

UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNIU

WYDZIAŁ CHEMII

Katedra Chemii Środowiska i Bioanalityki



**UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**
Wydział Chemii

mgr Izabela Wojtczak

**Mikro- nanostrukturyzowane kompozyty na bazie
biokrzemionki okrzemkowej funkcjonalizowanej
nanocząstkami tlenków ziem rzadkich (Ce, Tb)
i nanocząstkami srebra**

**Rozprawa doktorska
napisana pod kierunkiem
dr hab. inż. Myrosława Spryńskiego, prof. UMK**

Toruń 2024

Micro- nanostructured composites based on diatom biosilica functionalised with rare earth oxide nanoparticles (Ce, Tb) and silver nanoparticles

Podziękowania

Pragnę wyrazić głęboką wdzięczność i podziękować wszystkim, którzy swoim wsparciem, pomocą i cierpliwością przyczynili się do powstania tej pracy.

Serdecznie dziękuję:

dr hab. inż. Myrosławowi Sprynskiemu, prof. UMK, promotorowi tej pracy, za lata owocnej współpracy, nieskończoną liczbę dni wypełnionych gorącymi dyskusjami (przerwanymi jedynie krótką partią szachów), oraz za niezliczone godziny poświęcone na korekty moich "wybujających" tekstów. To dzięki Panu Profesorowi, odnawiała się moja siła i motywacja.

dr Weronice Brzozowskiej mojemu niezawodnemu edytorowi, wieloletniemu współpracownikowi, bratniej duszy i przyjaciółce, za cierpliwość oraz wspólne chwile spędzone na czyszczeniu reaktorów. Te niezapomniane momenty, zarówno w laboratorium, jak i poza nim, na zawsze pozostaną ze mną. Zawsze byłaś moim największym wsparciem, co bardzo cenię.

inż. Magdalenie Olszewskiej za liczne wspólne kawy i słowa wsparcia, które były dla mnie nieocenione w momentach stawiania czoła największym wyzwaniom.

Mojemu mężowi, który, mimo że zawodowo niezwiązany jest z chemią, z niezwykłą cierpliwością i starannością czytał moje teksty, wspierał mnie w momentach zwątpienia i stał się inspiracją, dzięki której każda kolejna tworzona przeze mnie grafika zyskiwała na jakości.

Mojej Mamie, za niewzruszoną cierpliwość i wychowanie mnie - swojego nicponia - na osobę, która dziś z dumą może powiedzieć: Tak, udało mi się! Dziękuję Ci z całego serca. Nie byłabym tu, gdzie jestem, gdyby nie Ty.

Tacie, który zawsze będzie zajmował szczególne miejsce w mojej pamięci.

*„Lecz jestem nędzarzem,
posiadam tylko marzenia, rozsiałem je u twych stóp.
Stąpaj lekko, gdyż stąpasz po moich marzeniach”*

William Butler Yeats

SPIS TREŚCI

1. Wprowadzenie	8
2. Wykaz skrótów	14
3. Hipotezy badawcze i cel rozprawy	15
4. Część eksperymentalna - Wyniki badań i dyskusja	17
4.1. Synteza, metodologia i charakterystyka uzyskanych materiałów	17
4.1.1. Hodowla biomasy okrzemek z gatunku <i>Pseudostaurosira trainorii</i> oraz procedura jej oczyszczania w celu uzyskania ustrukturyzowanej biokrzemionki okrzemkowej.....	17
4.1.2. Biosynteza biokrzemionki okrzemkowej metabolicznie domieszkowanej cerem (Ce-DBioSiO ₂) [P1]	18
4.1.3. Synteza biokrzemionki okrzemkowej funkcjonalizowanej nanocząstkami tlenków terbu (Tb _x O _y /DBioSiO ₂) [P2]	18
4.1.4. Synteza biokrzemionki okrzemkowej funkcjonalizowanej nanocząstkami mieszanego tlenku Ce,Tb [P2]	20
4.1.5. Synteza biokrzemionki okrzemkowej modyfikowanej heteroepitaksjalnie sformowanymi Ag,AgCl,CeO ₂ [P3]	20
4.1.6. Metody wykorzystane do charakterystyki uzyskanych kompozytów	21
4.2. Zastosowanie metabolicznej insercji do funkcjonalizacji biokrzemionki okrzemkowej poprzez nanocząstki tlenku ceru [P1] – dane nieopublikowane	25
4.2.1. Kinetyka przyrostu biomasy i sorpcji składników medium hodowlanego okrzemek (Si, N, P i Ce)	25

4.2.2. Badania SEM i SEM-EDX zsyntetyzowanych materiałów kompozytowych	31
4.2.3. Analiza materiałów za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej	32
4.2.4. Analiza dyfrakcji rentgenowskiej badanych materiałów.....	34
4.2.5. Analiza termogravimetryczna.....	36
4.2.6. Pomiar potencjału zeta	38
4.2.7. Widma FTIR.....	39
4.2.8. Właściwości fotoluminescencyjne	40
4.3. Biokrzemionka okrzemkowa modyfikowana nanocząstkami mieszanego tlenku Ce,Tb i quasi-krystalicznymi nanocząstkami tlenków Tb [P2] – dane nieopublikowane	44
4.3.1. Badania SEM i SEM-EDX uzyskanych kompozytów	44
4.3.2. Analiza kompozytu za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej	50
4.3.3. Widma rentgenowskiej dyfrakcji proszkowej.....	54
4.3.4. Analiza termogravimetryczna.....	56
4.3.5. Widma FTIR.....	59
4.3.6. Właściwości fotoluminescencyjne	61
4.4. Biokrzemionka okrzemkowa domieszkowana heteroepitaksjalnie wzrastającymi złożonymi nanocząstkami Ag/AgCl/CeO ₂ : Synteza, charakterystyka i zastosowanie antybakteryjne [P3]	66
4.4.1. Analiza SEM-EDX uzyskanych kompozytów	66
4.4.2. Widma rentgenowskiej dyfrakcji proszkowej.....	68

4.4.3. Analiza kompozytu za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej	71
4.4.4. Pomiary potencjału zeta otrzymanych kompozytów	73
4.4.5. Właściwości fotoluminescencyjne	75
4.4.6. Właściwości antybakteryjne otrzymanych kompozytów	77
5. Podsumowanie i wnioski	95
6. Oświadczenia współautorów	98
7. Streszczenie rozprawy	106
7.1. Streszczenie w języku polskim	106
7.2. Streszczenie w języku angielskim	108
8. Bibliografia	110
9. Dorobek naukowy	133
9.1. Lista publikacji naukowych	133
9.2. Konferencje	135
9.3. Inne aktywności doktoranta (np. działalność popularyzatorska, udział bierny w konferencjach itp.)	136
9.4. Udokumentowany udział doktoranta w projektach naukowych oraz finansowanie badań naukowych ze zdobytych grantów	137

1. Wprowadzenie

Pierwiastki ziem rzadkich (REE), kluczowe dla różnych dziedzin technologii i przemysłu, wykazują unikalne właściwości niezbędne dla zaawansowanych technologicznie urządzeń, zwłaszcza w technologiach produkcji. Pomimo względnej dostępności, ekonomiczna możliwość wydobycia tych pierwiastków stanowi wyzwanie ze względu na ich dystrybucję w minerałach. Globalny łańcuch dostaw, historycznie zdominowany przez Chiny, ewoluuje wraz z wkładem innych krajów, podkreślając potrzebę zróżnicowanych i zrównoważonych źródeł. REE są niezbędne w przemyśle motoryzacyjnym, lotniczym, elektronicznym, obrazowania medycznego i przemyśle zbrojeniowym. Jednak ich wydobycie i przetwarzanie budzi obawy związane z ochroną środowiska, wymagając zrównoważonych praktyk i oceny ich wpływu z punktu widzenia cyklu życia, zgodnie z Celami Zrównoważonego Rozwoju ONZ. Recykling i wtórne pozyskiwanie wyłaniają się jako realne rozwiązania w celu złagodzenia ryzyka związanego z dostawami i zmniejszenia negatywnego wpływu na środowisko przy pozyskiwaniu REE, wspierając gospodarkę o obiegu zamkniętym. Kształtowanie zasad (zgodnie z w/w celami) powinno kłaść nacisk na zrównoważone wydobycie, recykling i globalną współpracę w celu zapewnienia stabilnych dostaw REE. Kluczowe znaczenie dla zrównoważonego zarządzania zasobami REE ma holistyczne podejście integrujące wymiar środowiskowy, ekonomiczny i społeczny [1–3]. Integracja REE z nanotechnologią umożliwia rozwój nowych materiałów o unikalnych właściwościach, co otwiera drzwi do innowacji i wpływa na postęp w wielu sektorach przemysłu i nauki.

Nanotechnologia jest stale rozwijającą się interdyscyplinarną nauką, która łączy wiedzę m.in. z zakresu biologii, chemii, fizyki, inżynierii i materiałoznawstwa, przez co umożliwia efektywne zastosowania w wielu dziedzinach przemysłu i nauki, rozpoczynając od tradycyjnych technik chemicznych po technologie medyczne, środowiskowe i militarne [4–6]. Główna koncepcja nanotechnologii polega na wykorzystaniu cząstek o rozmiarach mniejszych niż 100 nm. Taki rozmiar nadaje materiałom nowe właściwości i funkcje [7,8]. Do podstawowych nanomateriałów zaliczyć można między innymi: nanometale, nanoceramiki, nanopolimery, nanokompozyty i nanostruktury węglowe [9–13]. Należy zwrócić szczególną uwagę na fakt, iż obecnie poszukuje się nowych metod syntezy nanomateriałów, które będą przyjazne dla środowiska i tym samym będą wpływały na rozwój i popularyzację zielonej

chemii [14]. Metody takie zyskują coraz bardziej na istotności, ponieważ należy dążyć do ograniczenia wykorzystywania drogich i toksycznych odczynników stosowanych do syntez nanomateriałów.

Do nanomateriałów o największej popularności i zapotrzebowaniu zaliczyć można nanocząstki srebra (AgNPs). Nanocząstki te mają wiodący wkład w różnorodne zastosowania, w takich dziedzinach jak: nanomedycyna, biologia, kosmetologia, przemysł spożywczy, tekstylny etc. [15–20]. Ponadto, stanowią istotny element m.in. w fotokatalitycznym rozkładzie barwników organicznych [21,22]. Pomimo sprzecznych doniesień na temat toksyczności AgNPs, ich rola jako środka dezynfekującego i przeciwdrobnoustrojowego została znacząco doceniona. Mniejsze nanocząstki srebra wykazują większą aktywność antybakteryjną. Dobór odpowiednich warunków syntezy, silnie wpływa na kształt oraz rozmiar otrzymywanych AgNPs [23,24]. Obecnie można wyszczególnić również zastosowanie hybrydowych kompozytów łączonych, w skład których wchodzi nanocząstki srebra oraz nanocząstki chlorku srebra. Połączenia te były analizowane m.in. pod kątem działania antybakteryjnego [25,26], a ich synteza była zgodna z założeniami zielonej chemii, ponieważ uzyskano je z ekstraktu roślinnego [27]. Takie podejście jest niezwykle istotne i powinno być szeroko promowane, ponieważ należy dążyć do działań proekologicznych.

Nanocząstki tlenku ceru(IV) zyskują coraz większe zainteresowanie w wielu dziedzinach nauki i technologii, w tym w katalizie, elektrochemii czy medycynie [28–30] ze względu na ich unikalne właściwości, takie jak duża powierzchnia właściwa, wysoka reaktywność powierzchniowa oraz zdolność do przechowywania i uwalniania tlenu [31–33]. Charakteryzują się one unikalną chemią powierzchni, biokompatybilnością oraz wysoką stabilnością, co jest niezwykle istotne przy długofalowym działaniu nanocząstek [34,35]. Nanocząstki tlenku ceru, posiadają zdumiewający potencjał farmakologiczny [36], ze względu na swoje właściwości przeciwutleniające, co umożliwia zastąpienie chemicznie przygotowywanych antyoksydantów [37,38]. Nanocząstki tlenku ceru (nanoceria) są wykorzystywane np. jako katalizator w silnikach Diesla [39], surowiec przy produkcji ogniw słonecznych [40] czy też jako środek ochronny przed korozją [41]. Wstępne badania biologiczne wykazały, iż nanocząstki CeO₂ wykazują działanie ochronne komórek, poprawę adhezji komórek macierzystych, co sugerować również może potencjalne zastosowanie w inżynierii tkankowej [42]. Obecnie, metody syntezy tego typu nanocząstek wywołują liczne kontrowersje, ponieważ wykorzystuje się w nich toksyczne odczynniki, a otrzymane w ten sposób NPs są niestabilne i toksyczne co

znacznie zmniejsza ich wydajność i możliwość aplikacji. Dlatego też opracowywane są metody otrzymywania CeO₂NPs z różnorodnych zasobów biologicznych, będących bogatym źródłem fitochemikaliów, które odpowiedzialne są za redukcję wyselekcjonowanych soli do docelowych nanocząstek [28] oraz ich stabilizację.

Rozwój skutecznych i efektywnych metod syntezy nanocząstek CeO₂, umożliwiających kontrolę ich rozmiaru, kształtu i krystaliczności, jest kluczowy dla optymalizacji ich właściwości i funkcjonalności w stosunku do konkretnych zastosowań. Pomimo tego, że w literaturze opisano wiele metod syntezy nanocząstek CeO₂ to każda z nich ma swoje specyficzne zalety i ograniczenia. Jedną z powszechnie stosowanych metod jest metoda osadzania chemicznego, która polega na reakcji redukcji jonów ceru pochodzących z prekursora, którym najczęściej jest sól cerowa, prowadząc do powstania CeO₂NPs. Metoda ta pozwala na stosunkowo prostą i tanią produkcję nanocząstek tlenku ceru(IV) o dużej powierzchni właściwej. Jednakże, może ona prowadzić do powstawania nanocząstek o zmiennej homogeniczności i rozmiarze, co potwierdza praca Cheng i in. [43], w której opisane zostało wykorzystanie metody osadzania chemicznego do syntezy nanocząstek CeO₂ o wysokiej aktywności katalitycznej w procesach redukcji tlenków azotu. Metoda sol-gel, oparta na hydrolizie i polimeryzacji prekursorów ceru, umożliwia precyzyjną kontrolę nad morfologią i rozmiarem nanocząstek, co jest kluczowe w kontekście wykorzystania ich jako substratów do produkcji katalizatorów czy biosensorów. Praca Li i in. [44] demonstruje zastosowanie tej metody do syntezy nanocząstek CeO₂, pełniących funkcję katalizatorów w degradacji kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego, z możliwością manipulacji morfologią i rozmiarem tychże cząstek. Z kolei metody fizyczne, takie jak termoliza czy metoda solwotermalna, chociaż często bardziej skomplikowane i kosztowne, pozwalają na uzyskanie nanocząstek CeO₂ o wyjątkowo czystej strukturze krystalicznej i wysokiej homogeniczności. Dostosowując warunki reakcji syntezy, takie jak skład rozpuszczalnika, stężenie prekursora, temperaturę i czas, można otrzymać nanocząstki CeO₂ o różnych kształtach i regulowanym rozmiarze, jak pokazała praca Wu i in. [45], w której opisano wykorzystanie procesu termolizy do otrzymania jednolitych „nanokwiatów” CeO₂. Również metoda hydrotermalna, szeroko omawiana w literaturze, pozwala na efektywną syntezę nanocząstek tlenku ceru(IV), pozwalającą na kontrolę ich morfologii i właściwości krystalicznych, co zostało zademonstrowane w pracy Zhang i in. [46], gdzie opisano przyjazną dla środowiska metodę syntezy pustych sfer CeO₂ z krystaliczną, mezoskopową powłoką. Wybór odpowiedniej metody syntezy

nanocząstek CeO_2 zależy od wielu czynników, w tym od specyficznych właściwości końcowego produktu, skali produkcji oraz kosztów. Metody chemiczne, takie jak osadzanie chemiczne i sol-gel, oferują dobre możliwości kontroli nad właściwościami nanocząstek, ale mogą wiązać się z ograniczeniami dotyczącymi homogeniczności i czystości. Metody fizyczne, choć często bardziej zaawansowane technologicznie, mogą zapewniać lepszą kontrolę nad czystością i jednorodnością cząstek, ale mogą być mniej wydajne w kontekście uzyskania wysokiej powierzchni właściwej.

Obecnie istotne jest prowadzenie badań mających na celu rozwijanie zrównoważonego oraz efektywnego wykorzystywania energii i opracowywanie odpowiednich technologii bezpieczniejszych i przyjaznych dla środowiska. To zaś skłania naukowców do poszukiwań najbardziej odpowiednich materiałów zdolnych do przekształcania i transferu energii. Ostatnio szczególne uznanie zdobyły pierwiastki ziem rzadkich (REE), zwłaszcza tlenki metali ziem rzadkich (REO), zarówno w formie odrębnej jak i w połączeniu z innymi matrycami. Zainteresowanie nimi stale rośnie w sektorach zaawansowanych technologii optycznych ze względu na ich unikalne właściwości. W porównaniu z innymi materiałami, takimi jak szkła na bazie fluoru, litu czy P_2O_5 , tlenki metali ziem rzadkich wykazują wyższą wydajność w różnych zastosowaniach optycznych [47–49] dzięki swojej termicznej i chemicznej stabilności, trwałości, nieliniowemu załamaniu światła oraz wysokiej wydajności kwantowej. Co więcej, REO wykazują obiecujące perspektywy w produkcji światła białego, np. szkło BaGaBSi, zawierające domieszki w postaci 0,6% molowych ilości Ce_2O_3 i Tb^{3+} , wykazuje wyjątkową odporność na dewitryfikację oraz charakteryzują się wysoką intensywnością, co czyni je obiecującym materiałem do produkcji białych diod LED [50]. Ponadto, procesy relaksacji wielofononowej i efektywnej konwersji REO w górę i w dół mogą przyczynić się do ograniczenia strat niepromienistych, co ostatecznie może doprowadzić do uzyskania wysokiej jakości materiałów aktywnych używanych, np. w laserach [51].

Przykładem obiecującego materiału aktywnego są nanocząstki tlenku terbu (Tb_2O_3) i tlenku ceru (CeO_2), które są istotnymi tlenkami metali ziem rzadkich pod względem technologicznym. Nanocząstki tlenku terbu słynące z intensywnej luminescencji w zakresie widzialnym, emitując zielone i czerwone światło pod wpływem promieniowania UV, znalazły również zastosowanie jako luminofory w kolorowych lampach telewizyjnych i oświetleniu fluorescencyjnym. Materiały domieszkowane terbem okazują się obiecujące w obszarze zielonych laserów, jednakże ich zastosowanie

jest utrudnione ze względu na silną absorpcję jonów Tb^{3+} w zakresie 240-260 nm do którego trudno dotrzeć ze względu na krótką długość fali [52]. Rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie jonów ceru (Ce) jako sensybilizatorów, które wykazują dozwolone przejście $4f-5d$ przy 320 nm. Efektywny proces przenoszenia energii z jonów ceru do jonów terbu może istotnie przyczynić się do przesunięcia w kierunku regionu czerwonego dla długości fali wzbudzenia i wzmocnienia intensywności emisji jonów Tb^{3+} [52,53]. Tlenek ceru, występujący na dwóch stopniach utlenienia (Ce^{3+} i Ce^{4+}), posiada znaczącą wartość technologiczną ze względu na swoje charakterystyczne właściwości. Struktura sześciennego fluorytu nanocząstek CeO_2 w skali nano, z Ce^{3+} i Ce^{4+} współistniejącymi na jej powierzchni, sprawia, że tlenek ceru zawiera wewnętrzne defekty tlenowe [54]. Redukcja wielkości cząstek ceru wpływa na właściwości optyczne i elektryczne, co jest związane z obecnością defektów powierzchniowych, naprężeń wewnętrznych i uwięzienia fononów [55]. Ze względu na wysoką stałą dielektryczną CeO_2 , nanocząstki te zostały zbadane pod kątem ich potencjalnego zastosowania w urządzeniach magazynujących energię, takich jak superkondensatory i baterie litowo-jonowe [56].

W perspektywie zrównoważonego rozwoju, istnieje potrzeba integralnego podejścia do produkcji kompozytów o właściwościach optycznych, co obejmuje zarówno pierwiastek aktywny, jak i matrycę. Matryca, pełniąca rolę nośnika i wsparcia dla materiału aktywnego, musi spełniać kilka kluczowych kryteriów. Powinna być trwała, aby utrzymać strukturę kompozytu w odpowiednich warunkach, stabilna chemicznie i termicznie, aby zachować integralność struktury w różnych warunkach pracy, oraz przede wszystkim zgodna z zasadami zrównoważonego rozwoju, wykazująca minimalny wpływ na środowisko [57].

Istotną rolę w rozwoju nanotechnologii odgrywają również mikroorganizmy. W grupie tej na szczególną uwagę zasługują mikroalgi, a zwłaszcza jednokomórkowe okrzemki, których niewątpliwą zaletą jest obfitość występowania w przyrodzie oraz unikalne zdolności do biosyntezy krzemionkowych pancerzyków. Synteza biomasy wyselekcjonowanego gatunku okrzemek może być prowadzona w warunkach laboratoryjnych, z zachowaniem założeń promowanych przez zieloną chemię. Krzemionkowe pancerzyki okrzemek posiadają trójwymiarową strukturę (3D) ornamentowaną okresowymi układami porów od nano- do mikroskali, która z powodzeniem może być wykorzystywana w rozwoju nowoczesnych technologii [58,59]. Unikalne właściwości strukturalne, fizykochemiczne oraz biokompatybilność,

niewątpliwie wskazują na perspektywę wykorzystania tego materiału jako idealnej matrycy dla syntezowanych nanocząstek aktywnych pierwiastków.

