaște nicio țară, pentru că aceasta aparține omenirii și reprezintă torța care luminează lumea.

Louis Pasteur

1. Hidroxizi dublu lamelari, nanocompozite pe baza de hidroxizi dublu lamelari si oxizii lor micsti derivati

Hidroxizii dublu lamelari (LDHs) sunt o clasă de compozite numite și argile anionice, a căror organizare se bazează pe structura brucitului $[Mg(OH)_2]$, în care o parte din cationii bivalenți au fost înlocuiți cu cationi trivalenți [1]. Aceste materiale sunt investigate datorită proprietăților lor specific (capacitate de schimb ionic, character bazic, efect de memorie structural, proprietăți catalitice, proprietăți magnetice, proprietați optice, proprietăți semiconductoare, proprietăți fotocatalitice) și au o importanță tehnologică în cataliză, tehnologie de separare, optică, științe medicale și inginerie de materiale nanocompozite [2].

In ceeea ce priveste obtinerea de materiale de tip LDH, au fost utilizate multe metode pentru sinteza acestor formulari și, în general, în funcție de proprietățile urmarite, pot fi utilizate tehnici de sinteză preferențiale. Factorii care influențează proprietățile catalizatorului obținut sunt pH-ul (influențează cristalinitatea, parametrii celulei) [36], temperatura (influențează stoichiometria cationilor), concentrațiile soluțiilor de saruri (dau raportul între cationi), compozitia atmosferei in care se realizeaza sinteza (controlează natura anionilor intermediari). În figura 1.7 sunt prezentate cele mai importante metode de preparare a argilelor anionice si derivatilor acestora.



Figura 1.7: Principalele metode de obtinere a compozitelor LDH [36].

Coprecipitarea este cea mai utilizată tehnică de sinteză a LDH [37]. Această metodă implică adăugarea unei soluții de bază la amestecuri de saruri, conținând cationii metalici, în general M (II) și M (III) și anionul care va fi încorporat în structura materialului.

În particular, hidroxizii dubli lamelari, cu o omogenitate ridicată, pot fi obținuți prin co-precipitare, la pH constant, atunci când valoarea pH-ului este controlată prin adăugarea lentă si simultană a agenților de precipitare (NaOH și NaHCO₃) și a sarurilor metalice; cu această metodă se pot obține argile anionice cu o bună omogenitate și cu cristale bine definite. Materialele LDH obținute prin această metodă sunt de asemenea bine cristalizate, cu dimensiuni ale particulelor mici, suprafață specifica mare și diametre ridicate ale porilor [8]. pH-ul precipitatului va influența proprietățile structurale, texturate și chimice ale materialului. În general, co-precipitarea implică următoarele etape, exprimate în figura 1.8.



Figura 1.8: Etapele principale ale preparării LDH utilizând metoda coprecipitării.

Pornind de la argilele precursoare, formulari de tipul NPs/LDHs pot fi obtinute prin reconstructie sau impregnare.

Hidroxizii dublu lamelari calcinati la anumite temperaturi au capacitatea de a-și reforma structura lamelara inițială, atunci când oxizii metalici care rezultă după tratamentul termic sunt rehidratați într-o soluție de sare care conține anionul ce va fi încorporat între straturi. Metoda conduce la formarea de nanoparticule dispersate pe structura LDH (NPs/LDH). În figura 1.32 este prezentata metoda reconstructiei.

Prin metoda impregnarii, materialele de tip hidrotalcit pot fi obtinute prin adăugarea directă de materiale LDH la o soluție de sare (vezi figura 1.33 b). De asemenea, diferite nanoparticule impregnate pe suprafața LDH pot fi obținute prin metoda co-precipitării, când precursorii (sărurile metalice si agenntii de precipitare) se adaugă picătură cu picătură într-o soluție conținând nanoparticule dispersate [102, 103] (vezi figura 1.33 a).

Materialele pe bază de LDH pot fi de asemenea precursori excelenți pentru obtinerea de amestecuri formate din oxizi metalici micsti (MMO). Astfel, un material LDH sau hibridul său format după reconstrucție (NPs/LDH), la o temperatură adecvată, poate duce la formarea unei faze omogene, ce conține oxizi metalici și faze spinel. În figura 1.46 sunt prezentate

principalele etape de sinteză a amestecurilor de tipul MMO pornind de la un material NPs/LDH.



Figura 1.32: Sinteza nanocompozitelor de tipul NPs/LDH prin utilizarea proprietatii de memorie structurala a hidroxizilor dublu lamelari.



Figura 1.33: Sinteza de nanocomposite NPs/LDHs utilizand metoda impregnarii.

Cu scopul de a descrie propritatie materialelor de tip LDH obtinute prin metodele enumerate mai sus, acestea au fost caracterizate prin utilizarea de analize specifice. Diferite tehnici, cum ar fi difracția cu raze X (XRD), spectroscopia in infraroșu cu transformata Fourier (FTIR), analiza termogravimetrică (TG), microscopia electronică de scanare (SEM), microscopia cu electroni de transmisie (TEM), spectroscopia cu reze X cu dispersie energetică (EDX) spectroscopia fotoelectronică cu raze X (XPS), spectroscopia UV-Vis (UV-Vis) au fost utilizate pentru caracterizarea structurală, chimică, fizică, morfologică, optică și termică a nanomaterialelor LDH [39]. Necesitatea utilizării acestor tehnici de caracterizare nu este numai de a confirma și de a înțelege structura și proprietățile materialelor analizate, ci și de a găsi o corelație între metoda, structura și proprietățile de sinteză. Obiectivul principal este acela de a găsi starea optimă în proiectarea celor mai bune materiale pentru aplicații particulare.



Figura 1.46: Reprezentarea schematică a obtinerii de formări de tipul MMO [17].

Hidroxizii dublu lamelari si compozitele lor de tipul NPs/LDHs sau MMO pot fi utilizate în numeroase aplicații, cum ar fi livrarea de medicamente, biotehnologie, biomedicină, biologie, cataliză, cosmetica, proiectarea dispozitivelor de tip (bio)senzori, remedierea poluarii și altele. Aceste argile anionice pot fi utilizate în aceste domenii de interes, deoarece posedă avantaje precum stabilitatea fizico-chimică ridicată, toxicitatea scăzută și o bună biocompatibilitate cu diferite tipuri de biomolecule, sunt capabile de autoasamblare și recuperare a structurii în anumite condiții [67].

Rezultate Originale

Vine un momnent în viața ta când trebuie să te oprești din a citi cărțile altora și să-ți scrii propria ta carte.

Albert Einstein

2. LDHs, NPs/LDHs și oxizii lor micști derivați pentru fotodegradarea solară a poluanților organici

2.1. Generalități

Creșterea problemelor de mediu, deficitele energetice și creșterea consumului de apă au determinat ca fotodegradarea diferitelor substanțe precum: compuși aromatici, coloranți, produse farmaceutice și produse de îngrijire personală să devină un subiect important de cercetare în întreaga lume. Fotocatalizatorii sunt în general materiale semiconductoare capabile să genereze reacții de oxidare avansate în condiții de iradiere. Din acest motiv, ele pot fi utilizate în procese precum fotoliza apei, fotodegradarea sau foto-oxidarea compușilor periculoși, fotosinteza artificială și altele. Având în vedere aceste aspecte și toate caracteristicile hidroxizilor dublu lamelari, în acest capitol vor fi prezentate rezultatele originale obținute prin utilizarea compozițiilor LDH, NPs/LDH și MMO în fotodegradarea solară a unor poluanți ca fenolul, p-nitrofenolul, acetofenona și diclofenacul.

Fotodegradarea poate fi utilizată în îndepărtarea poluanților înlocuind in mod promițător metode tradiționale ca adsorbția, filtrarea, ultrafiltrarea și altele. În general, sistemul de fotodegradare implică un catalizator, o sursă de iradiere și un poluant. Când catalizatorul este iradiat de lumină, electronii din banda de valență sunt transferați în banda de conducere a materialului, unde se pot mișca liber. Perechea *electron-goluri* va genera specii redox care participă la fotodegradarea poluantului (vezi ecuațiile 2.1-2.5).

Catalizator +
$$h\nu \rightarrow Catalizator (e_{BC^-} + h_{BV^+})$$
 (2.1)

Catalizator
$$(h_{BV^+}) + H_2 0 \rightarrow Catalizator + 0H^{\bullet} + H^+$$
 (2.2)

$$OH^{\bullet} + Poluant \rightarrow Produse Degradare$$
 (2.3)

Catalizator
$$(e_{BC^{-}}) + 0_2 \rightarrow Catalizator + 0^{\bullet -}$$
 (2.4)

$$0^{\bullet-}$$
 + Poluant \rightarrow Produse Degradare (2.5)

Sursa de iradiere poate fi UV, lumina vizibilă sau lumina solară. Deoarece lumina solară este o sursă de energie gratuită și fără costuri, tendința este de a dezvolta materiale destinate reactiilor initiate de lumina solara sau vizibila.

Ca protocol general utilizat pentru fotodegradarea poluanților enumerați anterior, în 100 ml soluție de poluant cu o concentrație de 25 mg/l, a fost dispersat 0,1 g catalizator (1 g catalizator/ L soluție de poluant). Deoarece echilibrul adsorbție-desorbție este o etapă importantă într-un proces de fotodegradare, în primul rând sistemul a fost agitat în întuneric până când nu a fost observată nici o modificare a profilului UV-Vis a poluantului. După stabilirea echilibrului, primul eșantion a fost prelevat și denumit 0 minute, iar iradiția a fost pornită. Prelevarea s-a efectuat la momente determinate și concentrația poluanților a fost

monitorizată prin măsurători UV-Vis, după ce solidul a fost îndepărtat prin centrifugare. A fost efectuat un test martor, fără catalizator, pentru a verifica dacă compusul organic poate fi degradat numai de către lumină.

Iradierea a fost furnizată de un simulator solar (Model US 800, Unnasol, Germania). Dispozitivul experimental este prezentat în figura 2.1. Aceasta implică lampa solară, un reactor de reciclare a apei și un agitator.

Reacția de fotodegradare a fost monitorizată prin înregistrarea profilurilor UV-Vis, urmărind anumite maxime de absorbție, în funcție de natura poluanților.



Figura 2.1: Dispozitiv experimental utilizat în fotocataliză.

2.2. Nanoparticule de aur și argint pe ZnAlLDHs cu un raport Me²⁺/Me³⁺ = 2/1; 3/1; 4/1 și ZnGaLDHs cu un raport Me²⁺/Me³⁺ = 2/1 pentru fotodegradarea solară a fenolului, p-nitrofenolului și acetofenonei

Hidroxizii dublu lamelari își pot recupera structura lamelară atunci când oxizii metalici formați prin calcinare sunt rehidratați într-o soluție de sare particulară [178]. După procesul de rehidratare, pe suprafața LDH vor fi obținute nanoparticule auto-asamblate. Având în vedere acest lucru, în această secțiune vor fi pregătite materiale LDH prin metoda co-precipitare, iar prin reconstrucție vor fi pregătite nanocompozite de tipul Au/LDH și Ag/LDH.

2.2.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnAlLDHs cu un raport Me²⁺/Me³⁺ de 2/1; 3/1; 4/1 și ZnGa (2/1) și a oxizilor lor micști derivați.

Sinteza

Compozitele ZnAlLDHs cu raport cationic de 2, 3 și 4 au fost preparate prin metoda co-precipitării, la un pH constant de 9 [3]. Protocolul standard implică în primul rând prepararea a trei soluții care conțin sărurile precursorilor. Soluțiile de sare au conținut 0,1 sau

0,15 sau 0,2 moli de Zn(NO₃)₂ * 6H₂O (Sigma Aldrich,> 99%) și 0,05 moli de Al(NO₃)₃ * 9H₂O (Sigma Aldrich,> 99%). Soluția de precipitare a fost obținută din Na₂CO₃ și NaOH, iar concentrația finală a fost 1M. Precipitarea a fost efectuată picătură cu picătură, sub agitare puternică, la temperatura de 45 °C, menținând pH-ul la valoarea 9. Etapa de maturare a avut o durată de 24 h și temperatura a fost de aproximativ 45 °C. După maturare, produsul a fost spălat de mai multe ori cu apă bidistilată și uscat la 60 °C. Probele au fost ZnAl (2/1), ZnAl (3/1) și ZnAl (4/1). Oxizii micști derivați au fost obținuți prin tratamentul termic la 750 °C, timp de 12 ore, când diferite cantități de ZnLDH proaspăt au fost supuse acestui proces. Compusul ZnGa (2/1) a fost obținut urmând aceiași pași ca în cazul ZnAlLDH, dar pentru acest material s-a preparat soluția de săruri 0,04 moli de Zn (NO₃)₂ * 6H₂O și 0,02 moli de Ga (NO₃)₃ * xH₂O (Sigma Aldrich, \geq 99%).

Caracterizarea fizico-chimică

Spectrele XRD ale probei proaspete arată că structura de argilă a fost obținută și după calcinare s-au format MMO (vezi figura 2.2). ZnLDHs-urile au o cristalinitate ridicată cu picuri de difracție intense, la $2\Theta = 11,7, 23,6, 34,7, 39,4$ și 60,4 și pot fi atribuite planurilor de difracție bazale (003), (006), (009) și non-bazale (015), (018), (110). Utilizând unghiul de difracție atribuit planului (003), distanța dintre straturi a fost calculată, iar valoarea determinata este de 0,75, subliniind faptul că anionul intermediar este anionul carbonat [3]. După calcinare, se poate observa că structura lamelară este distrusă și se obține un amestec omeogen între faza de tip ZnO și spinel [124].



ZnAl₂O₄, #ZnO.

Profilurile UV-Vis ale materialelor LDHs proaspete și calcinate sunt prezentate în figura 2.3. Probele necalcinate nu au picuri de absorbție în regiunea vizibilă a spectrului. După tratamentul termic la 750 °C, profilurile de absorbție suferă o modificare semnificativă, cu creșterea capacității de absorbție pentru lungimi de undă din zona albastră a spectrului. Prezența a două picuri de absorbție în jurul valorilor de 200 și 270 nm, este atribuită fazei spinel, iar semnalul ce apare la lungimea de undă de 360 nm este atribuită ZnO [179].



Figura 2.3: Spectrele UV-Vis pentru materialele ZnAlLDHs și MMO ai acestora.

Pe lângă analizele prezentate mai sus, materialele au fost de asemenea caracterizate prin tehnica TG și FTIR.

2.2.2. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a Au/ZnAlLDHs cu un raport Me²⁺/Me³⁺ = 2/1; 3/1; 4/1 și Ag sau Au/ZnGa (2/1) și oxizii lor amestecați derivați.

a) Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a materialelor de tipul Au/ZnAl(2/1)

Sinteză

Nanomaterialele conținând AuNPs susținute pe argile anionice au fost obținute prin calea de reconstrucție [3,180] prin utilizarea matricei ZnAl(2/1). Trei probe conținând 1,2 g de ZnAl(2/1) au fost calcinate la 500 °C timp de 8 ore. După calcinare, doua dintre cele trei pulberile au fost adăugate în 250 mL soluție apoasă conținând 0,1 g sau 0,3 g acetat de aur (> 99,9%, AlfaAesar). Amestecurile s-au agitat la temperatura camerei timp de 3 ore, după care

au fost centrifugate și uscate la 80 °C. Probele au fost notate ca Au / ZnAl(2/1) -R-1 (0,1 g acetat de aur) și Au/ZnAl(2/1)-R-2 (0,3 g acetat de aur).

Separat, cea de-a treia argilă calcinată a fost adăugată de asemenea în 250 mL soluție apoasă conținând 0,1 g de acetat de Au (III); dispersia a fost agitată sub lumina solară simulată (Model US 800, Unnasol, Germania) timp de 20 de minute. Produsul a fost numit ca Au/ZnAl(2/1)R-3-Lg. Pentru comparație, s-au amestecat 0,24 g de ZnAl(2/1) proaspăt cu o soluție apoasă de 250 mL ce a conținut 0,02 g de acetat de Au (III). Dispersia a fost amestecată sub iradiație solară timp de 20 de minute. Produsul uscat la 16 °C a fost denumit Au/ZnAl(2/1)-Lg.

Două alte probe au fost obținute prin impregnare [180]. Una dintre probe a fost sintetizată prin impregnare HAuCl₄ (> 99,9%, AlfaAesar). Pentru aceasta s-au adăugat 0,42 g ZnAl(2/1) în 10 mL de soluție apoasă conținând 0,044 g HAuCI₄. Dispersia a fost amestecată timp de 12 ore la temperatura camerei, urmată de separarea solidului si spălarea cu apă deionizată. În final, solidul a fost uscat sub vid la 16 ° C timp de 24 ore. Materialul obtinut a fost apoi pus în 10 mL de toluen deshidratat (> 99,5%, Wako Pure Chemical) și la acest amestec, s-au adăugat 0,0126 g de NaBH₄. Dispersia rezultată a fost amestecată timp de 10 minute, după care s-au adăugat 3 mL etanol (> 99,5%, Wako Pure Chemical). După 6 ore de agitare la temperatura camerei, precipitatul a fost separat, spălat cu o soluție de apă deionizată:etanol (1:1% în volum) și uscat sub vid la 16 ° C timp de 24 ore. Proba a fost notată ca Au/ZnAl(2/1)-I-NaBH₄. Pentru cel de-al doilea hibrid impregnat, s-au adăugat 0,3 g ZnAl(2/1) la 10 ml apă deionizată și s-au sonicat timp de 10 minute. În această dispersie s-a adăugat soluția apoasă de HAuCl₄ * 4H₂O (0,031 g în 20 ml apă), L-lizină (0,036 g în 4 ml) (98%, Sigma-Aldrich Chemie) și NaBH₄ (0,026 g în 2 ml). pH-ul a fost ajustat la o valoare de 9,5 prin adăugarea de HCI diluat (Wako Pure Chemical). După 1 h de amestecare, solutia a fost lăsată fără agitare timp de 24 de ore. În final, solidul a fost filtrat, spălat cu o soluție de apă deionizată:etanol (1:1%, volum) și uscat la 60 °C timp de 12 ore. Materialul a fost numit Au/ZnAl(2/1)-I-Ly [181].

Caracterizarea fizico-chimică

Spectrele XRD ale compozitelor ZnAl(2/1), Au/ZnAl(2/1)-R-1, Au/ZnAl(2/1)-R-2, Au/ZnAl-Lg, Au/ZnAl(2/1)-I-NaBH4, Au/ZnAl(2/1)-I-Ly sunt prezentate în figura 2.6. Analiza XRD prezintă picuri caracteristice pentru material de tip hidrotalcit atribuite planurilor de difracție (003), (006), (101), (009), (104), (015), (107), (018). (100). Pentru Au/ZnAl(2/1)-R-1 și Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg semnale caracteristice pentru ZnO la $2\Theta = 31,9^{\circ}$ și 36,4 ° (marcate cu #) sunt observate, sugerând că structura stratificată a materialului inițial nu a fost recuperată în totalitate [22,179].

Pentru materialele Au/ZnAl(2/1)-R-2, Au/ZnAl (2/1)-R-3-Lg, la temperatura de 2 Θ = 38,3 ° apare un vârf care a fost atribuit cristalelor de aur metalic [182]. Proprietățile optice ale compozitelor LDHs de tipul Au/ZnAl (2/1) sunt prezentate în figura 2.7. Pentru spectrele Au/ZnAl(2/1)-R-1, Au/ZnAl(2/1)-R-2 și Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, picurile de absorbție la 539



Figura 2.6: Spectre XRD pentru: a) ZnAl(2/1), b) Au/ZnAl(2/1)-R-1, c) Au/ZnAl(2/1)-Rec-2, d) Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, e) Au/ZnAl(2/1)-I-NaBH₄, and f) Au/ZnAl(2/1)-I-Ly.



Figura 2.7: Spectre UV-Vis pentru: a) ZnAl(2/1), b) Au/ZnAl(2/1)-R-1, c) Au/ZnAl(2/1)-R-2, d) Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, e) Au/ZnAl(2/1)-I-NaBH₄, f) Au/ZnAl(2/1)-I-Ly.

nm, 540 nm și 547 nm apar datorită fenomenului de rezonanței plasmonului de suprafață (SPR) a nanoparticulelor de Au. Pentru acestea valori ale SPR au fost raportate AuNPs dispersate pe matricea LDH cu particule de mărime de 2.9-3.4 nm [178]. Reconstrucția sub lumină solară a indus un shift spre zona roșie spectrului solar, pentru Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, comparativ cu Au/ZnAl(2/1)-R-1.

Spectrele XANES pentru nanocompozitele de tipul Au/ZnAl(2/1) sunt prezentate în figura 2.8. Comparativ, sunt date și spectrele pentru Au₂O₃ și pentru o foiță de Au metalic. Se poate observa că profilele XANES ale nanocompozitelor Au/ZnAl(2/1)-R-1 (a) și Au/ZnAl (2/1)-Rec-2 (b) sunt similare cu spectrul Au₂O₃, în timp ce pentru proba impregnată, Au/ZnAl (2/1)-I-Ly (e), este mai asemănător cu spectrul (f) atribuit foliei metalice de Au. Cu toate acestea, pentru spectrele Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg (c) și Au/ZnAl(2/1)-I-NaBH₄ (d), spectrul XANES apare ca o combinatie intre curbele g și f, sugerând că în aceste două materiale aurul se gaseste ca un amestec de Au⁰ și Au³⁺. Prezența Au⁰ în probele impregnate poate fi o consecință a utilizării NaBH₄ și / sau lizinei, în timp ce în cazul probei Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg reconstruită, această prezență poate fi atribuită efectului luminii solare.



Figura 2.8: Spectre XANES normalizate pentru: a) Au/ZnAl(2/1)-R-1, b) Au/ZnAl(2/1)-R-2, c) Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, d) Au/ZnAl(2/1)-I-NaBH4, e) Au/ZnAl(2/1)-I-Ly, f) foiță de Au metalic și g) Au₂O₃.

Imaginile TEM sunt prezentate în figura 2.11. Se poate observa că AuNPs au o formă sferică și sunt bine dispersate pe ZnAl(2/1)LDH. Probele Au/ZnAl(2/1)-R-1 și Au/ZnAl(2/1)-R-2 au dimensiune predominantă de 4,7 nm și, respectiv, 4,9 nm. Pentru proba reconstruită sub lampa solară, Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, a fost observată o creștere a diametrului la 8,5 nm.

Rezultate Originale



Figura 2.11: Imagini TEM pentru: a) Au/ZnAl(2/1)-R-1, b) Au/ZnAl(2/1)-R-2, c) Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, d) Au/ZnAl(2/1)-I-NaBH₄, si e) Au/ZnAl(2/1)-I-Ly.

Pe lângă analizele prezentae mai sus, materialele obținute în această secțiune au fost de asemenea caracterizate prin utilizarea tehnicii EXAFS.

b) Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a Au/ZnAlLDHs cu un raport Me²⁺/Me³⁺ = 2/1; 3/1; 4/1

Sinteza

Nanomaterialele care conțin AuNPs susținute pe ZnAlLDHs au fost obținute prin calea de reconstrucție [3] utilizând hidroxizi dubli stratificați ZnAl(2/1), ZnAl(3/1) și ZnAl(4/1). Materialele de tip Au/ZnAlLDH au fost sintetizate după cum urmează: cantități diferite de ZnAlLDH au fost calcinate la 470 °C; acestea au fost adăugate în 200 mL soluție de apă deionizată cu cantități diferite de acetat de Au (III); astfel, pulberile rezultate după calcinarea a 2,1 g, 2,1 g, 1 g și 1 g ZnAl (2/1) s-au adăugat în 200 mL de soluții de apă deionizată conținând 0,1 g, 0,2 g, 0,12 g și 0,35 g Au (III) acetat. Dupa separare și uscare, materialele rezultate au fost denumite astfel: Au/Zn2Al(2.1_0.1), Au/Zn2Al(2.1_0.2), Au/Zn2Al(1_0.12)-Lg, Au/Zn2Al(1_0.35), Au/Zn4Al(2.1_0.1), Au/Zn4Al(2.1_0.2), Au/Zn4Al(1_0.12)-Lg, Au/Zn4Al(1_0.35). Materialele care au în denumirea lor grupul de litere Lg au fost reconstruite sub lampa solară. Aceste probe au fost de asemenea calcinate la 750 °C timp de 12 h.

Caracterizarea fizico-chimică

Analiza FTIR a fost efectuată pentru a confirma recuperarea structurii inițiale a materialului în urma procesului de reconstrucție în prezența acetatului de aur. Așa cum se poate observa din figura 2.12, profilurile spectrelor Au/ZnAlLDHs sunt caracteristice materialelor de hidrotalcit, subliniind faptul că structura lamelară a materialelor a fost recuperată în timpul procesului de rehidratare. Pe lângă benzile de absorbție tipice, în jur de 3450 cm⁻¹, 1630 cm⁻¹, 1502 cm⁻¹ și 1360 cm⁻¹ ce sunt atribuite benzilor de vibrație ale grupărilor hidroxil (O-H) din lamela LDH, vibrațiile de îndoire ale moleculelor de apă interlamelare (HOH) și vibrațiile caracteristice anionului carbonat [50], s-au înregistrat prezența semnalelor care au fost atribuite anionului acetat. Astfel, două benzi de absorbție la 1564 cm⁻¹ și 1410 cm⁻¹ pot fi observate și atribuite modurilor de întindere antisimetrică și simetrică a anionilor COO⁻ [186]. Prezența carbonat subliniază afinitatea ridicată a acestor compozite pentru acest ion.