2. Wykaz skrótów

REE – Pierwiastki ziem rzadkich

REO – Tlenki metali ziem rzadkich

SEM – Skaningowa mikroskopia elektronowa

TEM – Transmisyjna mikroskopia elektronowa

XRD – Rentgenowska dyfrakcja proszkowa

TG – Analiza termogravimetryczna

FTIR – Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

PL – Fotoluminescencja

SE – Detektor sygnału wtórnego

EDX – Spektroskopia dyspersji energii

DF – Detektor ciemnego pola

HAADF – Detektor ciemnego pola z szerokim kątem rozproszenia

IF – Powierzchnia pasma fluorescencyjnego

MIC – Minimalne stężenie hamujące

MH – Pożywka Miller Hilton

CLSI – Instytut Norm Klinicznych i Laboratoryjnych (z ang. *Clinical and Laboratory Standards Institute*)

ATCC – Repozytorium szczepów bakteryjnych (z ang. *American Type Culture Collection*)

CFU – Jednostka tworząca kolonie (z ang. *Colony Forming Unit*)

DFI – Szczep wyizolowany z infekcji stopy cukrzycowej

WI – Szczep wyizolowanego z zakażenia rany

RPM – Obroty na minutę (a ang. *Revolutions Per Minute*)

NPs – Nanocząstki

CeO₂NPs – Nanocząstki tlenku ceru

DBioSiO₂ – Biokrzemionka okrzemkowa

Ce-DBioSiO₂ – Biokrzemionka okrzemkowa funkcjonalizowana nanocząstkami CeO₂

Tb_xO_y/DBioSiO₂ – Kompozyty biokrzemionki okrzemkowej zawierające tlenki terbu

(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ – Kompozyty biokrzemionki okrzemkowej zawierający mieszany tlenek ceru i terbu

Ag/AgCl/CeO₂/DBioSiO₂ – Kompozyt biokrzemionki okrzemkowej zawierający nanocząstki metalicznego srebra, chlorku srebra i tlenku ceru(IV)

3. Hipotezy badawcze i cel rozprawy

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było otrzymanie i charakterystyka 3D mikro-nanostrukturyzowanych kompozytów nowej generacji, których matrycę stanowiła biokrzemionka okrzemkowa pozyskiwana z okrzemek gatunku *Pseudostaurosira trainorii* hodowanych w warunkach laboratoryjnych, funkcjonalizowana nanocząstkami tlenków metali ziem rzadkich (cer, terb) oraz nanocząstkami srebra. Zakładano uzyskanie materiałów, które integrują uporządkowaną trójwymiarową strukturę biokrzemionki okrzemkowej

z unikalnymi właściwościami stosowanych domieszek. Oczekiwano, że uzyskane kompozyty będą wykazywać zaawansowane właściwości katalityczne, optyczne i antybakteryjne, dzięki synergii między strukturą matrycy a funkcjonalnymi właściwościami domieszkowanych nanocząstek. W tym celu zastosowano dwa podejścia z czego pierwsze dotyczyło metabolicznej insercji jonów ceru do komórek biomasy okrzemek wybranego gatunku hodowanego w warunkach laboratoryjnych, natomiast drugie podejście opierało się na metodzie impregnacji 3D biokrzemionki okrzemkowej roztworami soli metali. W związku z powyższym postawiono następujące hipotezy badawcze:

1. Opracowanie innowacyjnej metody syntezy nanokompozytu (Ce-DBioSiO₂), polegającej na metabolicznym domieszkowaniu hodowanych komórek okrzemek gatunku *Pseudostaurosira trainorii* jonami ceru. Podejście to umożliwi uzyskanie synergicznego połączenia unikalnych właściwości biokrzemionki (optycznych, termicznych, mechanicznych i biokompatybilności) z funkcjonalnością nanocząstek tlenku ceru(IV), co jest kluczowe dla ich efektywności i możliwości aplikacyjnych w zaawansowanych technologiach. Zadanie badawcze polegało na optymalizacji procesów metabolicznego wprowadzania ceru do struktury biokrzemionkowej, badaniu wpływu różnych warunków hodowli, w tym pH, składu pożywki oraz stosunku domieszkowanych pierwiastków. Metoda ta opiera się na możliwości wykorzystania biologicznych zdolności komórek okrzemek do metabolicznego osadzania nanocząstek tlenku ceru na powierzchni ich panczyków krzemionkowych, co otwiera nowe możliwości zastosowania takich nanokompozytów w katalizie, biosensorach i medycynie. Dzięki ekologicznemu podejściu do syntezy opracowana technika

łączy w sobie potencjał zrównoważonej produkcji i zaawansowanej funkcjonalności. [P1]

2. Zaprojektowanie i synteza nowych 3D mikro-nanostrukturyzowanych kompozytów na bazie połączenia naturalnej matrycy w postaci biokrzemionki krzemkowej funkcjonalizowanej nanocząstkami mieszanego tlenku ceru i terbu ((Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂) oraz tlenków terbu (Tb_xO_y/DBioSiO₂). Etapy syntezy zostały tak zaprojektowane, aby w pełni wykorzystać połączenie właściwości biokrzemionki, która została użyta, jako fotoniczna, naturalna matryca oraz unikalnej funkcjonalności domieszkowanych tlenków REE. W eksperymentach związanych z zakładaną hipotezą skupiono się na uzyskaniu materiałów, które będą charakteryzować się specyficznymi właściwościami luminescencyjnymi, wysoką termostabilnością i hydrofobowością, ze względu na obecność zastosowanych domieszek. [P2]

3. Zaprojektowanie i synteza nowych 3D mikro-nanostrukturyzowanych kompozytów zawierających w swoim składzie, hybrydowe połączenie nanocząstek chlorku srebra, metalicznego srebra oraz tlenku ceru(IV) na biokrzemionkowej matrycy z okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii* ((Ag,AgCl,CeO₂)DBioSiO₂), wykorzystując do tego celu metodę chemicznego osadzenia. Należy zaznaczyć, że synteza nanokompozytów została tak zaprojektowana, aby nie wywierać negatywnego wpływu na środowisko naturalne, co promuje szerzenie podejścia eco-friendly. W związku z zakładanym efektem synergii właściwości hybrydowych nanocząstek zawartych w otrzymanych materiałach (zwłaszcza aktywności antybakteryjnej), zaprojektowano badanie właściwości antybakteryjnych wobec szczepów Gram-dodatnich *Staphylococcus aureus* oraz Gram-ujemnych *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*. [P3]

4. Charakterystyka właściwości zsyntezowanych 3D mikro-nanostrukturyzowanych kompozytów (morfologia, struktura, składem pierwiastkowy, stabilność termiczna, właściwości fotoluminescencyjne, zeta potencjał), wykorzystując do tego celu szereg metod instrumentalnych: SEM, TEM, TGA, XRD, UV-Vis, ICP, FTIR czy spektrofotometria. [P1][P2][P3]

4. Część eksperymentalna - Wyniki badań i dyskusja

4.1. Synteza, metodologia i charakterystyka uzyskanych materiałów

4.1.1. Hodowla biomasy okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii* oraz procedura jej oczyszczania w celu uzyskania ustrukturyzowanej biokrzemionki okrzemkowej

Do hodowli biomasy okrzemek użyto czysty szczep okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii*, pochodzący z Kolekcji Kultur Glonów Bałtyckich Instytutu Oceanografii Uniwersytetu Gdańskiego. Szczep ten hodowany był w kolbach Erlenmayera o pojemności 5000 mL, utrzymywanych w temperaturze około 25°C. W procesie hodowli wykorzystano pożywkę Guillarda F/2 oraz metakrzemian sodu ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$, POCH, Gliwice, Polska) w stężeniu 7 mg Si/L, który pełnił rolę źródła rozpuszczalnego krzemu. Dodatkowo, zapewniono stałe pH medium hodowlanego na poziomie 8,4 oraz napowietrzenie i kontrolowane oświetlenie w cyklu 12-godzinnym dzień/noc za pomocą dwóch lamp o natężeniu 1500 lux. Hodowla biomasy okrzemek trwała przez 12 dni.

Po zakończeniu etapu hodowli okrzemek uzyskana biomasa została przefiltrowana i poddana procesowi oczyszczania, w celu uzyskania biokrzemionki okrzemkowej (DBioSiO_2). Procedura ta była prowadzona w zlewkach płaskodennych o objętości 600 mL zawierających 30% roztwór nadtlenu wodoru (Merck, Darmstadt, Niemcy), z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego z grzaniem. Proces oczyszczania prowadzony był w temperaturze 80°C przez 4 h. Po tym okresie dodawano kilka kropel 37% HCl (Merck, Darmstadt, Niemcy), aby usunąć powstałe węglany wapnia jak i nadmiar H_2O_2 . Powstałą zawiesinę biokrzemionki pozostawiano na 24 h w celu sedymentacji. Następnie przeprowadzano dekantację, a uzyskany materiał płukano wodą destylowaną i wirowano przez 10 min przy obrotach 10000 RPM na wirówce Eppendorf Centrifuge 5810 R (Hamburg, Niemcy). Czynność tę powtórzono pięciokrotnie. Uzyskaną w ten sposób biokrzemionkę okrzemkową suszono w temperaturze 120°C, a następnie przenoszono do sterylnych probówek Eppendorf.

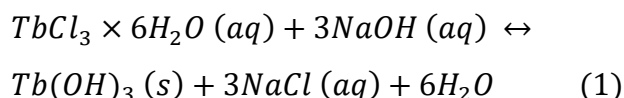
4.1.2. Biosynteza biokrzemionki okrzemkowej metabolicznie domieszkowanej cerem (Ce-DBioSiO₂) [P1]

W trakcie hodowli biomasy okrzemek należących do gatunku *Pseudostaurosira trainorii*, opisanego szczegółowo w Rozdziale 4.1.1., dokonano wzbogacenia medium hodowlanego o jony ceru, stosując w tym celu azotan amonu i ceru(IV). Zainicjowano serię eksperymentów, które obejmowały regulację pH oraz modyfikację stosunków stężeń krzemu do ceru. Celem tych działań było wyselekcjonowanie próbek biomasy wyróżniających się największym przyrostem oraz znaczącą zawartością procentową ceru, co przedstawiono w Rozdziale 4.2.–[P1]. Po zakończeniu procesu hodowli, biomasa podlegała procedurze oczyszczania zgodnie z opisem zawartym w Rozdziale 4.1.1.

4.1.3. Synteza biokrzemionki okrzemkowej funkcjonalizowanej nanocząstkami tlenków terbu (Tb_xO_y/DBioSiO₂) [P2]

Syntezę kompozytów tlenki terbu/biokrzemionka okrzemkowa przeprowadzono poprzez wprowadzenie biokrzemionki okrzemkowej (DBioSiO₂) do wodnego roztworu heksahydratu chlorku terbu(III) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Niemcy). Syntezę przeprowadzono stosując trzy różne stężenia jonów Tb³⁺: 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L lub 1, 5 i 10 % w stosunku do masy użytej biokrzemionki okrzemkowej.

Do 100 mL roztworu o w/w stężeniu jonów terbu dodano 100 mg biokrzemionki okrzemkowej. Powstałą zawiesinę mieszano przez 30 minut w temperaturze pokojowej, a następnie zalkalizowano 1 M NaOH do pH=10. Równanie 1 ilustruje przemianę zachodzącą w środowisku wodnym, gdzie w wyniku reakcji zasady sodowej z heksahydratem chlorku terbu(III) powstaje osad wodorotlenku terbu(III).

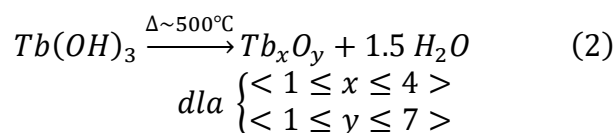


Zmiany wartości pH podczas trwania syntezy kompozytów zostały zaprezentowane w Tab.1.

Tab.1. Zmiana pH roztworu podczas kolejnych etapów syntezy

Zakładane stężenie jonów terbu w kompozycie	Początkowa wartość pH roztworu	Wartość pH po dodaniu 1M NaOH
1 % Tb _x O _y /DBioSiO ₂	3,48	10,36
5 % Tb _x O _y /DBioSiO ₂	3,49	10,15
10% Tb _x O _y /DBioSiO ₂	3,67	10,09

Po dodaniu odpowiedniej ilości wodnego roztworu NaOH kontynuowano mieszanie zawiesiny (300 RPM) przez 24 h w temperaturze 80°C. Uzyskany materiał poddano wirowaniu (Wirówka 9000, MPW-251 RPM) i pięciokrotnemu przemyciu wodą destylowaną. Powstały osad suszono w temperaturze 110°C przez 12 godzin, a następnie kalcynowano w temperaturze 500°C przez 5 h. W trakcie procesu kalcynacji zakładano przebieg dehydratacji wodorotlenku terbu(III), w wyniku którego możliwe jest otrzymanie różnych form tlenku terbu w zależności od doboru warunków. Możliwy jest rozkład wodorotlenku terbu(III) do TbO(OH) w temperaturze 340°C, po czym w temperaturze 500°C generują się tlenki terbu w postaci Tb_xO_y. Możliwa transformacja została zaprezentowana schematycznie w postaci Równania 2 [60–62].



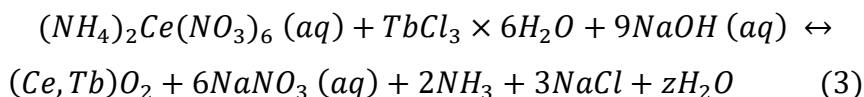
Proces syntezy kompozytów został opracowany z myślą o minimalizacji wpływu na środowisko, co wpisuje się w aktualne tendencje zrównoważonego rozwoju i ekologii w dziedzinie nauki o materiałach. Postępowanie według w/w etapów syntezy miało na celu uzyskanie mieszanki tlenków terbu w analizowanych kompozytach, co motywowane było chęcią eksploatacji wakancji tlenowych obecnych w strukturze tlenków Tb. Obecność tych defektów strukturalnych otwiera perspektywę modulacji właściwości fotoluminescencyjnych matrycy, co ma kluczowe znaczenie dla jej ulepszenia. Obecność wakancji tlenowych może wpływać na zwiększenie intensywności luminescencji, co czyni ten kierunek badań obiecującym w kontekście opracowywania nowych materiałów luminescencyjnych o wysokiej wydajności.

Eksperymenty przeprowadzone przez Hungria i wsp., polegające na chemisorpcji tlenu i wymianie izotopowej pokazują, że domieszkowanie terbem wpływa na mobilność tlenu i grupowanie się defektów (wakancji) na powierzchni nanocząstek. Może to mieć swój potencjalny wpływ na procesy katalityczne, takie jak np. redukcja NO [63]. Wakancje tlenowe reprezentują rodzaj defektów strukturalnych, który powszechnie występuje w tlenkach metali, włączając w to tlenki metali ziem rzadkich, jak na przykład tlenki terbu. Te defekty mają znaczący wpływ na właściwości elektryczne, optyczne oraz magnetyczne wspomnianych tlenków, co często jest wykorzystywane do optymalizacji wydajności materiałów w różnorodnych zastosowaniach.

4.1.4. Synteza biokrzemionki okrzemkowej funkcjonalizowanej nanocząstkami mieszanego tlenku Ce,Tb [P2]

Syntezę kompozytów biokrzemionki okrzemkowej, zmodyfikowanej hybrydowym połączeniem nanocząstek tlenku ceru i terbu, przeprowadzono przez wprowadzenie biokrzemionki okrzemkowej do wodnego roztworu heksahydratu chlorku terbu(III) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Niemcy) oraz azotanu amonu i ceru(IV) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Niemcy). Syntezę przeprowadzono stosując trzy różne stężenia jonów Tb^{3+} oraz Ce^{4+} : 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L.

Do 100 mL o w/w stężeniu jonów terbu i ceru dodano 100 mg biokrzemionki okrzemkowej. Zawiesinę poddawano mieszaniu przez 30 minut, a następnie alkalizowano 1 M NaOH do pH=10 (Równanie 3).



Zmiana wartości pH podczas syntezy kompozytów zaprezentowano w Tab.2.

Tab.2. Zmiana pH roztworu podczas kolejnych etapów syntezy

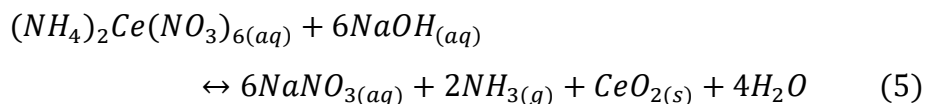
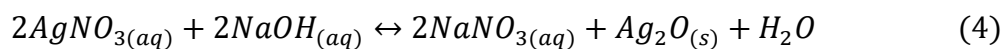
Zakładane stężenie jonów ceru i terbu w kompozycie	Początkowa wartość pH roztworu	Wartość pH po dodaniu 1M NaOH
1 % (Ce,Tb)O ₂ /DBioSiO ₂	3,17	10,07
5 % (Ce,Tb)O ₂ /DBioSiO ₂	2,53	10,05
10% (Ce,Tb)O ₂ /DBioSiO ₂	2,31	10,32

Po dodaniu odpowiedniej ilości wodnego roztworu NaOH kontynuowano mieszanie zawiesiny (300 RPM) przez 24 h w temperaturze 80°C. Następnie materiał poddano wirowaniu (Wirówka 9000, MPW-251 RPM) i pięciokrotnemu przemyciu wodą destylowaną. Powstały osad suszono w temperaturze 110°C przez 12 godzin, a następnie poddano kalcynacji w temperaturze 500°C przez 5 h.

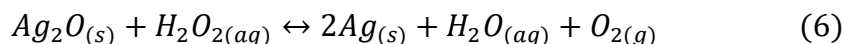
4.1.5. Synteza biokrzemionki okrzemkowej modyfikowanej heteroepitaksjalnie sformowanymi Ag,AgCl,CeO₂ [P3]

Syntezę kompozytów (Ag,AgCl,CeO₂)DBioSiO₂ przeprowadzono poprzez dodanie wodnego roztworu azotanu srebra i roztworu azotanu amonu i ceru(IV) do zawiesiny biokrzemionki okrzemkowej. Syntezę kompozytów przeprowadzono przy

użyciu powyższych roztworów azotanu srebra i azotanu amonu i ceru(IV) w dwóch różnych stężeniach jonów Ag i Ce: 50 mg/L, 100 mg/L (lub 5 i 10%) w stosunku do zastosowanej masy biokrzemionki okrzemkowej. Do roztworu (50 mL) o określonym stężeniu jonów srebra i ceru dodawano 100 mg biokrzemionki. Otrzymaną zawiesinę mieszano przez 30 minut, a następnie alkalizowano 0,1 M NaOH do pH=9 (Równanie 4 i 5).



Dalszą redukcję powstałego tlenku srebra przeprowadzono za pomocą nadtlenu wodoru. Środek redukujący dodawano w stosunku molowym $AgNO_3/H_2O_2$ wynoszącym 1:3. Zawiesinę mieszano przez kolejne 15 minut przy 300 RPM, aby całkowicie zredukować srebro (Równanie 6).



Całość mieszano przez 24 godziny w temperaturze 80°C. Następnie próbki przemyto pięciokrotnie wodą destylowaną i odwirowano (wirówka 9000, MPW-251 RPM). Uzyskane w ten sposób osady suszono w temperaturze 110°C przez 12 godzin. Po tym czasie uzyskane kompozyty kalcynowano w temperaturze 500°C przez 5 godzin.

4.1.6. Metody wykorzystane do charakterystyki uzyskanych kompozytów

Cechy morfologiczne uzyskanych materiałów zostały poddane analizie przy użyciu:

a) skaningowego mikroskopu elektronowego SEM/FIB Quanta 3D FEG wyposażonego w detektor sygnału SE i osiągającego zdolność rozdzielczą na poziomie 1,2 nm (Boynton Beach, FL, USA). Przed przeprowadzeniem analizy próbki zostały pokryte nanometryczną warstwą złota, a badania przeprowadzono w trybie zmiennej próżni. Ponadto, w celu określenia składu pierwiastkowego analizowanych materiałów, posłużono się skaningowym mikroskopem elektronowym (SEM, LEO 1430 VP, Electron Microscopy Ltd, Cambridge, Wielka Brytania) sprzężonym z detektorem dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDX) (XFlash 4010, Bruker AXS, Bremen, Niemcy);

b) transmisyjnego mikroskopu elektronowego Tecnai Osiris. Do uzyskiwania obrazów metodą TEM użyto detektora ciemnego pola (DF). W przypadku techniki STEM

do tworzenia obrazów posłużono się detektorem ciemnego pola z szerokim kątem rozproszenia (HAADF), natomiast do badań składu pierwiastkowego zastosowano spektrometr dyspersji energetycznej Super-X 130 eV (EDS). Proces przygotowania próbki był złożony i obejmował kilka etapów: początkowo rozpuszczono kilka miligramów materiału w etanolu (99,8% anhydrowego), po czym poddano go działaniu ultradźwięków przez 5 sekund. Dalej, naniesiono 5 μL tego roztworu na miedzianą siatkę z warstwą węglową z otworami (typ Lacey Cu 400 mesh). Po odparowaniu etanolu w warunkach pokojowych, na siatce utworzył się suchy osad, który poddano dalszym badaniom.

Strukturę krystaliczną oraz skład fazowy biokrzemionki okrzemkowej i zsyntezowanych nanokompozytów zbadano za pomocą metody proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej (XRD) przy użyciu dyfraktometru Philips X'Pert Pro (Malvern Panalytical Ltd, Malvern, Wielka Brytania), z wykorzystaniem promieniowania Cu-K α (o długości fali $\lambda = 0,1541$ nm), przy napięciu anodowym 40 kV i natężeniu prądu 30 mA. Dane z analizy XRD zostały zebrane w zakresie kątowym od 10° do $90^\circ 2\theta$ [P1], 10° - 100° [P2] oraz 5° - 90° [P3], przy czym krok pomiarowy ustalono na $0,01^\circ$.

Potencjał powierzchniowy (wartość potencjału zeta- ζ) materiałów zmierzono za pomocą urządzenia Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments, Malvern, UK). Przed pomiarem analizowane próbki zawieszano w wodzie o pH równym 2,03; 3,01; 5,04; 8,02; 10,02; 12,00 uzyskując stężenie analizowanego materiału wynoszące 0,05 mg/mL. Ponadto próbki poddano sonifikacji w łaźni ultradźwiękowej Polsonic przez 360 minut w temperaturze 25°C . Do pomiarów potencjału zeta użyto celi pomiarowej DTS1070. Pomiar potencjału zeta każdej próbki przeprowadzono trzykrotnie [P1][P3].

Stabilność termiczną zsyntetyzowanych materiałów analizowano za pomocą termoanalyzera Jupiter STA 449 F5 firmy Netzsch w zakresie temperatur od 29°C do 1050°C . Próbkę ogrzewano z szybkością $10^\circ\text{C min}^{-1}$ w atmosferze azotu [P1][P2].

Zastosowano spektrofotometr w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) (model FTIR ATR, Vertex 70, Bruker Optik, Billerica, MA, USA), wyposażony w detektor DLaTGS oraz dyspersyjny spektrometr Ramana typu Senterra (Bruker Optik), do identyfikacji wiązań strukturalnych i grup funkcyjnych. Procedura rejestrowania widm FTIR obejmowała uśrednianie skanów zebranych w zakresie liczby falowej od 400 cm^{-1} do 3500 cm^{-1} [P1] oraz od 400 cm^{-1} do 4000 cm^{-1} [P2], przy rozdzielczości 4 cm^{-1} .

Do pomiaru widm absorpcji UV-Vis nanokompozytów w stanie stałym użyto spektrofotometru Jasco V-750 (Jasco, Hachioji-shi, Japonia). Pomiar prowadzono w zakresie od 250 nm do 900 nm w normalnym świetle padającym [P1][P2].

W celu zbadania właściwości fotoluminescencyjnych (PL) syntetyzowanych kompozytów zastosowano spektrofotometr fluorescencyjny Hitachi F-2500 (Hitachi, Chiyoda, Japonia), wyposażony w lampę ksenonową. Widma PL rejestrowano w temperaturze pokojowej (20°C) w atmosferze otoczenia. Pomiary przeprowadzono dla próbek stałych umieszczonych w specjalnej kuwecie, przy użyciu szczelin 2,5 nm, przy napięciu wynoszącym 700 V i prędkości skanowania 300 nm/min. Pomiary wykonano przy długości fali wzbudzenia wynoszącej kolejno: 270 nm, 420 nm oraz 800 nm [P1], 270 nm, 450 nm oraz 800 nm [P2] oraz 270 i 420 nm [P3].

Wyznaczono wartości wydajności kwantowej fluorescencji metodą względną [64] dla materiałów: 10%Ce-DBioSiO₂ [P1], 8,87%Tb_xO_y/DBioSiO₂ oraz 7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ [P2]. Metoda ta polegała na porównaniu nieznannej wydajności kwantowej badanej próbki z wydajnością kwantową standardowego barwnika w spektrometrze fluorescencyjnym. Kluczowym założeniem metody względnej jest uzyskanie identycznej wartości absorpcji światła o określonej długości fali przez próbkę i roztwór odniesienia. Wydajność kwantową próbki w stosunku do roztworu wzorca można łatwo obliczyć, porównując zintegrowane widma fluorescencji IF obu roztworów, zmierzonych w tych samych warunkach. Należy również uwzględnić, czy dla próbki i wzorca stosowane są te same rozpuszczalniki. Jeśli nie, to należy wziąć pod uwagę współczynniki załamania tych rozpuszczalników oraz skorzystać z Równania 7.

$$n_{fl_{sample}} = n_{fl_{reference}} \times \frac{IF_{sample}}{IF_{reference}} \times \frac{n_{sample}^2}{n_{reference}^2} \quad (7)$$

W celu określenia wydajności kwantowej fluorescencji przygotowano roztwory analizowanych materiałów w 96% r-rze etanolu (Merck, Darmstadt, Niemcy) oraz roztwór wzorcowy, którym był wodorosiarczan chininy (Satna Cruz Biotechnology, Heidelberg, Niemcy) w 0,5 M r-rze kwasu siarkowego(VI) (Merck, Darmstadt, Niemcy). Widmo fluorescencji próbki i wzorca rejestrowano przy użyciu spektrofotometru fluorescencyjnego Hitachi F-2500. Długość fali wzbudzenia dla rejestrowanych widm wynosiła 370 nm [P1] i 362 nm [P2]. Próbki kompozytów oraz próbka wzorca posiadały przy tej długości fali identyczną absorpcję, która wyniosła 0,14 [P1] i 0,132 [P2]. Uzyskane wyniki pozwoliły na wyznaczenie pól powierzchni dla analizowanych próbek

i wzorca, które były niezbędne do wyliczenia wydajności kwantowej fluorescencji (zgodnie z Równaniem 7).

Właściwości antybakteryjne otrzymanych kompozytów badano za pomocą testu minimalnego stężenia hamującego (MIC). Metodę przeprowadzono przy użyciu pożywki Miller Hilton (MH), zgodnie z procedurami Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) oraz metodą mikrorozcieńczeń w 96-dołkowych płytkach z rezazuryną. Do analizy właściwości przeciwbakteryjnych analizowanych kompozytów wykorzystano sześć szczepów bakterii. Trzy z nich to szczepy bakterii fotogennych pozyskane z kolekcji Interdyscyplinarnego Centrum Nowoczesnych Technologii (CMITC), natomiast trzy pozostałe pochodzą z kolekcji American Type Culture Collection (ATCC). Analizowane szczepy CMITC to: *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 THL (DFI), *Klebsiella pneumoniae* 9295-1 CHB (WI), *Escherichia coli* MB 11464-1 CHB (WI). Skrót DFI oznacza szczep wyizolowany z infekcji stopy cukrzycowej, natomiast WI odnosi się do szczepu wyizolowanego z zakażenia rany. Szczepy z kolekcji ATCC wykorzystane w analizie właściwości antybakteryjnych kompozytów to: *Staphylococcus aureus* ATCC 700699, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Escherichia coli* ATCC 10031. W celu przeprowadzenia testu MIC komórki bakteryjne wprowadzono do pożywki MH na 24 godziny w 37°C. Następnie na 96-dołkowych płytkach (Sigma Aldrich, Poznań, Polska) zmieszano wyhodowany szczep bakteryjny (1×10^6 CFU/mL) i różne stężenia analizowanych materiałów. Kolejno, do każdej studzienki na płytce dodano 12 μ L zestawu do badań toksykologicznych *in vivo* opartego na rezazurynie (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). Wartość MIC określano poprzez zmianę koloru wskaźnika z niebieskiego na różowy [P3].

4.2. Zastosowanie metabolicznej insercji do funkcjonalizacji biokrzemionki okrzemekowej poprzez nanocząstki tlenku ceru [P1] – dane nieopublikowane

Niniejszy rozdział przedstawia nowatorskie podejście do syntezy materiału poprzez metaboliczne domieszkowanie biomasy pozyskanej z okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii* domieszkowanej cerem. Skupiono się w nim na insercji uzyskanych nanocząstek (ang. *nanoparticles*, NPs) tlenku ceru(IV) w struktury biokrzemionki okrzemek, wykorzystując ich naturalne procesy biologiczne do tworzenia nanokompozytów z potencjalnym zastosowaniem w katalizie, biosensorach i medycynie. Wykorzystując wrodzone zdolności okrzemek jako „mikrotechnologów”, metoda metabolicznego domieszkowania zapewnia ekologiczną ścieżkę syntezy, jednocześnie umożliwiając precyzyjną kontrolę nad dystrybucją i ilością powstającego CeO₂ w krzemionkowych pancerzykach. Funkcjonalizacja biokrzemionki okrzemekowej nanocząstkami tlenku ceru(IV) nie tylko oferuje zrównoważoną metodę ich produkcji, ale także zapewnia ich jednorodne rozmieszczenie i dużą powierzchnię właściwą, które są kluczowe dla funkcjonalności NPs w różnych zastosowaniach. Innowacyjna technika, jaką jest metaboliczne domieszkowanie, umożliwiła połączenie unikalnych właściwości biokrzemionki i funkcjonalności CeO₂. Uzyskany materiał został poddany szerokiej charakterystyce co jest tematem niniejszego rozdziału.

4.2.1. Kinetyka przyrostu biomasy i sorpcji składników medium hodowlanego okrzemek (Si, N, P i Ce)

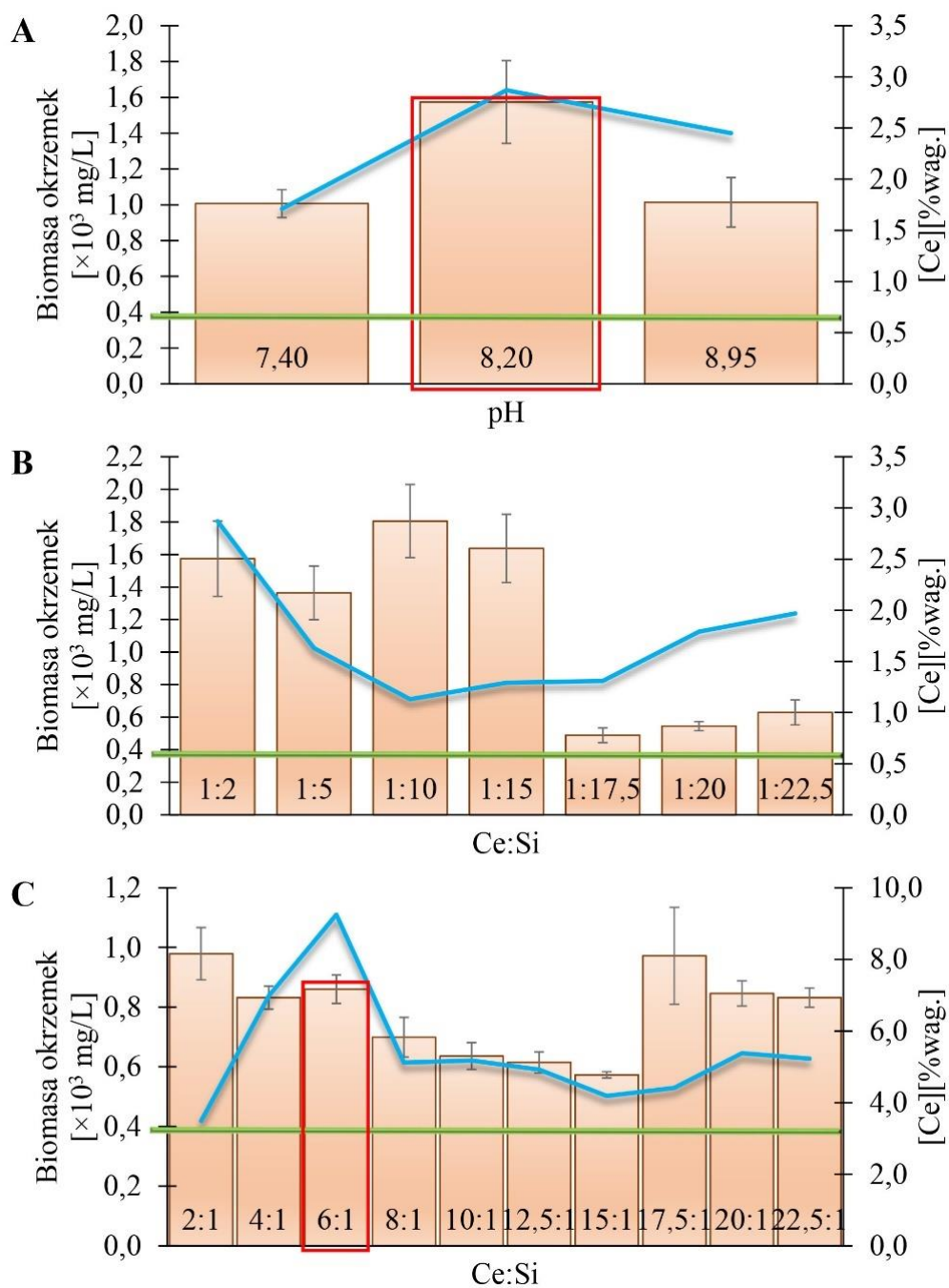
Na Rys.1 przedstawiono dane dotyczące badania równowagi wbudowywania ceru do komórek okrzemek oraz ilości pozyskiwanej biomasy okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii* przypadające na ostatni, 12 dzień hodowli. Badania te zostały przeprowadzone w trzech seriach eksperymentalnych (Rys.1.A, B i C). W celu standaryzacji pomiarów kinetyki biomasy domieszkowanej cerem wykorzystano pomiary McFarlanda, stosując odpowiedni przelicznik, wyznaczony we wcześniejszych pracach [65,66]. Jako punkt odniesienia do określenia wpływu poszczególnych czynników na ilość pozyskiwanej biomasy wykorzystano wydajność procesu hodowli niedomieszkowanych komórek okrzemek wynoszącą 0,39 mg/L (linia zielona).

W ramach eksperymentu przedstawionego w części A (Rys.1) dokonano analizy wpływu zmiany pH na ilość pozyskiwanej biomasy okrzemek. Większość gatunków

okrzemek preferuje takie medium hodowlane, którego wartość pH oscyluje pomiędzy 7 a 9 [67,68]. Sugeruje to, że optymalizacja tej wartości ma kluczowe znaczenie w procesie efektywnego namnażania komórek okrzemek. Prawdopodobnie wynika to z faktu, iż odpowiednia wartość pH ma duży wpływ na zachowanie efektywności procesów biologicznych na poziomie komórkowym [68]. W związku z powyższym, wartości pH przyjęte do eksperymentu A wynoszą odpowiednio: 7,40, 8,20 oraz 8,95. Początkowe stężenie rozpuszczalnego krzemu wynosiło 7,0 mg Si/L, natomiast początkowe stężenie rozpuszczalnego ceru wynosiło 3,5 mg Ce/L.

Analizując przedstawione wyniki na Rys.1.A zauważono, że niezależnie od wartości pH medium hodowlanego, ilość biomasy w ostatnim dniu hodowli przewyższała wartość referencyjną (co dotyczyło wszystkich serii). Dodatkowo, zaobserwowano wzrost ilości uzyskiwanej biomasy wraz ze wzrostem wartości pH medium hodowlanego, aż do osiągnięcia granicznej wartości pH równego 8,2, po której następował spadek liczby komórek w biomacie. Wynika z tego, że optymalną wartością pH, prowadzącą do osiągnięcia maksymalnej wydajności procesu hodowli, jest wartość pH równa 8,2. Otrzymane wyniki potwierdzają dane literaturowe [67], w których jako optymalne wartości pH do hodowli mikroalg uznano wartości pH od 8,2 do 8,9. Ponadto zauważono, że wraz ze wzrostem pH do wartości 8,2, zwiększała się ilość inkorporowanego ceru w komórkach okrzemek. Z tego powodu wartość pH = 8,2 została wybrana do dalszych eksperymentów jako wartość najbardziej optymalna, łącząca największą wydajność procesu hodowli biomasy z największą ilością zainkorporowanego ceru do komórek okrzemek.

Rys.1.B i Rys.1.C obrazują wyniki eksperymentów, w których analizowano wpływ różnych stosunków masowych Ce:Si na wydajność procesu hodowli biomasy okrzemek. Seria przedstawiona na Rys.1.B składała się z siedmiu testów, w których stosunki masowe Ce:Si wynosiły odpowiednio: 1:2, 1:5, 1:10, 1:15, 1:17,5, 1:20 i 1:22,5. Początkowe stężenie rozpuszczalnego ceru wynosiło 3,5 mg Ce/L i było wartością stałą we wszystkich testach. Stężenie rozpuszczalnego krzemu w medium hodowlanym zmieniało się w zależności od testów i wahało się od 7 mg Si/L do 78,75 mg Si/L. Wartość pH medium hodowlanego wynosiła 8,2 dla wszystkich testów. Dobór wartości pH był efektem przeprowadzonych doświadczeń w eksperymencie 1A.



Rys.1. Zależność ilości uzyskanej biomasy przypadającej na ostatni dzień prowadzenia eksperymentu od: (A) wartości pH, (B, C) stosunku Ce:Si w odniesieniu do zawartości (%wag.) ceru w biomacie okrzemek (linia niebieska). Referencyjna wartość ilości biomasy niedomieszkowanych komórek okrzemek została oznaczona linią zieloną. Za pomocą czerwonego prostokąta zostały oznaczone kluczowe eksperymenty dla poszczególnych serii

Analizując uzyskane wyniki testów, przedstawione na Rys.1.B zauważono, że wzrost stężenia krzemu w pożywce powoduje wzrost ilości pozyskiwanej biomasy. Wzrost ten następuje do momentu osiągnięcia stężenia granicznego przy stosunku Ce:Si=1:20, powyżej którego obserwuje się spadek wydajności procesu hodowli.

Sugeruje to, że istnieje pewne dopuszczalne stężenie krzemu, którego przekroczenie powoduje zmniejszenie ilości wbudowywanego krzemu w frustule okrzemek, a co za tym idzie, zmniejszenie liczby komórek w biomase okrzemek [69]. Dodatkowo, wyniki uzyskane w eksperymencie B wskazują, iż nie jest możliwe zaobserwowanie bezpośredniej korelacji między zwiększeniem stężenia krzemu a wzrostem wchłaniania ceru przez okrzemki. Wskazuje to na ograniczoną zdolność komórek do inkorporacji ceru przy wysokich stężeniach krzemu w medium hodowlanym.

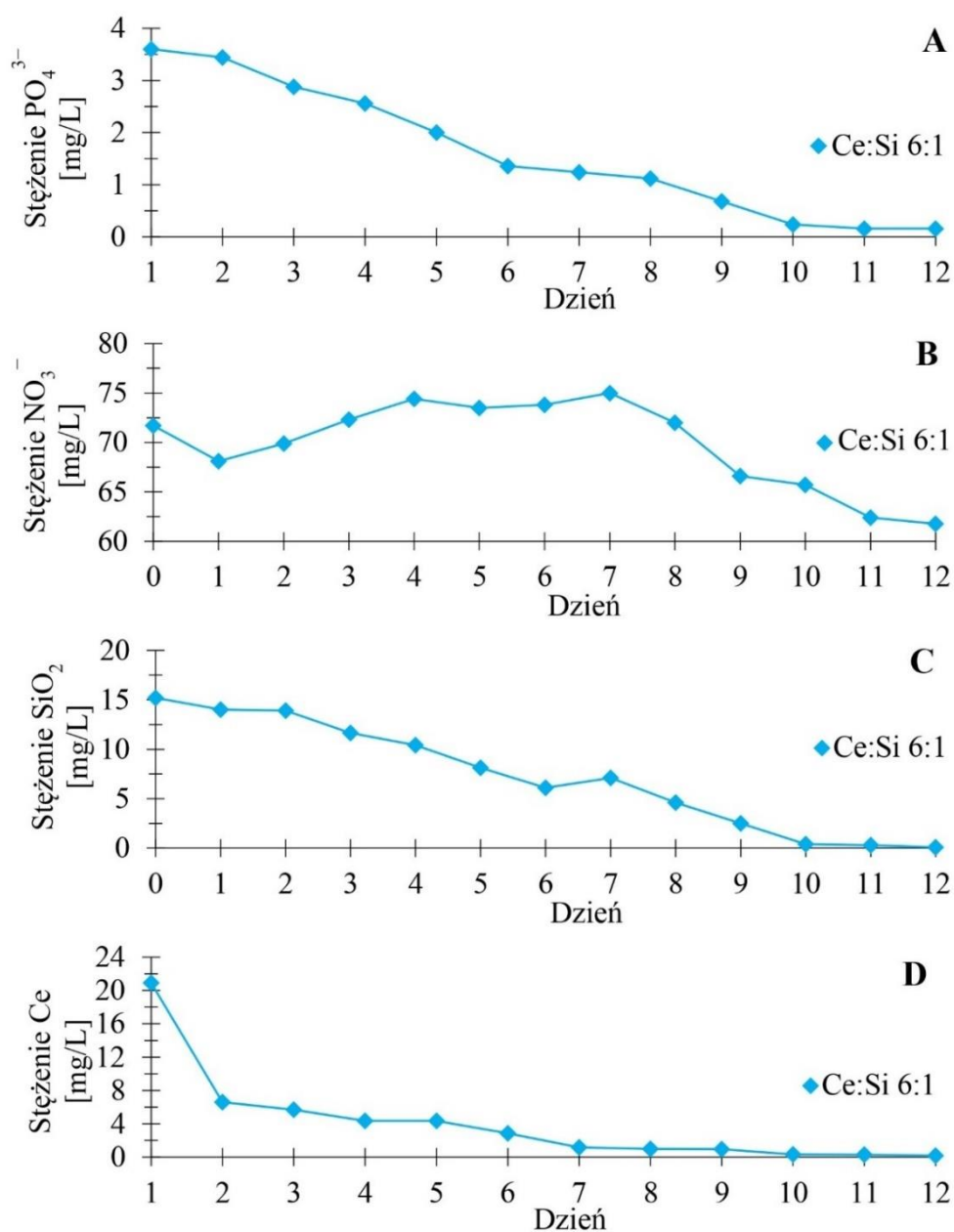
Seria przedstawiona na Rys.1.C przedstawia wyniki dotyczące serii dziesięciu wartości stosunków masowych Ce: Si, w których dominującym stężeniem było stężenie ceru w stosunku do stężenia krzemu. Wartości tychże stosunków wynosiły odpowiednio 2:1, 4:1, 6:1, 8:1, 10:1, 12,5:1, 15:1, 17,5:1, 20:1 i 22,5:1. Początkowe stężenie rozpuszczalnego krzemu w medium hodowlanym wynosiło 3,5 mg Si/L i było niezmiennie dla wszystkich testów. Początkowe stężenie rozpuszczalnego ceru było zmienne w zależności od testu i wahało się od 7 mg Ce/L do 78,75 mg Ce/L.