Proprietățile optice au fost investigate prin spectroscopia UV-Vis. Pentru toate grupurile de materiale, prezența aurului în structura nanocompozitelor a fost identificată prin asocierea acestuia cu picurile de absorbție ce apar în intervalul 526-567 nm. Creșterea cantității de aur și, de asemenea, creșterea Me²⁺/Me³⁺ de la 2 la 3 și 4, induce o deplasare a a picurilor caracteristice AuNPs spre zona roșie a spectrului. Același fenomen s-a înregistrat și pentru probele calcinate, subliniind faptul că dimensiunile AuNPs au crescut sau au format agregate pe rețeaua ZnO [187,188].



Figura 2.12: Spectre FTIR pentru a) Au/Zn2Al(2.1_0.1), b) Au/Zn2Al(2.1_0.2), c) Au/Zn2Al(1_0.12)-Lg d) Au/Zn4Al(1_0.35) e) Au/Zn4Al(2.1_0.1), f) Au/Zn4Al(1_0.12), g) Au/Zn4Al(2.1_0.12)-Lg si h) Au/Zn4Al(1_0.35).

c) Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a nanocompozitelor Ag sau Au/ZnGa (2/1)

Sinteză

Nanoparticule de Au și Ag dispersate pe ZnGa(2/1)LDH au fost obținuținute prin metoda reconstrucției [3]. Astfel, 2,5 g ZnGa (2/1) calcinate la 500 ° C s-au adăugat la 150 mL de soluție de apă deionizată conținând 0,3 g acetat de Au (III). Pentru fabricarea de AgNP dispersate pe LDH, 1,5 g de ZnGa(2/1)LDH calcinate la 500 ° C, s-au adăugat la 150 mL

soluție apoasă deionizată conținând 0,35 sulfat de argint (> 99,99 Sigma Aldrich). După separare și uscare, solidele rezultate au fost denumite ca Au/ZnGa(2/1) și Ag/ZnGa(2/1).

Caracterizarea fizico-chimică

Materialele obtinute prin reconstrucție, Au/ZnGa(2/1) și Ag/ZnGa(2/1), prezintă o bună cristalitate (figura 2.15) cu vârfurile de difracție ce apar la $2\Theta = 11,7^{\circ}, 23,5^{\circ}, 33,9^{\circ}, 34,7^{\circ}, 37,3^{\circ}, 39,3^{\circ}, 44,1^{\circ}, 46,9^{\circ}, 53,1^{\circ}, 56,5^{\circ}, 60,2^{\circ}, 61,7^{\circ}, 65,6^{\circ}, și sunt atribuite planurilor (003), (006), (101), (009), (104), (015), (107), (018), (1010), (1101), (110), (113), (116) [189].$



Figura 2.15: Spectre XRD pentru a) Ag/ZnGa(2/1) si b) Au/ZnGa(2/1); (&) - β -Ga₂O₃, (^) α -GaO(OH), (*) ZnO.

Spectrele UV-Vis obținute sunt prezentate în figura 2.16 și prezintă benzi de absorbție centrate în jur de 534 nm pentru Au/ZnGa (2/1) și o bandă de absorbție largă pentru Ag/ZnGa (2/1) centrată în jur de 450 nm, demonstrând existența AuNPs și AgNPs pe suprafața LDH [178,190].

Natura anionilor din spațiul intermediar a fost evaluată prin măsurători FTIR. Pentru ambele materiale de tipul NPs/ZnGa(2/1), spectrele (figura 2.17) sunt tipice pentru compozitele LDH, cu prezența unei benzi în jurul 3450 cm⁻¹ atribuită vibrației de întindere OH, urmată de vârful caracteristic moleculelor de apa interlamelare, la 1630 cm⁻¹ și alte două benzi de vibrație, la 1360 cm⁻¹ și 1500 cm⁻¹, atribuite modurilor de întindere simetrică și antisimetrică a anionului carbonat. Între 800-400 cm⁻¹ pot fi observate semnalele caracteristice pentru M-O-M și M-O [50].



Figura 2.16: Spectre UV-Vis pentru a) Au/ZnGa(2/1) and b) Ag/ZnGa(2/1).



2.2.3. Materiale auto-asamblate de tipul Au/ZnAl(2/1)LDH pentru fotodegradarea solară a fenolului

In această sectiune o solutie apoasă de fenol, 25 mg/L, a fost fotodegradată sub lumină solară și în prezenta materialelor prezentate în subcapitolul 2.2.2. -a). Pentru toți catalizatorii, absorbanța caracteristică fenolului, la 270 nm, scade în timp, materialul cel mai putin eficient fiind ZnAl(2/1), cu un procent de fotodegradare a fenolului de 7,6%. Pentru restul nanomaterialelor, influența prezenței AuNPs pe suprafața LDH poate fi stabilită prin performanța fotocatalitică ridicată a acestor materiale. Spectrele de absorbție UV-Vis arată că fenolul este degradat prin două mecanisme majore. Primul mecanism implică oxidarea directă a inelului aromatic, urmată de deschiderea inelului, când se formează o-benzochinonă și acid muconic. Al doilea mecanism are loc prin scindarea indirecta a inelului benzenic, când se formează compusi intermediari ca p-benzochinonă sau hidrochinonă [34]. Astfel, probele reconstruite Au/ZnA(2/1)-R-1, Au/ZnAl(2/1)-R-2, Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg degradeză poluantul pe calea intermediarilor fenolici hidroxilati, cu formarea unui compus de degradare identificat ca fiind p-benzochinonă, care are un maxim de absorbție la 248 nm. Pe de altă parte, probele ZnAl(2/1) și cele impregnate Au/ZnAl (2/1) -I-NaBH4, Au/ZnAl (2/1) -I-Ly au arătat că degradarea fenolului se realizează prin combinarea celor două mecanisme evidențiate mai jos (figura 2.20 și 2.21).



Figura 2.20: Mecanismul de fotodegradare al fenolului în prezența luminii solare și a probelor reconstruite de tipul Au/ZnAl(2/1).

Evaluarea performanței catalitice arată că proba reconstruită sub lumina solară, Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, este cea mai eficientă, cu o degradare totală a poluantului în 160 minute de iradiere solară. Restul compozitelor reconstruite au prezentat un răspuns fotocatalitic mai mic comparativ cu Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg. Mai mult, în eșantioanele cu același conținut de ZnAl(2/1) și aur: Au/ZnAl(2/1)-R-1, Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg și Au/ZnAl(2/1)-Lg, nanoparticulele de Au au stări de oxidare diferite, dupa cum urmează: amestec de aur în stare metalică și aur oxid pentru Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg și Au/ZnAl (2/1) -I-NaBH₄, Au³⁺ pentru Au/ZnAl(2/1)-R-1, Au/ZnAl(2/1)-Lg și Au⁰ pentru Au/ZnAl (2/1) -I-Ly

Rezultatele demonstrează că nanoparticulele de Au în care aurul are două stări de oxidare (amestec între Au⁰ și Au³⁺) au o influență benefică asupra performanței fotocatalitice. În plus, creșterea conținutului de aur determină o scădere a activității materialelor. Acest comportament a fost raportat anterior [191]. De asemenea, impregnarea LDH cu Au conduce la crearea de materiale mai puțin eficiente, cu numai 23% (Au/ZnAl(2/1)-I-Ly) și 26%



Figura 2.21: Mecanismul de fotodegradare al fenolului în prezența luminii solare și a probelor impregnate de tipul Au/ZnAl(2/1).

(Au/ ZnAl(2/1)-Lg) procente în degradarea fenolului. Pentru cel mai bun catalizator, Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, au fost testate stabilitatea și capacitatea acestuia de a-și menține performanțele catalitice. În urma a șase teste consecutive, maerialul reține 81 % din performanța sa inițială.

2.2.4. Materiale de tipul Au/ZnAlLDHs cu un raport Me²⁺/Me³⁺ de 2/1; 4/1 pentru fotodegradarea solară (fenol + p-nitrofenol)

În această secțiune o soluție apoasă de fenol + p-nitrofenol, raport 1:1, cu o concentrație totală de 50 mg/L, a fost fotodegradată sub lumină solară și în prezența unor materialele prezentate în subcapitolul 2.2.2. -b).

În timpul echilibrului adsorbție-desorbție s-a observat că p-nitrofenolul a fost redus la anionul p-nitrofenolat și picul inițial de absorbție a fost deplasat de la 317 nm la 400 nm. Astfel, studiile fotocatalitice au fost investigate având în vedere absorbanța măsurată la lungimea de undă de 400 nm. În întuneric, după reducerea p-nitrofenolului, s-a observat o absorbție foarte mică a poluanților. În cazul testelor *blank*, nu a fost observată nicio fotodegradare. Astfel, fotodegradarea a fost monitorizată urmarind cele două vârfuri de la 270 nm și 400 nm, ce corespund anionului fenol și p-nitrofenolat. Când lampa de iradiere solară este pornită, începe fotodegradarea și picurile de absorbție la 270 nm și 400 nm scad cu timpul de reacție. Cu toate acestea, pentru probele proaspete, ZnAl (2/1) și ZnAl (4/1) s-a

observat mai întâi o creștere a absorbției la 400 nm și după ce a atins un maxim, scade încet. Creșterea poate fi asociată cu formarea lentă de anioni p-nitrofenolat, în timp ce scăderea poate fi atribuită fotodegradării lor. Mai mult, aceste două materiale prezintă cel mai mic răspuns fotocatalitic, cu fotodegradarea a mai puțin de 10% din concentrația inițială a poluaților luați în studiu.

Performanța lor fotocatalitică a materialelor studiate este prezentată în figura 2.25. Se poate observa că după 360 de minute de iradiere, catalizatorul Au/Zn4Al(10_12)-Lg-750 degradează 99% din concentrația inițială de ion p-nitrofenolat și 96% din concentrația inițială a fenolului.



Figura 2.25: Performanța fotocatalitică la 270 nm și 400 pentru a) ZnAl(2/1), b) ZnAl(4/1), c) Au/Zn2Al(1_0.12)-Lg, d) Au/Zn4Al(1_0.12)-Lg, e) Au/Zn2Al(1_0.12)-Lg-750, f) Au/Zn4Al(1_0.12)-Lg-750.

Rezultatele demonstrează că activitatea fotocatalitică a probelor crește în această ordine: probele LDH proaspete < probele reconstituite < probe calcinate. Acest comportament demonstrează că depunerea de Au pe materialele LDH îmbunătățește eficiența catalitică a sistemelor de tipul argilelor anionice. În plus, creșterea conținutului de Zn în structura LDHs mărește activitatea fotocatalitică a acestuia. Pentru același conținut de aur, proba solară reconstituită Au/Zn2Al(1_0.12)-Lg prezintă o creștere a activității cu aproximativ 50% comparativ cu Au/Zn4Al(1_0.12)-Lg. După tratamentul termic, a fost înregistrată o creștere semnificativă a activității (mai mult de 50%) pentru Au/Zn2Al(1_0.12) -Lg-750, comparativ cu proba necalcinată.

2.2.5. Materiale de tipul Au/ZnAlLDHs cu raport Me²⁺/Me³⁺ de 2/1; 3/1; 4/1 pentru fotodegradarea solară a acetofenonei

În această secțiune o soluție apoasă de acetofenonă, cu o concentrație inițială de 25 mg/L, a fost fotodegradată sub lumina solară și în prezența unor materiale prezentate în subcapitolul 2.2.2. –b).

Pentru toți catalizatorii, s-a înregistrat o scădere a absorbției la 245 nm în timp, caracteristică acetofenonei. Pentru testul martor, efectuat fără adăugarea de catalizatori, rezultatele au arătat un randament de fotodegradare de 51%. Pentru unii catalizatori, cum ar fi ZnAl(2/1), ZnAl(3/1), ZnAl(4/1), Au/Zn2Al(2.1_0.1), Au/Zn2Al a fost observată o creștere a vârfului la 245 nm și a fost atribuită efectului hipercromic al acestor materiale asupra absorbției luminoase a acetofenonei. Probele Au/Zn2AlLDHs prezintă o creștere mică (8-26%) a performanței fotocatalitice, comparativ cu testul martor. Cu toate acestea, proba reconstituită solar, Au/Zn2Al(1_0.12) -Lg, este capabilă să îndepărteze 99% acetofenonă în 130 de minute. Creșterea conținutului de aur nu pare să aibă un efect benefic pentru creșterea performanței catalizatorilor. În acest caz, depunerea excesivă de AuNP-uri ar putea conduce la ecranarea centrilor activi ai nanoparticulelor pe suprafața LDH. Acest efect a fost observat anterior în cazul TiO₂ dopat cu Bi [191] sau g-C₃N₄ dopat cu Ag₃PO₄ [199].

Creșterea conținutului de Zn^{2+} induce o creștere a performanței de la 59% pentru ZnAl(2/1) la 70% pentru ZnAl(3/1) și 73% pentru ZnAl(4/1). Nanoparticulele de Au autoasamblate pe ZnAl(4/1)LDH au cea mai bună performanță în fotodegradarea solară a acetofenonei, cu o degradare totală a poluantului. Diferența dintre activitatea fotocatalitică dintre proba reconstruită pe ZnAl(2/1) și ZnAl(4/1) poate fi explicată în primul rând prin conținutul de Zn²⁺ în LDH, dar și prin efectul SPR care este mai intens pentru Au/ZnAl(4/1) LDH. Cea mai rapidă degradare a fost obținută cu proba Au/ZnAl(1_0.12) -Lg. Aceste rezultate arată că reconstrucția efectuată în condiții de iradiere solară îmbunătățește răspunsul fotocatalitic al materialului. Prezența Au pe suprafața materialului ZnAl(3/1) crește activitatea acestuia de la 70% (pentru ZnAl(3/1)) la 85% pentru Au/ZnAl(3/1).

2.2.6. Materiale de tipul Au sau Ag pe ZnGa(2/1)LDH pentru fotodegradarea solară a acetofenonei

Activitatea fotocatalitică a materialelor ZnGa(3/1)LDH, Au/ZnAl(3/1) și Ag/ZnAl(3/1) (sinteza și caracterizarea lor a fost prezentată în capitolul 2.2.2-c) a fost testată pentru fotodegradarea solară de acetofenonă.

În figura 2.29 sunt prezentate profilurile de absorbtie UV-Vis pentru fotodegradarea acetofenonei (a-c) și evoluția absorbției normalizate la 450 nm (d). După echilibrul de adsorbție-desorbție, a fost observată o creștere a absorbanței la 245 nm. Acest comportament poate fi atribuit efectului hipercromic al materialelor LDH asupra capacității de absorbție a luminii UV de către acetofenonă. Cu toate acestea, după ce lampa solară este pornită, pentru

toți catalizatorii s-a observat o scădere a absorbției. Așa cum era de așteptat, argila ZnGa(2/1) are cea mai mică performanță, cu o degradare de 58% a acetofenonei în 130 de minute (vezi figura 2.29 a și d-1). Prezența nanoparticulelor de Ag și Au pe ZnGaLDH induce o creștere a activității în fotodegradarea acetofenonei de la 58% (ZnGa(3/1) la 87% pentru Ag/ZnGa



Figura 2.29: Spectre UV-Vis ce reprezintă profilele de fotodegradare a acetofenonei pentru a) ZnGa(2/1), b) Au/ZnGa(2/1) și c) Ag/ZnGa(2/1) și d) evoluția absorbanței normalizată pentru 1) ZnGa(2/1), 2) Ag/ZnGa(2/1) și 3) Au/ZnGa(2/1).

(2/1)LDH și 98% pentru Au/ZnGa(2/1)LDH. Diferența de performanță dintre Ag/LDH și Au/LDH poate fi explicată prin efectul SPR mai puternic în cazul reconstrucției materialului ZnGa(3/1) în prezența acetatului de Au (vezi figura 2.16).

Conform datelor deja publicate, mecanismul de degradare al acetofenonei poate implica formarea de compuşi ca acetilfenol, feniletanol, fenol și toluen [166,167], ce pot fi oxidați în continuare rezultând apă și dioxid de carbon.

2.3. ZnLDHs cu raportul $Me^{2+}/Me^{3+} = 2/1$; 3/1 și formularile lor de tipul ZnLDHs-C₃N₄ pentru fotodegradarea solară a diclofenacului.

Grafenul (g-C₃N₄) este un semiconductor polimeric, lipsit de metale în structura sa, cu proprietăți fotocatalitice, stabilitate termică și chimică ridicată [213], fabricarea simplă, din precursori ieftini (cum ar fi ureea sau melamina) [214], și cu proprietăți optice și electronice bune. Cu toate acestea, în cazul iradierii sub lumină vizibilă, materialul prezintă o recombinare rapidă a purtătorilor de sarcină și, ca urmare, utilizarea lor în procesele conduse sub iradierea cu lumină vizibilă sunt limitate. De aceea, pentru a depăși acest inconvenient, catalizatorul organic poate fi combinat cu alte materiale metalice semiconductoare. Din diferite strategii aplicate pentru îmbunătățirea activității fotocatalitice a $g-C_3N_4$, o intensificare notabilă a proprietăților sale de fotorăspuns în lumină vizibilă au fost obținute atunci când $g-C_3N_4$ a fost cuplat cu Ag [213], Bi₂O₂CO₃, BiOCl [215], Fe₂O₃ [216], ZnO [217], Au/CdS [218], NiFeLDH [103]. Acești hibrizi au fost utilizați în oxidarea apei, transformarea CO₂ în combustibil sau forodegradarea unor coloranți.

În această secțiune, s-au obținut noi catalizatori, complecși, de tipul ZnAlLDH- C_3N_4 și ZnCoAlLDH- C_3N_4 , prin combinarea co-precipitării cu reconstrucție sau impregnare. Activitatea fotocatalitică a materialelor preparate a fost testată în fotodegradarea diclofenacului sub iradiere solară, UV și vizibilă.

2.3.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnLDHs, a oxizilor lor micști derivați și a formulărilor de tipul ZnLDHs-C₃N₄.

Materialele de tipul ZnLDH precum ZnAl(2/1), ZnCoAl(2/1), ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1) au fost obținute prin metoda co-precipitării, urmând pașii prezentați în figura 1.8. Formulările hibride care conțin g-C₃N₄ au fost obținute prin utilizarea a două căi diferite: reconstrucția și impregnarea. Materialele rezultate au fost caracterizate prin spectroscopie UV-Vis (UV-Vis), difracție cu raze X (XRD), spectroscopia cu dispersie energetică (EDX), spectrometrie IR cu transformata Fourier și cu refectanța difuză (DRIFT), analiză TG/DTA.

a) Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnAl(2/1)LDH, ZnCoAl(2/1)LDH, a oxizilor micști derivați și formulările lor cu g-C₃N₄.

Sinteza

Hidroxizii dublu lamelari de tipul ZnAl(2/1) și ZnCoAl(2/1) au fost preparați prin metoda coprecipitării la pH constant = 9 [3], așa cum a fost descris anterior pentru materialele precedente. S-au folosit următoarele săruri: Zn(NO₃)₂.6H₂O, Al(NO₃)₃.9H₂O, CoSO₄*7H₂O și un amestec 1M de NaOH/Na₂CO₃.

Compozitele hibride dintre ZnAl(2/1) și ZnCoAl(2/1) și g-C₃N₄ au fost preparate astfel: într-o procedură standard, s-au adăugat 1,25 g ZnAl(2/1) sau ZnCoAl(2/1) calcinate la 550 ° C timp de 7 ore; când temperatura lor a scăzut la 400 ° C, la o soluție apoasă conținând 0,1 g grafen, menținându-se sub agitare puternică timp de 24 de ore la temperatura camerei. Solidele obținute au fost recuperate prin centrifugare, uscate la 80 ° C și notate ca ZnAl-CN-R, respectiv ZnCoAl-CN-R. Atunci când metoda de impregnare a fost utilizată, aceleași cantități de suport LDH și g-C3N4 utilizate pentru reconstrucție au fost dispersate separat într-o soluție 1:1 de etanol: apă, au fost sonicate timp de 1 oră, apoi ambele soluții au fost amestecate împreună timp de 48 ore sub agitare magnetică la temperatura camerei și sub atmosferă de argon. Probele obținute au fost centrifugate, uscate la 80 °C și denumite ZnAl-CN-I, respectiv ZnCoAl-CN-I. Amestecurile derivate ale oxizilor micști s-au obținut prin calcinarea hidroxizilor dubli lamelari ZnAl(2/1), ZnCoAl(2/1) la 750 ° C timp de 7 ore. Acestea au fost notate ZnAl-750, ZnCoAl-750. Grafenul a fost preparat din melamină, prin calcinare la 530 °C, timp de 5 ore.

Caracterizarea fizico-chimică

Spectrele XRD (figura 2.32) prezintă structura lamelară caracteristică argilelor anionice asemănătoare hidrotalcitului, cu picuri de difracție intense în jurul valorilor de 11,7°, 23,6°, 34,7°, indexate ca (003), (006), (009), și picuri de difracție nonbazale, mai puțin intense, la 39,3 °, 49,6 °, 60,6 ° atribuite planurilor (015), (018), (110) [3]. Aspectul picurilor arată că eșantioanele au o bună cristalitate [219] și nu există alte faze. Pentru ZnCoAl-CN-R s-a observat că reconstrucția nu a fost totală. Distanța dintre lamele, calculată în funcție de unghiul de difracție (003) de la 11,7 °, este de 0,76 nm pentru ZnCoAl-CN-R și 0,75 nm pentru restul de catalizatori, indicând prezența anionilor carbonat în regiunea interlamelară a compozitelor [3]. Pentru g-C₃N₄ se pot observa două maxime la aproximativ 27,2 ° și 13,2 °, indexate ca planurile de difracție (100) și (002), caracteristice reflexiei sistemului aromatic conjugat [215]. Pentru probele reconstruite și impregnate, prezența g-C₃N₄ poate fi confirmată prin tehnica XRD numai în cazul materialelor reconstituite prin prezența unui vârf mic în jurul 27.5°. După tratamentul termic la 750 °C, structura stratificată se prăbușește, cu formarea concomitentă a amestecurilor omogene conținând faze spinel (ZnAl2O4 și CoAl2O4) și oxizi metalici (ZnO, CoO).

Pentru confirmarea reformării structurii lamelare în urma reconstrucției în prezența g-C₃N₄, respectiv formarea hibrizilor de tipul LDH-C₃N₄, analiza DRIFT a fost utilizată. Spectrele DRIFT (figura 2.34) prezintă benzi caracteristice de vibrație atribuite hidroxizilor dublu lamelari. Astfel, benzile largi de absorbție asociate modurilor de întindere (O-H) a grupurilor hidroxil ale lamelelor LDH și a apei fizisorbită [1] pot fi observate în intervalul 3000 - 3500 cm⁻¹. Mai mult, picul cu bandă îngustă de la aproximativ 1640 cm⁻¹ poate fi atribuit vibrațiilor de îndoire (H-O-H) ale moleculelor de apă din spațiul interlamelar, conectate de anioni prin legături de hidrogen. Anionii CO_3^{2-} sunt identificați în toate probele obținute prin apariția a două benzi de vibrație, una intensă la 1360 cm⁻¹ și mai puțin intensă la 1510 cm⁻¹, corespunzând vibrațiilor simetrice și antisimetrice de îndoire [220]. Benzile de vibrații corespunzătoare pentru legăturile M-O și O-M-O (M = Zn, Co, Al) sunt observate în regiunea joasă a numărului de undă, între 800 cm⁻¹ și 400 cm⁻¹ [22].



ZnAl750, f) ZnCoAl, g) ZnCoAl-CN-R, h) ZnCoAl-CN-I, i) ZnCoAl750; (*) ZnAl₂O₄, (*) $CoAl_2O_4$; (^) ZnO.



Figura 2.34: Spectre DRIFT: a) ZnAl(2/1), b) ZnCoAl(2/1), c) g-C₃N₄, d) ZnAl-CN-I, e) ZnAl-CN-R, f) ZnCoAl-CN-I, g) ZnCoAl-CN-R.

Pentru formulările hibride obținute prin reconstrucție și impregnare, în prezența grafenului, apar noi benzi de vibrație care confirmă formarea unui nou nanocompozit. Benzile de vibrație caracteristice pentru g- C_3N_4 sunt în jurul valorilor de 3200 cm⁻¹, fiind atribuite vibrațiilor de întindere ale legăturii NH, precum și între 1640 cm⁻¹ și 1254 cm⁻¹ atribuite vibrațiilor de întindere specifice C=N și C-N [216]. Banda de absorbție la 810 cm⁻¹ este caracteristică modului de vibrație al inelului s-triazină [221].