Obserwuje się, że ilość uzyskiwanej biomasy maleje wraz ze wzrostem stężenia ceru w pożywce hodowlanej, co jest zgodne z rezultatami uzyskanymi w eksperymencie B. Ten spadek ilości uzyskiwanej biomasy jest zauważalny do momentu, gdy początkowe stężenie ceru w pożywce hodowlanej wynosi 52,5 mg Ce/L. Przekroczenie tej wartości powoduje gwałtowny wzrost ilości pozyskiwanej biomasy (Ce:Si 17,5:1), po którym następuje ponowny spadek. Analiza wyników dotyczących zawartości inkorporowanego ceru w zależności od jego stężenia w pożywce hodowlanej wykazuje, że wraz ze wzrostem ilości ceru w pożywce wzrasta ilość ceru absorbowanego przez komórki, co zachodzi do momentu, gdy stężenie ceru w pożywce osiąga wartość 21 mg Ce/L. W tym punkcie zawartość ceru w komórkach okrzemek osiąga maksimum (9,25 % wag.). Wzrost stężenia ceru w pożywce do 52,5 mg Ce/L powoduje spadek ilości ceru inkorporowanego do okrzemek, widoczny do momentu wzrostu początkowego stężenia Ce do poziomu 70 mg Ce/L. W tym punkcie ponownie obserwuje się nieznaczny wzrost zawartości ceru w komórkach okrzemek.

W wyniku powyższych eksperymentów dotyczących optymalizacji pH oraz stosunku stężenia ceru do krzemu, wybrano reprezentatywny materiał, który stanowi kompromis pomiędzy ilością uzyskiwanej biomasy a zawartością ceru w komórkach okrzemek. Ten wybrany materiał to biomasa domieszkowana jonami ceru o początkowym stężeniu 21 mg Ce/L (przy początkowym stężeniu krzemu 3,5 mg Si/L), poddana dalszym analizom, których wyniki opisano w niniejszym artykule.

Na Rys.2 przedstawiono zmiany w stężeniu fosforanów, azotanów, krzemionki oraz ceru w trakcie 12-dniowej hodowli okrzemek domieszkowanych jonami ceru o początkowym stężeniu 21 mg Ce/L. Zawartość wymienionych składników w medium hodowlanym została zbadana za pomocą testów fotometrycznych oraz techniki ICP-MS. Analiza uzyskanych danych dotyczących tempa pobierania składników odżywczych z medium hodowlanego wykazała, że intensywna absorpcja fosforu, azotu, krzemu oraz ceru następuje w pierwszych kilku dniach hodowli. Te obserwacje korelują z danymi literaturowymi, które podkreślają, że fazę gwałtownego wzrostu mikroalg często obserwuje się na wczesnym etapie ich rozwoju [70,71]. W tym okresie dostępność składników odżywczych nie stanowi ograniczenia dla intensyfikacji procesów biologicznych mikroalg. Z biegiem czasu, gdy tempo podziałów komórkowych mikroalg maleje, następuje kumulacja ich biomasy, która trwa do momentu, kiedy składniki odżywcze w medium zaczynają ograniczać wzrost komórek okrzemek, prowadząc do osiągnięcia fazy stacjonarnej.

Rys.2.A ilustruje stopniowe obniżanie się stężenia fosforanów, które osiąga wartość poniżej granicy wykrywalności na końcu okresu hodowlanego (spadek stężenia z poziomu około 4 mg/L do bliskiego zera w 12 dniu). Rys.2.B ukazuje zmiany w stężeniu azotanów, które utrzymują się na stałym poziomie ok. 70 mg/L przez większość analizowanego okresu. Stabilność stężenia azotanów może być skutkiem specyfiki wykorzystanego kompleksu ceru. Rys.2.C przedstawia zmianę stężenia krzemionki - kluczowego składnika niezbędnego do syntezy ścian komórkowych okrzemek. Systematyczne obniżanie się stężenia SiO_2 może wskazywać na aktywny wzrost oraz intensywną budowę nowych komórek. Rys.2.D demonstruje absorpcję ceru przez okrzemki, gdzie wyraźny spadek stężenia tego pierwiastka zaobserwowano po szóstym dniu eksperymentu. Zbieżność dynamiki absorpcji ceru z krzemem sugeruje analogiczne mechanizmy pobierania tych pierwiastków przez komórki okrzemek.

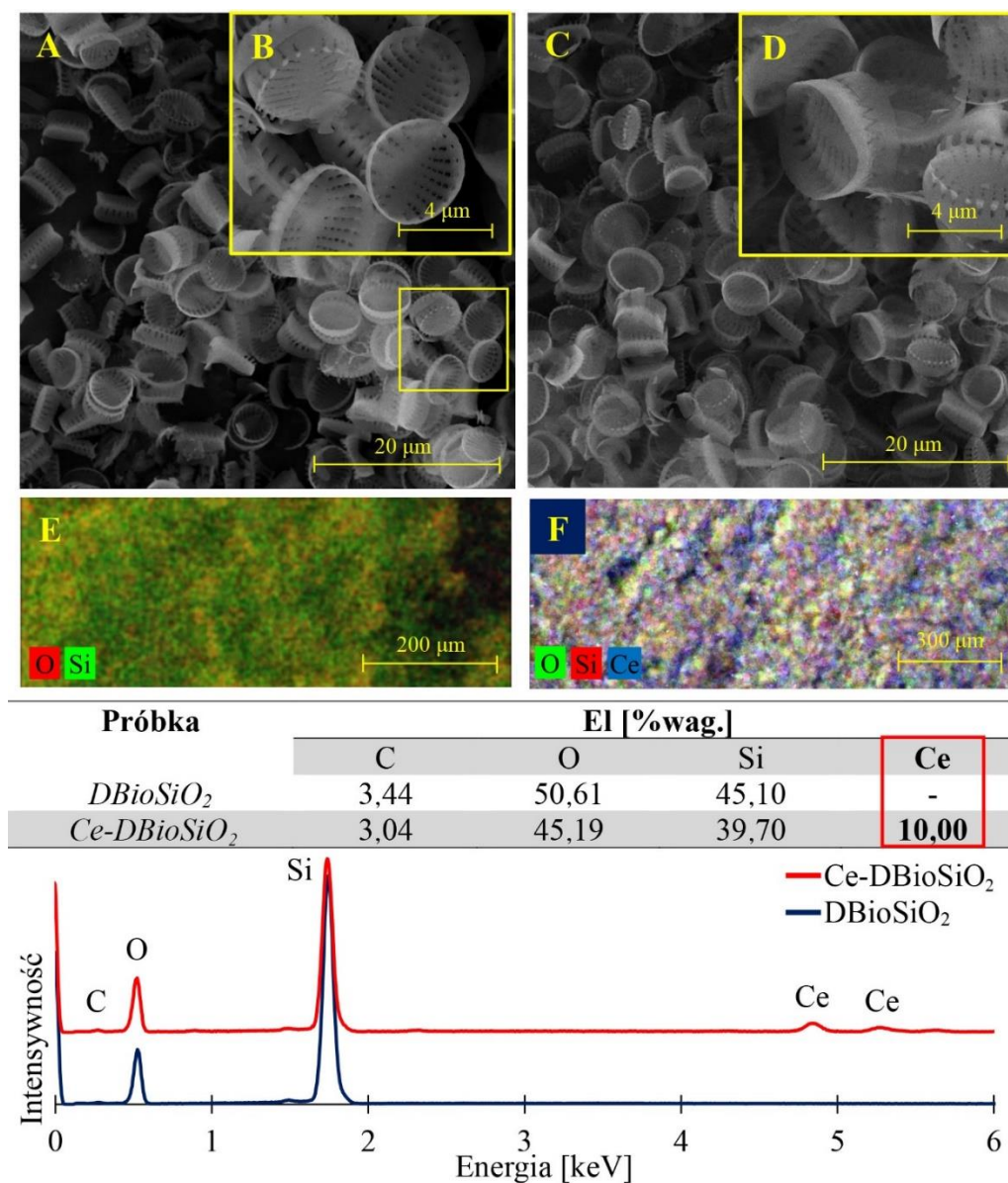


Rys.2. Kinetyka pobierania składników odżywczych: (A) fosforu, (B) azotu, (C) krzemu i (D) ceru przez komórki okrzemek z medium hodowlanego

Uzyskane wyniki potwierdzają, że faza intensywnego wzrostu komórek okrzemek charakteryzuje się wysokim zapotrzebowaniem na składniki odżywcze, które są efektywnie wykorzystywane do rozbudowy struktur komórkowych. Ponadto, wyniki te podkreślają znaczenie odpowiedniej dostępności pierwiastków w medium hodowlanym dla optymalizacji wzrostu komórek okrzemek.

4.2.2. Badania SEM i SEM-EDX zsyntetyzowanych materiałów kompozytowych

Na Rys.3 przedstawiono przegląd mikrofotografii SEM oraz wyników analizy EDX czystej biokrzemionki pochodzącej z okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii* oraz biokrzemionki domieszkowanej jonami ceru.



Rys.3. Zdjęcia skaningowej mikroskopii elektronowej niedomieszkowanej biokrzemionki okrzemkowej (A-B) i biokrzemionki domieszkowanej jonami ceru (C-D) wraz z wynikami analizy składu pierwiastkowego i ich rozmieszczenia (E-F) w analizowanych materiałach

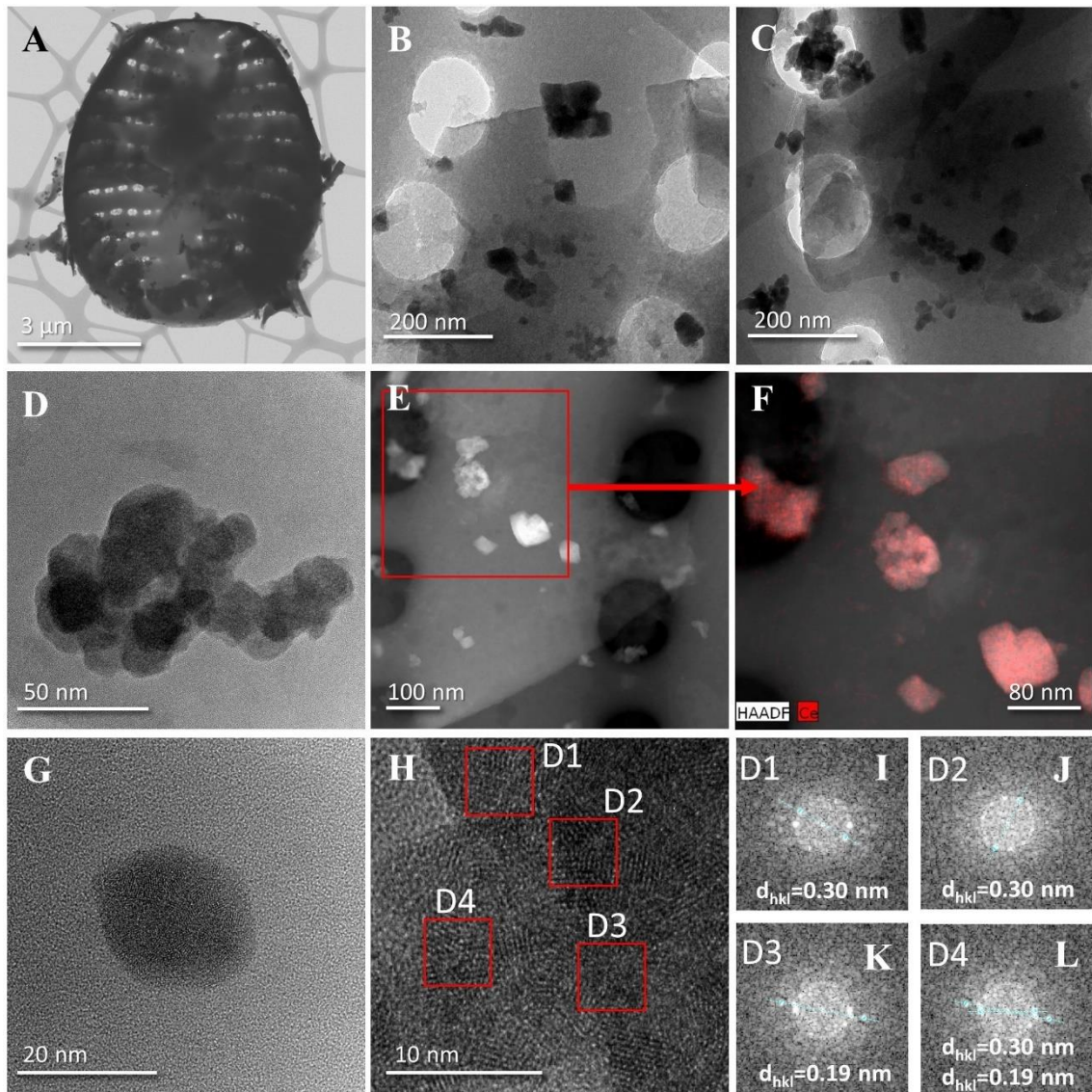
Porównując morfologię frustul modyfikowanych jonami ceru (Rys.3.C-D) z frustulami niedomieszkowanymi (Rys.3.A-B) można zauważyć, że pomimo procesów modyfikacji, misternie zdobiona, trójwymiarowa struktura okrzemkowych pancerzyków została zachowana wraz z jej symetrią i regularnością elementów strukturalnych [65,72].

Wskazuje to, że pod wpływem jonów ceru specyficzna struktura oraz owalny kształt frustuli pozostały nienaruszone, co sugeruje wysoką stabilność strukturalną frustuli w obecności ceru. Analiza SEM-EDX potwierdziła, że czyste frustule okrzemek składają się z tlenu i krzemu, natomiast frustule domieszkowane jonami ceru – z tlenu, krzemu i ceru.

Obecność w modyfikowanych pancerzykach Si, O i Ce sugeruje, iż powstałe struktury cerowe są bezpośrednio związane z powierzchnią okrzemkowej frustuli, mimo wytrawiania roztworem H_2O_2 i HCl. Wiązanie to prawdopodobnie wynika z połączenia grup silanolowych z tlenkami ceru. Zawartość ceru w próbce Ce-DBioSiO₂ wynosiła 10% wagowych, co determinuje nazewnictwo próbki domieszkowanej, wykorzystywane w dalszej części pracy (10%Ce-DBioSiO₂). Niewielka ilość węgla w obu materiałach może być związana z pozostałościami części organicznej w strukturze biokrzemionki, jak również z wysokim poziomem szumu tła od węglowego podłoża stosowanego w analizie EDX. Rys.3.E-F przedstawia mapy dystrybucji pierwiastków wchodzących w skład analizowanych materiałów. Rys.3.E przedstawia rozmieszczenie krzemu i tlenu w czystej biokrzemionce okrzemkowej, natomiast Rys.3.F obrazuje rozmieszczenie krzemu, tlenu i ceru w próbce biokrzemionki domieszkowanej jonami ceru. Należy zauważyć, iż w obu zaprezentowanych przypadkach rozmieszczenie w/w pierwiastków jest równomierne i powtarzalne.

4.2.3. Analiza materiałów za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej

Na Rys.4 zaprezentowano szczegółowy przegląd morfologii i struktury biokrzemionki okrzemkowej domieszkowanej jonami ceru (10%Ce-DBioSiO₂). Rys.4.A przedstawia skomplikowaną strukturę frustuli okrzemek. Widoczna jest architektura całego okrzemkowego pancerzyka, a także szczegóły struktury sieci porów [72,73]. Należy zauważyć, że dodatek ceru do DBioSiO₂ nie wykazuje toksycznego wpływu na kształt oraz strukturę okrzemkowych frustul. Podobnie jak w pracy Bour i in. nie zaobserwowano efektów deformacji czy wypaczenia powierzchni pancerzyka, które mogłyby prowadzić do nieregularności w jego strukturze [74].



Rys.4. Obrazy TEM kompozytu 10%Ce-DBioSiO₂: (A) - pojedyncza frustula pokryta klastrami nanocząstek ceru, (B i C) - powiększenia wybranych fragmentów frustuli okrzemki, (D) - powiększenie aglomeratu/klastra utworzonych nanocząstek, (E) - obraz STEM rozmieszczenia NPs na frustule, (F) - mapowanie TEM-EDX rozmieszczenia ceru, (G) - widok HR-TEM pojedynczej nanocząstki ceru, (H) - obraz HRTEM nanocząstek ceru, oraz (I-L) - SAED pojedynczych nanocząstek

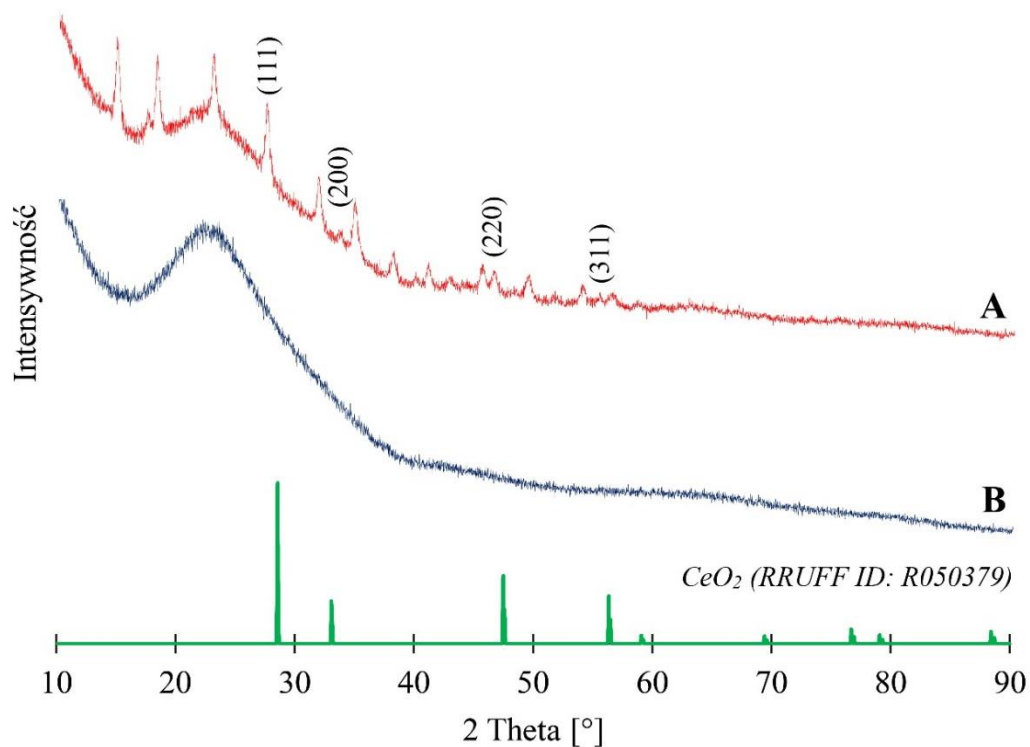
Rys.4.B, 4.C, 4.E i 4.F obrazują rozmieszczenie otrzymanych nanocząstek CeO₂, wykazujących się nieregularnym, quasi-sześciennym kształtem. Widocznym jest, iż powstałe cerowe NPs są równomiernie rozmieszczone na całej biokrzemionkowej matrycy. Obecność nanocząstek została potwierdzona w obrębie całej okrywy, zarówno na jej brzegach, w części centralnej oraz w porach. Rys.4.D przedstawia przykładowy agregat nanocząstek występujących w materiale, w którym można dostrzec pojedyncze formy krystaliczne. Rozmiar występujących na powierzchni frustuli agregatów z NPs oscyluje w okolicach 100 nm. Podobne rezultaty w swojej pracy opisali Quian i in., którzy

otrzymali agregaty o rozmiarach ok. 100 nm, składające się z wielu wzajemnie połączonych nanocząstek cerowych [75]. Tendencja do samoorganizacji w większe struktury jest typowym zjawiskiem wśród nanocząstek, które jest często przypisywane silnym oddziaływaniom van der Waalsa [76]. Rys.4.G ukazuje pojedynczą, dobrze zdefiniowaną, quasi-sześcienną nanocząstkę cerii o rozmiarach 20 nm. W naszej poprzedniej pracy, za pomocą chemicznej redukcji prekursora jonów ceru, uzyskaliśmy nanocząstki CeO₂ o rozmiarach od 3 – 5 nm [77]. Wskazuje to jednoznacznie, że metoda syntezy nanocząstek bezpośrednio wpływa na ich rozmiar.

Na Rys.4.H zaprezentowano zdjęcie HR-TEM oktaedrycznych nanokryształów cerii [78], na którym widoczne są prążki sieciowe CeO₂. Struktura krystaliczna nanocząstek CeO₂, wraz z wyznaczonymi odległościami między płaszczyznami została przedstawiona na Rys.4.I-L. Rozstaw prążków sieciowych o długości 0,3 nm odpowiada odstępowi d płaszczyzny {111} [79], natomiast rozstaw prążków sieciowych o długości 0,19 nm charakteryzuje płaszczyznę krystaliczną {220} [80]. Wartości te są charakterystyczne dla struktury fcc CeO₂ [81].

4.2.4. Analiza dyfrakcji rentgenowskiej badanych materiałów

Rys. 5 przedstawia wyniki rentgenowskiej analizy strukturalnej dwóch próbek: próbki A (biokrzemionki domieszkowanej CeO₂NPs - 10%Ce-DBioSiO₂) i próbki B (niedomieszkowanej biokrzemionki z okrzemek gatunku *Pseudostaurosira trainorii* - DBioSiO₂). W obu próbkach zaobserwowano szeroki pik od 15° do 30° kąta 2 θ , odpowiadający amorficznej formie krzemionki, reprezentowanej przez opal-A (RRUFF ID: R060653). Wyniki te są zgodne z wnioskami opisanymi przez Sprynskiego i in. w odniesieniu do biokrzemionki otrzymanej z okrzemek gatunku *Pseudostaurosira trainorii* [65]. Wyniki XRD dla próbki A wskazują, że możliwe jest określenie pików dla wartości kąta 2 θ 27,36°; 33,57°; 46,40° i 56,52°. Niezidentyfikowane piki dyfrakcyjne nie pasują do typowych pików dla krzemianów, węglanów lub wodorotlenków i nie znajdują odpowiedników w istniejących bazach danych.



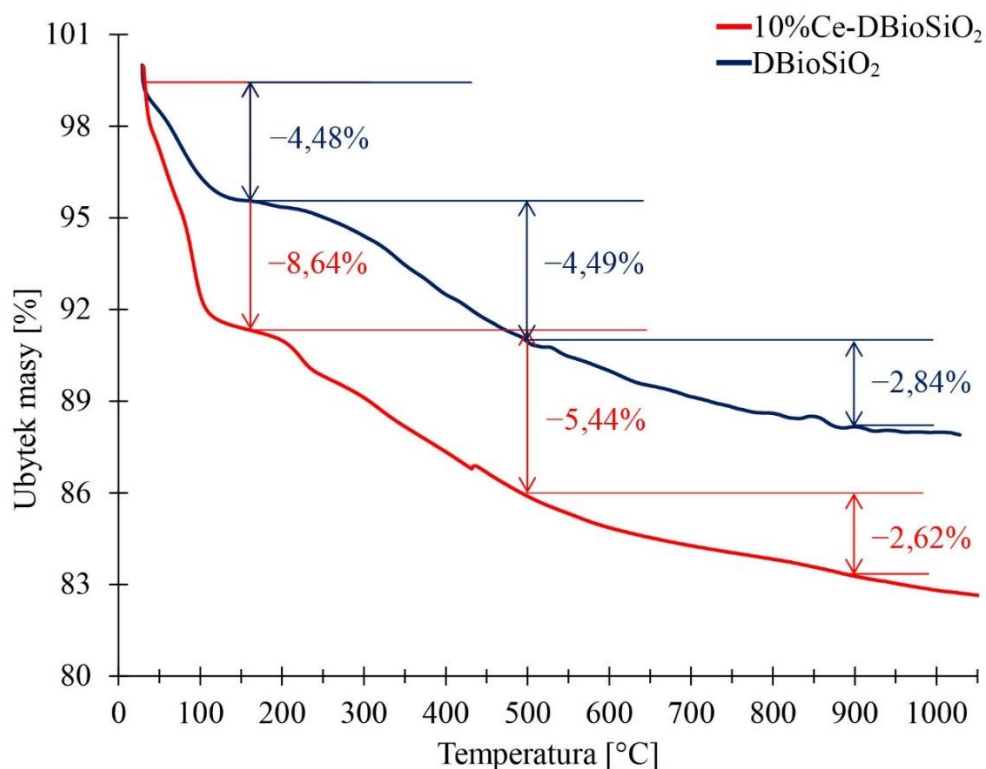
Rys.5. Wyniki analizy XRD kompozytu 10%Ce-DBioSiO₂ (A) i czystej biokrzemionki okrzemkowej DBioSiO₂ (B)

Porównanie widma XRD biokrzemionki domieszkowanej nanocząstkami CeO₂ z widmem referencyjnym ujawnia niewielkie przesunięcia wartości kąta 2θ charakterystycznych pików formy krystalicznej w stosunku do odpowiadającej im substancji w analizowanym materiale. Przesunięcia te prawdopodobnie wynikają ze złożoności powstałego materiału. Zrozumienie, w jaki sposób rozmiar nanocząstek i złożoność struktury materiału wpływają na dyfraktogramy XRD w kontekście charakterystyki materiałów w skali nano- za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej proszków, ma zasadnicze znaczenie. Zmniejszenie rozmiaru kryształów prowadzi do poszerzenia pików dyfrakcyjnych, dobrze opisanego równaniem Scherrera, co wpływa na precyzję określania wartości 2θ , co ma kluczowe znaczenie w analizie nanocząstek. Preferencyjna orientacja cząstek, wynikająca z ich nieregularnych kształtów, jest kolejnym czynnikiem, który może wpływać na intensywność i położenie pików na dyfraktogramie XRD. Złożoność strukturalna badanego materiału jest dodatkowym czynnikiem komplikującym interpretację wyników XRD. Porównanie wyników XRD z symulowanymi lub standardowymi wzorcami dyfrakcyjnymi może pomóc w identyfikacji faz krystalicznych. Należy jednak pamiętać o potencjalnych różnicach wynikających z czynników takich jak wielkość cząstek lub orientacja [81].

Uzyskany dyfraktogram rentgenowski dla kompozytu Ce-DBioSiO₂ wykazuje nieznaczne przesunięcie pików dyfrakcyjnych dla kąta 2θ w porównaniu do tych przedstawionych dla wzorca. Może to być spowodowane kurczeniem się sieci CeO₂, co jest związane ze zmianami długości wiązań CeO i generowanymi zniekształceniami. Założenie to jest zgodne z doniesieniami literaturowymi opisującymi, na przykład, domieszkowanie CeO₂NPs innymi pierwiastkami, takimi jak kobalt, co doprowadziło do deformacji sieci krystalicznej nanocząstek, w konsekwencji wpływając na parametry komórki elementarnej i powodując przesunięcie pików w kierunku wyższych wartości 2θ [82,83]. Prawdopodobną przyczyną deformacji sieci krystalicznej w otrzymanych nanocząstkach CeO₂ może być ich synteza na złożonej matrycy (uwodnionej amorficznej biokrzemionce), proces czyszczenia (przy użyciu H₂O₂ i HCl) oraz zastosowanie temperatury (podczas suszenia materiału). Badania adsorpcji i rozkładu H₂O₂ na różnych modelach powierzchni CeO₂ (111) wykazały, że nadtlenek wodoru zaadsorbowany na powierzchni ceru może heterolitycznie dysocjować, tworząc dwie grupy hydroksylowe w dwóch sąsiednich miejscach Ce [84]. Adsorpcja nadtlenu wodoru wpływa również na stężenie Ce³⁺ na powierzchni CeO₂ [85]. Generowanie dodatkowych wiązań wodorowych wraz z tworzeniem grup hydroksylowych i wakancji tlenowych na powierzchni CeO₂ pod wpływem H₂O₂ (stosowanego do oczyszczania biokrzemionki) znajduje w pewnym stopniu odzwierciedlenie w parametrach strukturalnych utworzonych nanocząstek tlenku ceru. Znaczący wzrost uwodnienia biokrzemionki z domieszką ceru w porównaniu do czystej biokrzemionki, wykryty na podstawie danych analizy termogravimetrycznej, może wynikać z tych samych powodów.

4.2.5. Analiza termogravimetryczna

Na Rys.6 zaprezentowano wyniki analizy termogravimetrycznej (TG) dla próbek biokrzemionki okrzemkowej (DBioSiO₂) i próbek materiału domieszkowanego cerem (10%Ce-DBioSiO₂). Analizę TG przeprowadzono w atmosferze azotu, analizując stabilność termiczną oraz mechanizmy degradacji w/w materiałów w zakresie temperatur od 29°C do 1050°C. Dla obu analizowanych próbek można zauważyć trzy etapy ubytku masy, występujące przy następujących przedziałach temperatur: I etap - od 29°C do 160°C, II etap – od 160°C do 500°C oraz III etap – od 500°C do 900°C. Pierwszy etap ubytku masy w próbkach wiąże się z ich dehydratacją, czyli usuwaniem fizycznie związanych molekuł wody z powierzchni próbek.



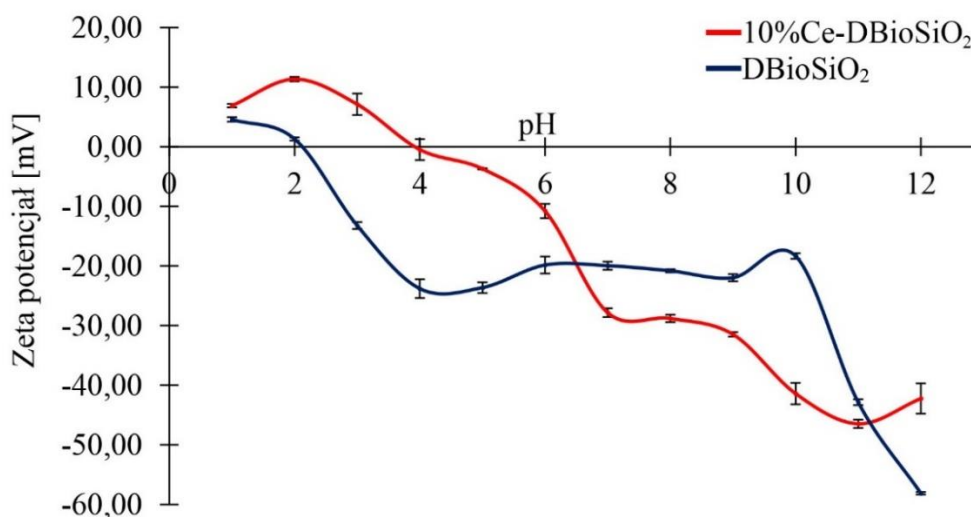
Rys.6. Krzywe tremograwimetryczne próbek DBioSiO₂ (linia granatowa) oraz 10%Ce-DBioSiO₂ (linia czerwona)

Pozostałe dwa etapy ubytku masy wynikają z procesu dehydroksylacji, w której uwalniane są grupy -OH. Prowadzi to do powstania wiązań wodorowych między atomami tlenu, czego wynikiem jest formowanie się cząsteczek wody, która następnie odparowuje. W przypadku materiałów krzemionkowych, proces ten dotyczy zwykle rozbicia wiązań Si-OH, prowadząc do kondensacji i tworzenia nowych wiązań Si-O-Si [86,87]. Całkowita utrata masy próbki DBioSiO₂ wynosi 11,81% natomiast całkowity ubytek masy materiału z dodatkiem ceru wynosi 16,70% (do temperatury 900°C) Wskazuje to na wysoką stabilność termiczną obu materiałów w wysokich temperaturach. Widocznym jest, iż 10%Ce-DBioSiO₂ wykazuje większy ubytek masy na etapie dehydratacji (8,64%) aniżeli niedomieszkowana biokrzemionka (4,48%). Prawdopodobnie wynika to ze złożonej struktury materiału domieszkowanego, w której to interakcje pomiędzy nanocząstkami CeO₂ a matrycą biokrzemionkową mogą umożliwiać tworzenie dodatkowych miejsc do adsorpcji wody, powodując tym samym większy ubytek masy podczas wstępnego etapu ogrzewania [88,89]. Przeprowadzenie procesu kalcynacji w przedziale temperatur wynoszącym 400-800°C może prowadzić do uzyskania dobrze skryształizowanych nanocząstek CeO₂, cechujących się hydrofobowością [90,91]. Podczas analizy TG, hydrofobowość CeO₂NPs może

przyczyniać się do zmiany właściwości adsorpcyjnych i desorpcyjnych materiałów, w których skład wchodzi, wpływając bezpośrednio na zmiany ubytku masy w trakcie ogrzewania próbki. W materiałach posiadających skryształizowane, hydrofobowe nanocząstki CeO₂NPs, ubytek masy związany z odwodnieniem może pojawić się przy niższych temperaturach lub być bardziej intensywny, niż w materiałach nie posiadających domieszek cerowych [92–95], co zaobserwowano na Rys.6. W wyższych temperaturach ubytek masy jest podobny dla obu próbek i wynosi 2,84% dla DBioSiO₂ oraz 2,62% dla 10%Ce-DBioSiO₂.

4.2.6. Pomiary potencjału zeta

Stabilność elektrokinetyczna materiału została oceniona poprzez pomiar potencjału zeta (ζ -potential) w zakresie pH od 1 do 12. Rys.7 przedstawia zależność wartości potencjału zeta od pH dla czystej biokrzemionki oraz biokrzemionki okrzemkowej funkcjonalizowanej CeO₂NPs. Obserwuje się, że w badanym zakresie pH wartość potencjału zeta maleje wraz ze wzrostem pH dla obu próbek (od wartości +6,89 mV przy pH=1 do -58,11 mV przy pH=12). Ten spadek może być wynikiem postępującej deprotonacji grup silanolowych ($\text{Si-OH} \leftrightarrow \text{SiO}^- + \text{H}^+$), co prowadzi do zwiększenia ujemnego ładunku powierzchniowego cząstek [96].



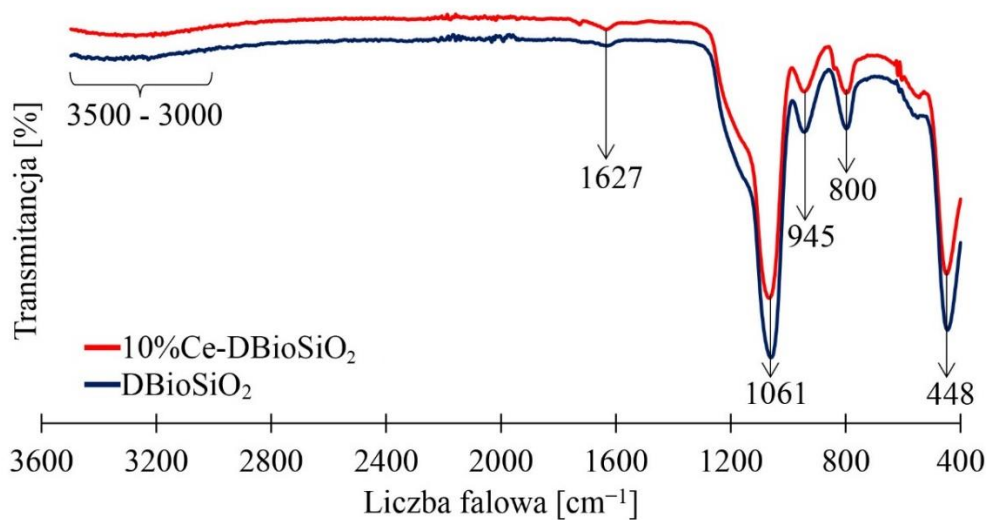
Rys.7. Wykres zależności potencjału zeta od pH dla próbek: DBioSiO₂ (linia granatowa) oraz 10%Ce-DBioSiO₂ (linia czerwona)

Dodatek ceru do biokrzemionki prowadzi do obniżenia jej potencjału zeta, szczególnie widocznego dla pH > 6. Ponadto, warto zauważyć, że punkt izoelektryczny (IEP) dla czystej biokrzemionki znajduje się przy pH = 2. Jest to bezpośredni efekt polarnego środowiska pomiarowego [97], co prowadzi do kwaśnego charakteru

powierzchniowych grup silanolowych. Dodatek jonów ceru przesuwają wartość IEP do $\text{pH} = 4$, co jest wynikiem zmiany ładunku powierzchniowego biokrzemionki po adsorpcji nanocząstek tlenku ceru(IV) [98]. Dodatkowo, IEP materiału domieszkowanego zlokalizowany przy $\text{pH} \sim 4$ jest charakterystyczny dla nanocząstek CeO_2 otrzymanych za pomocą chemicznych metod syntezy [98]. Powyżej $\text{pH} = 10$ zaobserwowano znaczący spadek wartości potencjału zeta dla wszystkich badanych materiałów, co jest prawdopodobnie spowodowane deprotonacją wszystkich grup hydroksylowych na powierzchni porów krzemek [99]. Wzrost ujemnej wartości potencjału zeta biokrzemionki domieszkowanej nanocząstkami CeO_2 w porównaniu do czystej biokrzemionki może być wynikiem większej powierzchni właściwej biokrzemionki ze względu na obecność nanocząstek.

4.2.7. Widma FTIR

Rys.8 przedstawia widma FTIR biokrzemionki domieszkowanej jonami ceru ($10\% \text{Ce-DBioSiO}_2$) oraz biokrzemionki niedomieszkowanej (DBioSiO_2). Widocznym jest, iż oba widma zawierają charakterystyczne pasma absorpcji przy 448, 800 i 1061 cm^{-1} związane z drganiami walencyjnymi i deformacyjnymi wiązań siloksanowych Si-O-Si obecnych w amorficznej krzemionce [100,101].



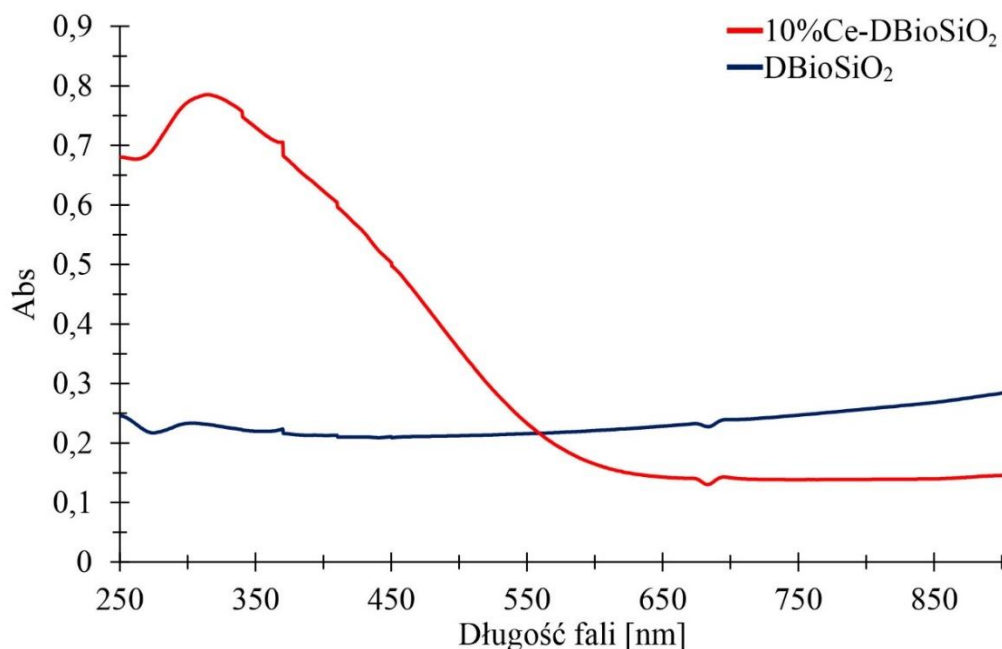
Rys.8. Widma FTIR dla próbek niedomieszkowanej biokrzemionki (linia granatowa) oraz biokrzemionki domieszkowanej jonami ceru (linia czerwona)

W przypadku materiału domieszkowanego, maksimum pików absorpcji przy 448 cm^{-1} może dodatkowo wynikać z wiązań Ce-O w fazie CeO_2 [102]. Ponadto, w obu widmach można zidentyfikować pasma absorpcji przy 1627 i $3000\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$ co jest efektem drgań walencyjnych i deformacyjnych O-H występujących zarówno w wodzie

molekularnej, jak i w hydratowanych formach biokrzemionki. Dodatkowo, w obu widmach zaobserwowano pasmo absorpcji przy 945 cm^{-1} wskazujące na obecność wiązania silanolowego Si-OH, typowego dla okrzemek morskich [103].

4.2.8. Właściwości fotoluminescencyjne

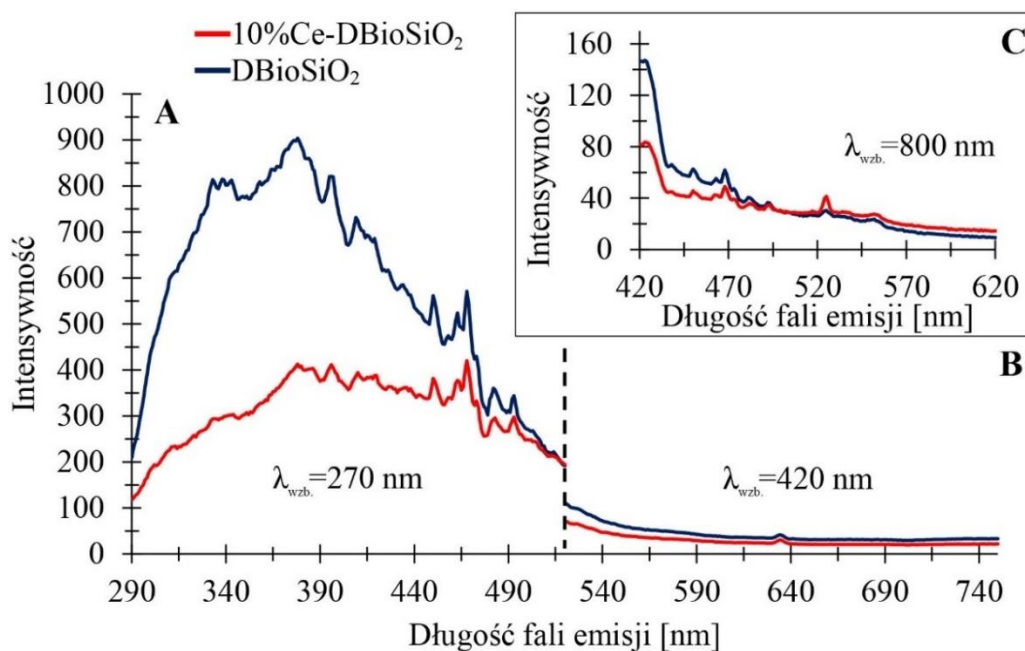
Rys.9 prezentuje widma absorpcji UV-Vis dla próbki niedomieszkowanej biokrzemionki okrzemkowej (linia granatowa) oraz dla biokrzemionki okrzemkowej domieszkowanej CeO_2NPs (linia czerwona). W wyniku analizy spektrofotometrycznej UV-Vis w zakresie od 250 nm do 900 nm zaobserwowano płaski profil absorpcji w przypadku próbki DBioSiO_2 . Takie zjawisko wskazuje na ograniczoną aktywność elektronową biokrzemionki okrzemkowej w badanym zakresie.