Spectroscopia UV-Vis cu reflexie difuză a fost utilizată pentru a investiga proprietățile optice ale materialelor sintetizate. În figura 2.35 se observă că materialul ZnAl (2/1) nu prezintă picuri de absorbție în vizibil, în timp ce pentru ZnCoAl(2/1) prezența Co²⁺ în structura LDH poate fi confirmată print-o bandă de absorbție la 520 nm, ce poate fi atribuită tranzițiilor ${}^{4}T_{1g}$ (F) $\rightarrow {}^{4}T_{1g}$ (P) ale Co²⁺, octaiedric coordonat în lamela argilei anionice. După calcinare, pentru materialul ZnCoAl750, această bandă este deplasată spre 700 nm indicând formarea Co³⁺ după tratamentul termic la 750 ° C [43]. g-C₃N₄ proaspăt prezintă benzi de adsorbție în regiunea albastră a spectrului vizibil, cu două *margini* în jurul valorilor de 300 și 350 nm, ce pot fi atribuite tranzițiilor n- π * ale perechilor electroni ai atomului de N din inelul triazinic [214]. Introducerea grafenului în nanocompozitele de tip LDH modifică profilul de absorbție inițial al argilei. După reconstrucție și impregnare, toate materialele sunt capabile să adsorbă lumina vizibilă, proprietate care poate fi atribuită existenței g-C3N4 în structura nanohibridului. Capacitatea noilor materiale de absoarbție a luminii vizibile poate fi atribuită interacțiunii puternice dintre g-C₃N₄ și LDH [224].



Figura 2.35: Spectre UV–Vis pentru a) ZnLDHs: ZnAl(2/1), ZnAl-CN-R, ZnAl-CN-I, ZnAl-750, G-C₃N₄ and b) ZnCoLDHs: ZnCoAl(2/1), ZnCoAl-CN-R, ZnCoAl-CN-I, ZnCoAl-750, G-C₃N₄.
b) Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnAl(3/1)LDH, ZnGa(3/1)LDH, a oxizilor micști derivați și a formulările lor cu g-C3N4.

Sinteza

Hidroxizii dublu lamelari de tipul ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1) au fost preparați prin metoda coprecipitării la pH constant = 9 [3], așa cum a fost descris anterior pentru materilele precedente. S-au folosit următoarele săruri: $Zn(NO_3)_2.6H_2O$, $Al(NO_3)_3.9H_2O$, $Ga(NO_3)_3*9H_2O$ și un amestec de concentrație 1 M de NaOH/Na₂CO₃.

Compozitele hibride dintre tipul ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1) și g-C₃N₄ au fost preparate astfel: într-o procedură standard, s-au adăugat 1,25 g ZnAl(2/1) sau ZnCoAl(2/1) calcinate la 550 ° C timp de 7 ore, într-o soluție apoasă conținând 0,1 g grafen, menținându-se sub agitare puternică timp de 24 de ore la temperatura camerei. Solidele obținute au fost recuperate prin centrifugare, uscate la 80 ° C și notate ca ZnAl-CN-R, respectiv ZnGa-CN-R. Când metoda de impregnare a fost utilizată, au fost folosite aceleași cantități de suport LDH și g-C3N4 utilizate pentru reconstrucție, au fost dispersate separat într-o soluție de etanol: apă (vol. 1:1), au fost sonicate timp de 1 oră, apoi ambele soluții au fost amestecate împreună timp de 48 ore sub agitare magnetică la temperatura camerei și sub atmosferă de argon. Probele obținute au fost centrifugate, uscate la 80 °C și denumite ZnAl-CN-I, respectiv ZnGa-CN-I. Amestecurile derivate ale oxizilor micști s-au obținut prin calcinarea hidroxizilor dublu lamelari ZnAl(2/1), ZnGa(2/1) la 750 °C timp de 7 ore. Acestea au fost notate ZnAl-750, ZnGa-750.

Caracterizarea fizico-chimică



Spectrele XRD prezentate în figura 2.38 demonstrează că după co-precipitare,

Figura 2.38: Spectre XRD pentru: a) ZnAl(3/1), b) ZnAl-CN-R, c) ZnAl-CN-I, d) $g-C_3N_4$, e) ZnA-750, f) ZnGa(3/1), g) ZnAl-CN-R, h) ZnAl-CN-I, i) ZnGa-750; (*) $ZnAl_2O_4$,

$(*)ZnGa_2O_4; (^) ZnO, (@) g-C_3N_4.$

reconstrucție si impregnare s-au obtinut structuri de tip hidrotalcit, cu picuri caracteristice planurilor de difracție (003), (006). (009), (015), (018), (110). După calcinare structura lamelară specifică este distrusă și se formează un amestec de oxizi micști, ce conține ZnO (*) și ZnAl₂O₄ (*) sau ZnGa₂O₄ (*).Conform unghiului de difracție caracteristic planului (003), spațiul interlamelar este ocupat de CO_3^{2-} . Ca și în cazul grupului anterior, analiza DRIFT (figura 2.40) confirmă structura de hidrotalcit pentru toate compozitele și totodată evidențiază prezența grafenului în structura materialului, prin internediul semnalelor prezente în intervalul 1640 cm⁻¹ -1254 cm⁻¹, fiind caracteristice benzilor de vibrație ale heterociclurilor C=N și C-N.



ZnGa-CN-R, f) ZnAl-CN-I, g) ZnGa-CN-I.

În figura 2.41 sunt prezentate spectrele de absorbție UV-DR ale materialelor ZnLDHs, oxizii lor micști derivați și hibrizii lor conținând g-C₃N₄. Materialele proaspete, ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1) prezintă o capacitate mică de adsorbție în regiunea UV, cu o extindere spre zona vizibilă a spectrului. După tratamentul termic și hibridizarea cu g-C3N4, toate spectrele de absorbție sunt mutate spre regiunea roșie a spectrului și, de asemenea, capacitatea lor de a absorbi lumina UV crește. În timpul procesului de calcinare la 750 ° C, se formează sisteme formate din oxizi metalici și fază spinel. Două benzi de absorbție apar în jurul valorilor de 220 și 265 nm și pot fi atribuite fazelor spinel ZnAl₂O₄ sau ZnGa₂O₄, în timp ce marginea de la 360 nm poate fi atribuită ZnO. g-C₃N₄ proaspăt prezintă adsorbție în regiunea albastră a spectrului vizibil, cu două margini în jur de 300 și 350 nm, ce pot fi

atribuite tranzițiile n- π * ale perechilor electroni ai atomului de N din inelul triazinic. Prezența g-C₃N₄ în structurile hibride de tip LDH poate fi ușor remarcată prin prezența benzilor de absorbție în jurul valorilor de 300 și 350 nm.



Prezența g-C₃N₄ în hibridul LDH, precum și stabilitatea termică a materialelor, au fost investigate prin utilizarea analizei termogravimetrice. Din figura 2.42 se poate observa că materialele ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1) prezintă trei pierderi importante de masă [225]. Primul eveniment, atribuit îndepărtării apei fizisorbite și a celei interlamelare, are loc între 100-180°C pentru ZnAl(3/1) și 100-170°C pentru ZnGa(3/1) și prezintă o pierdere de masă de 10%, respectiv 7%. O crestere a temperaturii între 180-270 °C pentru ZnAl (3/1) si 170-245 ° C pentru ZnGa(3/1) conduce la dehidroxilarea lamelelor, cu o pierdere de masă de 14%, respectiv 15,5%. Creșterea în continuare a temperaturii până la 600 °C și 575 °C, va produce următoarea pierderea de masă de 6% pentru ZnAl(3/1) și 4% pentru ZnGa(3/1) atribuită eliminării anionului din spațiului interlamelar. Curbele DTG prezintă un pic la aproximativ 600 °C, respectiv 575 °C, care arată o schimbare de fază, cu formarea de oxizi metalici si de fază spinel. Pentru materialele hibride, pierderile de masă au loc în aproape aceleași intervale de temperatură și sunt atribuite acelorași procese. Cu toate acestea, o scădere suplimentară de masă poate fi observată pentru LDHs-CN (vezi figura 2.42b-g), care poate fi atribuită prezentei g-C3N4 în structura LDHs-urilor. S-ar putea observa că grafenul (figura 2.42 d) are o bună stabilitate termică până la 530 ° C. După această temperatură, oxidarea sa are loc cu mai mult de 50% din pierderea de masă până la 700 ° C [221]. O pierdere de greutate între 25-38% a fost observată pentru hibrizi conâinând semiconductorul organic, în timp ce pentru proba proaspătă maximul а fost de 30% obținut pentru ZnAl(3/1).



Figura 2.42: Curbele TG-DTG pentru: a) ZnAl(3/1), b) ZnAl-CN-R, c) ZnAl-CN-I d) g-C₃N₄, e) ZnGa(3/1), f) ZnGa-CN-R, g) ZnGa-CN-I.

2.3.2. Materiale de tipul ZnLDHs, oxizii lor micști derivați și formulări de tipul ZnLDHs-C₃N₄ pentru fotodegradarea solară a diclofenacului.

În acest subcapitol, ZnLDHs și ZnLDHs-CN obținute prin diferite metode de sinteză vor fi utilizate în fotodegradarea a diclofenacului (DCF). Soluțiile de degradare rezultate au fost evaluate prin măsurători UV-Vis; au fost de asemenea efectuate măsurători ale carbonului organic total (TOC) la începutul și la sfârșitul testelor. Valorile TOC au fost obținute prin măsurarea TC (carbon total) și IC (carbon anorganic) și scăderea concentrației IC din concentrația TC. Pentru a stabili mecanismele de degradare, a fost utilizată spectrometria de masă cuplată cu cromatografia lichidă (LC-QTOF MS).

a) Formulari de tipul ZnAl(2/1)LDHs-C₃N₄ și ZnCoAl(2/1)LDHs-C₃N₄ pentru fotodegradarea solară a diclofenacului.

Sinteza și caracterizarea fizico-chimică pentru acest grup de materiale au fost prezentate în secțiunea 2.3.1. Soluția de DCF de 25 mg/L a fost fotodegradată în prezența a 1 g/L a diferitor catalizatori pe bază de LDH. În plus, pentru acest grup de catalizatori s-au efectuat și teste în lumină UV și vizibilă. Pentru aceasta, a fost folosită aceeași lampă solară dotată cu filtre ce pot opri radiația UV sau pe cea vizibilă. Evoluția în timp a degradării DCF a fost monitorizată la 276 nm sau în unele cazuri la 236 nm, ce reprezintă maximul de absorbție pentru produsul principal de fotodegradare.

> Fotodegradarea DCF sub lumină solară

Evoluția în timp a proceselor inițiate de lumina solară simulată, în prezența catalizatorilor prezentatți anterior, este prezentată în figura 2.43. Testul balnk, realizat prin iradierea DFC fără a adăuga catalizator, indică faptul că se formează un produs foarte stabil imediat după ce lampa este pornită (figura 2.43 - j). Dimpotrivă, atunci când soluția DFC este iradiată în prezenta catalizatorului, fotodegradarea moleculelor de DCF are loc cu formarea rapidă a speciilor intermediare clor-carbazol Cz1 [226]. De asemenea, se poate observa din profilurile UV-Vis incluse în figura 2.43 că, în timpul proceselor de fotodegradare, sunt implicate diferite mecanisme atunci când se utilizează fotocatalizatori diferiti. În toate cazurile, medicamentul este mai întâi convertit în multe tipuri de carbazoli urmat de descompunerea lor parțială sau totală în funcție de fotocatalizatorul implicat. [168]. Fotodegradarea DCF folosind g- C_3N_4 (figura 2.43 i) si probele reconstruite (figura 2.43 c si f) conduce la formarea, după aproximativ 80 de minute de reacție, unor produsi stabi care ar putea fi corelati cu cei formati în cazul testului blank (figura 2.43 c, f, i). Pentru ceilalți catalizatori studiați, de exemplu, materialele LDHs proaspete (figura 2.43 a și d) și cele impregnate cu g- C_3N_4 (figura 2.43 b si e), procesul de degradare are loc continuu si, după 240 de minute de reactie, profilurile spectrale atribuite structurilor carbazol dispar.



Figura 2.43: Spectre UV–Vis pentru fotodegradarea DCF sub lumină solară în prezența a) ZnAl(2/1), b) ZnAl-CN-I, c) ZnAl-CN-R, d) ZnCoAl(2/1), e) ZnCoAl-CN-I, f) ZnCoAl-CN-R, g) ZnAl-750, h) ZnCoAl-750, i) g-C₃N₄, j) blank.

Figura 2.44 prezintă performanțele fotocatalitice ale fotocatalizatorilor studiați evaluați prin UV-Vis și TOC. Conform rezultatelor UV-Vis, probele proaspete și hibrizii impregnați au cea mai bună activitate, cu o eficiență de degradare catalitică a DCF mai mare de 93% față de concentrația inițială. Cu toate acestea, este interesant de menționat că rezultatele TOC indică faptul introducerea Co^{II} în cadrul rețelei stratificate (proba ZnCoAl) crește în mod semnificativ valoarea TOC până la 84,1%, în comparație cu matricea de tip LDH lipsita de Co^{II} (proba ZnAl), ce mineralizeaza numai 66,5% în aceleași condiții experimentale. Prin urmare, am putea concluziona că introducerea Co^{II} în structura LDH îmbunătățește eficiența catalitică a sistemului stratificat. Mai mult decât atât, hibridizarea matricelor LDH cu g-C₃N₄ îmbunătățește gradul de foto-mineralizare al DFC de la ~ 66%, aşa cum s-a observat pentru proba ZnAl(2/1), până la ~ 75% pentru proba ZnAl-CN-I. Comparând cele două căi de hibridizare a LDH cu g-C₃N₄, se poate concluziona că utilizarea impregnării conduce la un material mai activ în comparație cu metoda de reconstrucție. Aceste rezultate se află într-o bună corelație cu concluziile rezultate în urma caracterizării fizico-chimice, ce au indicat că o structură hibridă foarte cristalină s-a obținut prin impregnare. Mai mult, atunci când se utilizează probele reconstruite, produsul intermediar carbazolic se formează după aproximativ 80 de minute de reacție. Profilele XRD (figura 2.32 b și g) pentru aceste probe indică o reconstrucție partială a structurii lamelare, grafenul fiind faza principală a acestor probe. Ca atare, atunci când sunt testate într-o reacție fotocatalitică, comportamentul acestor probe (figura 2.43c și f) este similar cu cel al g-C₃N₄ (figura 2.43i), când se observă formarea compusului intermediar carbazolic stabil. Se poate concluziona că prezența unei faze LDH cristaline în sistemele fotocatalitice hibride de tipul g-C3N₄/LDH influențează în mod direct mecanismul și gradul de mineralizare a DCF.



Figura 2.44: Performanța fotodegradării solare a DCF evaluate prin - UV-Vis si - TOC pentru a) ZnAl(2/1), b) ZnAl-750, c) ZnAl-CN-I, d) ZnAl-CN-R, e) ZnCoAl(2/1), f) ZnCoAl-750, g) ZnCoAl-CN-I, h) ZnCoAl-CN-R, i) g-C₃N₄.

Fotodegradarea DCF sub lumina UV și vizibilă

S-a observat că fotodegradarea DFC a fost nesemnificativă atunci când s-a realizat sub lumină vizibilă. Astfel că performanța a fost cuprinsă între 1-11%, maximul fiind atins de catalizatoroul ZnCoAl-750. Sub iradierea cu UV (figura 2.46) cei mai performanți catalizatori, conform măsurătorilor TOC, sunt probele LDH proaspete și cele calcinate. Dacă comparăm performanța pentru ZnAl și ZnCoAl obținută în urma iradierii UV, cu cea obținută sub lumină solară, putem obeserva contribuția Co în îmbunătățirea fotoactivității ZnAlLDH. Catalizatorul ZnAl are aceeași activitate în cazul iradierii solare și UV (66,5 și 66,9% TOC), dar când Co este prezent în structură, crește capacitatea noului material de absorbție a luminii vizibile. În consecință, performanța crește de la 53,6%, la 84,1%.



Figura 2.46: Performanța fotodegradării solare a DCF evaluate prin - UV-Vis și - TOC pentru a) ZnAl(2/1), b) ZnAl-750, c) ZnAl-CN-I, d) ZnAl-CN-R, e) ZnCoAl(2/1), f) ZnCoAl-750, g) ZnCoAl-CN-I, h) ZnCoAl-CN-R.

> Mecanismul de degradare

Este propus un mecanism general de fotodegradare ce implică formarea unui complex între LDH-urile și moleculele DCF. Astfel, fotodegradarea are loc ca o combinație între fotosensibilizarea DCF și fotooxidare. Datorită prezenței gruparilor -OH pe suprafața LDH, medicamentul poate fi ușor adsorbit și excitat în continuare de catre fotonul absorbit. Poate să apară un transfer de electroni între DCF excitat (DCF *) și banda de conducție a materialului, și astfel se formează specii oxidative ce vor fi în continuare utilizate în fotodegradare. Fenomenul de excitarea luminoasă a DCF și cel de fotooxidare, prin excitarea luminoasă a materialelor LDH sunt prezentate în figura 2.47 [209-211].



Figura 2.47: Mecanismul de fotodegradare a DCF în prezența catalizatorului, implicând excitarea luminoasă a DCF și fotooxidarea.

S-a observant ca DCF este degrdat diferit, în funcție de tipul de catalizator și tipul de radiatie luminoasă folosită. Astfel că, în urma testului balnk, analiza cromatografică, completată de cea spectrofotometrică au arătat că în lipsa catalizatorului se obține un amestec stabil de substante complexe. Studiile asemănătoare făcute pe același medicament, au demonstrat că acest amestec de carbazoli și imine este mult mai toxic decât poluantul initial. Atunci când catalizatorii sunt prezenți în sistem, fotodegradarea conduce la formarea de produse mai puțin stabile, care pot fi descompuse în continuare. Cel mai bun catalizator, ZnCoAl(2/1) a fost testat în fotodegradarea solară a DCF. Au fost efectuate măsurătorile UV-Vis si LC-QTOF MS, iar rezultatele sunt prezentate în figura 2.50. Se poate observa din figura 2.50-b că soluția finală are o compoziție mai puțin complexă, comparativ cu cea obtinută în cazul testului martor. Mecanismul propus de fotodegradare folosind ZnCoAl este prezentat în figura 2.51. Aceasta implică închiderea inelului care poate începe cu DCF sau cu intermediarul său decarboxilat, C9. Reactia va conduce la formarea de carbazoli, cum ar fi C5, C6, C7, C8, C10 [233]. În plus, alti compusi complecsi sunt formați ca rezultat al participării DCF sau a compusilor săi de fotodegradare la reactiile de monoclorurare, decarboxilare, hidroxilare sau oxidare [231,232]. Datorită prezentei catalizatorului



Figura 2.50: a) Spectre UV-Vis pentru fotodegradarea solară a DCF in prezenta ZnCoAl(2/1)
b) Semnale procentuale ale produșilor de reactie evaluate prin LC-MS după 4 h de iradiere solară; insert: semnalul DCF evaluat prin LC-MS.

ZnCoAl(2/1), DCF-ul este degradat prin cele două mecanisme ce au loc consecutiv, ce implica scindarea NH și deschiderea inelului aromatic, când moleculele mici sunt obținute și transformate ulterior în CO₂, HCl și apă [229,232-234]. Aceste rezultate demonstrează că solidul și moleculele de DCF interacționează între ele, rezultând un nou catalizator hibrid, un

complex DCF-LDHs. Noul complex, sub excitare luminoasă, permite transferul de sarcină între DCF și LDH. În acest fel, degradarea a medicamentului are loc ca o combinație între



Figura 2.51: Mecanismul de fotodegradare solară a DCF propus în prezența catalizatorului ZnCoAl(2/1)

fotosensibilizare DCF-ului și foto-oxidare, sporind performanța procesului [235-237]. Identitatea compușilor de fotodegradare ar putea arăta că unele molecule de DCF interacționează direct cu iradierea soarelui, în timp ce altele sunt adsorbite pe o suprafață solidă și transformate în molecule distincte. Cu toate acestea, toate produsele fotodegradate rezultate vor interacționa cu fotocatalizatorul, fiind apoi degradate și mineralizate.

b) Formulări de tipul ZnAl(3/1)LDHs-C₃N₄ și ZnGa(3/1)LDHs-C₃N₄ pentru fotodegradarea solară a diclofenacului.

Testele fotocatalitice pentru acest grup de materiale au fost efectuate sub iradiere solară, iar evoluția fotodegradării a fost monitorizată prin măsurători spectrometrice UV-Vis si TOC.

Profilele UV-Vis obținute pentru degradarea DCF-ul sub iradiere solară și în prezența catalizatorilor prezentati în sectiunea 2.3.1 b, sunt asemănătoare cu cele prezentate în figura 2.43. Și în acest caz, prezența catalizatorilor de tip LDH, iradiați sub lumină solară, generează specii oxidative și astfel medicamentul este rapid convertit în diferite produse. În plus, evoluția fiecărui sistem de fotodegradare este direct legată de tipul de catalizator, asa cum a fost discutat în secțiunea anterioară, pentru grupul ZnLDH(2/1). Un rezultat interesant a fost obținut în cazul materialului ZnGa(3/1), ce este capabil să degradeze și să mineralizeze întreaga cantitate de DCF în 150 minute (figura 2.59 B-a). Luând în considerare acest lucru și capacitatea acestui material de a absorbi lumina vizibilă, s-a presupus că moleculele de medicament sunt degradate prin fotooxidare, cu implicarea catalizatorului și, de asemenea, prin fotosensibilizare, cu participarea DCF fotoexcitat, ce a fost adsorbit pe suprafața catalizatorului (figura 2.47).



Figura 2.59: Performanța fotodegradării solare a DCF pentru A) ZnAlLDHs: a) ZnAl(3/1), b) ZnAl-750, c) ZnAl-CN-I, d) ZnAl-CN-R, e) blank; B) ZnGaLDHs: a) ZnGa(3/1), b) ZnGa-750, c) ZnGa-CN-I, d) ZnGa-CN-R, e) g-C₃N₄;.

În figura de mai sus sunt prezentate performanțele fotocatalitice ale catalizatorilor studiați, evaluați prin măsurători UV-Vis și TOC. Se poate observa că toți catalizatorii au un răspuns fotocatalitic ridicat, prezentând un grad de degradare și mineralizare într-un interval de 64-100%, respectiv 47-100%. În ceea ce privește influența prezenței $g-C_3N_4$ asupra

performanței hibrizilor, numai în cazul ZnAl-CN-I a fost înregistrată o creștere a activității, comparativ cu precursorul său, ZnAl(3/1), de la 83% mineralizare, la 97%. Pentru restul catalizatorilor, nu s-a observat niciun efect benefic după procesul de hibridizare. O explicație poate fi prezența în cantitate mare a grafenului, ce ar putea bloca siturile active ale matricei de tip LDH. Spectrele UV-Vis ale ZnAl-CN-R, ZnGa-CN-I și ZnGa-CN-R prezentate în figura 2.41 arată în mod clar prezența unei cantități semnificative de g-C₃N₄ în structura LDH datorită benzii de absorbție în jurul valorilor de 300 și 350 nm. Dimpotrivă, pentru spectrul ZnAl-CN-I, spectrul UV-Vis prezintă un semnal mic, la aproximativ 350 nm, care poate fi atribuit grafenului. Cu toate acestea, toate sistemele fotocatalitice au o performanță fotocatalitică bună.

Din moment ce profilurile spectrelor de fotodegradare UV-Vis ale DCF obținute pentru acest grup de materiale sunt similare cu cele obținute pentru grupul bazat pe ZnAl(2/1)LDH și ZnCoAlLDH(2/1) (vezi figura 2.43) se poate considera ca mecanismele de degradare ale poluantului ar trebui să implice aceeași reacții de descompunere precum hidroxilarea inelului aromatic, închiderea ciclului, scindarea NH și deschiderea inelului benzenic, urmată de degradarea ulterioară până la mineralizarea totală sau parțială.

2.4. Nanoparticulele de In sau Ga pe ZnAlLDH şi ZnGaLDH cu un raport Me²⁺/Me³⁺= 3/1 şi oxizilor lor micşti derivaţi pentru fotodegradarea solară a fenolului şi p-nitrofenolului.

Oxizi precum In_2O_3 și Ga_2O_3 au fost deja utilizați în procesul fotocatalitic pentru îndepărtarea unor poluanți apoși. Un bun răspuns în fotodegradarea metil-orange și a rodaminei B [242] a fost obținut prin utilizarea nanocuburilor de In_2O_3 suportate pe nanofibre de carbon. Dupa 7 ore de iradiere solară, aproximativ 80 % din cantitatea inițială de poluanți a fost îndepărtată. Mai mult decât atât, insecticidul fipronil [243], metil orange, rodamina B și acidul benzoic [244] au fost fotodegradate cu lumina UV utilizând β -Ga₂O₃.

Ideea de a dopa compozitele de tip LDH cu diferite materiale a fost abordată mai întâi de grupul de cercetare al lui H. Garcia. Recent, grupul nostru a demonstrat că nanoparticulele ca Ce_2O_3 , AuNPs dispersate pe ZnMeLDHs (Me = Al, Ti, Sn) prezintă proprietăți semiconductoare sinergetice și performanțele lor sub stimularea luminii sunt peste cele ale fiecărui component separat [33,34,178].

În această secțiune va fi prezentată sinteza, caracterizarea și utilizarea noilor catalizatori de tip InNPs sau GaNPs pe ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1) în fotodegradarea solară a pnitrofenolului și a unei soluții apoase de fenol + p-nitrofenol (1:1).

2.4.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnMeLDHs, a ansamblurilor nanostructurate de tipul In sau Ga/ZnMeLDHs și a oxizilor amestecați derivați

Sinteza

Materialele ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1) au fost obținute prin metoda coprecipitării, așa cum a fost prezentat în capitolul 2.3.1-b. Formulările hibride ce conțin NPs de In sau Ga au fost obținută prin utilizarea metodei reconstrucție (vezi Figura 1.32). Pentru aceasta, 2,1 g ZnAl(3/1) sau ZnGa(3/1) s-au calcinat la 550 ° C timp de 8 ore și după care s-au adăugat la o soluție de 0,1 M Ga₂(SO₄) 3x18H₂O sau In(C₂H₃O₂)₃ (Sigma Aldrich, \geq 99%). Suspensiile rezultatele au fost amestecate timp de 7 ore la 20 °C, după care s-au recuperat prin centrifugare și s-au uscat la 80 °C. Catalizatorii au fost notați ca Ga/ZnAl, In/ZnAl, Ga/ZnGa și Ga/ZnGa. O parte din aceste probe au fost în continuare calcinate la 750 °C și oxizii micști derivați obținuți au fost denumiți In/ZnAl-Cal, Ga/ZnAl-Cal, In/ZnGa-Cal și Ga/ZnGa-Cal.

Caracterizarea fizico-chimică

Pentru LDH-urile proaspete și probele lor reconstituite (figura 2.60) spectrele XRD prezintă semanalele carcteristice materialeleor de tip hidrotalcit, definite de vârfurile de difracție la $2\theta = 11.8^{\circ}$, 23.6°, 34.9°, 37.4°, 39.5°, 44.3°, 47.1°, 53.1° și 56.7° atribuite planurilor (003) (006) , (009), (104), (015), (107), (018), (100) și (1/2 11) [33]. Mai mult decât atât, după reconstrucția în soluții apoase de Ga₂(SO₄)₃ și în (C₂H₃O₂)₃, structura LDHs este total recuperată, fapt dovedit de prezența picurilor caracteristice planurilor de difracție bazale ((003) (006) (009)), ce sunt mai putin intense, și non-bazale ((012) (015) (018)). Acest lucru poate indica o reducere a cristalinității și / sau diminuarea dimensiunii particulelor cristalitelor pentru hibrizii LDH [245]. Prezența indiului sau a galiului nu a fost confirmată prin utilizarea măsurătorilor XRD.



Figure 2.60: Spectre XRD pentru a) ZnAl(3/1), b) Ga/ZnAl, c) In/ZnAl; e) ZnGa(3/1), f) Ga/ZnGa, g) In/ZnGa.

Pentru probele reconstruite, picul caracteristic planului de difracție (003) este mult mai larg și este de asemenea mutat spre valori ale lui 20 mai mici. De exemplu, picurile 11.67 ° pentru ZnAl(3/1) și 11,7 ° pentru ZnGa(3/1) au fost deplasate la 7,1 ° pentru In/ZnAl și 7,03 ° pentru In/ZnGa, în timp ce pentru Ga/ZnGa și Ga/ZnAl valorile sunt 9,85 ° și respectiv 9,92 °. Acest lucru subliniază că reconstrucția materialului în soluții apoase de In(C₂H₃O₂)₃ și Ga₂(SO₄)₃ conduce la o structură de tip LDH expandată, în care anionii carbonat ce erau inițial în structura argilelor mamă, au fost înlocuiți cu anionul sulfat și acetat (vezi tabelul 2.7).

Tabelul 2.7: Dimensiunea cristalelor și parametrii rețelei cristaline ale catalizatorilor studiați.

Proba	*dimenisunea cristalului (nm)	d (003)	d (110)	a	С
ZnAl(3/1)	13	7.61	1.54	3.08	22.67
Ga/ZnAl	15	8.91	1.54	3.07	26.92
In/ZnA	9	12.56	1.53	3.06	37.32
ZnGa(3/1)	22	7.56	1.53	3.07	22.67
Ga/ZnGa	8	8.97	1.53	3.07	26.92
In/ZnGa	7	12.44	1.53	3.04	37.69
*calculate cu ecuația Scherrer; parametrii rețelei $a = 2d_{110}$ și $c = 3d_{003}$					

Parametrii retelei (Å)

*calculate cu ecuația Scherrer; parametrii rețelei $a = 2d_{110}$ și $c = 3d_{003}$ d(003) și d(110) au fost calculate cu legea lui Bragg

Dupa procesul termic, amestecuri omogene de fază spinel cu oxizi metalici se formează, asa cum poate fi observat și din figura 2.62.



Figura 2.62: Spectre XRD pentru: a) In/ZnAl-Cal și b) In/ZnGa-Cal.

Natura grupărilor funcționale a fost investigată prin utilizarea analizei FTIR (figura 2.64). Pe lângă grupările funcționale caracteristice materialelor de tip hidrotalcit, deja prezentate în secțiunile anterioare, după reconstrucție, pe spectrele IR apar semnale ce evidențiază intercalarea în structura noilor materiale, a anionilor acetat, cu picuri caracteristice la 1566 cm⁻¹, 1415 cm⁻¹ și 1368 cm⁻¹ și a anionilor sulfat, cu semnale în jurul valorilor 1112 cm⁻¹, 980 cm⁻¹ și 672 cm⁻¹.



Figura 2.64: Spectre FTIR pentru: a) ZnAl(3/1), b) In/ZnAl, c) Ga/ZnAl.

În figura 2.65 sunt prezentate spectrele XPS totale ale probelor bazate pe ZnGaLDH, și ele demonstrează existența nivelelor de bază Zn 2p, Ga 2p și O 1s. Imaginea inserată prezintă spectrul de înaltă rezoluție a Ga 2p(1/2), cu energia de legătură la 1145.1 eV, ce indică faptul că pe suprafața compozitului de tip LDH, galiul se găsește în stare de oxid, Ga₂O₃. [253] Spectrul XPS caracteristic pentru In/ZnGa este prezentat în figura 2.66. Deoarece vârfurile pentru Ga 3d3/2 și Ga 2p1/2 sunt ușor asimetrice, ele pot fi separate în două, așa cum este prezentat în figura 2.66 b-c. Picurile separate Ga 2p și Ga 3p sugerează că, probabil, galiul este prezent In/ZnGa ca Ga³⁺ și ca galiu metalic sau superoxid (Ga-O-Ga). Prezența In 3d este indicată de cele două vârfuri simetrice la 445.33 și 452.91 eV, ce subliniază faptul că indiul este în stare de oxid (figura 2.66-d). Regiunea O 1s din figura 2.66e confirmă legarea galiului și a oxidului de indiu în solid printr-un pic larg și asimetric în intervalul 535-525 eV. Acest pic poate fi deconvoluționat în două picuri, cu un maxim la 531,96 și 530,78 eV, atribuite Ga₂O₃ și respectiv In₂O₃ [254].

Spectrele UV-Vis ale materialelor sintetizate sunt date în figura 2.67. Rezultatele arată că precursorii inițiali, ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1), pot absorbi doar lumina UV, cu lungimi de undă mai mici decât 400 nm. După reconstrucție în prezența indiului sau galiului, *band gap*-urile compozitelor ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1) au fost modificate de la 3,57 la 3,95 eV la



Figura 2.65: Spectre XPS pentru a) Ga/ZnGa-Cal, b) ZnGa(3/1), c) Ga/ZnGa



Figura 2.66: Spectre XPS pentru a) In/ZnGa, și spectrele de înaltă rezoluție pentru b) Ga3d, c) Ga2p1/2, d) In3d, e) O1s.



Cal, e) In/ZnAl-Cal; B)) a) ZnGa(3/1), b) Ga/ZnGa, c) In/ZnGa, d) Ga/ZnGa-Cal, e) In/ZnGa-Cal.

valori mai mici cuprinse în intervalul 2.74-3.1 eV, indicând faptul că noile materiale pot fi activate de lumina vizibilă, din moment ce band gap-ul dintre lumina UV si cea vizibilă este de 3.1 eV.

2.4.2. Materiale de tipul ZnAl(3/1)LDH, ZnGa(3/1)LDH, ansamblurile lor nanostructurate de tipul In sau Ga/ZnAl(3/1)LDH și In sau Ga/ZnGaLDH și oxizii lor micști derivați pentru fotodegradarea solară a p-nitrofenolului.

În această secțiune sunt prezentate performanțele fotocatalitice ale compozitelor ZnAl(3/1), ZnGa(3/1), formulările lor hibride cu galiu și indiu și oxizii lor micști derivați pentru degradarea solară a p-nitrofenol (p-nPh). Testele blank au indicat că poluantul nu poate fi fotolizat in absența catalizatorilor. În timpul echilibrul de adsorbție-desorbție, s-a observat că la absorbția maximă inițială p-nitrofenolul a fost deplasat de la 317 nm la 400nm; așa că degradarea fotocatalitică a poluantului a fost monitorizată prin măsurători UV-Vis, urmărind evoluția absorbanței la 400 nm. Din figura 2.68 și 2.69 se poate observa că pentru toți catalizatorii pe baza de ZnAl(3/1) și ZnGa(3/1), absorbanța scade în timp, atingându-se un maxim de degradare de 99.5 %, pentru catalizatorul In/ZnAl-Cal. Materialele inițiale sunt aproape inactive, cu o performanță mai mică de 5% în termeni de fotodegradare a p-nitrofenolului.

Pentru a evalua gradul de mineralizare și natura produșilor de degradare, au fost de asemenea efectuate măsurători TOC si HPLC. Pentru o identificare precisă a produselor au fost utilizate soluții standard de benzochinonă, acid muconic, catechol și rezorcinol.



Figura 2.68: Spectre UV-Vis pentru a) ZnAl(3/1), b) In/ZnAl, c) Ga/ZnAl, d) In/ZnAl-Cal, e) Ga/ZnAl-Cal, f) performanța fotocatalitică a materialelor.



Figura 2.69: Spectre UV-Vis pentrur a) ZnGa(3/1), b) In/ZnGa, c) Ga/ZnGa, d) In/ZnGa-Cal, e) Ga/ZnGa-Cal, f) performanța fotocatalitică a materialelor.

Rezultate Originale

Rezultatele au arătat că In/ZnAl-Cal poate mineraliza în 4 ore 87% din concentrația inițială a p-nPh, în timp ce Ga/ZnAl-Cal numai 60%. Datele HPLC confirmă faptul că radicalii hidroxil interacționează cu p-nitrofenol, conducând, la formarea de compuși fenolici hidroxilați. Cel mai bun catalizator, In/ZnAl-Cal, a fost utilizat în condiții similare, trei teste consecutive, iar rezultatele au arătat că materialul își coservă întreaga activitate fotocatalitică.

2.4.3. Materiale de tipul ZnAl(3/1)LDH, ansamblurile lor nanostructurate de tipul In sau Ga/ZnAl(3/1)LDH și oxizii lor micști derivați pentru fotodegradarea solară a amestecului de fenol +p-nitrofenolului.

Concentrația totală a soluției de poluanți a fost de 50 mg/l (25 mg p-nPh + 25 mg Ph), iar concentrația catalizatorului a fost de 1 g/l. După echilibrul adsorbție-desorbție, s-a observat o deplasare a picului de la 317 nm la 400 nm și corespunde formării anionului pnitrofenolat [260]. S-a observant că pentru toți catalizatorii absorbanța la 270 nm și 400 nm scade în timp, iar performanța catalizatorului ZnAl(3/1) este de 4% pentru degradarea fenolului și 7% pentru degradare p-nPh (vezi figura 2.73). Catalizatorul cel mai eficient este In/ZnAl-Cal cu 89% si 98% fotodegradare a fenolului, respectiv p-nitrofenolului, în 240 de minute.



Figura 2.73: Performața fotocatalitică pentru fotodegradarea solară a amestecului de fenol + p-nitrofenol în prezența a) ZnAl(3/1), b) In/ZnAl, c) Ga/ZnAl, d) In/ZnAl-Cal, e) Ga/ZnAl-Cal.

Procesul de fotodegradare al amestecului de compuși fenolici a fost evaluat ca fiind o reacție de ordinal întâi. În figura 2.74 este prezentată dependența -ln (A/A_{max}) și t. În tabelul 2.12 sunt redate constantele k_{app} și timpii de înjumătățire t_{1/2}. Rezultatele cinetice arată că reconstrucția în prezența indiului și tratamentul termic la 750 ° C duce la formarea unui catalizator (In/ZnA1-Ca1), capabil să degradeze mai mult de 50% din concentrația inițială de poluanți în 60 de minute. Ga/ZnA1-Ca1 are un timp de înjumătățire de 10 ori mai mic pentru



Figura 2.74: Logaritmul natural al absorbanței normalizate vs timp pentru a) fenol la 270 nm si b) p-nitrofenol la 400 nm.

Proba	k _{app} (x 10 ⁻³ min ⁻¹) fenol	t _{1/2} (min) fenol	k _{app} (x 10 ⁻³ min ⁻¹) p-nitrofenol	t _{1/2} (min) p-nitrofenol
ZnAl(3/1)	0.4	1732	0.4	1732
Ga/ZnAl	0.5	1386	1.3	533
Ga/ZnAl-Cal	2.9	239	4.2	165
In/ZnAl	1.1	630	1	693
In/ZnAl-Cal	11.3	61	17	41

Tabelul 2.11: Parametrii cinetici ai procesului de fotodegradare.

degradarea p-nitrofenolului și de 7 ori mai mic pentru degradarea fenolului, comparativ cu valorile obținute pentru ZnAl(3/1). Pentru In/ZnAl-Cal aceste valori descresc considerabil, comparativ cu materialul mamă. Astfel, depunerea oxizilor metalici pe suprafața LDH-urilor îmbunătățește eficiența catalitică a sistemelor stratificate. Mai mult, materialele solide semiconductoare compuse dintr-o fază spinel dispersată omogen într-o fază de oxid metalic au cea mai mare performanță fotocatalitică pentru descompunerea sistemelor complexe de poluanți Mecanismul de fotodegradare a amestecului este prezentat în figura 2.71



Figura 2.71: Mecanismul de fotodegradare solară a amestecului fenol + pnitrofenol în prezența catalizatorilor studiați.

3. Sisteme biohibride bazate pe hidroxizi dublu lamelari pentru aplicații catalitice

3.1. Generalități

Compozitele de tipul argilelor anionice au fost folosite de nenumărate ori pentru imobilizarea diferitelor enzime [147,152,153]. Aceste materiale au o bună stabilitate fizică și chimică și pot lucra într-un interval de pH de la 5 la 9 [261,262]. Diferite studii au demonstrat că materiale LDHs au biocompatibilitate ridicată și în prezența biomoleculelor acționează ca materiale *soft*, fără un impact semnificativ asupra proprietăților lor structurale și funcționale [67]. În general, foarte multe studii au abordat până acum imobilizarea de enzime pe diferite matrici, cu scopul de a fi utilizate în proiectarea de biosenzori. Deoarece compozitele LDH posedă proprietăți de semiconductori, acestea pot fi materiale promițătoare pentru imobilizarea de enzime, indiferent dacă ele sunt proiectate pentru a fi utilizate în designul de biosenzori sau în scopuri biocatalitice [150].

Imobilizarea enzimei pe LDHs poate fi realizată prin diferite tehnici ca adsorbția directă, coprecipitare sau reconstrucție. Până în prezent, enzime cum ar fi tirozinaza [149], lacaza [146], aminopeptidaza [263], lactat dehidrogenaza [147], transcetolază [153], fructoză-6-fosfat aldolaza, [152] celulaza [145], peroxidaza [155], superoxid dismutaza [264], papaina [265], fosfataza [144], dihidroxiacetona kinaza, piruvat kinaza, triozofosfat izomeraza [154] au fost imobilizate pe ZnAlLDH, MgAlLD, CoAlLDH C-Dots/CoFeLDH, MgZnAlLDH și în continuare au fost utilizate în designul de biosenzori și sinteza enzimatică a diferitelor substanțe chimice. În majoritatea cercetărilor, structurile de tip hidrotalcit nu au efecte negative asupra conformației enzimei sau asupra centrului său activ [266]. Cu toate acestea, în unele studii s-a concluzionat că enzima suferă modificari structurale, ori în timpul imobilizării, aceasta se atașează incorect de matricea LDH, iar situsul sau activ devine inaccesibil. [147] Mai mult, prezența unor metale, cum ar fi nichelul, în structura argilei poate duce la inhibarea enzimei [149].

Peroxidaza (HRP) este o oxidoreductază utilizată de multe ori pentru degradarea de substanțele fenolice (fenol, triclorfenol, p-clorofenoli), în forma sa liberă sau imobilizată. [161]. Enzima are nevoie de un donor de electroni și un agent de oxidare pentru a deveni activă. De obicei, agentul oxidativ este H_2O_2 . Când HRP este activă, ea catalizează polimerizarea fenolilor, când rezultă un compus polimeric insolubil în apă, ce poate fi ușor de separat [267] și mai departe poate fi valorizat în recuperarea metalelor prețioase [268]. Totuși, adăugarea permanentă de H_2O_2 , capacitatea peroxidului și a unor produși de reacție de a inhiba enzima sunt inconveniente majore [269-272].

In acest subcapitol hidroxizi dublu lamelari vor fi sintetizați, caracterizați și utilizați pentru a investiga abilitatea lor de a imobiliza enzima HRP. In plus, materialele conținând aur, derivate din LDHs vor fi testate ca vectori potențiali în activarea HRP și regenerarea NADH din NAD⁺.

3.2. Imobilizarea peroxidazei pe materiale de tip hidroxizi dublu lamelari

3.2.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a LDHs și a hibrizilor HRP-LDHs

Sinteza

Abilitățile compozitelor LDH de a imobiliza HRP au fost investigate pentru materialele bazate pe ZnAl(3/1). Mai întâi, materialul mamă ZnAl(3/1) a fost obținut prin utilizarea metodei de co-precipitare, așa cum a fost detaliat în subcapitolele anterioare. Pornind de la acest material, utilizând metoda reconstrucției, s-au obținut formulări hibride cu aur și grafen. Astfel, 1,5 g de ZnAl proaspăt(3/1) s-au calcinat la 525 ° C timp de 12 ore și s-au adăugat la o soluție apoasă de 150 ml conținând 0,15 g de acetat de aur. Suspensia a fost iradiată timp de 20 de minute cu o lampă solară, de 180 W și agitată timp de 24 de ore. În final, solidul a fost recuperat prin centrifugare, uscat la 60 ° C și denumit Au/ZnAl. Mai departe, 1,25 g de ZnAl(3/1), calcinat la 550 °C, timp de 7 ore, s-au adăugat la o soluție apoasă conținând 0,1 g g-C₃N₄, fiind menținută sub agitare viguroasă timp de 24 de ore la temperatura camerei. Solidul obținut a fost spălat cu apă distilată, recuperat prin centrifugare, uscat la 90 ° C și denumit ZnAl-CN.

Materialele biohidride au fost obținute prin contactul direct al materialelor sintetizate cu HRP. Peroxidaza, 250 U/mg, tip VI, EC 1.11.1.7, a fost achiziționată de la Sigma-Aldrich Chemical Co. HRP a fost imobilizată pe materiale proaspete: ZnAl(3/1), Au/ZnAl și ZnAl-CN, prin adsorbție. Metoda de reconstrucție a fost de asemenea utilizată atunci când ZnAl(3/1) și Au/ZnAl au fost inițial calcinate la 550 ° C și oxizii metalici rezultați ajunși la temperatura camerei, au fost rehidratați într- soluție tampon fosfat continand HRP [144]. Astfel, în cinci cuve de sticlă conținând 60 mg de suporturi s-au adăugat 5 ml de soluție HRP, 200 ug HRP/ml preparate în soluție tampon fosfat 0,1 M, pH = 7. Suspensiile au fost agitate lent timp de 72 de ore. Imobilizarea a fost monitorizată prin evoluția absorbanței HRP la 403nm. După imobilizare, solidele au fost îndepărtate prin centrifugare, spălate de mai multe ori timp de 15 minute cu 5 ml de apă ultra-pură și uscate la temperatura camerei. Probele obținute au fost denumite ZnAl-HRP, Au/ZnAI-HRP, ZnAI-550-HRP, Au/ZnAI-550-HRP, ZnAI-CN-HRP. Pentru a evalua eficiența imobilizării, au fost efectuate teste de activitate pentru soluțiile supranatante rezultate după ciclurile de imobilizare și spălare.

Caracterizarea fizico-chimică

Difractogramele cu raze X prezentate în figura 3.1 arată că co-precipitarea și reconstrucția în acetat de aur conduc la o structură tipică de LDH confirmată de vârfuri ascuțite la $2\Theta = 11,7^{\circ}, 23,5^{\circ}, 34,6^{\circ}, 39,2^{\circ}, 46,9^{\circ}, 60,3^{\circ}$ pentru ZnAl (3/1) și 11,6°, 23,5°, 34,6°, 39,2°, 46,7°, 60,2° pentru Au/ZnAl, atribuite planurilor (003), (006), (012), (018) și (110) planuri [3]. Pe langa faza LDH, A₂O₃ (@) a fost observat pe spectrele XRD ale ZnAl (3/1), la $2\Theta = 19,7^{\circ}$ si 26,7° atribuite planurilor (113) si (012) [273]. Spectrul pentru Au/ZnAl indică prezența unei cantități mici de ZnO (*) [179] și, de asemenea, a AuNPs (*), cu picuri de difracție la 38.1 și 44.1 atribuite planurilor [111] și (200). În timpul imobilizării

HRP pe LDH prin adsorbție directă s-a observat că structura lamelară a hidrotalcitului este conservată (vezi figura 3.1 A-b și B-b). Mai mult, structura stratificată este recuperată după rehidratarea argilei calcinate în soluția enzimatică, dar intercalarea HRP între lamele nu este confirmată. Spectrele XRD pentru ZnAl-550 și Au/ZnAl-550 relevă formarea fazei ZnO și prezența AuNPs [179,274]. Conform unghiului de difracție caracteristic planului (003), distanța între straturi este de 0,75 nm pentru ZnAl(3/1) și 0,76 pentru restul hibrizilor LDH, subliniind prezența anionilor carbonat [3], fiind o indicație suplimentară că enzima a fost adsorbită pe suprafața suportului și nu în spațiul interlamelar.



Figura 3.1: Spectre XRD pentru A) a) ZnAl(3/1), b) ZnAl-HRP, c) ZnAl-550-HRP, d) ZnAl-550; B) a) Au/ZnAl, b) Au/ZnAl-HRP, c) Au/ZnAl-550-HRP, d) Au/ZnAl-550; (*) ZnO, (@) Al₂O₃, (*) Au, (^) KZn(PO₄) H₂O.

Pentru biohidridele LDH-HRP, difractogramele XRD prezintă o mică scădere a cristalinității și, pe lângă semnalele de difracție tipice argilor anionice, a fost înregistrată o altă fază cristalină (^). Această nouă faza a fost asociată, pe baza datelor de referință din dosarele ICDD, cu hidratul de fosfat de potasiu (KZn(PO₄)H₂O). Apariția acestei noi faze este o indicație semnificativă că LDH-urile interacționează cu soluția enzimatică, cel mai probabil cu constituenții soluției tampon. Probabil că are loc o solubilizare a cationilor Zn²⁺ din lamelele argilei [275], reacționând în continuare cu tamponul fosfat de potasiu. Formarea acestei noi faze cristaline a fost confirmată de măsurătorile EDX, care arată că în structura biohidridelor, pe lângă Zn, Al și Au, sunt de asemenea prezenți si cationi precum K și P.

Spectrele FTIR prezentate în figura 3.3 arată benzile caracteristice de vibrație ale materialelor de tip hidrotalcit, ce pot fi atribuite grupelor hidroxil (OH) prezente în structura lameleor (3450 cm⁻¹), apa interlamelară ce are un maxim de absorbție la 1622 cm⁻¹, semnal bine definit numai în cazul materialului ZnAl(3/1) (vezi figura 3.3 Aa) și anionului din spațiul interlamelar, ce este pentru toate eșantioanele CO_3^{2-} , cu un vârf intens la 1360 cm⁻¹ [25]. Deoarece reconstrucția compozitului ZnAl(3/1) calcinat a fost efectuată într-o soluție de



Figura 3.3: Spectre FTIR pentru a) ZnAl(3/1), b) ZnAl-550-HRP, c) ZnAl-HRP, d) ZnAl-CN-HRP, e) HRP, f) Au/ZnAl, g) Au/ZnAl-550-HRP, h) Au/ZnAl-HRP.