Rys.9. Widma absorpcji UV-Vis DBioSiO_2 i $10\%\text{Ce-DBioSiO}_2$

W przeciwieństwie do próbki DBioSiO_2 , próbka $10\%\text{Ce-DBioSiO}_2$ wykazuje wyraźny pik absorpcji przy niższych długościach fali. Świadczy to o istnieniu charakterystycznych przejść elektronowych związanych z obecnością nanocząstek CeO_2 , które wprowadzają nowe poziomy energetyczne w przerwie energii wzbronionych. Absorpcja światła przez biokrzemionkę domieszkowaną cerem zaczyna się poniżej 400 nm, co jest charakterystyczne dla przejść elektronowych Ce w tych obszarach. Występujące szerokie pasmo w zakresie od $\sim 260\text{ nm}$ do $\sim 375\text{ nm}$ (z maximum pik przy 315 nm) może odpowiadać transferowi ładunku (CT) z orbitali $2p$ tlenu (O^{2-}) do orbitali $4f$ Ce^{4+} [104–107]. Orbital Ce $4f$ znajduje się pomiędzy pasmem walencyjnym O $2p$ i pasmem przewodzenia Ce $5d$. Ponadto, pasmo z maksimum przy 315 nm potwierdza,

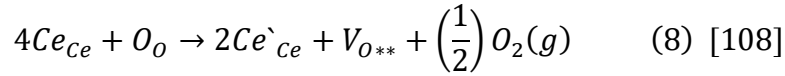
że materiał zawierający CeO₂ NPs jest aktywny optycznie i fotokatalitycznie [106,108]. Widocznym jest, iż wraz ze wzrostem długości fali maleje wartość absorpcji materiału domieszkowanego cerem. Takie zachowanie w zakresie UV-Vis jest charakterystyczne dla niektórych tlenków metali ziem rzadkich [109]. Dodatkowo, podobną zależność można zaobserwować również w trakcie analizy widm emisyjnych, które zostały zaprezentowane na rysunku 10.



Rys.10. Widma fotoluminescencji próbek: DBioSiO₂ i 10%Ce-DBioSiO₂ prezentowane w trzech analizowanych zakresach przy długości fali wzbudzenia: 270 nm, 420 nm oraz 800 nm

Na Rys.10 zaprezentowane zostały widma emisyjne próbek: DBioSiO₂ (linia granatowa) i 10%Ce-DBioSiO₂ (linia czerwona), wykonane przy trzech wartościach długości fali wzbudzenia: (A) 270 nm, (B) 420 nm oraz (C) 800 nm. Rys.10.A przedstawia widmo fotoluminescencji (PL) w zakresie długości fal od 290 do 520 nm, przy długości fali wzbudzenia wynoszącej 270 nm. Rys.10.B prezentuje natomiast widmo PL w zakresie długości fal od około 520 do 750 nm, gdzie długość fali wzbudzenia wynosi 420 nm. Widoczna na tych widmach emisja promieniowania w regionie niebieskim i zielonym światła widzialnego może pochodzić od defektów związanych z matrycą krzemionkową: niemostrujących centrów dziur tlenowych czy też od występujących wakancji tlenowych [110–112]. Dodatkowo, emisja ta może być wynikiem obecności wakancji tlenowych występujących w strukturze CeO₂, gdyż w sześcienniej strukturze cerii jony tlenu nie są ściśle upakowane, co prowadzi do

powstania licznych wakancji tlenowych. Zgodnie z notacją Krogera-Vinka, zaprezentowaną w równaniu 8 wynika, że [108]:



gdzie: Ce_{Ce} oznacza miejsce na jon Ce^{4+} w sieci krystalicznej przeznaczony dla Ce, Ce'_{Ce} reprezentuje jon Ce^{3+} na miejscu siatki Ce, O_O odpowiada O^{2-} na siatce krystalicznej przeznaczony dla O, a $V_{O^{**}}$ oznacza neutralne miejsce wakancji tlenowej.

Usunięcie atomu tlenu z dwutlenku ceru (CeO_2) prowadzi do pojawienia się par elektronów uwięzionych w wakancji tlenowej, tworząc tzw. centra F. Stany defektowe tlenu w strukturze CeO_2 znajdują się tuż poniżej poziomu energetycznego Ce 4f. Notacja Krogera-Vinka wskazuje na obecność jonów Ce^{3+} na granicach ziaren, działających jako pułapki na dziury, podczas gdy wakancje tlenowe są pułapkami elektronowymi, generującymi piki emisyjne w regionie niebieskim i zielonym [108]. Rys.10.C przedstawia widmo w zakresie długości fal od 420 do 620 nm, z długością fali wzbudzenia równą 800 nm. Wskazuje ono na proces up-konwersji, w którym absorpcja dwóch lub więcej fotonów o niższej energii skutkuje emisją pojedynczego fotonu o wyższej energii. Zauważalny spadek intensywności emisji przy wyższych wartościach długości fali jest charakterystyczny dla tego zjawiska [109]. Najbardziej intensywny pik emisji w zakresie zielonym implikuje konwersję fotonu o dłuższej fali (czerwonej) na foton o krótszej fali i wyższej energii.

Tab.3. Zestawienie danych niezbędnych do określenia wydajności kwantowej fluorescencji przy użyciu metody względnej dla próbki 10%Ce-DBioSiO₂

Próbka	$n_{fl_{sample}}$	$n_{fl_{reference}}$	IF_{sample}	$IF_{reference}$	n_{sample}^2	$n_{reference}^2$
10%Ce-DBioSiO ₂	0,01154	0,59	5266,824	276481,801	1,859	1,812

W metodzie względnej wydajność kwantowa fluorescencji próbki jest zwykle wyznaczana przez porównanie jej intensywności fluorescencji z intensywnością fluorescencji standardu o znanej wydajności kwantowej. Procedura ta wymaga odpowiedniego dopasowania widm absorpcji próbki i wzorca, a także podobnych warunków pomiarowych (np. rodzaju rozpuszczalnika, wartości pH czy temperatury). W celu uzyskaniach jak najdokładniejszych wartości wydajności kwantowej próbek, jako standardy stosuje się substancje o stabilnej i dobrze charakteryzowanej fluorescencji. Tab.3. prezentuje zestawienie danych niezbędnych do wyliczenia wydajności kwantowej

fluorescencji przy użyciu metody względnej dla 10%Ce-DBioSiO₂. Wyliczona wartość wydajności kwantowej fluorescencji wyniosła 1,15%. Wydajność luminescencyjna jonów ziem rzadkich jest znacząco obniżona, gdy w sieci krystalicznej występują defekty. Trwała luminescencja, będąca jednym z nowoczesnych zastosowań ziem rzadkich, wykorzystuje defekty sieci krystalicznej do przechowywania i stopniowego uwalniania energii emitowanej w postaci światła [112].

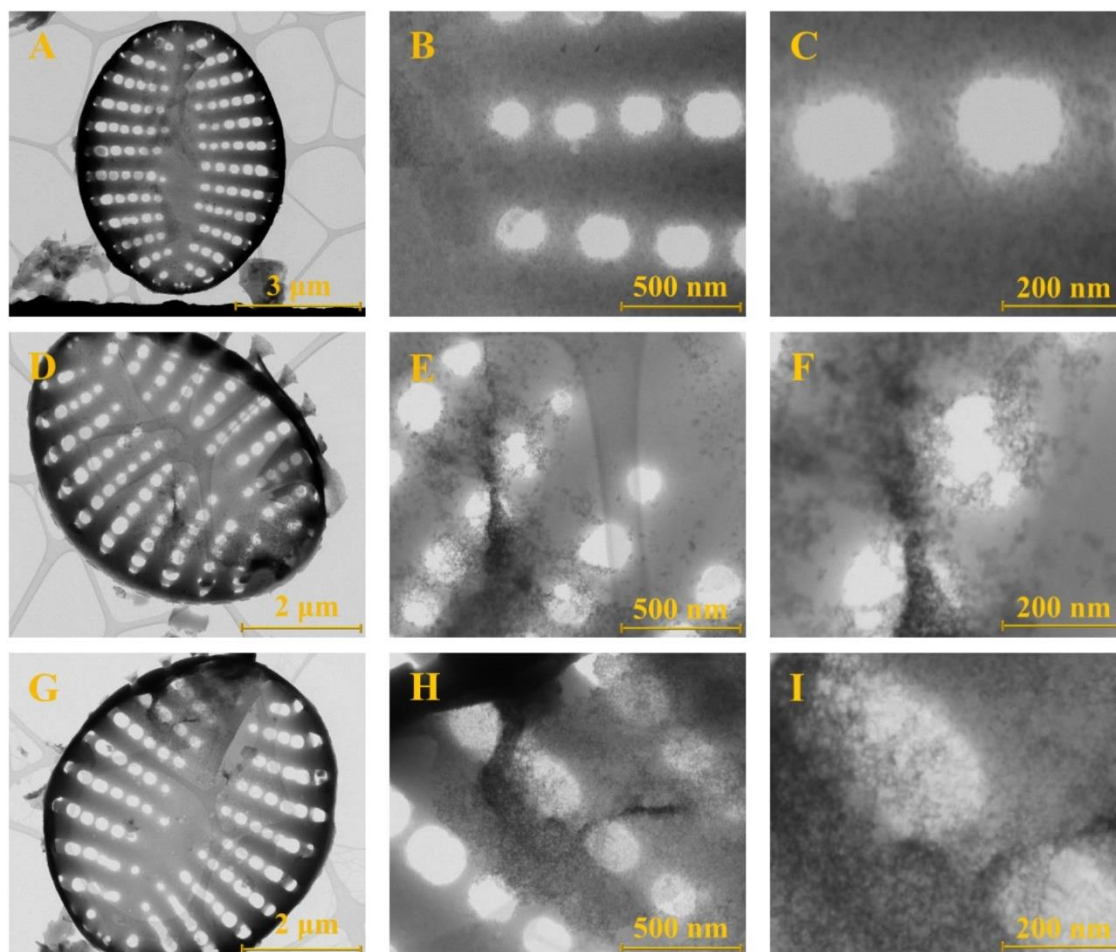
4.3. Biokrzemionka krzemkowa modyfikowana nanocząstkami mieszanego tlenku Ce,Tb i quasi-krystalicznymi nanocząstkami tlenków Tb [P2] – dane nieopublikowane

W ostatnich latach biokrzemionka krzemkowa, pozyskiwana z hodowanych w warunkach laboratoryjnych okrzemek, budzi duże zainteresowanie wśród biologów, fizyków i chemików. Charakteryzująca się doskonale uporządkowaną trójwymiarową strukturą, odpornością termiczną i mechaniczną, a także unikalnymi właściwościami optycznymi i biokompatybilnością biokrzemionka krzemkowa staje się cenną matrycą w syntezie nowoczesnych materiałów. Modyfikacja powierzchni biokrzemionki umożliwia uzyskanie nowych, funkcjonalnych materiałów hybrydowych o specyficznych właściwościach. W niniejszej rozdziale po raz pierwszy zostanie zaprezentowane połączenie naturalnej matrycy biokrzemionkowej, pozyskiwanej z okrzemek, z dwiema formami nanocząstek: mieszanego tlenku ceru i terbu oraz tlenków terbu. Morfologia, struktura, formy krystaliczne, grupy funkcyjne i wiązania strukturalne, skład pierwiastkowy, stabilność termiczna oraz właściwości fotoluminescencyjne syntetyzowanych materiałów zostały zbadane przy użyciu różnych technik instrumentalnych: skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM), analizy termogravimetrycznej (TGA), spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii (EDS), rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej (XRD), spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni (FTIR) oraz spektroskopii w celu zbadania fotoluminescencji (PL).

4.3.1. Badania SEM i SEM-EDX uzyskanych kompozytów

Na Rys.11 zostały zaprezentowane zdjęcia SEM kompozytów $Tb_xO_y/DBioSiO_2$ o różnej zawartości terbu. Obrazy SEM ukazują kolejno pojedynczą krzemionkową frustulę okrzemki z uporządkowanym systemem owalnych porów o rozmiarach 150-200 nm (Rys.11.A, D, G), powierzchnie frustuli pokrytą cienką warstwą przypominającą puch w postaci płątka o nieregularnej formie (Rys.11.B, E, H), oraz morfologię powstałych płatek (Rys.11.C, F, I). Zgodnie z hipotetycznym modelem syntezy analizowanych kompozytów, utworzone cienkowarstwowe płatki są to klasterowe połączenia nanocząstek tlenków terbu. Na zdjęciach C, F i I zaobserwowano jedynie klasterową cienkowarstwową formę nanocząstek tlenków terbu o rozmiarach nie przekraczających 10 nm. Bardziej dokładna obserwacja nanocząstek tlenków terbu była możliwa

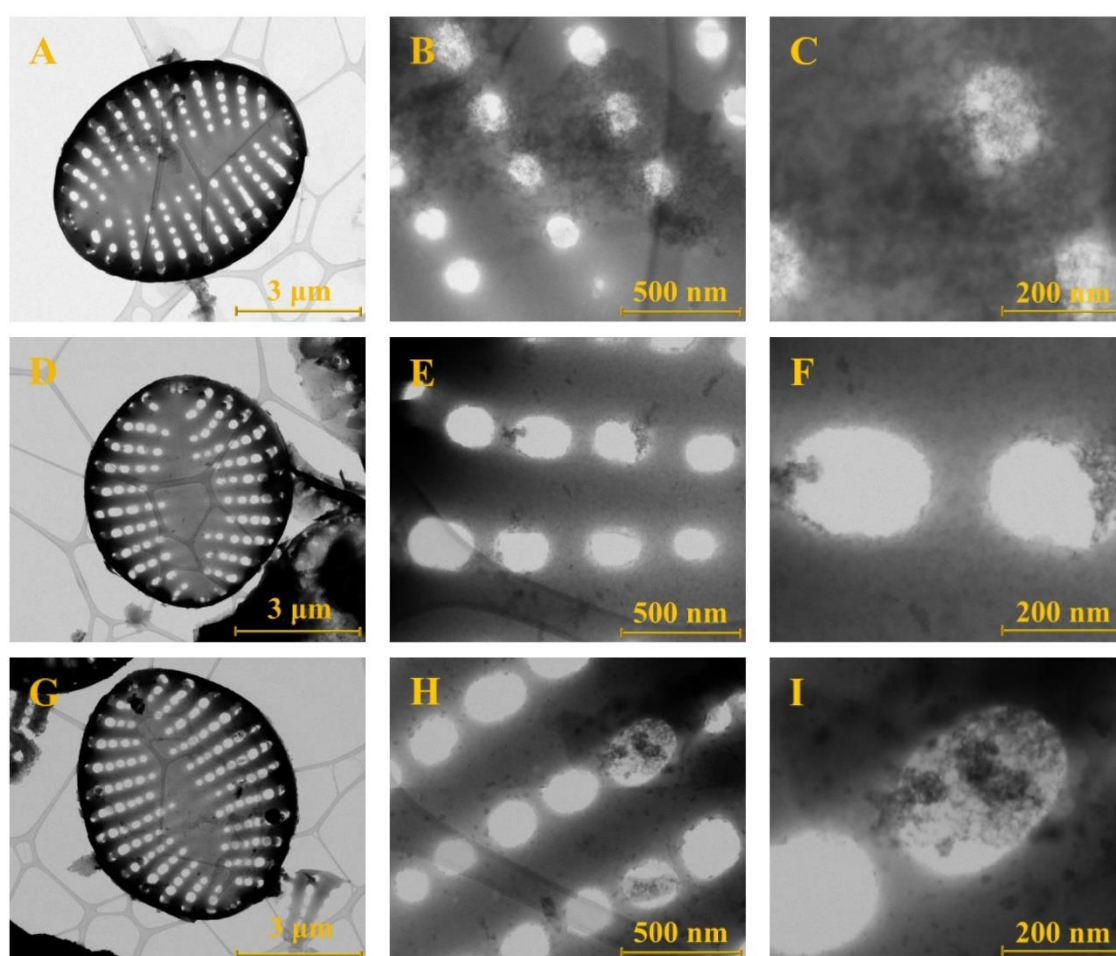
z wykorzystaniem techniki TEM (opisana w dalszej części pracy). Na zdjęciach SEM można zaobserwować, że zastosowana metoda chemicznej syntezy kompozytów nie miała wpływu na kształt i rozmiary krzemionkowych frustul. Uporządkowany system porów został zachowany, nie odnotowano deformacji ani łączenia się porów.



Rys.11. Obrazy SEM kompozytów $Tb_xO_y/DBioSiO_2$ syntezowanych z roztworów zawierających trzy różne stężenia jonów Tb^{3+} : 10 mg/L (A – C), 50 mg/L (D – F) oraz 100 mg/L (G – I) w powiększeniach kolejno 35 000 x, 200 000x oraz 500 000 x

W pracy Cui i wsp. [113] zaprezentowano metodę „dekoracji” krzemionki nanocząstkami Tb_2O_3 , która nie wymagała dodatkowego katalizatora. W przypadku przytoczonej pracy, obserwowana była jednorodna struktura materiału po procesie kalcynacji. Uzyskane nanocząstki Tb_2O_3 charakteryzowały się średnicą o wartości około 5-7 nm i równomiernym rozproszeniem w matrycy krzemionkowej. Według autorów niewielki rozmiar nanocząstek wynika z faktu, że w trakcie procesu termicznej konwersji, mającej miejsce podczas kalcynacji, jony Tb^{3+} otoczone były przez sieci Si-O-Si, co skutecznie hamowało dalszy wzrost rozmiarów Tb_2O_3 NPs po ich krystalizacji [62].

Analogicznie do wyników uzyskanych we wspomnianej pracy, również w naszym przypadku analizy SEM zaprezentowanej na Rys.11 można zaobserwować występowanie nanocząstek o niewielkich rozmiarach, co może być spowodowane efektem zastosowanej matrycy w postaci biokrzemionki okrzemkowej. Dai i wsp. [114] wykazali, że temperatura kalcynacji ma wpływ nie tylko na występującą formę tlenku terbu, ale także na rozmiar występujących nanocząstek. Zaobserwowany wzrost wielkości analizowanych nanocząstek ze wzrostem temperatury był wyjaśniony procesem dojrzewania Ostwalda. Efekt ten był obserwowany nie tylko w przypadku tlenków terbu, ale również innych jego związków [115].

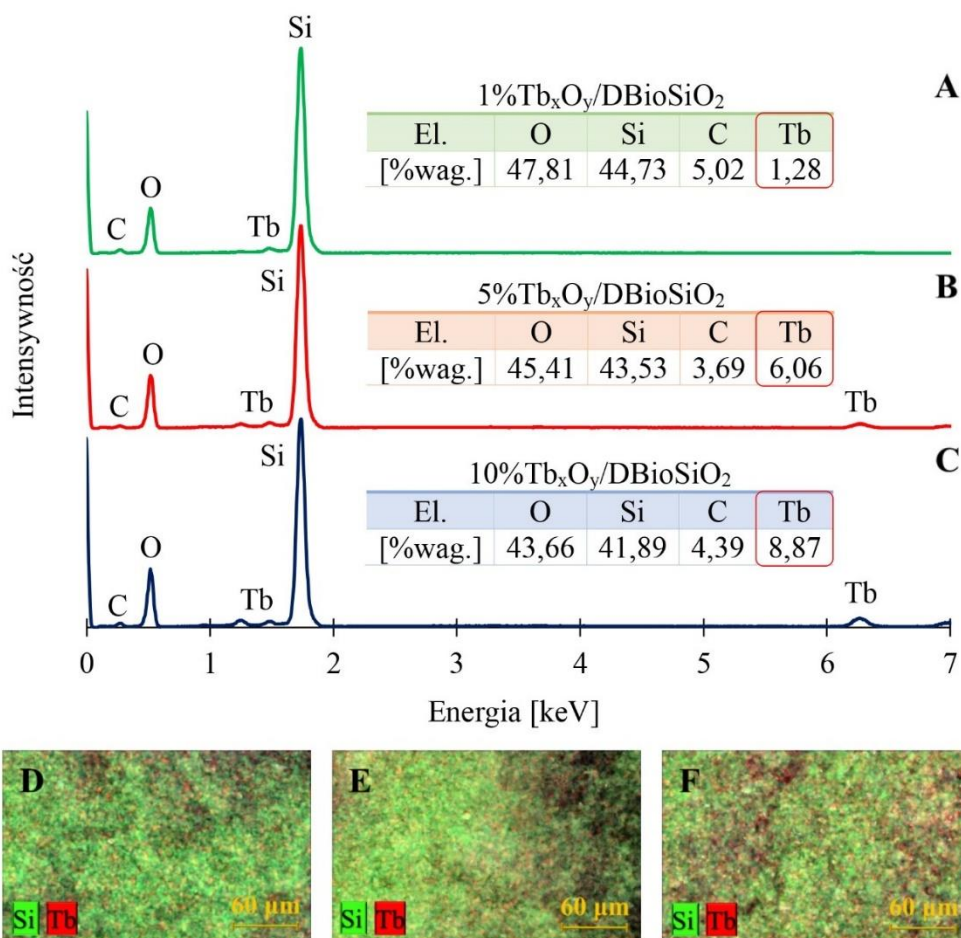


Rys.12. Obrazy SEM kompozytów $(\text{Ce,Tb})\text{O}_2/\text{DBioSiO}_2$ syntezowanych z roztworów zawierających trzy różne stężenia jonów Ce^{4+} oraz Tb^{3+} : 10 mg/L (A – C), 50 mg/L (D – F) oraz 100 mg/L (G – I) w powiększeniach 35 000 x/ 500 000 x, 200 000x oraz 500 000 x

Na Rys.12 przedstawiono obrazy SEM dla kompozytów $(\text{Ce,Tb})\text{O}_2/\text{DBioSiO}_2$ o początkowych stężeniach terbu oraz ceru 1%, 5% oraz 10%. Na powierzchni frustuli można zaobserwować charakterystyczne płatki, analogiczne do tych występujących

w przypadku opisywanych wcześniej kompozytów z terbem. Istnieje jednak istotna różnica w składzie tych płatków, ponieważ w danym wypadku składają się one z nanocząstek mieszanego tlenku ceru i terbu, według wyników badań XRD zamieszczonych poniżej. Można zauważyć, że klastry nanocząstek w postaci płatków charakteryzują się nieregularną formą i rozmiarami. Agregacja nanocząstek mieszanego tlenku ceru i terbu na powierzchni krzemionkowych frustuli okrzemek w postaci cienkowarstwowych płatków może być związana ze specyfiką chemii powierzchni biokrzemionki. Zakłada się, że uwodniona powierzchnia biokrzemionki odgrywa kluczową rolę w tworzeniu się cienkowarstwowych klastrowych płatków, ponieważ będzie sprzyjać tendencji formujących się nanocząstek do aglomeracji, żeby minimalizować swoją dużą energię powierzchniową [116]. Możliwe, że strukturyzowane cząsteczki wody lub grupy silanolowe (Si-OH) na biokrzemionce sprzyjają agregacji nanocząstek, podczas gdy grupy siloksanowe (Si-O-Si) hamują wzrost pojedynczych nanocząstek [62]. Zmniejszenie rozmiaru nanocząstek tlenków metali ziem rzadkich (REO) powoduje znaczny wzrost stosunku powierzchni do masy, co z kolei może powodować nowe pożądane efekty we właściwościach optycznych, elektrycznych lub magnetycznych [117–119]. W naszym przypadku rozmiary pojedynczych nanocząstek terbu i ceru nie przekraczają 10 nm (Rys.11.I, 12.I). Das i in. [116] wykazali, że komercyjne nanocząstki tlenków ziem rzadkich tworzące się w środowisku wodnym mają pierwotne rozmiary kryształów od 30 do 70 nm, które to mają tendencję do łączenia się w agregaty o średnicach hydrodynamicznych 200-800 nm. Agregaty nanocząstek terbu w zakresie 40-60 nm [120] nanocząstek ceru w zakresie 50-130 nm [121].