Au $(C_2H_3O_2)_3$, pe lângă anionul carbonat, pentru proba Au/ZnAl, a fost identificat un semnal suplimentar la 1564 cm⁻¹ ce ar putea fi atribuit modurilor de întindere anisimetrice ale anionilor COO⁻ [251]. Spectrul FTIR pentru HRP liberă prezintă benzi de adsorbție tipice la 2976 și 2888 cm⁻¹ care sunt caracteristice pentru legătura C-H. In plus, mai apar benzi de

vibratie la 1665, 1535, 1446 cm⁻¹ atribuite legării amidă I și amidei II [276]. Pentru biohibrizii LDH-HRP, spectrele FTIR prezintă unele particularități care ar putea fi atribuite prezenței enzimei pe suprafața materialului. Benzile tipice de vibrație care au fost observate pentru enzima liberă au fost identificate pentru materialele LDHs-HRP, dar cu o mică deplasare a benzilor de vibrație către lungimi de undă mai mici. Această schimbare poate fi o indicație a schimbărilor structurale ale enzimelor ca denaturare sau distrugeri ale structurii. Prezența g-C₃N₄ este indicată de vârfurile de absorbție la 1573, 1250 și 808 cm⁻¹ atribuite modurilor de vibrație ale C-N și cel al inelului triazinic (vezi figura 3.3-d) [221]. Un vârf intens a fost înregistrat pentru toate materialele bio-hibride în jurul valorii de 1042 cm⁻¹ și au fost asociate vibrațiilor caracteristice ionului PO₄³⁻ [277]. Prezența anionului PO₄³⁻ poate fi o indicație pentru formarea fazei KZn(PO₄)H₂O.

Imaginile TEM pentru ZnAl(3/1) proaspăt sunt prezentate în figura 3.5-A și prezintă morfologia tipică caracteristică pentru compozitele LDH, cu plachete largi, de dimensiuni



Figura 3.5: Imagini TEM pentru A) ZnAl(3/1), B) Au/ZnAl, C) HRTEM pentru NP de Au, D) distribuția NPs de Au pe matricea LDH.

cuprinse inte 250-500 nm [47]. După reconstrucția în solutia apoasă de Au(C₂H₃O₂)₃, nanoparticulele de aur au fost observate (vezi figura 3.5 B), ca niște pete mai întunecate despersate pe o suprafață de mari dimensiuni atribuită cu matricea LDH. Distribuția NPs de Au pe ZnAl(3/1)LDH în funcție de dimensiuni a fost determinată luând în considerare imaginea TEM prezentată în figura 3.5-B și excluzând regiunile întunecate cu un conținut ridicat de aur. Conform rezultatelor prezentate în figura 3.5-D, pe suprafața argilei, NPs au diametre cuprinse între 5-30 nm, cu o cantitate semnificativă de particule cu diametre între 10-15 nm. Pe baza distanței interplanare de 0,25 nm, atribuită planurilor {111} ale aurului cubic cu fețe centrate, ce reiese din imaginea HRTEM prezentată în figura 3.5-C, se poate concluziona că punctele întunecate sunt nanoparticule de Au [278].

Procesul de imobilizare conduce la modificări ale morfologiei materialelor LDH, așa cum se poate observa din figura 3.7. Pentru toate materialele LDH-HRP, după imobilizare



Figura 3.7: Imagini TEM pentru A) ZnAl-HRP, B) și C) Au/ZnAl-550-HRP, D-F) Au/ZnAl-HRP.

s-a observat că noile composite biohidride prezintă o morfologie mai complexă în comparație cu cele discutate mai sus. Aspectul caracteristic LDH este greu de observat din cauza formării de agregate dense pe suprafața (vezi figura 3.7 A-C), ce ar putea fi atribuite prezenței enzimei [153]. În cazul biohibridelor ce conțin Au, nanoparticulele nu pot fi remarcate la fel de ușor ca în cazul nanocompozitului Au/ZnAl (a se vedea figura 3.7 B).

O nouă fază a fost observată pentru toate biocompozitele LDH-HRP ce apare sub forma unor dreptunghiuri micrometrice (a se vedea figura 3.7 A și C-F). Măsurătorile EDX efectuate pentru biocompozite arată că zonele materialelor care au diferite morfologii au, de asemenea, o compoziție elementară diferită. Astfel, în funcție de compoziția elementară, pot fi identificate faze distincte. În acest sens, ar putea fi subliniat faptul că dreptunghiurile micrometrice bine definite au un conținut semnificativ de P, O, Zn și K și numai 1% din Al. Din acest motiv și luând în considerare datele XRD, credem că aceste dreptunghiuri pot fi atribuite cu hidratului de fosfat de zinc de potasiu (zonele 1, 4, 8, 9). Conținutul redus de Al poate fi atribuit prezentei unei faze de Al₂O₃, ce a fost identificata și cu analiza XRD. Pentru restul zonelor (bine întinse sau încrețite), datele EDX au arătat că au un conținut mic de 1% din K și între 2-3 % P. Deoarece aceste arii prezintă morfologii apropiate cu cele ale materialelor inițiale, s-a ajuns la concluzia că acestea pot fi atribuite matricei LDH (zonele 2, 3, 5, 6, 7).

3.2.2. Determinarea cantității HRP imobilizate pe suporturile LDH și LDH-550

Un pas important când se lucrează cu enzime imobilizate este determinarea eficienței imobilizării și a cantității de enzimă adsorbită pe suport. În acest sens, în timpul imobilizării, profilurile UV-Vis ale HRP au fost monitorizate la un maxim absorbție de 403 nm. Imobilizarea a fost considerată a fi terminată când nu a fost observată nicio modificare a profilului spectrului HRP. S-a remarcat că imobilizarea pe ZnAl-550 și Au/ZnAl-550 a fost mai rapidă decât în cazul materialelor necalcinate. O explicație a acestui fapt poate fi formarea porilor în timpul calcinării, când moleculele de anion și de apă sunt eliberate din structura materialului. Astfel, în decursul a 24 de ore de contact, toată enzima a fost adsorbită pe LDH-urile activate termic, în timp ce pentru probele proaspete și reconstituite, adsorbția a fost efectuată timp de 72 ore.

Pentru a avea o cuantificare bună a cantității de proteină adsorbita pe suport, s-a făcut o curbă standard de activitate pentru HRP liberă. HRP este o enzimă care are nevoie de un agent oxidant pentru utilizarea sa, iar în acest caz a fost folosit H_2O_2 [161]. De asemenea, ca substrat a fost utilizat și ABTS_{red}-ul, (acid 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazol-6-sulfonic) (Sigma Aldrich,> 98%). In timpul reacției enzimatice ABTS-ul este oxidat, când un produs colorat rezultă, cu un maxim de absorbție la 415 nm.Curba standard a activității HRP s-a construit astfel: la un volum total de 2400 uL soluție tampon fosfat, cu o concentrație în ABTS_{red} și H_2O_2 de 40 μ M și, respectiv, 20 μ M s-au adăugat cantități diferite de HRP (0,001, 0,005, 0,05, 1, 2,5, 10, 20 μ g). Testele enzimatice au fost monitorizate la 415 nm timp de 10 minute. Folosind partea liniară a fiecărui grafic obținut, s-au determinat vitezele inițiale de reacție (Vi) (Vi a fost considerată drept valoarea pantei dreptei). Curba standard a activității HRP (figura 3.9) a fost obținută prin reprezentarea vitezei inițiale în funcție de cantitatea corespunzătoare a enzimei.



Figura 3.9: Curba standard de activitate a HRP liberă; 40 µM ABTS_{red} și 20 µM of H₂O₂.

Curba obținută a fost utilizată pentru determinarea cantității de enzimă pentru soluții particulare, ca cele rezultate după imobilizare sau după spălarea enzimei suport. Pentru aceasta, într-o soluție tampon fosfat de 2400 uL, cu o concentrație în ABTS_{red} și H₂O₂ de 40 μ M și, respectiv, 20 μ M, s-a adăugat soluție enzimatică și s-a efectuat reacția. Vi rezultat a fost utilizat pentru a determina cantitatea de enzimă ce a fost utilizată pentru test. S-a observant că materialele activate termic sunt capabile să imobilizeze aproape toată cantitatea de enzimă. Materialele proaspete, ZnAl(3/1) și Au/ZnAl au o capacitate mică de adsorbție (a se vedea tabelul 3.4).

Tabelul 3.4: Cantitatea de HRP adsorbită pe compozitele LDHs și LDHs-550.

Proba	ZnAl(3/1)	Au/ZnAl	ZnAl-550	Au/ZnAl-550	ZnAl-CN
HRP adsorbită, μg/mg	3.5	0.5	16.5	16	3

3.2.3. Determinarea parametrilor cinetici pentru HRP libera și bihibrizii de tipul LDHs-HRP.

Pentru determinarea parametrilor cinetici, V_{max} și K_M , testele enzimatice s-au efectuat în soluție tampon fosfat, pH = 7 utilizând o concentrație constantă de ABTS_{red} (50 μ M) și variind concentrația de H₂O₂ în intervalul 1,5-25 μ M. La aceste soluții s-a adăugat 1 μ g de HRP liberă, respectiv 5 mg de LDH-HRP. Reacțiile au fost monitorizate prin evoluția absorbanței la 415 nm. Pentru enzima liberă, evoluția reacției a fost monitorizată automat, în timp ce pentru enzima imobilizată s-au prelevat probe la intervale de timp determinate, solidul a fost îndepărtat prin centrifugare și supernatantul a fost analizat spectrofotometric. Dependența f ($[ABTS_{oxd}] = t$ a fost reprezentată grafic și partea liniară a graficului a fost utilizată pentru a determina viteza inițială a reacției de oxidare. Vi-ul obținut a fost utilizat în continuare pentru determinarea parametrilor cinetici, folosind reprezentarea grafică a ecuației Lineweaver-Burk. Testele au fost efectuate de trei ori în aceleași condiții, iar rezultatele au fost prezentate ca o medie între ele.

Pentru HRP imobilizată, s-a observat că ZnAI-HRP, Au/ZnAI-HRP și Au/ZnAI-550-HRP nu au activitate enzimatică. O explicație a acestui comportament poate fi cantitatea mică de enzimă pe suport în cazul ZnAI-HRP și Au/ZnAI-HRP. Cu toate acestea, Au/ZnAI-550-HRP are o cantitate semnificativă de enzimă pe suprafața sa și chiar și așa, nu a fost observată nicio activitate. În legătură cu aceasta, studiile anterioare au arătat că enzimele cum ar fi catalaza și peroxidaza pot fi afectate negativ de către NPs de Au sau ZnONPs [279,280]. În aceste condiții, reacțiile de oxidare a ABTS_{red} pentru HRP imobilizată au fost efectuate în continuare numai pentru ZnAI-550-HRP și ZnAI-CN-HRP.

În tabelul 3.5 sunt enumerați parametrii cinetici, V_{max} și K_M determinați din fiecare reprezentare grafică a ecuației Lineweaver-Burk. De asemenea, viteza maximă specifică a fost calculată ca raport între V_{max} și cantitatea de enzimă utilizată în reacția biocatalitică. O creștere de 10 ori a V_{max} a fost observată în cazul ZnAI-CN-HRP, comparativ cu ZnAI-550-HRP. Pe baza valorii K_M , afinitatea enzimei pentru substraturi scade de mai multe ori în cazul enzimei imobilizate, așa cum este indicat de creșterea valorii K_M . Acest comportament poate fi explicat prin o anumită limitare a difuziei substraturilor sau prin eventuale schimbări de conformatie ale enzimei. Mai mult, scăderea activității poate fi un efect al legării necorespunzătoare a enzimei pe suprafața solidă, când situsul activ al enzimei poate fi blocat [147].

Tabelul 3.5: Parametrii cinetici ai enzimei libere și imobilizate pe material de tipul LDH.

Sistem enzymatic	K _M (μ M)	V _{max} (µM/min)	V _{max} specific (µM/min/mg HRP)
HRP liber	1.5	0.18	180
ZnAl-550-HRP	3.4	0.08	1
ZnAl-CN-HRP	14	0.27	18
ZnAl-HRP		Activitate ne	ecuantificabilă
Au/ZnAl-HRP		Activitate ne	ecuantificabilă
Au/ZnAl-550-HRP		Activitate ne	ecuantificabilă

3.3. Degradarea fenolului și degradarea foto-enzimatică în prezența biohidridului HRP-ZnAl(2/1)LDH

Anumiți poluanți organici, ca fenolii, pot fi atât fotodegradați, folosind un catalizator și o sursă de lumină [120], cât și biodegradați, utilizând o enzimă [161] sau un microorganism [286]. În acest context, combinația dintre foto- și biodegradare poate fi o soluție pentru îndepărtarea mai multor poluanți în același timp sau progresiv, prin utilizarea abordării în cascadă (pas cu pas). Din acest motiv, în acest subcapitol, material de tipul LDH-HRP și LDH vor fi utilizate pentru degradarea fenolului. Deci, soluția fenolică va fi fotodegradată sub lumina solară, în prezența LDH, biodegradată în prezența HRP și LDH-HRP, dar și degradată foto-enzimatic în prezența LDH-HRP și a iradierii solare.

3.3.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnAl(2/1)LDH și a HRP-ZnAl(3/1)LDH

Sinteza

Materialul ZnAl(2/1) a fost obținut folosind co-precipitarea, asa cum a fost descris în capitolele anterioare. Pentru obținerea biohibridului, 0.125 g material proaspăt, a fost calcinat la 550 °C, iar produsul rezultat, dupa racire, a fost adăugat la o soluție de tampon fosfat cu un conținut de 40 µg HRP. Dupa imobilizare, produsul a fost recuperat, spălat și denumit ZnAl-HRP.

Caracterizarea fizico-chimică

Materialele rezultate după co-precipitare și imobilizare, prezintă structura de tip hi drotalcit, așa cum reiese din spectrele XRD (figura 3.14), cu unghiuri de difracție caracteristice acestor materiale, așa cum a fost prezentat în capitolele anterioare. Și de această dată, s-a observat apariția unei noi faze cristaline, atribuită KZn(PO₄) H₂O. Analiza FTIR (figura 3.15) confirmă prezența enzimei în noul material prin intermediul unor benzi de vibrație apărute în jurul valorilor 1665 cm⁻¹, 1357 cm⁻¹ și 1445 cm⁻¹, ce sunt atribuite grupelor amidă I și amidă II [276]. Apar de asemenea pe spectrul IR și semnalele caracteristice argilelor anionice, acest lucru fiind o indicație că structura lamelară a fost obținută în urma proceselor de sinteză. Proprietățile optice au fost investigate prin analiza UV-Vis. Materialul ZnAl(2/1) prezintă un maxim de absorbție în regiunea UV a spectrului (vezi figura 3.16), în timp ce, după imobilizarea HRP, profilul de absorbție al materialului inițial se deplasează în regiunea roșie a spectrului. O bandă de adsorbție intensă poate fi observată la 345 nm și ea poate fi atribuită prezenței ZnO în biocatalizatorul ZnAl-HRP [225]. Spectrul UV-Vis al HRP a fost obținut prin diluarea enzimei în KBr. Prezența enzimei

pe LDH poate fi confirmată de picul de la 403 nm care poate fi remarcat în cazul HRP și ZnAI-HRP [287].



Figura 3.2: Spectre XRD pentru a) ZnAl(2/1) si b) ZnAl-HRP; (*) KZn(PO₄) H₂O; (+) ZnO.



Figura 3.3: Spectre FTIR pentru a) ZnAl(2/1), b) ZnAl-HRP, c) HRP

Imaginile TEM din figura 3.17 arată că ZnAl(2/1) are o morfologie tipică pentru materialele LDH, formata din plachete mari care se suprapun între ele [47]. După imobilizare, morfologia materialului devine destul de complexă, cu o asociere de morfologie tipica pentru



Figura 3.4: Spectre UV-Vis pentru ZnAl(2/1), ZnAl-HRP, HRP.



Figura 3.5: Imagini TEM pentru A) and B) ZnAl(2/1) si C), D) ZnAl-HRP.

LDH, enzime și dreptunghiuri micrometrice (vezi figura 3.17 C și D). Agregatele întunecate pot fi observate pe imaginile TEM și pot fi atribuite prezenței enzimelor de pe suprafață [153].

3.3.2. Descompunerea fenolului prin fotodegradare, degradare enzimatică și fotoenzimatică în prezența ZnAI (2/1), HRP și ZnAI-HRP.

a) Indepărtarea fenolului prin fotodegradare solară în prezența ZnAl(2/1)

Degradarea fenolului s-a realizat așa cum a fost descris în capitolul 2, utilizându-se 1g catalizator pe L de soluție poluanta, concentrația fenolului fiind 265 μ M. În timpul fotodegradării, picul caracteristic fenoului descrește în timp, iar după 7 ore de iradiație solară, 20 % din cantitatea inițială de fenol a fost îndepărtată.

b) Indepărtarea fenolului prin biodegradare enzimatică în prezența HRP libere și a biohibridului ZnAI-HRP

Mecanismul general al fotodegradării fenolului a fost discutat și abordat de mai multe ori în această teză. Cu toate acestea, trebuie luate în considerare și reacțiile generale implicate în polimerizarea fenolului, în prezența unei oxidoreductaze ca HRP. În figura 3.19 sunt explicate principalele reacții care au loc atunci când fenolii sunt biodegradați enzimatic.



Figura 3.6: Polimerizarea enzimatică a fenolului (PhOH) în H₂O₂ și HRP.

Experimentele enzimatice au fost efectuate în apă ultra-pură, pH = 6,5. Într-un volum de reacție de 25 mL, concentrația de H_2O_2 a fost de 750 μ M și concentrația de fenol a fost de 265 μ M. După prelevarea primei probe, s-au adăugat 8 μ g de HRP liber în soluție. Astfel că, în cazul experimentului cu enzimă liberă (8 μ g HRP liberă) s-au adăugat 20 μ L de soluție enzimatică (preparată în tampon fosfat, pH = 7), în timp ce pentru testul enzimatic susținut sa utilizat 0,025 g de ZnAlLDH-HRP conținând aproximativ 8 μ g de HRP imobilizat. Fiecare probă a fost centrifugată pentru îndepărtarea solidelor (catalizator + precipitat). Supernatantul a fost utilizat pentru a aprecia polimerizarea fenolului.

Profilurile spectrelor UV-Vis ale fenolului obținute pentru biodegradarea sa enzimatică utilizând HRP liber și ZnAl-HRP sunt prezentate în figura 3.20. În cazul



Figura 3.7: Spectre UV-Vis pentru descompunerea enzimatică a fenolului în prezența A)
HRP și C) ZnAl-HRP; B) degradarea Ph cu HRP: 1) inițial; 2-3) Ph in primele 5'; 4) Ph după
20', 5) Ph după 7 h; 6) sedimentarea solidului; D) degradarea Ph cu ZnAl-HRP 1) inițial; 2)
Ph dupa adăugarea ZnAl-HRP; 3-4) Ph după 180' si 300'; 5-6) Ph după 7h și după
sedimentarea solidului.

experimentelor cu HRP liberă, s-a observat că se obține un nou compus. În primele 5 minute, culoarea soluției se modifică de la incolor până la galben (vezi figura 6.19 B), iar pe profilele UV-Vis un nou pic apare la 399 nm. Evoluția acestui nou pic a fost de a crește rapid în primele 5, după care a început să scadă. Concomitent cu scăderea absorbanței la 399 nm, s-a format un precipitat. Cantitatea precipitatului crește în timp (figura 3.20 B 1-6), iar după 7 ore soluția este aproape incoloră. Biodegradarea enzimatică totală la sfârșitul testului a fost de 41% din concentrația inițială de fenol.

Și în prezența HRP imobilizate are loc reacția de polimerizare, dar este mult mai lentă comparativ cu cea a enzimei libere (vezi figura 3.20 C). Produsul intermediar poate fi detectat cu spectrofotometrul după 130 de minute de reacție. Reacția are aceeași evolutie ca HRP liberă: vârful la 399 nm crește până la atingerea unui maxim și apoi scăderea începe cu formarea polifenolului. În decurs de 7 ore, 25% din cantitatea inițială de fenol au fost transformate în produse.

c) Indepărtarea fenolului prin degradare foto-enzimică în prezența ZnAl-HRP și a luminii solare.

Sistemul de reacție și protocolul de testare au fost similare cu cele descrise în secțiunea 2.1, dar în acest caz amestecul de reacție conține fenol (265 μ M), ZnAl-HRP (1 g/l) și H₂O₂ (750 μ M), și au fost amestecate împreună sub iradiere solară timp de 7 ore. Concentrația de fenol scade încet și după 130 de minute de iradiere, apare un nou vârf la 410 nm. În zona mărită a figurii 3.21 se poate observa că acest vârf are aceeași evoluție ca in cazul testelor prezentate în secțiunea anterioară, cu o creștere până la o valoare maximă urmată de o scădere. La sfârșitul testului, 35% din fenol a fost eliminat din concentrația sa inițială.



Figura 3.8: Spectre UV-Vis pentru degradarea foto-enzimatică a fenolului în prezența ZnAl-HRP, a luminii solare și H₂O₂
În tabelul 3.7 sunt prezentate performanțele catalitice obținuțe pentru degradarea fenolului prin utilizarea de sisteme catalitice diferite. După 7 ore de iradiere, ZnAl(2/1) fotodegradează 20% din cantitatea initiala de fenol, în timp ce biohibridul ZnAl-HRP îndepărtează 35%. Din figura 3.21 se observă că poluantul este degradat prin ambele căi: fotodegradarea și polimerizarea enzimatică. Aceste procese sunt susținute de scăderea absorbției la 270 nm și, de asemenea, de apariția unui nou pic la 410 nm, care poate fi atribuit formării radicalilor liberi aromatici. Comparând cu rezultatele obținute pentru ZnAl-HRP fără iradiere se poate concluziona că degradarea fenolului în prezența iradierii solare și a ZnAl-HRP este în principal un proces de fotodegradare.

Tabelul 3.7: Performanțe în degradrea fenolului prin utilizarea de diferite sisteme catalitice.

	ZnAl(2/1) + h	HRP	ZnAl-HRP	ZnAl-HRP + h
% degradare a	20	41	25	35
fenolului				
Tipul de	fotodegradare	Polimerizare	Polimerizare	Mai mult
degradare		enzimatică	enzimatică	fotodegradare

3.4. Investigarea sistemelor de tipul HRP - Au/ZnAlLDH

În capitolul 3.2 s-a observat că după imobilizarea HRP pe Au/ZnAl și Au/ZnAl-550, materialele rezultate nu au activitate enzimatică. Caracterizarea materialelor a demonstrat că dupa imobilizare enzima se găsește într-un mediu complex, cu multe faze cristaline identificate în timpul mai multor analize diferite. Totuși, aceleași faze au fost observate și pentru materialul ZnAl-550-HRP și în acest caz HRP își păstrează o parte din activitatea sa inițială. Din acest motiv, investigarea sistemelor HRP-Au/ZnAl a fost abordată în continuare.

3.4.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a Au/ZnAlLDH.

Sinteza și caracterizarea nanocompozitului Au/ZnAl(3/1)LDH au fost abordate în subcapitolul 3.2.1.

3.4.2. Influența HRP asupra eliberării nanoparticulelor de Au de pe suprafata AuNPs/ZnAl (3/1)

Pentru a determina modul în care mediul enzimatic interacționează cu materialul Au/ZnAl, diferite cantități de Au/ZnAl (2,25,9, 22,5; 45 mg) au fost dispersate în 5 ml soluție tampon fosfat conținând 0,45 mg HRP. Astfel, raportul dintre HRP și Au/ZnAl a fost de 1/5, 1/20, 1/50 și 1/100. Timp de 5 zile, la intervale de timp determinate, solidul a fost îndepărtat

prin centrifugare și s-au monitorizat profilele UV-Vis și activitatea enzimatică a supernatantului, utilizând 1 μ L de supernatant. Pentru toate testele de activitate, s-a adăugat la o soluție de soluție tampon de 2,5 mL conținând și 2.5 mL soluție tampon fosfat conținând 40 μ M ABTS_{red} și 20 μ M de H₂O₂. În figura 3.23 sunt prezentate profilele UV-Vis ale



Figura 3.9: Spectre UV-Vis ale sistemelor HRP:Au/ZnAlLDH: a) 1/5, b) 1/20; c) 1/50, d) 1/100 și schimbarea culorii în timpul a 5 zile de contact pentru sistemul HRP:Au/ZnAl = 1/20.

soluțiilor HRP după îndepărtarea Au/ZnAl prin centrifugare. Supernatantul a fost analizat spectrofotometric într-un interval cuprins între 200-700 nm. S-a observat că culoarea initială a solutiei HRP se schimbă, atunci când este în contact cu Au/ZnAl, de la o nuantă de galben, la nuante de roz spre violet (vezi figura 3.23). De asemenea, atunci când culoarea supernatantului începe să se schimbe, pe spectrele UV-Vis (figura 3.23 a-d), apar picuri bine definite între 500-536 nm, care sunt atribuite pentru NPs de Au [274]. În timpul contactului, intensitatea vârfurilor atribuită aurului crește, iar lungimile de undă sunt mutate mai mult în regiunea roșie a spectrului, în timp ce intensitatea culorii violet crește. Aceast comportament este atribuit eliberării NPs de Au de pe suprafata Au/ZnAlLDHs în soluția de HRP [306], iar deplasarea absorbantei caracteristică NPs de AuN la lungimi de undă mai mai mari este atribuită cresterii diametrului NPs [307]. În cazul sistemului HRP: Au/ZnAlLDH = 1/100, a fost observată resorbția NPs de Au, și totodată o adsorbție semnificativă a HRP pe suprafața argilei, probabil datorită cantității mai mari de solid. După cum s-a mentionat deja, profilurile spectrometrice ale HRP arată o scădere semnificativă a absorbanței numai când raportul enzimă:argilă a fost 1/100. Totuși, când activitatea supernatantului a fost determinată și comparată cu activitatea HRP inițială, înainte de contactul său cu LDH, s-a observat că, cu excepția sistemului 1/5, activitatea scade în timp și scăderea poate fi direct corelată cu cantitatea de AuNPs în soluție (vezi figura 3.23 ad și figura 3.24), deoarece adsorbția enzimei pe suport a fost nesemnificativă. Aceasta ar putea fi o indicație că NPs de Au ar putea induce o inhibare a enzimei [280] sau o inactivare, datorită legării aurului la situsul activ al HRP [309].



Figura 3.10: Evoluția activității HRP în timpul a 5 zile de contact cu diferite cantități de Au/ZnAlLDH: a) 1/5; b) 1/20, c) 1/50, d) 1/100.

Când pH-ul a fost măsurat, a fost observată o creștere a valorii sale de la 7 la 10,5 în timpul celor 5 zile de contact. Din acest motiv, scăderea activității enzimelor poate fi corelată și cu efectul modificării pH-ului [310]. Creșterea valorii pH-ului poate fi o consecință a dispersiei LDH-lui, dar în același timp, tendința de a ajunge la valori mari ca 10, poate

sublinia o posibilă dizolvare a argilei [275,311]. În urma investigării diferitelor sisteme HRP:LDH timp de 5 zile (HRP:ZnAl = 1/50 și HRP:Au/ZnAl = 1/50, pH = 7) s-a ajuns la concluzia că pH-ul influențează atât eliberarea de nanoparticule, cât și adosrbția și activitatea enzimatică a HRP.

Conform evoluției sistemului HRP:ZnAl = 1/50, enzima este adsorbită pe suprafața LDH-urilor într-o proporție de 33% în raport cu cantitatea sa inițială. Mai mult, activitatea sa în supernatant scade cu 33% comparativ cu performanța inițială, pierderea de activitate fiind într-o buna concordanță cu cantitatea de enzimă adsorbită pe suport. pH-ul soluției a fost la sfârșitul celor 5 zile de contact la o valoare de 7,5. Acest rezultat, corelat cu cele exprimate mai sus, arată că prezența nanoparticulelor de aur în soluția enzimatică este capabilă să influențeze activitatea HRP și pH-ul, cel mai probabil prin favorizarea dizolvarii argilei. În cazul sistemului HRP: ZnAl(3/1) = 1/50, variația pH-ului a fost mică și la pH în jur de 7, 33% din cantitatea de enzimă a fost imobilizată. Sistemele care conțin aur au arătat că o creștere a pH-ului duce la o adsorbție scăzută a enzimelor. Pentru sistemul HRP:Au/ZnAl = 1/50, la care pH-ul a fost menținut constant la valoarea 7, rezultatele au aratat că, capacitatea de adsorbție a suportului este îmbunătățită, arătând că o valoare a pH-ului egală cu 7 favorizează formarea de interacțiuni electrostatice puternice între lamelele încărcate pozitiv și biomoleculele încărcate negativ [284].

În tabelul 3.9 este prezentată pierderea activității HRP în supernatant pentru trei sisteme reprezentative, cauzate de adsorbția HRP și prezența NPs de Au. Conform evoluției sistemului HRP:ZnA1 = 1/50, pH = 7, după 24 de ore de contact, 32% din HRP au fost adsorbită din cantitatea inițială de enzimă și în soluție a rămas 68% enzimă. Cu toate acestea, activitatea reziduală a supernatantului, ce corespunde măsurătorii la 24 ore de

Tabelul 3.9: Pierderea activității HRP după menținerea acesteia timp de 5 zile în contact cu diferite suporturi LDH

Perdere de activitate provocată de (%)			
Sisteme HRP:LDH = 1/50	Adcorptio HPD	Prezența NPs de	Pierdere totală de
	Ausorbția Hitr	Au	activitate (%)
HRP:ZnAl, pH = 7	33	-	33
HRP:Au/ZnAl, pH=7	32	45	77
HRP:Au/ZnAl, pH crescând	7	63	70

contact, arată că activitatea HRP este de numai 23% față de cea inițială. Astfel, în condiții de pH constant, scăderea rapidă a activității HRP, pentru sistemul HRP:Au/ZnAI = 1/50, nu poate fi corelată numai cu adsorbția, ci și cu o inhibare sau denaturare a peroxidazei din cauza contactului cu NPs de Au. Mai mult, se poate observa că la pH = 7, pentru HRP:ZnAI = 1/50 și HRP:Au/ZnAI = 1/50, absorbția enzimelor pe suprafață este de 33% și 32% respectiv. Totuși, numai pentru sistemul fără aur, activitatea enzimatică în supernatant poate fi corelată cu de imobilizarea sa pe suport. Sistemul care conține Au/ZnAI prezintă o pierdere suplimentară a activității enzimei de 45%, care poate fi atribuită prezenței aurului. Comparând ultimele două sisteme din tabelul 3.9, s-ar putea concluziona că creșterea pH-ului induce o pierdere suplimentară de activitate de 18% (de la 45% la 63%), concomitant cu creșterea cantității de aur eliberată.Datele obținute arată că un pH neutru

impune o eliberare mai redusă a aurului, în timp ce creșterea progresivă a pH-ului implică creșterea conținutului de AuNPs în soluție și, prin urmare, o pierdere rapidă a activității HRP.

Un pas important în acest punct al studiului este de a stabili dacă eliberarea aurului poate fi asociată sau nu cu prezența enzimei în soluția tampon. Din acest motiv, materialul

Au/ZnAl a fost dispersat în 1 mL tampon fosfat, pH = 7, 0,1 M. Un alt experiment a fost realizat prin adăugarea nanocomozitului Au/ZnAl la o soluție de catalază preparată în tampon fosfat, pH = 7, 0,1 M. A doua enzimă, catalază, a fost utilizată pentru a afla dacă eliberarea de NPs de pe suprafața LDH este dependentă de tipul de enzime sau putem obține același efect prin utilizarea altor enzime diferite de HRP. În figura 3.27 se pot observa profilele UV-Vis ale soluțiilor investigate. Pentru soluția tampon, s-a observat adsorbția și desorbția alternativă

a NPs din suprafața Au/ZnAl. Cantitatea maximă de NPs de Au atinsă după 96 de ore de



Figura 3.11: Spectre UV-Vis pentru soluția tampon:Au/ZnAl = 1:50 și catalaza:Au/ZnAl = 1:50.

contact este de 18 ori mult mai mică decât pentru sistemul HRP:Au/ZnAl cu un raport de 1/50 (vezi figura 3.23 c). Totuși, după 5 zile, aproape toate NP-urile sunt resorbite pe suprafața suportului. pH-ul soluției tampon crește până la 9,5. În cazul soluției de catalază, desorbția AuNPs a fost foarte intensă în comparație cu soluția tampon, dar de 6 ori mai mică decât HRP:Au/ZnAl (raportul de 1/50). Aceste rezultate arată că indiferent de tipul enzimei, prezența acesteia în sistem favorizează eliberarea aurului de pe suprafață.

3.5. Activarea HRP și regenerarea NADH de la NAD⁺ prin folosirea Au/ZnAlLDH în prezența radiației luminoase

3.5.1. Activarea HRP de către Au/ZnAlLDH în prezența radiației luminoase

Hidroxizii dubli stratificați sunt materiale semiconductoare capabile să genereze agenți redox atunci când sunt excitați de surse de energie corespunzătoare (lumină, temperatură). Din acest motiv, ei au fost abordați intens în procesele fotocatalitice, când reacția a fost inițiată de o sursă de lumină [225]. Pe de altă parte, enzimele din clasa oxidoreductazelor pot fi un biocatalizator excelent pentru oxidarea unei varietăți de compuși. Peroxidaza este o enzimă de model ce catalizează oxidarea unui număr mare de derivați fenolici. În general, HRP are nevoie, alături de substratul cu rol de donor de electroni, de un agent de oxidare, ce în majoritatea situațiilor acest compus este H_2O_2 [161,267]. Cu toate acestea, reacția este dependentă de H_2O_2 și, din acest motiv, este necesară adăugarea constantă a acestui agent. Mai mult, expunerea îndelungată a HRP la H_2O_2 va duce la denaturarea ireversibilă a enzimei [321].

În subcapitolul 3.3 s-au investigat, timp de 5 zile, sisteme formate de HRP și Au/ZnAl. Rezultatele au arătat că prezența aurului a indus o pierdere dramatică a activității HRP. Cu toate acestea, pentru sistemele care conțin cantități mici de Au/ZnAl (de exemplu HRP: LDH = 1/5, 1/20) activitatea enzimatică este menținută în timpul contactului, fără modificări semnificative ale activității. Mai mult, nu s-a observat o adsorbție semnificativă a HRP pe suportul solid. Pornind de la aceste rezultate, pentru prima dată, s-a considerat că LDH-urile pot fi cuplate cu HRP și folosite sub iradiere, unde solidul vor acționa ca un generator de specii oxidante, activând enzima. Cu toate acestea, materialele obișnuite de tip LDH ca ZnAlLDH sau MgAlLDH au un răspuns fotocatalitic scăzut și din acest motiv nanocomposite precum NPs/LDH pot fi folosite pentru a crește sensibilitatea la lumină a acestor materiale.

Pentru acest studiu am folosit materialul Au/ZnAl a cărui sinteză și caracterizare a fost prezentată în subcapitolul 3.2.1. Astfel, toate testele au fost efectuate într-un volum total de 2500 μ L de ABTS_{red}, 100 μ M, preparat în tampon fosfat, 0,1 M, pH = 7. La acest volum au fost adăugate cantități diferite de Au/ZnAl (0,4, 1,2, 1,6 și 2 mg / ml). Experimentele au fost făcute în absența sau în prezența HRP. Când a fost prezentă enzima, s-a adăugat 1 μ g HRP la soluție. Iradierea a fost furnizată de o lampă de deuteriu, de 50 W, la o lungime de undă de 400 nm. Reacția a fost monitorizată în decurs de 2 ore prin înregistrarea spectrului UV-Vis al produsului, ABTS_{oxd}. Pentru aceasta, amestecul a fost centrifugat și supernatantul a fost analizat spectrofotometric.



În figura 3.30 este prezentat profilul spectrului UV-Vis pentru formarea $ABTS_{oxd}$ în timpul iradierii, cu și fără prezența peroxidazei. Se poate observa că $ABTS_{red}$ poate fi oxidat

Figura 3.30: Spectre UV-Vis ale ABTSoxd pentru a-d) 1-5 mg Au/ZnAl obținute în absența HRP și în prezența iradierii UV și e-h) 1-5 mg Au/ZnAl cu HRP în prezența iradierii UV.

numai cu lumină, în prezența Au/ZnAl (figura 3.30 a-d). Acest lucru este posibil datorită speciilor redox generate de catalizatorul iradiat. Oxidarea $ABTS_{red}$ este proporțională cu cantitatea de Au/ZnAl, cea mai bună performanță fiind obținută cu 5 mg de catalizator. Când enzima este prezentă în soluție, se observă o creștere a cantității produsului, ca urmare a prezenței HRP. Contribuția enzimei poate fi observată din profilele UV-Vis exprimate în figura 3.30 e-h. Oxidarea $ABTS_{red}$ are loc ca o combinație între oxidarea fotocatalitică și oxidarea enzimatică inițiată de lumină. În general, peroxidaza poate fi activată de agenți ca H₂O₂ sau ROOH, ce sunt agenți de oxidare. Cu toate acestea, în absența peroxizilor, speciile redox generate de excitarea luminoasă a Au/ZnAl pot oxida enzima, inițiând reacția enzimatică.

Determinarea parametrilor cinetici a fost făcută pe baza datelor prezentate în figura 3.30. Pentru testele efectuate fără enzimă, reacția a fost considerată ca o reacție de ordin I și k_{app} a fost calculat din reprezentarea $-\ln([ABTS_{oxd}])$ vs t. Pentru reacția efectuată în prezența HRP, Vi a fost considerat a fi panta fiecărei drepte rezultate din reprezentarea f(1/Vi) = 1 = 1/[Au/ZnAI]. Parametrii k_{app} , V_{max} , K_M și V_{max} specific sunt enumerate în tabelul 3.10. Comparând datele prezentate în tabelul 3.10 cu cele din tabelul 3.5, obținut pentru HRP libera, activată de H_2O_2 , se poate observa că rezultatele sunt comparabile. O scădere de 1,8 ori a V_{max} și o creștere de 6 ori a K_M . au fost obținute pentru reacția foto-enzimatică.

	Fără HRP		Cu HRP	
Au/ZnAl (mg/mL)	k _{app} (x 10 ⁻³ /min)	V _{max} (μM/min)	K _M (μM)	V _{max} specific(µM/min/mg)
0.4	6.1			
1.2	11.3	0.1	0.15	100
1.6	13.3	0.1	9.15	100
2	11.5			

Tabelul 3.10: Parametrii cinetici rezultați pentru oxidarea foto-enzimatică a ABTS_{red}.

Considerând rezultatele obținute, putem concluziona că catalizatorii ce conțin aur pot fi utilizați cu succes pentru a înlocui peroxidul de hidrogen atunci când o oxidoreductază de tipul peroxidazei este implicată în proces.

3.5.2. Regenerarea NADH de la NAD⁺ în prezența Au/ZnAlLDH și a radiației solare

Oxidoreductazele reprezintă 25% din numărul total de enzime. Sunt biocatalizatori importanți utilizați pentru sinteza produselor chimice și farmaceutice valoroase [324]. Principalul dezavantaj al utilizării enzimelor redox este dependența unora dintre acestea de un cofactor denumit nicotinamida adenina dinucleotida-hidrura (NADH) sau de corespondentul său fosforilat (NADHP).

În general, atunci când este utilizat, NADH-ul joacă rolul unui donator de hidrogen, atunci când molecula inițială este oxidată la NAD⁺. Deoarece 1 mol de NADH costa aproximativ 3000 dolari, reducerea NAD⁺ la NADH este obligatorie [324]. Regenerarea cofactorului se poate face pe cale enzimatică sau non-enzimatică, implicând cataliza omogenă sau heterohgenă, fotocataliza sau cataliza chimică sau electrochimică.

Hidroxizii dublu lamelari au fost folosiți de mai multe ori în procesele inițiate de lumină [120,225,288]. Cu toate acestea, din câte știm, nu au fost niciodată abordați pentru a regenera NADH din NAD⁺. Din moment ce NPs de Au [329] si Pt [324,328] au fost utilizate cu succes în această aplicație, avem motive să credem că utilizarea NPs/LDHs în această aplicație poate duce la rezultate promițătoare. Prezența NPs pe suprafața LDH poate crește durata de viață a purtătoarelor de sarcină generate de radiația luminoasă, îmbunătățind proprietățile catalitice ale materialului. Mai mult, în subcapitolul anterior s-a dovedit că Au/ZnAl iradiat luminos poate furniza speciile oxidative necesare pentru activarea HRP. Luând în considerare acest lucru, propunem un material alternativ, de tipul Au/ZnAl(3/1)LDH care să fie utilizat pentru fotoregenerarea solară a NADH.

Testele au fost efectuate într-un volum total de 10 mL tampon fosfat, 0,1 M, cu pH = 6, 7 și 8; concentrația inițială NAD⁺ (Sigma Aldrich,> 96,5%) a fost de 70 μ M și s-a utilizat mononucleotida flavinică (FMN) (Sigma Aldrich,> 70%), cu concentrația de 30 μ M ca mediator de electroni. La acest amestec s-au adăugat 10 mg Au/ZnAl. Înainte de a începe iradierea, suspensia a fost agitată în întuneric timp de 20 de minute. După aceasta, iradierea a fost pornită. Timp de două ore s-au efectuat prelevari la intervale de timp determinate, solidul a fost centrifugat și supernatantul a fost analizat spectrometric urmărind semnalul de la 340nm care corespunde NADH-ului. Iradierea a fost furnizată de un simulator solar, de 180W.

În timpul echilibrului de adsorbție-desorbție s-a observat o adsorbție semnificativă a NAD+ și FMN (vezi figura 3.35). Când iradierea solara a inceput, a apărut un pic la 340 nm și a fost atribuit regenerării NADH din forma sa oxidată NAD+. În decursul a două ore de iradiere, acest vârf crește progresiv. De asemenea, a fost remarcată o creștere a picului de la 260 nm. Deoarece NADH și NAD+ prezintă semnale la această lungime de undă (vezi figura 3.34 d), este dificil sa se cunoasca cu exactitate carei dintre cele doua substante apartine acest semnal. Cu toate acestea, acest vârf crește pe parcursul timpului, ceea ce ar putea sugera regenerarea cofactorului.

Influența pH-ului asupra reducerii NAD+ arată că scăderea acestuis la o valoare de 6, induce o scădere a randamentului de regenerare a cofactorului. S-a constatat că pH-ul optim a fost 8, când aproape toată cantitatea de NAD+ a fost transformată în NADH.

Mecanismul propus pentru regenerarea NADH folosind lumină solară și nanocompozitul Au/ZnAlLDH este prezentat în figura 3.37. În cazul iradierii solare, se formează perechi de goluri și electroni, ca urmare a interacțiunii catalizatorului cu lumina. Orificiile foto-generate, caracteristice bandei de valență, vor forma specii oxidante ca urmare a oxidării apei, în timp ce electronii din banda de conducție a LDH vor fi captați de către NPs de Au ce se găsesc în contact intim cu suprafața LDH. Aici, electronii se pot mișca liber la suprafața nanoparticulelor și împreună cu speciile de tipul H⁺ generate vor participa la reacția de reducere a FMN_{oxd}, rezultând FMNH. În prezența NAD⁺, FMNH va fi oxidat, în timp ce primul va fi redus la NADH.



Figura 3.12: Spectre UV-Vis pentru regenerarea NADH la a) pH 6, b) pH 7, c) pH 8 și d) spectre UV-Vis pentru soluții inițiale de NADH, NAD⁺, FMN, NADH-NAD⁺-FMN și NAD⁺-FMN.



Figura 3.13: Mecanismul de fotoregenerare solara a NADH în prezenta Au/ZnAl.

Având în vedere rezultatele prezentate mai sus și studiile făcute până în acest moment, considerăm că acest studiu va fi un punct de plecare pentru alte investigații care implică hidroxizii dublu lamelari și formulările lor hibride de tipul NP/LDH, pentru regenerarea NADH.

4. Nanoparticule de aur auto-asamblate pe hidroxizi dublu lamelari pentru inhibarea virusului hepatitei B.

Hepatita B este o boală importantă care produce peste 1 milion de decese în fiecare an, în întreaga lume. În general, virusul hepatitei B (HBV) poate duce la ciroză, carcinom hepatocelular și alte probleme de sănătate [332]. Acest virus este un membru al familiei *Hepadnaviridae*, prezentat sub formă de particule sferice cu un diametru de 42 nm [333] și cu un ADN circular [334]. S-a remarcat că pentru pacienții infectați, pe lângă particulele infecțioase, particulele subvirale neinfecțioase (SVP) sunt excesiv de secretate (1000-100.000 de ori), formând particule mai mici și filamente cu diametrul de 25 nm, respectiv 22 nm. Efectul și rolul particulelor subvirale nu este pe deplin înțeles. Studiile au arătat că SVP pot spori infecția [335], altele au demonstrat că în cantități mari pot avea un efect inhibitor [336].

Infecția cu virusul hepatitei B poate fi prevenită prin vaccinare. Cu toate acestea, pentru pacienții cronici, medicamentele care vizează inhibarea replicării și stimularea răspunsului imun, sunt deficitare și prezintă și efecte secundare în timpul tratamentului [337]. Studiile recente au arătat că NPs de Ag pot avea un efect de inhibare a VHB, scăzând cantitatea de virioni extracelulari [339]. Cu toate acestea, combinarea nanoparticulelor cu diferite nanocompozite, în scopul obținerii hibrizilor netoxici poate fi o abordare dificilă [342]. Îmbinarea suporților biocompatibili cu nanoparticule precum Au sau Ag pot duce la o sinergie a proprietăților lor terapeutice și astfel biospecificitatea și activitatea lor pot fi îmbunătățite [343]. Atunci când NPs sunt utilizate pentru tratarea țintelor biologice, un aspect important este efectul lor citotoxic. Citotoxicitatea este definită precum capacitatea unui material de a produce în celulele normale daune grave asupra macromoleculelor importante sau la chiar la moartea acestora [344]. Parametrii ca susceptibilitate la aglomerare, textura, dimensiunea particulelor și stabilitatea, influențează citotoxicitatea NPs [345].

O primă provocare a utilizării NPs în aplicațiile biologice este sinteza lor. În majoritatea situațiilor, forma finală a NPs prezintă o citotoxicitate ridicată din cauza reactivilor organici utilizați în timpul preparării lor. Un exemplu semnificativ este utilizarea bromurii de cetiltrimetilamoniu utilizata în sinteza NPs de Au care, prin desorbție de pe suprafața nanoparticulelor, induce moartea celulei [346,347]. Agenții de stabilizare ca proteine, polimeri, surfactanți, acid citric, utilizați pentru a evita agregarea NP_S, pot, de asemenea, să afecteze interacțiunile dintre NPs și materialul biologic [348]. Având în vedere că utilizarea compusilor organici are o influență directă asupra eficienței NPs în aplicațiile medicale, sunt necesare metode alternative de sinteză. O tehnică foarte versatilă pentru a obține NPs dispersate pe o matrice, fără adăugarea de alte produse chimice, este de a folosi capacitatea de auto-asamblare a materialelor LDH [33,178,349]. Datorită toxicității scăzute și a unei bune biocompatibilități, argilele anionice pot fi candidați promițători pentru utilizarea lor in aplicații biomedicale [350,351].

În această secțiune, un grup de materiale AuNPs/LDHs au fost sintetizate, caracterizate și utilizate pentru prima dată în inhibarea HBV. Efectul citotoxicității și activitatea antivirală a acestor materiale au fost, de asemenea, investigate.

4.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a ZnAl(2/1)LDH, MgAl(2/1)LDH, MgFeAl(2/1)LDH și a nanocompozitelor autoasamblate de tipul Au/LDHs

Sinteza

Materialele precursoare ZnAl(2/1)LDH, MgAl(2/1)LDH, MgFeAl(2/1)LDH s-au sintetizat prin metoda co-precipitarii, utilizând săruri specifice și agenți de precipitare așa cum a fost descris în capitolele anterioare. Hibrizii de tipul Au/LDHs au fost obținuți prin metoda reconstrucției, când s-a adăugat, sub agitare energetică, 1 g de LDH precursor, calcinat la 500 °C timp de 7 h, în 150 mL soluție apoasă de Au(O₂CCH₃)₃, 0,1 M. Dispersiile au fost agitate timp de 7 ore la 30°C, centrifugate și uscate la 80°C. Materialele au fost denumite Au/MgAl, Au/ZnAl și Au/MgFeAl.

Caracterizarea fizico-chimică

Imaginile TEM pentru materialele Au/LDHs sunt prezentate în figura 4.1. Figura 4.1-A prezintă o structură tipică LDH, cu plachete subțiri și mari, cu un diametru de 150 nm



Figura 4.1: Imagini TEM pentru: A) Au/ MgAl, B) Au/ZnAl, C) imaginea HRTEM pentru Au/MgFeAl, D) Au/MgAl.