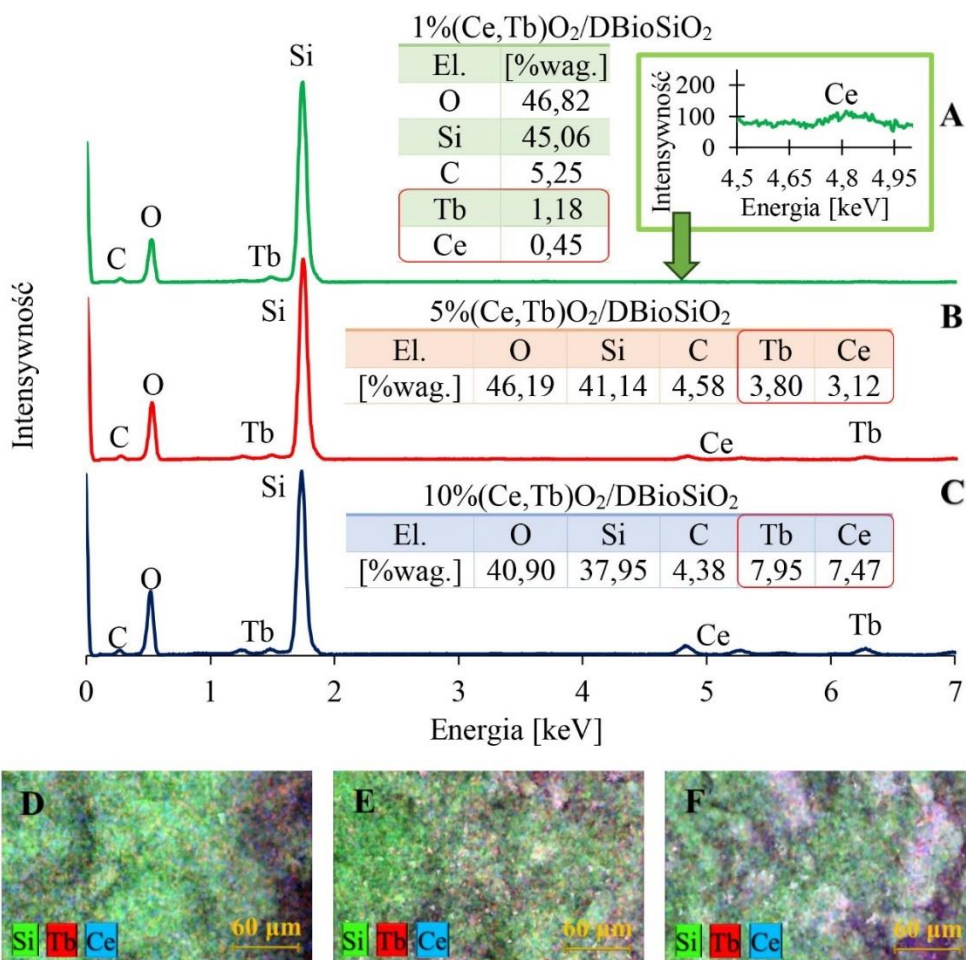
Na Rys.13 przedstawione zostały wyniki SEM-EDX dla kompozytów zawierających terb. Wyniki SEM-EDX analizy wykazały obecność w kompozytach tlenu, krzemu, węgla oraz terbu. Głównymi komponentami są krzem i tlen o sumarycznej zawartości 94,5 – 85,5 % wag. Krzem wraz z większą częścią tlenu reprezentują krzemionkowe frustule okrzemek (biokrzemionki). Obecność węgla natomiast może być związana z resztkami materiałów organicznych, takich jak białka uczestniczące w wytrącaniu biokrzemionki (silafiny) w frustulach okrzemek, nawet po obróbce biomasy za pomocą nadtlenu wodoru i kwasu solnego [65,122].



Rys.13. Widma EDX kompozytów $Tb_xO_y/DBioSiO_2$ z udziałem procentowym odpowiednich pierwiastków (A-C) oraz mapy dystrybucji pierwiastków w kompozytach (D-F)

Warto również podkreślić, że wyniki SEM-EDX dotyczące zawartości węgla w biokrzemionce mogą być nieprecyzyjne z powodu wysokiego poziomu szumu tła w SEM-EDX. Skutkuje to pojawieniem się piku węgla na poziomie przekraczającym 2%, nawet gdy w próbce węgiel nie występuje [123,124]. Wykryta zawartość terbu w trzech syntezowanych odrębnie kompozytach wyniosła 1,28%, 6,06% oraz 8,87%. Przedstawione mapy dystrybucji pierwiastków ujawniły jednorodne rozłożenie krzemu i terbu w analizowanym materiale. Procentowe wagowe zawartości terbu w kompozytach zostały uwzględnione w dalszej części artykułu przy nazewnictwie syntezowanych kompozytów. W związku z tym, uzyskane kompozyty z terbem określono jako 1,28% $Tb_xO_y/DBioSiO_2$, 6,06% $Tb_xO_y/DBioSiO_2$, oraz 8,87% $Tb_xO_y/DBioSiO_2$. Terb został zidentyfikowany przy wartości energii około 1,5 keV oraz w okolicach 6 keV co zgodne jest z dostępnymi danymi literaturowymi [125,126]. Należy jednak pamiętać, że w praktyce, wskazywane wartości energii dla konkretnego, analizowanego pierwiastka

mogą się nieznacznie różnić co do wartości w zależności od konkretnego spektrometru EDX i konfiguracji urządzenia.



Rys.14. Widma EDX kompozytów (Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ z procentem wagowym odpowiednich pierwiastków (A-C) oraz mapy dystrybucji pierwiastków w kompozytach (D-F)

Rys.14 przedstawia wyniki SEM-EDX dla kompozytów z dodatkiem jonów terbu i ceru. W danym przypadku materiały oprócz tlenu, krzemu i węgla zawierają różne zawartości terbu i ceru. Cer został zidentyfikowany przy wartości energii około 5 keV, co również zgodne jest z dostępnymi danymi literaturowymi [127–129]. W kompozycie pierwszym stężenia terbu i ceru wyniosły odpowiednio 1,18% i 0,45%, natomiast dla drugiego kompozytu wartości tych pierwiastków wyniosły 3,80% i 3,12%, oraz dla trzeciego kompozytu odpowiednio 7,95% i 7,47%. Dodatkowo, zaprezentowane mapy dystrybucji pierwiastków wykazały równomierne rozmieszczenie terbu i ceru w matrycy. Wartości procentowej zawartości terbu oraz ceru w kompozytach w dalszej części publikacji uwzględnione zostaną przy nazewnictwie zsyntezowanych kompozytów, a mianowicie: 0,45%_1,18%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂, 3,12%_3,80%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂,

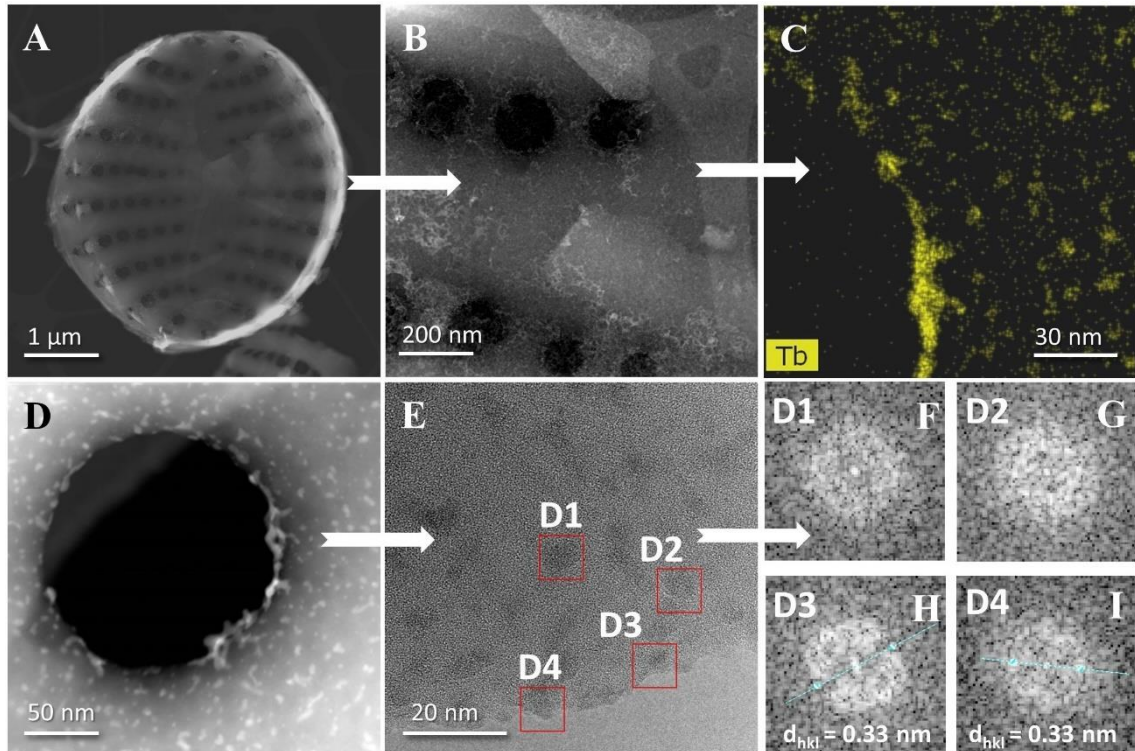
7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂. Dla w/w kompozytów został wyliczony ułamek molowy. W kompozycie 0,45%_1,18%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ uzyskano wartości 0,302 dla ceru i 0,698 dla terbu, dla 3,12%_3,80%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ uzyskano 0,483 dla ceru i 0,517 dla terbu, natomiast w kompozycie 7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ wartości wyniosły odpowiednio 0,516 dla ceru i 0,484 dla terbu. Wykryte zawartości domieszkowanych pierwiastków w uzyskanych kompozytach oraz jednorodna dystrybucja tych pierwiastków w matrycy podkreślają udany przebieg przeprowadzonej syntezy.

Bardziej szczegółowe badania zsyntezowanych kompozytów, zwłaszcza badania morfologii i struktury nanocząstek terbu i ceru, były możliwe z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej TEM. Badania TEM były przeprowadzone tylko dla dwóch kompozytów o największej zawartości domieszkowanych pierwiastków: 7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ oraz 8,87% Tb_xO_y/DBioSiO₂.

4.3.2. Analiza kompozytu za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej

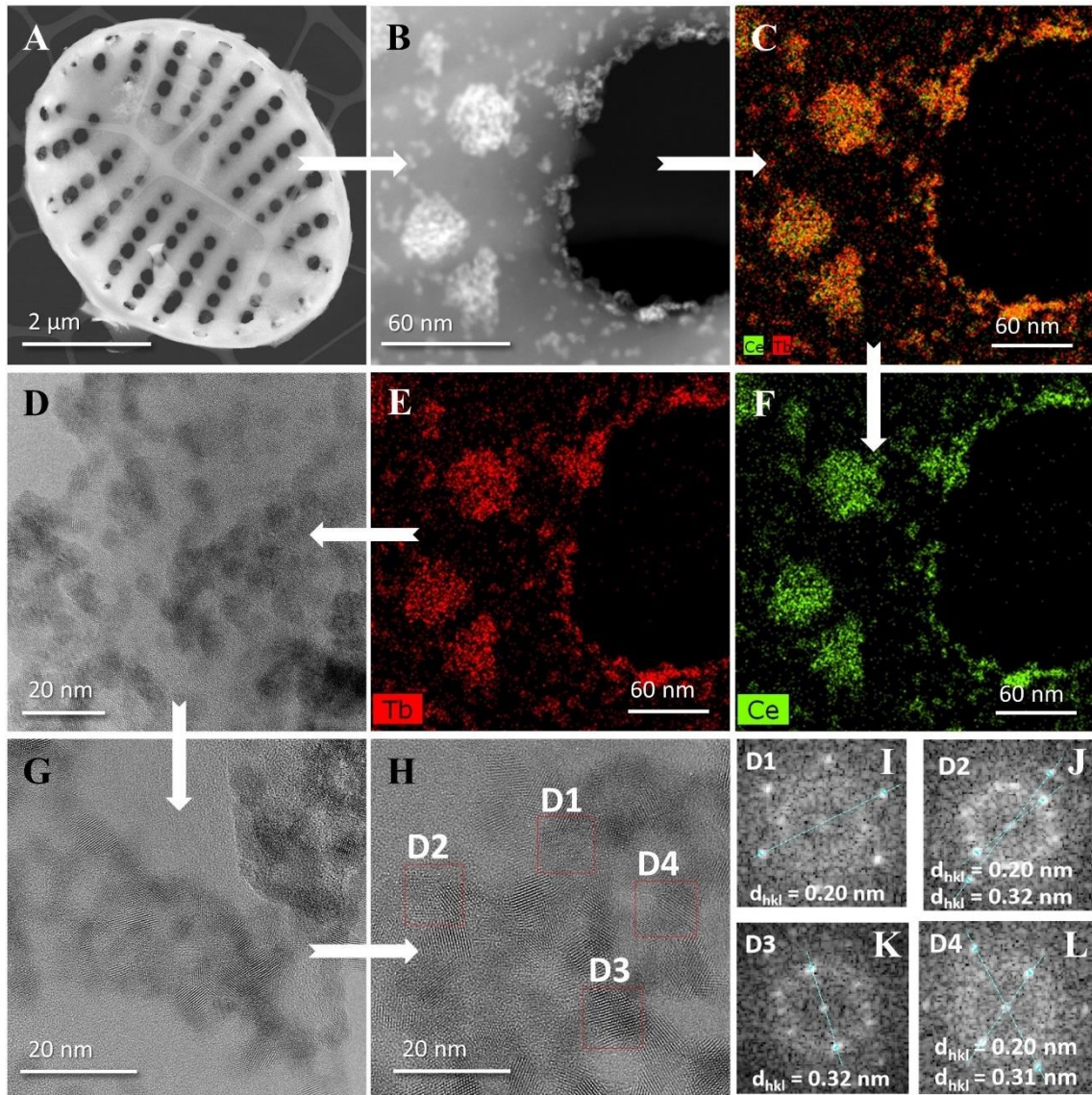
Na Rys.15 oraz Rys.16 przedstawione zostały uzyskane wyniki transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Rys.15 prezentuje kompilację mikrofotografii TEM dla kompozytu 8,87% Tb_xO_y/DBioSiO₂. Na Rys.15.A widoczna jest frustula okrzemki z gatunku *Pseudostaurosira trainorii*. Charakteryzuje się ona ażurową strukturą tworzoną poprzez okresowe układy porów. Powierzchnia frustuli jest pokryta nieregularnymi formami przypominającymi płatki (mgliste płatki lub piankowe płatki). Rys.15.B przedstawia część krzemionkowego pancerzyka okrzemek: dwa rzędy porów oraz żeberko. Jaśniejsze, przypominające „mgłę”, obszary na powierzchni frustuli są klasterowymi skupiskami nanocząstek terbu. Potwierdza to wynik mapowania elementarnego TEM-EDX obszaru frustuli w obrębie pora (Rys.15.C). Rys.15.D przedstawia zdjęcie STEM dystrybucji nanocząstek terbu z obszarze pojedynczego pora. Można zauważyć, że na krawędzi pora gromadzą się większe i bardziej zbite skupiska nanocząstek terbu. Rozmiary pojedynczych nanocząstek wynoszą 5-10 nm, a ich kształty w formie grudek często przypominają puszyste kęпки. Obraz HR-TEM pojedynczych nanocząstek wykazuje ich zarodkowy krystaliczny stan. Strukturę tych nanocząstek raczej można określić jako strukturę quasi-krystaliczną czy quasi-amorficzną (Rys.15.E). Jak można zaobserwować, struktura nanocząstek nie jest klarowna i ciągła, są obszary struktury nanocząstek o różnym stopniu uporządkowania, obszary dyslokacji/defektów oraz fragmenty o amorficznej postaci struktury (quasi-

amorficznej). To znaczy, że taka nanocząstka może składać się nawet z kilku różnych zarodkowych quasi-krystalicznych faz tlenków terbu jak również z fazy quasi-amorficznej. Taka hipoteza potwierdza się poprzez uzyskane wzory dyfrakcyjne SAED dla pojedynczych nanocząstek terbu (Rys.15.F-I) jak również wynikami analiz XRD, które zostały zamieszczone poniżej. Niestety, nie znaleźliśmy opisu takiej hybrydowej postaci nanocząstek tlenków terbu we wcześniejszych doniesieniach literaturowych żeby można było odnieść się do szerszej dyskusji zaobserwowanego zjawiska.



Rys.5. Zdjęcia TEM nanocząstek Tb w materiale kompozytowym $8,87\%Tb_xO_y/DBioSiO_2$ prezentujące: (A) – pojedynczą frustulę okrzemki, (B) – powiększoną część krzemionkowego pancerzyka, (C) – TEM-EDX mapę dystrybucji analizowanego pierwiastka, (D) – zdjęcie STEM nanocząstek terbu w obrębie pojedynczego pora frustuli, (E) – zdjęcie HR-TEM otrzymanych NPs, (F) – SAED pojedynczych nanocząstek terbu

Według opublikowanych doniesień krystaliczne formy nanocząstek tlenków terbu typu Tb_4O_7 o sześcienniej strukturze krystalicznej, mogą powstawać już przy temperaturze syntezy powyżej $400-450^\circ C$ [60,130–132]. Natomiast uzyskano mieszaninę uporządkowanych faz, takich jak $Tb_{11}O_{20}$ i Tb_7O_{12} , w temperaturze poniżej $400^\circ C$ [62]. Pośrednie, nanokrystaliczne uporządkowane fazy TbO_x o niższej symetrii otrzymano po kalcynacji soli terbu w temperaturze $500^\circ C$ [133]. W naszym wypadku temperatura syntezy nanocząstek terbu wynosiła $500^\circ C$, a powstałe nanocząstki terbu na powierzchni biokrzemionki miały postać quasi-krystaliczną.