[129,352]. Imaginile magnificate (vezi figura B și D) arată că particule mici, prezentate ca puncte sferice întunecate, sunt dispersate pe suprafața LDHs. Dimensiunea lor medie este de 3,2 pentru Au/MgAl, 2,9 nm pentru Au/ZnAl și 3,7 nm pentru Au/MgFeAl. Imaginea HRTEM (a se vedea figura 4.1-C) relevă faptul că NPs de Au sunt cristaline și sunt confirmate, de asemenea, prin distanța interplanara având o valoare de 0,24 nm, caracteristică planurilor {111} ale aurului cubic cu fete centrate (JCPDS, Nr. 04.0748). În plus, modelul SAED (difracția electronică a zonei selectate), expusa în inserția din figura 4.1-C, prezintă inelele de difracție concentrice care pot fi atribuite planurilor (111), (200), (220), (311) (222) ale Au [353].

Spectrele XPS prezentate în figura 4.2 dezvăluie prezența NPs de Au pe suprafața LDH, cu un conținut de aur de cca. 4%. Conținutul determinat de aur de la XPS este într-un



Figura 4.2: Spectre XPS pentru a) Au/MgFeAl, b) Au/MgAl, c) Au/ZnAl.

bun acord cu rezultatele ICP (vezi tabelul 4.1). În spectrele XPS (figura 4.2) se observă că compoziția elementală a suprafetei materialelor confirmă existența Au, Mg, Al și O pentru Au/MgAl; în plus, materialul Au/ZnAl este compus din Au, Zn, Al și O, în timp ce pentru Au/MgFeAl, a fost identificată și prezența Fe. Rezultatele XPS indică faptul că NPs de Au sunt în intim conectate cu suprafața LDH.

Mai mult, identitatea fazei materialelor a fost analizată prin măsurători XRD. Spectrele materialelor de tipul Au/LDHs (vezi figura 4.3) prezintă picuri tipice de difracție

Tabelul 4.1: Caracterizarea fizico	o-chimică pentru Au/LDHs.
------------------------------------	---------------------------

		Raportul atomic al Au (%)	
Au/LDHs	D _{Au} , nm	ICP	XPS
Au/MgAl	3.2	4.	3.7
Au/ZnAl	2.9	3.9	3.7
Au/MgFeAl	3.7	4.1	4

caracteristice argilelor anionice, cu reflexii bazale simetrice și ascuțite ale planurilor (003), (006) și (009), și reflexii mai puțin intense la (012) (015) și (018) ale planurilor non-bazale [354,355]. Pe lângă semnalele caracteristice LDHs-urilor, o fază suplimentară poate fi



Figura 4.3: Spectre XRD pentru a) Au/ZnAl, b) Au/MgAl, c) Au/MgFeAl

observată (marcată ca #) pentru Au/ZnAl și Au/MgFeAl, și poate fi atribuită prezenței oxizilor micști. Acest lucru subliniază o reconstrucție completă pentru Au/MgAl și o reconstrucție parțială pentru celelalte două. Dimensiunea medie a cristalelor matricei LDH a fost calculată pe baza ecuației Debye-Scherrer [356], folosind picurile atribuite planurilor (003) și (006). Rezultatul a arătat că matricea LDH are dimensiuni de aproximativ 150 nm, care este în concordanță bună cu imaginile TEM. Spațiul intelamelar calculat pe baza valorilor (003) și (110) este de 1,24 \pm 0,1 nm, unde 0,48 nm este lățimea lamei de brucit. Această valoare sugerează că anionul acetat a fost încorporat între straturi [357]. Deoarece dimensiunea NPs de Au este mică și datorita gradului înalt de dispersie, acestea nu au fost detectate prin analiza XRD [358].

În figura 4.5 se poate observa schimbarea culorii LDH-urilor precursoare după reconstrucția în acetat de aur. Conform acestor imagini, spectrul UV-Vis al nanocompozitelor Au/LDH prezinta un puternic efect de rezonanța plasmonică de suprafață (SPR) - a se vedea figura 4.5-b. Aceasta este o dovadă clară a faptului că NPs de Au sunt prezente pe suprafața



Figure 4.5: A) Imagini ale a) ZnAl(2/1), b) MgFeAl, c) MgAl; B) spectre UV-Vis de a) Au/MgAl, b) Au/ZnAl, c) Au/MgFeAl.

hidrotalcitului. În regiunea UV a spectrului, toate probele prezintă un vârf intens de absorbție care ar putea fi atribuit rețelei LDH și amestecului de oxizi micști, confirmate deja de analizele XRD. Banda de absorbție în jurul valorii de 535 nm este o indicație puternică a faptului că NPs de Au sunt prezente în stare metalică. Chiar dacă starea nanoparticulelor nu este influențată de compoziția matricei, intensitatea SPR este. Această afirmație este susținută de faptul că SPR poate fi influențată de factori precum dimensiunea particulelor, conținutul

de aur și / sau mediul înconjurător [359,360]. Din moment ce dimensiunea NPs și conținutul aurului sunt similare, singurul parametru care este diferit este compoziția de argilei.

4.2. Studiul privind inhibarea virusului hepatitei B utilizând materialele de tipul Au/LDHs

Toate studiile din această secțiune au fost efectuate de către Departamentul de Glicoproteine Virale, Institutul de Biochimie al Academiei Române, București, România.

Pentru a studia efectul antiviral al materialelor Au/LDHs sintetizate anterior, s-au efectuat studii *in vitro* prin utilizarea de celule vii provenite de la mamifere. HepG2.2.2.15 este o linie de celule hepatice umane comercială, ce a fost infectată cu HBV, prin efectuarea unei transfecții stabile cu două copii ale genomului viral.

Înainte de a studia efectul antiviral al ansamblurilor Au/LDHs, a fost evaluată biocompatibilitatea acestora. Celulele HepG2 neinfectate au fost cultivate într-o placă de cultura cu 96 cuve și incubate cu diferite concentrații de Au/LDH (15, 30, 60, 125 și 250 µg/mL). După 3 zile s-au determinat viabilitatea și capacitatea de proliferare a celulelor.

Rezultatele sunt prezentate ca procente calculate prin raportarea fiecărei proliferări la cea obținută pentru celulele netratate (vezi figura 4.8). Răspunsul HepG2.2.2.15 la dozele



Figura 4.8: Proliferarea celulelor hepatice HepG2.2.2.15 în prezența a) Au/MgFeAl, b) Au/ZnAl, c) Au/MgAl, d) MgFeAl, e) ZnAl, f) MgAl; 0 reprezintă controlul.

diferite de Au/LDHs au arătat că nanocompozitele studiate se comportă ca materiale *soft*, ce nu au un impact semnificativ asupra proliferării celulelor. Totuși, în funcție de compoziția matricei și de concentrația solidului, s-a observat o scădere de 16% pentru Au/MgFeAl, când concentrația nanocompozitului a fost între 15-30 (vezi figura 4.8-a), în timp ce pentru Au/ZnAl, o diminuare de 20% a fost remarcată la o concentrație solidă de 250 µg/mL. Pentru Au/MgAl proliferarea a fost de 100% pentru toate dozele.De asemenea, aceeași investigatie a fost făcută folosind LDH-urilor precursoare. Rezultatele prezentate în figura 4.8 - d-f arată că efectul citotoxic al matricei simple de tip LDH este mai mare decât cel pentru hibrizii Au/LDH.

Având în vedere rezultatele obținute, se poate concluziona că materialele Au/LDHs manifestă o bună biocompatibilitate pentru celulele umane, fără a crea daune asupra structurii și fără a afecta capacitățile lor de proliferare. Pornind de la aceste rezultate, s-a investigat în continuare activitatea antivirală a Au/LDHs. În mod similar celui pentru testele de citotoxicitate, celulele gazdă (celulele hepatice infectate cu HBV) au fost expuse unor doze diferite de Au/LDH (0, 15, 30, 60 și 125 μ g/mL). După 3 zile de incubare în prezența nanocompozitelor s-au prelevat probe, s-au centrifugat și supernatantul s-a colectat pentru investigații ulterioare. Din cauza prezenței virusului în interiorul celulelor hepatice, acesta, cel mai probabil v-a secreta particule virale și subvirale, ce vor fi expulzate în mediul extracelular. ADN-ul virusului încapsulat din supernatant a fost purificat și cuantificat prin metoda reacției în lanț a polimerazei (PCR).

Rezultatele exprimate ca procente raportate la testul de control, efectuat în absența nanoparticulelor, sunt prezentate în figura 4.9 a-c. De asemenea, a fost investigat, în același mod, efectul inhibitor al LDH-urilor precursoare, iar rezultatele sunt prezentate în figura 4.9 d-f.

Din figura 4.9 a-c se poate observa că toți hibrizii Au/LDHs au un efect antiviral semnificativ, Au/MgFeAl fiind cel mai eficient, cu inhibarea a mai mult de 90% din particulele virale secretate. În timp ce Au/ZnAl a inhibat particulele virale în mod dependent de doză, s-a constatat că pentru Au/MgAl capacitatea de inhibare este mai mare la un conținut mai mic de nanoparticule, efectul antiviral scăzând odată cu creșterea cantității de Au/MgAl. Analizele materialelor au demonstrat că conținutul de aur este același pentru întregul eșantion de nanocomposite Au/LDHs; astfel, comportamentul distinct în inhibarea HBV ar putea fi un efect al compoziției diferite a matricelor LDH, ce ar putea influența eliberarea de aur intracelular din formularea Au/LDHs. Având în vedere acest lucru, am putea presupune că eliberarea Au-lui este mai mare pentru Au/MgFeAl și Au/MgAl decât pentru Au/ZnAl. Pentru LDH-urile parinte (vezi figura 4.9 d-f) efectul antiviral a fost modest, chiar dacă testele de citotoxicitate au demonstrat că LDH-urile simple sunt mai toxice pentru celulele hepatice decât formulările Au/LDH.

Același supernatant obținut prin centrifugarea celulelor HepG2.2.2.15 tratate cu Au/LDHs în cursul a trei zilei a fost utilizat pentru a determina continutul de particulele subvirale (SVP) și efectul inhibitor al Au/LDHs asupra acestora (vezi figura 4.10). Pentru a face acest lucru, au fost utilizate tehnica ELISA (metoda imunoenzimatica) și kitul Monolisa HBs Ag Ultra (BioRad). Cuantificarea SVP a fost efectuată utilizând un cititor de microplăci Mitras Berthold. Rezultatele reprezintă rapoartele de densitate optică ale eșantionului împărțite la

valoarea limită și convertite în procente prin raportarea la eșantionul control. Controlul reprezintă serul colectat din celule netratate. Rezultatele prezentate în figura 4.10 arată că materialele Au/LDHs pot inhiba secreția elementelor neinfecțioase, dar nu sunt atât de eficiente ca în cazul inhibării particulelor virale. Acest comportament subliniază faptul că Au/LDH-urile manifesta specificitate fata de virusurile hepatice. Totuși, Au/MgAl a prezentat un efect inhibitor atât pentru particulele virale, cât și pentru cele subvirale, sugerând că



Figura 4.9: Efectul antiviral a a) Au/MgFeAl, b) Au/ZnAl, c) Au/MgAl, d) MgFeAl, e) ZnAl, f) MgAl asupra HBV.

compoziția argilei are de asemenea o influență asupra secreției.

In acest capitol, materialele sintetizate au fost testate împotriva virusului hepatitei B (HBV). Au fost procesate diferite teste pentru a stabili comportamentul sistemului biologic în prezența materialelor LDHs și Au/LDHs. Pentru a face acest lucru, celulele hepatice tip HepG2.2.2.15 au fost transfectate cu două copii ale genomului HBV și tratate în continuare

cu diferite concentrații de hibrizi LDHs, iar toxicitatea materialului și proprietățile antivirale au fost monitorizate. Datele privind citotoxicitatea au arătat că materialele pe bază de LDHs



Figura 4.10: Efectul inhibitor al a) Au/MgFeAl, b) Au/ZnAl, c) Au/MgAl asupra SVB.

nu au avut o influență semnificativă asupra viabilității celulelor. Remarcabil, rezultatele activității antivirale ale Au/LDHs au arătat că toți hibrizii sunt capabili să inhibe proliferarea HBV, Au/MgFeAl fiind cel mai eficient dintre toți, cu mai mult de 90% inhibare a virusului. Acest rezultat subliniază faptul că efectul antiviral s-ar putea manifesta ca o funcție dependent de compoziția argilei, deoarece conținutul de aur de pe suprafața materialelor a fost similar. Materialele LDHs simple au avut o activitate antivirală modestă. Mai mult, s-a remarcat că matricele LDHs au avut un efect citotoxic mai mare comparativ cu corespondenții lor Au/LDHs, sugerând un efect protector indus de prezența aurului pe suprafața calitativă.

Concluzii generale și perspective

Concluzii generale

Obiectivul principal al acestui proiect a fost de a sintetiza și de a caracteriza o clasă de compozite anionice denumite general argile anionice sau hidroxizii dublu lamelari. Datorită proprietăților lor unice, discutate în detaliu în secțiunea studiului de literature, aceste materiale pot fi utilizate în multe domenii de activitate: biologie, nanomedicină, cataliză, fotocataliză și altele. Având în vedere studiile recente făcute cu privire la hidroxizii dublu lamelari, obiectivele acestei cercetări au fost de asemenea proiectarea compozitelor și nanocompozitelor pe bază de LDH, care pot fi utilizate în aplicații specifice ca fotodegradarea poluanților sub lumină solară, imobilizarea enzimelor și utilizarea lor in prezența materialelor de natura biologică.

a) Sinteza materialelor pe bază de hidroxizii dublu stratificați

S-au obținut LDHs-uri cu compoziție diferită: ZnAl ($M^{2+}/M^{3+} = 2, 3, 4$), ZnGa ($M^{2+}/M^{3+} = 2, 3$), ZnCoAl (2/1), MgAl(2/1), MgFeAl(2/1). ZnAl ($M^{2+} M^{3+} = 2, 3, 4$), prin utilizarea coprecipitarii. Materialele astfel preparate au fost utilizate în continuare pentru obținerea de formulari hibride de tipul NP/LDH (NP = Au, Ag, In, Ga) prin utilizarea metodei de reconstrucție. Mai mult, aplicarea unui tratament termic pentru compozitele LDH, la o temperatură de 750 °C, s-au pregătit amestecuri de oxid micști (MMO). Caracterizarea fizico-chimică a confirmat structura de hidrotalcit a materialelor, prezența Au, Ag, In și Ga pe suprafața de argilei, precum și formarea MMO după calcinare.

b) LDHs-uri, NP/LDHs, MMO ca fotocatalizatori în fotodegradarea poluanților organici

Diferite clase de LDH-uri au fost utilizate pentru degradarea solară a unor soluții apoase de fenol, p-nitorfenol, acetofenonă și diclofenac. Remarcabil de eficient, pentru degradarea fenolului, a fost nanocompozitul Au/ZnAl(2/1)-R-3-Lg, ce a fost capabil să elimine total poluantul în mai puțin de 130 de minute. Este important de mentionat că acest material a fost reconstruit sub lumină solară simulată Ca o consecință a acestui fapt, nanoparticulele de aur dispersate pe argilă au fost identificate ca fiind un amestec între Au⁰ și Au³⁺. p-nitrofenolul a fost total fotodegradat in 130 minute prin utilizarea nanocompozitului In/ZnAl-Cal, în timp ce o soluție care conține fenol și p-nitrofenol a fost aproape total descompusă de același catalizator în 240 de minute. Un rezultat foarte bun pentru soluțiile de amestecuri de fenoli a fost de asemenea obținut pentru materialul Au/ZnAl(1_0.12)-Lg-750. Cu toate acestea, comparând parametrii cinetici (k_{app} și $t_{1/2}$), nanocompozitul In/ZnAl-Cal a prezentat o creștere a activității cu 37%. Nanocompozitele tip Au/ZnLDHs au fost utilizate (Au/Zn4Al(2.1_0.1), Au/Zn4Al(2.1_0.2), Au/Zn4Al (0.1_0.12) -Lg, Au/ZnGa)) au prezentat o eliminare a poluantului între 98-100% atinsă după 130 de minute de iradiere. Având în vedere rezultatele cinetice, proba reconstruită solar (Au/Zn4Al(0.1_0.12)-Lg) a prezentat cel mai mare răspuns fotocatalitic.

Pentru degradarea diclofenacului, materialele hibride tip ZnLDH-CN (CN = $g-C_3N_4$) au fost fabricate prin combinarea co-precipitării cu reconstrucția și impregnarea. Introducerea $g-C_3N_4$ a avut un efect benefic numai pentru materialele obținute prin impregnare (ZnAl-CN-I și ZnGa-CN-I). Combinând datele UV-Vis și LC-MS, s-a arătat că prezența grafenului și, de asemenea, calea de sinteză a hibrizilor ZnLDH-CN au avut o influență directă asupra mecanismelor de fotodegradare. Catalizatorul cel mai preformat a fost ZnGa(3/1) cu o eliminare totală a diclofenacului conform datelor TOC, în 150 de minute de iradiere solară.

c) LDH și NP / LDH în scop biocatalitic

O direcție a acestei cercetări a fost de a imobiliza peroxidaza (HRP) pe următoarele suporturi: ZnAlLDH, ZnAl-550, Au/ZnAl, Au/ZnAl-550 și ZnAl-CN (CN = g-C₃N₄). Rezultatele au arătat o adsorbție totală a enzimelor pe materialele calcinate la 550 ° C, în timp ce a avut loc totodată reconstrucția totală a structurii stratificate inițiale. Cu toate acestea, cea mai bună activitate enzimatică, care a fost de 10 ori mai mică decât cea a HRP libere, a fost obținută pentru materialul ZnAl-CN-HRP. Materialul fără grafen a prezentat o activitate mult mai mică comparativ cu ZnAl-CN-HRP. Se presupune că acest rezultat ar putea fi datorat prezenței grupărilor amino, ce formează legături directe cu enzima și astfel aceasta este mai accesibilă substratului, iar limitele de difuziune sunt reduse. Materialele ce conțin aur nu au avut activitate enzimatică, subliniind că NPs de Au au un efect negativ asupra enzimei, cel mai probabil datorită atașării nanoparticulelor de situsul activ al acesteia.

Deoarece HRP este capabila să degradeze fenolii, a fost realizat un studiu comparativ privind eliminarea fenolului pec ale enzimatica și fotocatalitica. Astfel, compozitele ZnAILDH, ZnAI-HRP si HRP au fost utilizate pentru îndepărtarea poluantului. Mai mult, a fost introdusă o nouă abordare: cea de degradarea fotosenzimică a fenolului. Rezultatele au arătat că, sub lumină solară și în prezență de H₂O₂, ZnAI-HRP poate participa cu ambele componente: ZnAILDH a acționat ca un fotocatalizator, în timp ce HRP ca biocatalizator, îndepărtând fenolul prin calea enzimatică. Chiar dacă conceptul de efect sinergic a fost confirmat, este necesară o investigație mai profundă, deoarece răspunsul foto-enzimatic al biohibridului ZnAI-HRP a fost de doar 35%, în timp ce degradarea enzimatică simplă a ajuns la 25% (folosind ZnAI-HRP), iar fotodegradarea numai 20%.

Într-un studiu separat, s-a demonstrat că NPs de Au pot fi eliberate din nanocompozite de tipul Au/ZnAl, în prezența enzimei HRP. Mai mult, efectul negativ al aurului asupra activității enzimatice face ca acest rezultat să fie deosebit de interesant pentru aplicațiile biomedicale.

Când se lucrează cu oxidoreductaze, adăugarea continuă a agentului oxidant poate fi un inconvenient, necesitând totodată instrumente speciale. În plus, în unele cazuri, s-a remarcat faptul că H_2O_2 poate avea un efect inhibitor asupra activității enzimelor. Din acest motiv, într-un nou studiu, compozitul Au/ZnAl iradiat solar a fost utilizat ca generator de specii oxidante pentru activarea HRP. Reacția efectuată în prezența Au/ZnAl, ABTS_{red} și în absența H_2O_2 a confirmat că enzima poate fi activată de către Au/ZnAl iradiat, inițiind în continuare oxidarea substratului $ABTS_{red}$. Mai mult, parametrii cinetici au valori apropiate de cele obținute pentru enzima liberă activată de către H₂O₂. Având în vedere rezultatele acestui studiu, s-a abordat o nouă cercetare: regenerarea fotocatalitică NADH de la NAD⁺ prin utilizarea nanocompozitului Au/ZnAl, a luminii solare și a unui mediator de electroni (FMN). Rezultatele au confirmat formarea NADH-ului în condițiile specificate, cu un maxim de regenerare atins la pH = 8.

d) LDHs si NP/LDHs pentru scopuri biomedicale

În această ultimă secțiune a tezei au fost studiate interacțiunile dintre nanocompozitele Au/LDHs și virusul hepatitei B. Datele rezultate au demonstrat că materialele Au/LDHs au un efect citotoxic minim asupra celulelor hepatice (HepG2.2.2.15), în timp ce activitatea antivirală a fost remarcată pentru toți hibrizii, cele mai bune performanțe fiind obținute pentru nanomaterialul Au/-MgFeAl. Mai mult, s-a constatat că efectul antiviral se manifesta ca o funcție dependent de compoziției argilei. Astfel, s-a concluzionat că compoziția LDHs-ului ar putea afecta eliberarea de aur de pe suprafața martricei.

Perspective

Utilizarea materialelor LDH în fotodegradarea poluanților organici a demonstrat că formulările de tip NPs/LDHs pot fi extrem de eficiente. Astfel, o nouă perspectivă pentru materialele LDHs ar putea fi tranziția de la scara de laborator la scală pilot.

Combinând procesele enzimatice cu reacțiile fotocatalitice, sistemele poluante complexe pot fi descompuse. Degradarea foto-enzimatică a fenolului prin utilizarea ZnA-HRP a fost posibilă. Totuși, LDH-urile și oxidoreductazele și pot fi combinate în moduri diferite, conducând la catalizatori hibrizi sau la tipuri de cataliză mixtă. Poluanții pot fi degradați în cascadă, când anumiți compuși sunt îndepărtați prin fotocataliză, folosind LDH, urmată de degradarea enzimatică a restului substanțelor toxice. LDH-urile pot fi utilizate pur și simplu ca suport pentru enzime, iar materialul rezultat poate fi folosit în continuare în prezența sau în absența iradierii, în funcție de compoziția sistemului poluant. Atunci când se utilizează în condiții de iradiere, poluanții ar putea fi degradați atât prin căi enzimatice cât și fotocatalitice.

Designul unui process de fotoregenerare continuă a NADH-ului, în timpul unei reacții enzimatice, ar fi o continuare interesantă a acestui studiu. Astfel, în timpul reacției enzimatice, cofactorul va fi oxidat la NAD⁺, ce va fi utilizat în continuare sub iradiere și în prezența Au/ZnAl pentru formarea NADH. Noile molecule de cofactori formați vor servi la reacția enzimatică. În acest caz, este obligatoriu să se utilizeze o sursă de iradiere care nu va avea efecte asupra integrității enzimei.

Diseminarea rezultatelor de cercetare

Articole publicate in jurnale cotate ISI

- <u>Elena-Florentina Grosu</u>, Gabriela Carja, Renato Froidevaux, *Development of horseradish peroxidase/layered double hydroxide hybrid catalysis for phenol degradation*, Research on Chemical Intermediates (2018) doi.org/10.1007/s11164-018-3583-x789, (Springer), (IF =1.674).
- 2. <u>Elena-Florentina Grosu</u>, Gabriela Carja, Renato Froidevaux; *Horseradish Peroxidase-AuNP/LDH heterostructures: influence on nanogold release and enzyme activity*, Gold Bulletin, under review, minor revisions.
- Gaku Mikami, <u>Florentina Grosu</u>, Shogo Kawamura, Yusuke Yoshida, Gabriela Carja, Yasuo Izumi, *Harnessing self-supported Au nanoparticles on layered doublehydroxides comprising Zn and Al for enhanced phenol decompositionunder solar light*, Applied Catalysis B: Environmental (2016) **199**:260–271 (Elsevier), (IF = 11,698).
- Gabriela Carja, <u>Elena Florentina Grosu</u>, Mihaela Mureseanu, Doina Lutic, A Family of Solar-Light Responsive Photocatalysts Obtained by Zn²⁺Me³⁺(Me=Al/Ga)LDHs Doped with Ga₂O₃ and In₂O₃ and their Derived Mixed Oxides: A Case Study of Phenol/4-Nitrophenol Decomposition, Catalysis Science and Technology (2017) 7:5402-5412 (Elsevier) (IF = 5.365).
- Gabriela Carja, <u>Elena Florentina Grosu</u>, Catalina Petrarean, Norica Nichita, *Self-assemblies of plasmonic gold/layered double hydroxides with highly efficient antiviral effect against hepatitis B virus*, Nano Research (2015) 8: 3512–3523 (Springer), (IF = 7.994).

Articole publicate in jurnale cotate BDI si revistele conferintelor

1. <u>Elena-Florentina Grosu</u>, Gabriela Carja, *Iron based layered double hydroxide and its calcined derivate as efficient photocatalyst in phenol removal*, Buletinul Institutului Politehnic din Iasi (2017) **63**:51-60, ISSN 0254-7104.

K. Katsumata, M. Puscasu, E. Seftel, <u>E. F. Grosu</u>, K. Ikeda, P. Cool, G. Carja, *Evolutions of self-assembled Bi₂O₃/LDHs nanostructures to mixtures of mixed oxides and their photocatalytic efficiency under UV and solar light*, Materials for energy, Efficienty and Sustainability: TechConnect Briefs (2015) 132-135, ISBN 978-1-4987-4728-8.

Prezantări orale și postere prezentate la conferințe internaționale

- <u>Elena-Florentina Grosu</u>, Elena Seftel, Pegie Cool, Gabriela Carja, *Diclofenac removal from aqueous solution using ZnAlLDH and ZnCoAlLDH and their derived mixed oxides as highly efficient photocatalysts*, 3rd International Conference on Chemical Engineering ICCE, November 9-11, 2016, Iasi, Romania (**Poster**)
- Gabriela Carja, Mihaela Mureseanu, <u>Elena-Florentina Grosu</u>, Laura Dartu, Viorica Parvulescu, *Self-supported nanoparticles of gallium and indium on ZnMeLDHs (Me: Al, Ga) for efficient photocatalysis under solar irradiation*, European Materials Research Society, May 2-6, 2016, Lille, Franta (**Poster**).
- 3. <u>Elena Grosu</u>, Elena Seftel, Radu Ciocarlan, Myrjam Mertens, Gabriela Carja, Pegie Cool, *Diclofenac removal from aqueous solution using ZnAlLDH and ZnCoAlLDH and their derived mixed oxides as highly efficient photocatalysts*, Chemical Research in Flanders CRF, October 24-26, 2016, Blankenberge, Belgia (**Poster**).
- Gabriela Carja, <u>Elena Florentina Grosu</u>, Catalina Petrareanu, Norica Nichita, Antiviral effect against hepatitis B virus of nanocomposites self-assemblies of plasmonic gold/layered doubles hydroxides, 12th International Conference on Colloid and Surface Chemistry, ICCSC'2016, May 16-18, 2016 (Prezentare Orală).
- <u>Elena Grosu</u>, Ken-Ichi Katsumata, Kei Ikeda, Mihaela Vizitiu, Doina Sibiescu, Gabriela Carja, *Nanocomposites of Plasmonic Gold/Layered Double Hydroxides with Enhanced Photocatalytic Performances for Phenol Degradation*, 8th International Conference on Environmental Engineering and Management, September 9-12, 2015, Iasi, Romania (**Poster**).
- 6. K. Katsumata, M. Puscasu, E. Seftel, <u>E. F. Grosu</u>, K. Ikeda, P. Cool, G. Carja, *Evolutions of self-assembled Bi₂O₃/LDHs nanostructures to mixtures of mixed oxides and their photocatalytic efficiency under UV and solar light*, NanoTech: Advanced Materials and Applications, 14-17 June, 2015, Washington, US (Poster).

7. <u>E. F. Grosu</u>, L. E. Dartu, E. M. Seftel, G. Carja, *Nanostructured mixtures of mixed* oxides derived from layered double hydroxides reconstructed in $Ga_2(SO_4)_3$ and $In(C_2H_3O_2)_3$ aqueous solutions for efficient, UV and solar-driven photocatalysis, 2nd International Conference on Nanomaterials & Applications, 23-26 June, 2015, Maribor, Slovenia (**Prezentare Orală**).

Prezentări orale prezentate la conferințe naționale

- 1. <u>Elena-Florentina</u> Grosu, Froidevaux Renato, Cârjă Gabriela, *Nanocomposites based on layered double hydroxide as novel materials for horseradish peroxidase enzyme immobilisation: A kinetic study*, TUIASI Doctoral School Conference, 23-24 May, 2018, Romania (**Prezentare Orală**).
- <u>Elena Florentina Grosu</u>, Magda Cornelia Puscasu, Vanesa Prevot, Gabriela Carja, *Hybrid formulations of layered double hydroxides for efficient UV and solar-driven photocatalysis*, The First Conference of Romanian Electron Microscopy Society, 7-8 May, 2015, Bucharest, Romania (**Prezentare Orală**).

Mobilități internaționale

- O1/02/2018 01/04/2018 Mobilitate Erasmus+, Studies on the interactions between enzymes/co-enzymes and layered double hydroxides (LDHs). Enzyme immobilization on LDHs, Institutul Charles VIOLLETTE –ProBioGEM, Universitatea Lille, Lille France.
- 01/09/2016 01/07/2017 Bursa de Excelenta Eiffel, Studies on the properties and applications of biocomposites based on double lamellar hydroxides (LDHs) and their derived mixed oxides, Institutul Charles VIOLLETTE –ProBioGEM, Universitatea Lille, Lille, Franta.
- 01/02/2016 01/08/2018 Mobilitate Erasmus+, Designing LDH-Based Hybrid Nano Architectures and Their Applications in Photocatalysis, Laboratorul de Adsorbtie si Cataliza, Universitatea Antwerp, Antwerp, Belgia.

Proiect de cercetare

Self-Assemblies of Nanoparticles of Metal Oxides-Layered Double Hydroxides as Novel Formulations for Photocatalytic Applications – IDEI - PROIECTE DE CERCETARE EXPLORATORIE - PCE 2012-4-0057 (75/02.09.2013) – asistent de cercetare.

Bibliografie selectivă

- [1] M. Hadnadjev-Kostic, T. Vulic, R. Marinkovic-Neducin, *Adv. Powder Technol.* **25** (2014) 1624–1633.
- [2] P. Nalawade, B. Aware, V.J. Kadam, R.S. Hirlekar, *Ind. Res.* 68 (2009) 267–272.
- [3] A.V. F. Cavani, F. Trifirb, *Catal. Today.* **11** (1991) 173–301.
- [8] A. de Roy, C. Forano and J. P. Besse, Layered double hydroxides: synthesis and postsynthesis modification, in V. Rives (Ed), *Layered double hydroxides: present and future*,
- [17] X. Zhao, F. Zhang, S. Xu, D.G. Evans, X. Duan, *Chem. Mater.* 22 (2010) 3933–3942.
- [22] A.A.A. Ahmed, Z.A. Talib, M.Z. Bin Hussein, Appl. Clay Sci. 56 (2012) 68–76.
- [25] Y. Zhu, R. Zhu, G. Zhu, M. Wang, Y. Chen, J. Zhu, Y. Xi, H. He, Appl. Surf. Sci. 433 (2018) 458–467.
- [33] E.M. Seftel, M.C. Puscasu, M. Mertens, P. Cool, G. Carja, Appl. Catal. B Environ. 164 (2015) 251–260.
- [34] E.M. Seftel, M.C. Puscasu, M. Mertens, P. Cool, G. Carja, Applied Catal. B, Environ.
- [36] J.-P.B. A. Legrouri, M. Badreddine, A. Barroug, A. De Roy, *J Mater Sci Lett.* (1999) 1077–1079.
- [37] Z. Gu, J.J. Athertonab, Z.P. Xu, Chem. Commun., 51 (2015) 3024-3036
- [39] G.G.C. Arizaga, K.G. Satyanarayana, F. Wypych, *Solid State Ionics*. **178** (2007) 1143–1162.
- [43] B. Wiyantoko, P. Kurniawati, T.E. Purbaningtias, I. Fatimah, *Procedia Chem.* **17** (2015) 21–26.
- [47] P. Roy Chowdhury, K.G. Bhattacharyya, Dalt. Trans. 44 (2015) 6809–6824.
- [50] X. Liu, X. Zhao, Y. Zhu, F. Zhang, *Appl. Catal. B Environ.* **140–141** (2013) 241–248.

242–252.

- [67] B. Saifullah, M.Z.B. Hussein, Int. J. Nanomedicine. 10 (2015) 5609–5633.
- [102] M.F. De Almeida, C.R. Bellato, A.H. Mounteer, S.O. Ferreira, J.L. Milagres, L.D.L. Miranda, *Appl. Surf. Sci.* 357 (2015) 1765–1775.
- [103] L. Zhang, M. Ou, H. Yao, Z. Li, D. Qu, F. Liu, J. Wang, J. Wang, Z. Li, *Electrochim. Acta.* 186 (2015) 292–301.
- [111] J. Sun, Y. Zhang, J. Cheng, H. Fan, J. Zhu, X. Wang, S. Ai, J. Mol. Catal. A Chem. 382 (2014) 146–153.
- [120] E.M. Seftel, M. Puscasu, M. Mertens, P. Cool, G. Carja, Catal. Today. 252 (2015) 7–13.
- [121] G. Carja, Y. Kameshima, A. Nakajima, C. Dranca, K. Okada, Int. J. Antimicrob. Agents. 34 (2009) 534–539.
- [124] G.S. Thomas, P.V. Kamath, *Solid State Sci.* 8 (2006) 1181–1186.
- [129] V. Rives, M. del Arco, C. Martín, Appl. Clay Sci. 88-89 (2014) 239-269.
- [146] D.I.C. Córdova, R.M. Borges, G.G.C. Arizaga, F. Wypych, N. Krieger, Quim. Nova. 32 (2009) 1495–1499.
- [147] M.A. Djebbi, M. Braiek, S. Hidouri, P. Namour, N. Jaffrezic-Renault, A. Ben Haj Amara, J. Mol. Struct. 1105 (2016) 381–388.
- [149] A. Soussou, I. Gammoudi, F. Moroté, A. Kalboussi, T. Cohen-Bouhacina, C. Grauby-Heywang, Z.M. Baccar, *IEEE Sens. J.* 17 (2017) 4340–4348.
- [150] D. Shan, S. Cosnier, C. Mousty, Anal. Chem. 75 (2003) 3872–3879.

- [152] C. Guerard-Helaine, B. Legeret, C. Fernandes, V. Prevot, C. Forano, M. Lemaire, New J. Chem. (2011) 776–779.
- [153] K. Benaissi, V. Hélaine, V. Prévot, C. Forano, L. Hecquet, Adv. Synth. Catal. 353 (2011) 1497–1509.
- [161] P. Kolhe, S. Ingle, N. Wagh, Annu. Res. Rev. Biol. 8 (2015) 1–15.
- [166] Y. Wen, X. Jiang, Plasma Chem. Plasma Process. 20 (2000) 343-351.
- [167] E. Muhr, O. Leicht, S.G. Sierra, M. Thanbichler, J. Heider, Front. Microbiol. 6 (2016) 1– 12.
- [178] G. Carja, M. Birsanu, K. Okada, H. Garcia, J. Mater. Chem. A. 1 (2013) 9092–9098.
- [179] Xiaofei Zhao, L. Wang, X. Xu, X. Lei, S. Xu, F. Zhang, Am. Inst. Chem. Eng. 58 (2012) 573–582.
- [180] J.S. Valente, F. Tzompantzi, J. Prince, Appl. Catal. B Environ. 102 (2011) 276–285.
- [181] H. Wei, J. Li, J. Yu, J. Zheng, H. Su, X. Wang, Inorganica Chim. Acta. 427 (2015) 33-40.
- [182] F. Alzoubi, J. Al-Zouby, M. Alqadi, H.A. Alshboul, K. Aljarrah, Chinese J. Phys. 53 (2015) 1–9.
- [186] G. V. Manohara, P. Vishnu Kamath, W. Milius, J. Solid State Chem. 196 (2012) 356–361.
- [187] T. Tangkuaram, C. Ponchio, T. Kangkasomboon, P. Katikawong, W. Veerasai, *Biosens. Bioelectron.* 22 (2007) 2071–2078.
- [188] W. Haiss, N.T.K. Thanh, J. Aveyard, D.G. Fernig, Anal. Chem. 79 (2007) 4215-4221.
- [189] R Allmann, H.P. Jepsen, Neues Jahrbuch fur Mineralogie, Monatshefte (1969) 544–551.
- [190] M. Kasithevar, M. Saravanan, P. Prakash, H. Kumar, M. Ovais, H. Barabadi, Z.K. Shinwari, *J. Interdiscip. Nanomedicine*. **2** (2017) 131–141.
- [191] M. Wu, Y. Chang, T. Lin, Jpn. J. Appl. Phys 56 (2017) oi.org/10.7567/JJAP.56.04CJ01.
- [199] W. Zhang, L. Zhou, J. Shi, H. Deng, Catalysts. 8 (2018) 45.
- [209] L. Yue, G. Li, F. Zhang, L. Chen, X. Li, X. Huang, Appl. Catal. A Gen. (2016) 85-92.
- [210] W. Ma, L. Wang, J. Xue, H. Cui, J. Alloys Compd. 662 (2016) 315-319.
- [211] N.A.M. Barakat, Appl. Catal. A Gen. 451 (2013) 21–27.
- [213] Y. Bao, K. Chen, Nano-Micro Lett. 8 (2016) 182–192.
- [214] F. Dong, Z. Zhao, T. Xiong, Z. Ni, W. Zhang, Y. Sun, W.K. Ho, ACS Appl. Mater. Interfaces. 5 (2013) 11392–11401.
- [215] W. Shan, Y. Hu, Z. Bai, M. Zheng, C. Wei, Appl. Catal. B Environ. 188 (2016) 1–12.
- [216] K.C. Christoforidis, T. Montini, E. Bontempi, S. Zafeiratos, J.J.D. Jaén, P. Fornasiero, *Appl. Catal. B Environ.* **187** (2016) 171–180.
- [217] Y. He, Y. Wang, L. Zhang, B. Teng, M. Fan, *Appl. Catal. B, Environ.* **168–169** (2015) 1–8.
- [218] W. Li, C. Feng, S. Dai, J. Yue, F. Hua, H. Hou, *Appl. Catal. B Environ.* **168–169** (2015) 465–471.
- [219] L. Zou, X. Xiang, M. Wei, F. Li, D.G. Evans, Inorg. Chem. 47 (2008) 1361–1369.
- [220] N. Chubar, V. Gerda, O. Megantari, M. Mičušík, M. Omastova, K. Heister, P. Man, J. Fraissard, *Chem. Eng. J.* 234 (2013) 284–299.
- [221] Y. Shi, Z. Gui, B. Yu, R.K.K. Yuen, B. Wang, Y. Hu, Compos. Part B Eng. 79 (2015) 277-284.
- [224] S. Nayak, L. Mohapatra, K. Parida, J. Mater. Chem. A. 3 (2015) 18622–18635.
- [225] E.M. Seftel, E. Popovici, M. Mertens, K. De Witte, G. Van Tendeloo, P. Cool, E.F. Vansant, *Microporous Mesoporous Mater.* **113** (2008) 296–304.
- [226] M. Qin, H. Yang, S. Chen, H. Xie, J. Guan, Quim. Nova. 35 (2012) 559–562.

- [229] J. Deng, Y. Shao, N. Gao, C. Tan, S. Zhou, X. Hu, J. Hazard. Mater. 262 (2013) 836-844.
- [231] A. Agüera, L.A. Perez Estrada, I. Ferrer, E.M. Thurman, S. Malato, A.R. Fernandez-Alba, *J. Mass Spectrom.* **40** (2005) 908–915.
- [232] R. Salgado, V.J. Pereira, G. Carvalho, R. Soeiro, V. Gaffney, C. Almeida, V.V. Cardoso, E. Ferreira, M.J. Benoliel, T.A. Ternes, A. Oehmen, M.A.M. Reis, J.P. Noronha, J. Hazard. Mater. 244–245 (2013) 516–527.
- [233] S. Salaeh, D. Juretic Perisic, M. Biosic, H. Kusic, S. Babic, U. Lavrencic Stangar, D.D. Dionysiou, A. Loncaric Bozic, *Chem. Eng. J.* **304** (2016) 289–302.
- [234] J. Hartmann, P. Bartels, U. Mau, M. Witter, W. v. Tümpling, J. Hofmann, E. Nietzschmann, *Chemosphere*. **70** (2008) 453–461.
- [242] J. Mu, C. Shao, Z. Guo, M. Zhang, Z. Zhang, P. Zhang, B. Chen, Y. Liu, J. Mater. Chem. 22 (2012) 1786.
- [243] H. Hidaka, T. Tsukamoto, Y. Mitsutsuka, T. Oyama, N. Serpone, *Photochem. Photobiol. Sci.* **14** (2015) 919–928.
- [244] X. Li, X. Zhen, S. Meng, J. Xian, Y. Shao, X. Fu, D. Li, *Environ. Sci. Technol.* (2013) doi.org/10.1039/C6RA24900K.
- [245] Z. Wang, B. Huang, Y. Dai, X. Qin, X. Zhang, P. Wang, H. Liu, J. Yu, J. Phys. Chem. C. 113 (2009) 4612–4617.
- [247] X. Chen, H. Xue, Z. Li, L. Wu, X. Wang, X. Fu, J. Phys. Chem. C. 112 (2008) 20393– 20397.
- [251] G. V. Manohara, P. Vishnu Kamath, W. Milius, J. Solid State Chem. 196 (2012) 356–361.
- [253] https://xpssimplified.com/periodictable.php
- [254] D. Kim, P. Thissen, G. Viner, D.W. Lee, W. Choi, Y.J. Chabal, J.B. Lee, ACS Appl. Mater. Interfaces. 5 (2013) 179–185.
- [260] A. Azetsu, H. Koga, A. Isogai, T. Kitaoka, Catalysts. 1 (2011) 83-96.
- [261] J. Cai, Y. Zhang, Y. Qian, C. Shan, B. Pan, Sci. Rep. 8 (2018) 1–10.
- [262] P. Nalawade, B. Aware, V.J. Kadam, R.S. Hirlekar, J. Sci. Ind. Res. (India). 68 (2009) 267–272.
- [263] S.T. Frey, S.L. Guilmet, R.G.E. III, A. Bennett, S.R. Soltau, R.C. Holz, ASC Appl Mater Interfaces. (2010) 2828–2832.
- [267] G. Bayramoğlu, M.Y. Arica, J. Hazard. Mater. 156 (2008) 148-155.
- [268] H. Kawakita, Sci. Technol. 2 (2012) 25–29.
- [269] M.B. Arnao, M. Acosta, J.A. Rio, F. Garcia-Canovas, Biochim. Biophys. Acta. (1990) 85– 89.
- [270] S. Dalal, M.N. Gupta, Chemosphere. 67 (2007) 741–747.
- [271] S.J. Kim, B.K. Song, Y.J. Yoo, Y.H. Kim, J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 57 (2014) 743–747.
- [272] L. Mao, S. Luo, Q. Huang, J. Lu, Sci. Rep. 3 (2013) 1-7.
- [273] C. Karunakaran, P. Anilkumar, P. Gomathisankar, Chem. Cent. J. 5 (2011) 31.
- [274] Z. Wang, Y. Zhang, Q. Zhang, Y. Shen, D. Kuehner, Green Chem. 10 (2008) 907–909.
- [275] M. Jobbágy, A.E. Regazzoni, Appl. Clay Sci. 51 (2011) 366–369.
- [276] X. Liu, L. Luo, Y. Ding, Y. Xu, Analyst. 136 (2011) 696–701.
- [277] A. Legrouri, M. Badreddine, A. Barroug, A. De Roy, J.P. Besse, J. Mater. Sci. Lett. 18 (1999) 1077–1079.
- [278] A. Alshammari, A. Koeckritz, V.N. Kalevaru, A. Bagabas, A. Martin, *Appl Petrochem Res.* (2012) 61–67.

- [279] M. Ajdary, M. Negahdary, R. Chelongar, S. zadeh, Adv. Biomed. Res. 4 (2015) 69.
- [280] B.M. Farhad Behzad, Biochem. Pharmacol. Open Access. 03 (2014) 3-5.
- [284] X. Chen, C. Fu, Y. Wang, W. Yang, D.G. Evans, Biosens. Bioelectron. 24 (2008) 356– 361.
- [286] H. Hamdi, A. Namane, D. Hank, A. Hellal, J. Mater. Environ. Sci. 8 (2017) 3953–3961.
- [288] C.M. Puscasu, E.M. Seftel, M. Mertens, P. Cool, G. Carja, J. Inorg. Organomet. Polym. Mater. 25 (2015) 259–266.
- [306] X. Lv, J. Weng, Sci. Rep. 3 (2013) 1–10.
- [307] A. Zuber, M. Purdey, E. Schartner, C. Forbes, B. Van Der Hoek, D. Giles, A. Abell, T. Monro, H. Ebendorff-Heidepriem, *Sensors Actuators, B Chem.* 227 (2016) 117–127.
- [309] J. Chaudiere, A.L. Tappel, J. Inorg. Biochem. 20 (1984) 313-325.
- [310] A.C. Osuji, S.O.O. Eze, E.E. Osayi, F.C. Chilaka, Sci. World J. 2014 (2014).
- [311] Y. Seida, Y. Nakano, J. Chem. Eng. Japan. 34 (2001) 906–911.
- [321] K. Kamada, T. Nakamura, S. Tsukahara, Chem. Mater. 23 (2011) 2968–2972.
- [324] X. Wang, T. Saba, H.H.P. Yiu, R.F. Howe, J.A. Anderson, J. Shi, Chem. 2 (2017) 621– 654.
- [328] J.H. Kim, Photocatalytic production method of oxidoreductase cofactors using pt nanoparticles, 2010. http://www.google.com/patents/WO2011108789A1.
- [329] X. Huang, I.H. El-Sayed, X. Yi, M.A. El-Sayed, J. Photochem. Photobiol. B Biol. 81 (2005) 76–83.
- [332] D.M. Parkin, Lancet Onco. 2 (2001) 533–543.
- [333] B. Jiang, K. Himmelsbach, H. Ren, K. Boller, E. Hildt, J. Virol. 90 (2015) 3330-41.
- [334] P. Arauz-Ruiz, H. Norder, B.H. Robertson, L.O. Magnius, J. Gen. Virol. 83 (2002) 2059– 2073.
- [335] N. Chai, H.E. Chang, E. Nicolas, Z. Han, M. Jarnik, J. Taylor, J. Virol. 82 (2008) 7812– 7817.
- [336] M. Bruns, S. Miska, S. Chassot, H. Will, J. Virol. 72 (1998) 1462-8.
- [337] W. Yu, C. Goddard, E. Clearfield, C. Mills, T. Xiao, H. Guo, J.D. Morrey, N.E. Motter, K. Zhao, T.M. Block, A. Cuconati, X. Xu, J. Med. Chem. 54 (2011) 5660–5670.
- [339] L. Lu, R.W.Y. Sun, R. Chen, C.K. Hui, C.M. Ho, J.M. Luk, G.K.K. Lau, C.M. Che, *Antivir. Ther.* **13** (2008) 252–262.
- [342] N. Leinskiw, V. Colvin, R. Drezek, Small. 4 (2008) 26-49.
- [343] M. Thomas, A.M. Klibanov, Proc. Natl. Acad. Sci. 100 (2003) 9138–9143.
- [344] M.A. MacKey, M.R.K. Ali, L.A. Austin, R.D. Near, M.A. El-Sayed, J. Phys. Chem. B. 118 (2014) 1319–1326.
- [345] M.A.M. and M.A. El-Sayed, J. Phys. Chem. Lett. 4 (2013) 1541–1545.
- [346] D. Goh, T. Gong, U.S. Dinish, K.K. Maiti, C.Y. Fu, K.T. Yong, M. Olivo, *Plasmonics*. 7 (2012) 595–601.
- [347] X.D. Zhang, H.Y. Wu, D. Wu, Y.Y. Wang, J.H. Chang, Z. Bin Zhai, A.M. Meng, P.X. Liu, L.A. Zhang, F.Y. Fan, *Int. J. Nanomedicine*. 5 (2010) 771–781.
- [348] J.A. Dahl, B.L.S. Maddux, J.E. Hutchison, Chem. Rev. 107 (2007) 2228–2269.
- [349] S. Kawamura, M.C. Puscasu, Y. Yoshida, Y. Izumi, G. Carja, Appl. Catal. A Gen. 504 (2015) 238–247.
- [350] K. Ariga, Q. Ji, M.J. Mcshane, Y.M. Lvov, A. Vinu, J.P. Hill, *Chem. Mater.* **24** (2012) 728–737.
- [351] G.Q.M.L. Katharina Ladewig, Marcus Niebert, Zhi P. Xu, Peter P. Gray, Biomaterials. 31

(2010) 1821–1829.

- [352] Priyadarshi Roy Chowdhury and Krishna G. Bhattacharyya, *Dalt. Trans.* **44** (2015) 6809–6824.
- [353] J. He, T. Kunitake, Chem. Mater. 16 (2004) 2656–2661.
- [356] B.D. Hall, D. Zanchet, D. Ugarte, J. Appl. Crystallogr. 33 (2000) 1335–1341.
- [357] V. Prevot, V. Briois, J. Cellier, C. Forano, F. Leroux, J. Phys. Chem. Solids. 69 (2008) 1091–1094.
- [358] J.G. and L.G. Anita Horvath, Andrea Beck, Gyorgyi Stefler, Tímea Benko, Gyorgy Safran, Zsolt Varga, J. Phys. Chem. C. 115 (2011) 20388–20398.