Rys.16. Zdjęcia TEM kompozytu 7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂: (A) – pojedynczej frustuli okrzemki, (B) – zdjęcie STEM dystrybucji hybridowych nanocząstek ceru i terbu z obszaru fragmentu frustuli (C, E, F) – TEM-EDX mapę dystrybucji analizowanych pierwiastków z obszaru frustuli w obrębie pora, (D) – zoom skupisk uzyskanych nanocząstek w postaci płątka, (G, H) – zdjęcia HR-TEM agregatów otrzymanych NPs, (I-L) – SAED odrębnych nanocząstek

Rys.16 przedstawia zestawienie wyników analizy TEM dla kompozytu 7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂. Na Rys.16.A widoczna jest pojedyncza okrzemkowa frustula (pancerzyk) pokryta piankowymi płatkami hybridowych nanocząstek tlenkowych. Widać też, że struktura i kształt pancerzyków krzemionkowych pozostały niezmiennione, co sugeruje, iż osadzanie nanocząstek na powierzchni pancerzyków nie powoduje ich deformacji. Rys.16.B prezentuje charakter dystrybucji skupisk hybridowych (mieszanych tlenków) nanocząstek ceru i terbu na powierzchni biokrzemionki. Nanocząstki łączą się w klastry/agregaty nieregularnej formy, składające

się z kilku do kilkudziesięciu pojedynczych nanocząstek. Wielkość największych z takich klastrów nie przekracza 60 nm. Rys.16.C, F, E przedstawiają wyniki mapy dystrybucji pierwiastków na powierzchni frustuli. Dystrybucja ceru i terbu odpowiada rozmieszczeniu wykrytych skupisk nanocząstek. Jak można zauważyć na mapach dystrybucji pierwiastków, lokalizacja sygnałów pochodzących od ceru odpowiada lokalizacji sygnałów pochodzących od terbu. Powyższe pozwala nam stwierdzić, że skupiska nanocząstek stanowią grupy odrębnych nanocząstek mieszanego tlenku Ce-Tb. Przy większym powiększeniu (Rys.16.D) można zaobserwować, że nanocząstki o nieregularnej czy też quasi-okrągłej formie i rozmiarach w granicach 5-10 nm, łączą się ze sobą w różnej konfiguracji.

Zdjęcia HR-TEM (Rys.16.G, H) wykrywają strukturalne zrosty sąsiadujących nanocząstek kiedy jedna nanocząstka przyrasta do drugiej nanocząstki. Widoczna jest granica bliźniacza. Wzory dyfrakcyjne SAED odrębnych nanocząstek mieszanego tlenku Ce-Tb (Rys.16.I-L) wskazują na odstęp między płaszczyznami siatki krystalicznej wynoszący 0,31 nm, co odpowiada płaszczyźnie (111) w strukturze sześciennej sieci fluorytu CeO₂. Wyniki te znajdują potwierdzenie w danych uzyskanych za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej (XRD). W danym wypadku można postulować, że obserwowane klastry nanocząstek/nanokrystalitów są wynikiem efektów bliźniaczych/koalescencji. W krystalografii bliźniaczość to zjawisko regularnego wzrostu dwóch lub więcej ziaren kryształu tego samego rodzaju, które są połączone ze sobą w określonej wzajemnej orientacji [134].

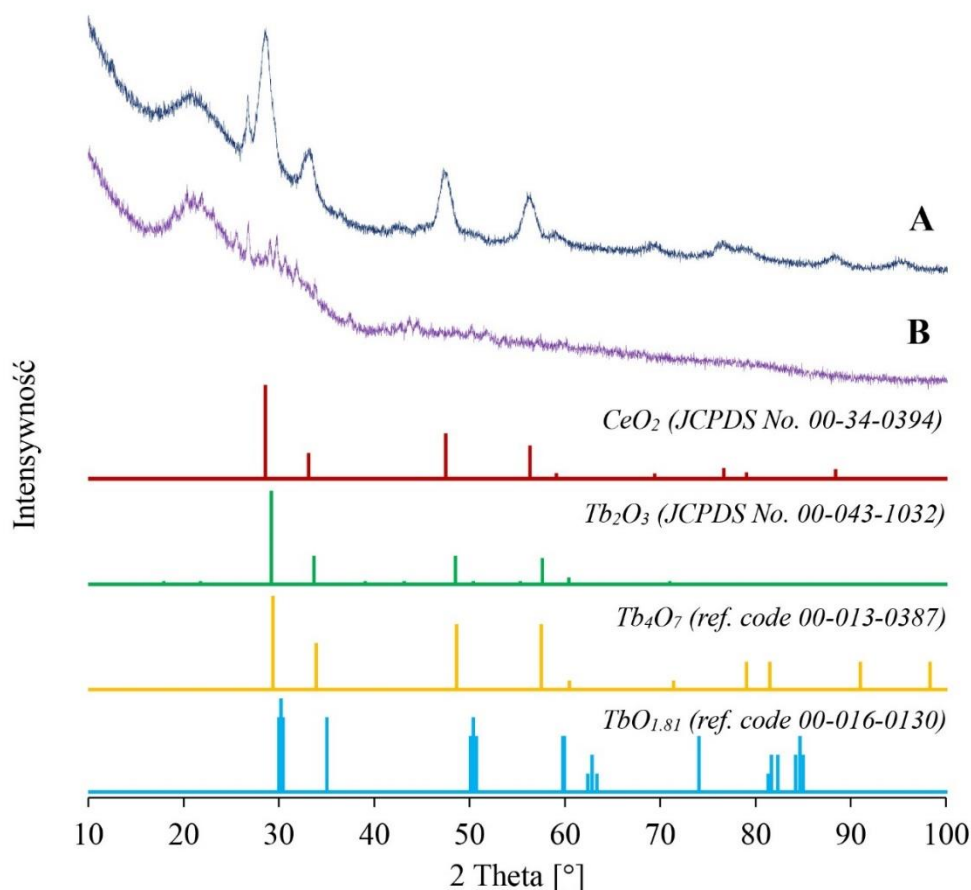
Efekty bliźniacze były często obserwowane w przypadku nanokryształów metali (Al, Ni, Fe, Ge, Au, Pd, Pt) o różnych rozmiarach ziaren [135]. Powstawanie koalescencji nanokryształów FePt o strukturze bliźniaczej na amorficznej powierzchni węgla zostało zaobserwowane przez Dai i wsp. [136]. Ukierunkowane przyłączanie (bliźniakowanie lub koalescencja) nanocząstek ditlenku tytanu (anatazu) zaobserwowano w badaniach przeprowadzonych przez Muralikrishna Raju i współautorów [137]. Wykazano, że agregacja jest osiągnięta przez tworzenie dynamicznej sieci wiązań wodorowych między powierzchniowymi grupami hydroksylowymi i powierzchniowymi tlenkami agregujących nanokryształów. Koalescencja nanocząstek złota na powierzchni krzemu została zbadana przez Jiadao Wanga i in. [138]. Stwierdzono, że dwie lub więcej sąsiednich nanocząstek złota łączą się, ponieważ drgające atomy powierzchniowe nanocząstek "płyną" w kierunku sąsiedniej nanocząstki z powodu sił oddziaływania atomowego między nanocząstkami. Koalescencję nanocząstek Au na grafenowej

warstwie nośnej obserwowano w czasie rzeczywistym za pomocą TEM o wysokiej rozdzielczości (HR-TEM) [139]. Zaobserwowano, że połączone nanocząstki zmieniają kształt ze stabilnymi płaszczyznami fasetowymi poprzez dyfuzję powierzchniową wraz z rekrytalizacją. Siłą napędową koalescencji jest zmniejszenie energii powierzchniowej. Tsai i Jeng [140] wykazali możliwość koalescencji i epitaksjalnego samoorganizowania się nanocząstek Cu na powierzchni grafenu za pomocą symulacji dynamiki molekularnej. "Tango" monometalicznych klastrów Pd zostało również wyraźnie zilustrowane za pomocą symulacji dynamiki molekularnej [141]. Według [142] dziewięć podstawowych procesów jest odpowiedzialnych za koalescencję nanocząstek: koagulacja; reorientacja ciała stałego; tworzenie defektów; uwalnianie ciepła w wyniku anihilacji swobodnej powierzchni; tymczasowe stopienie powierzchni międzyfazowej; wzrost siatki; odkształcenie plastyczne; konsolidacja; powolne starzenie. Podkreśla się również, że koalescencja nanocząstek może znacząco wpływać na praktycznie wszystkie ich właściwości fizyczne i chemiczne [142].

Wcześniej badano serię mieszanych tlenków Tb-CeO₂ jako sorbentów tlenu [143]. Inne kationy ziem rzadkich zostały włączone do sieci krystalicznej CeO₂ w celu zwiększenia ich właściwości redoks [144,145]. Wykazano wzrost stężenia wakancji tlenowych wraz ze wzrostem % Tb w mieszanych tlenkach Tb-CeO₂ [146]. Obecność Tb powoduje naprężenia w sieci krystalicznej ze względu na różnicę promieni jonowych z Ce i tworzenie wakancji O, co wpływa na reaktywność chemiczną mieszanych nanocząstek tlenków wobec tlenków wodoru, azotu i siarki [147]. Mieszany tlenek na bazie CeO₂ są uważane za atrakcyjne materiały do zastosowań w termokatalizie, elektrokatalizie i fotokatalizie [148].

4.3.3. Widma rentgenowskiej dyfrakcji proszkowej

Wyniki analizy rentgenowskiej (XRD) dla kompozytów 8,87%Tb_xO_y/DBioSiO₂ (linia fioletowa) oraz 7,47%-7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ (linia granatowa) przedstawiono na Rys.17. Zakres badanych wartości kąta 2θ wynosił od 10° do 100°. Widma obu analizowanych kompozytów zawierają obszar o szerokim pikie w zakresie kąta 2θ od 15° do 30°, który można przypisać krzemionce w formie amorficznej, takiej jak opal-A (RRUFF ID: R060653). Potwierdzenie występowania pików w omawianym zakresie odnaleziono również w pracy Sprynskiego i wsp. dla biokrzemionki pochodzącej z okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii* [65].



Rys.17. Wyniki analizy XRD zidentyfikowanych związków w uzyskanych kompozytach: A – 7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ oraz B – 8,87%Tb_xO_y/DBioSiO₂

Zarejestrowane widmo XRD dla kompozytu biokrzemionki z terbem (8,87%Tb_xO_y/DBioSiO₂) wskazuje na złożoność strukturalną nanocząstek tlenków terbu. Zgadza się to z wynikami badań uzyskanych z wykorzystaniem techniki TEM, wykazujących obecność w kompozycie nanocząstek terbu występujących zarówno w formie quasi-krystalicznej jak i quasi-amorficznej. Obserwowane piki dyfrakcyjne charakteryzują się niską intensywnością i nieostrością (rozszczepieniem). Charakterystyczne wartości kąta 2θ wykrytych na widmie pików wskazują na obecność różnych form tlenku terbu: Tb₂O₃ – 29,19°; 33,69°; 48,52°; 57,62° co odpowiada płaszczyznom (222), (400), (440), oraz (622) zgodnie z danymi zarejestrowanymi w bazie JCPDS No. 00-043-1032 [149]; Tb₄O₇ (ref. code 00-013-0387) – 29,36°; 33,93°; 48,65° oraz 57,56° co odpowiada płaszczyznom (111), (200), (220) i (311), oraz TbO_{1.81} (ref. code 00-016-0130) charakteryzuje się wartościami kąta 2θ wynoszącymi: 30,00°; 30,20°; 30,42°; 35,04°; 50,11°; 50,38°; 50,74°; 59,81° i 59,98°. Uzyskane wyniki sugerują obecność różnorodnych faz tlenków terbu w strukturze sformowanych w danych warunkach nanocząstkach terbu. Można spodziewać że wykryte polifazowe nanocząstki

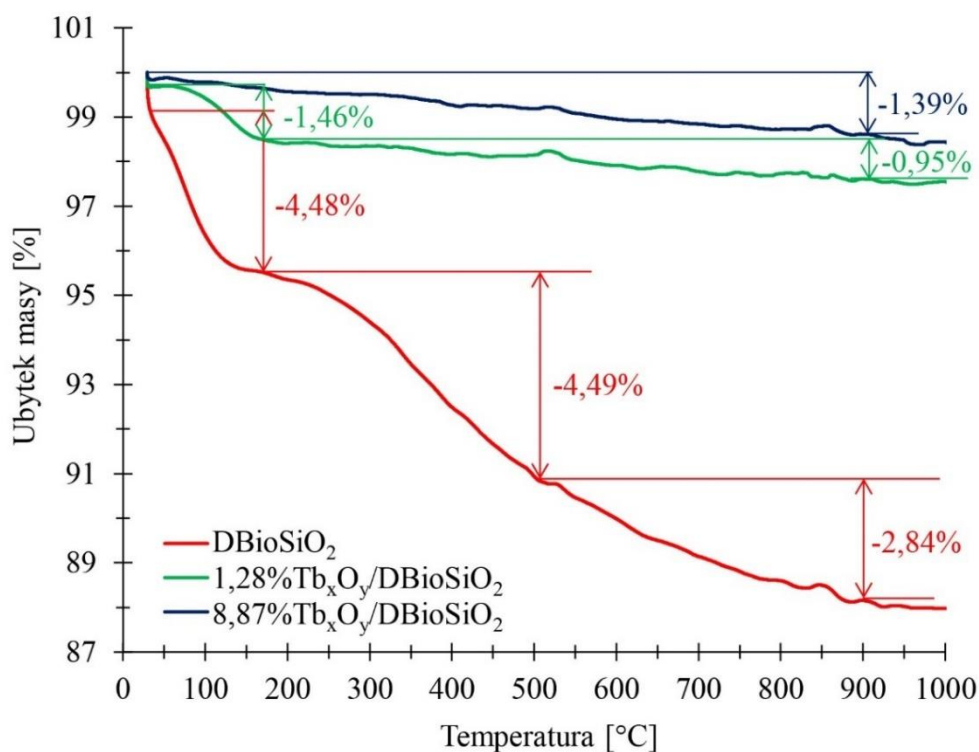
terbu będą wykazywać integralne, specyficzne właściwości fizykochemiczne (optyczne, elektryczne, czy katalityczne) połączonych w jednej nanocząstce różnorodnych faz tlenków terbu. Wiadomo, że tlenek terbu(III), Tb_2O_3 , wykazuje wyjątkowe właściwości magneto-optyczne, co czyni go atrakcyjnym dla zastosowań w nowoczesnych technologiach [150]. Z kolei Tb_4O_7 , charakteryzujący się unikalną strukturą i właściwościami, może mieć istotny wpływ na elektryczne oraz magnetyczne właściwości kompozytu [151].

Widmo dyfrakcyjne nanocząstek mieszanego tlenku Ce-Tb pokazuje, że wszystkie refleksy można przypisać symetrii sześcienniej (grupa przestrzenna $Fm\bar{3}m$) struktury fluorytu CeO_2 (JCPDS nr 00-034-0394). Wartości kąta 2θ wynosiły kolejno: $28,55^\circ$; $33,09^\circ$; $47,49^\circ$; $56,35^\circ$; $59,10^\circ$; $69,42^\circ$; $76,71^\circ$; $79,08^\circ$ (JCPDS No. 00-34-0394), odpowiadając płaszczyznom (111), (200), (220), (311), (222), (400), (331) oraz (420). Dodatkowe odbicia nie były widoczne. Podobne, charakterystyczne wartości dla Tb_xO_y i CeO_2 uzyskali w swoich pracach Arul i wsp. [152]

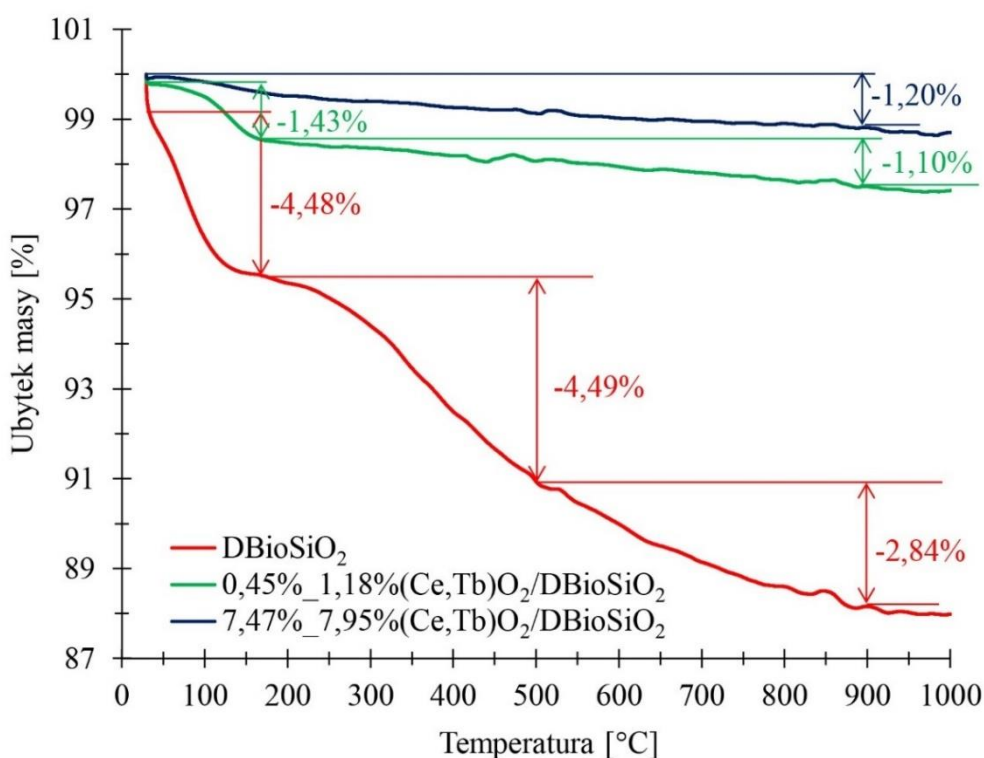
4.3.4. Analiza termograwimetryczna

Na Rys.18 i Rys.19 zaprezentowano krzywe termogravimetryczne badanych kompozytów w porównaniu z danymi uzyskanymi dla biokrzemionki okrzemkowej. Procedura analizy termogravimetrycznej (TGA) została przeprowadzona w kontrolowanym środowisku azotu, aby zbadać zachowanie termiczne badanych materiałów w zakresie temperatur od $30^\circ C$ do $1050^\circ C$. Ten etap stanowi kluczowy element w ocenie stabilności termicznej oraz charakterystyki procesów degradacji badanych próbek.

W przypadku biokrzemionki okrzemkowej istnieje możliwość identyfikacji trzech zakresów ubytku masy. Pierwszy z nich obejmuje temperatury w zakresie od 29 do $160^\circ C$, drugi zaś rozciąga się od 160 do $500^\circ C$, natomiast trzeci obejmuje zakres od 500 do $900^\circ C$. Wartości ubytku masy dla odpowiednich zakresów wynoszą kolejno $4,48\%$, $4,49\%$ i $2,84\%$.



Rys.18. Krzywe termograwimetryczne próbek kompozytów: 1,28% $Tb_xO_y/DBioSiO_2$ oraz 8,87% $Tb_xO_y/DBioSiO_2$ w odniesieniu do wyników analizy termicznej uzyskanej dla biokrzemionki krzemkowej



Rys.19. Krzywe termograwimetryczne próbek kompozytów: 0,45%_1,18%(Ce,Tb) $O_2/DBioSiO_2$ oraz 7,47%_7,95%(Ce,Tb) $O_2/DBioSiO_2$ w odniesieniu do wyników analizy termicznej uzyskanej dla biokrzemionki krzemkowej

Utrata masy w pierwszej fazie odpowiada odwadnianiu biokrzemionki. Faza druga jest związana z dehydroksylacją i rozkładem pozostałych składników organicznych. Trzecia faza, wiąże się z kolejnym etapem dehydroksylacji, który obejmuje utratę wewnętrznych grup hydroksylowych. Całkowita utrata masy próbki DBioSiO₂ do temperatury 900°C wynosi 11,81%.

W przypadku kompozytów zawierających minimalne zawartości poszczególnych nanocząstek, można wyróżnić dwa zakresy ubytku masy. Pierwszy z nich obejmuje temperatury od 29 do 160°C, natomiast drugi rozciąga się od 160 do 900°C. Procentowa wartość ubytku masy dla kompozytu 1,28% Tb_xO_y/DBioSiO₂ wynosi odpowiednio 1,46% i 0,95% dla wspomnianych zakresów, natomiast dla kompozytu 0,45%_1,18%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ wartości te wynoszą 1,43% i 1,10%. Dla kompozytów zawierających maksymalne uzyskane w danym eksperymencie zawartości poszczególnych nanocząstek można zidentyfikować jeden zakres ubytku masy, który obejmuje temperatury od 29 do 900°C. Kompozyt 8,87% Tb_xO_y/DBioSiO₂ charakteryzuje się spadkiem masy równym 1,39%, zaś kompozyt 7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ wykazuje spadek masy na poziomie 1,20%. Krzywe sugerują, że dodatek tlenków terbu oraz mieszanego tlenku Ce-Tb do biokrzemionki okrzemkowej (DBioSiO₂) powoduje drastyczne obniżenie hydrofilowości biokrzemionki. Dla uzyskanych kompozytów o największej zawartości nanocząstek tlenków terbu czy zawartości mieszanego tlenku ceru i terbu, można zaobserwować prawie całkowity zanik hydratacji biokrzemionki oraz bardzo istotną redukcję hydroksylacji biokrzemionki. Należy też zaznaczyć, że obniżenie hydrofilowości biokrzemionki jest proporcjonalnie większe niż obniżenie stosunkowej zawartości biokrzemionki w domieszkowanych próbkach. Ten fenomen można wyjaśnić wpływem domieszkowanych tlenków pierwiastków z grupy ziem rzadkich, które są hydrofobowe ze względu na unikalną strukturę elektronową lantanowców [94,153]. Naturalną hydrofobowość lantanowców przypisuje się ich unikalnej strukturze elektronowej (niewypełnione orbitale 4f w zewnętrznej powłoce 5s²p⁶), która zapobiega wiązaniu wodoru z cząsteczkami wody [153]. Wczesniejsze wyniki badań wykazały, że ceramika domieszkowana tlenkami lantanowców wykazuje wysoką hydrofobowość [92,153] Najnowsze doniesienia dotyczą zsyntetyzowanych kompozytów CeO₂-diatomit (ziemia okrzemkowa), dla których hydrofilowość diatomitu została znacznie zmniejszona bazując na wynikach analizy termogravimetrycznej. Całkowity ubytek masy wyniósł 13,2% i 5,31% odpowiednio dla diatomitu i kompozytu

CeO₂-diatomit przygotowanego w stosunku masowym diatomitu do CeO₂ wynoszącym 1:1 [154].

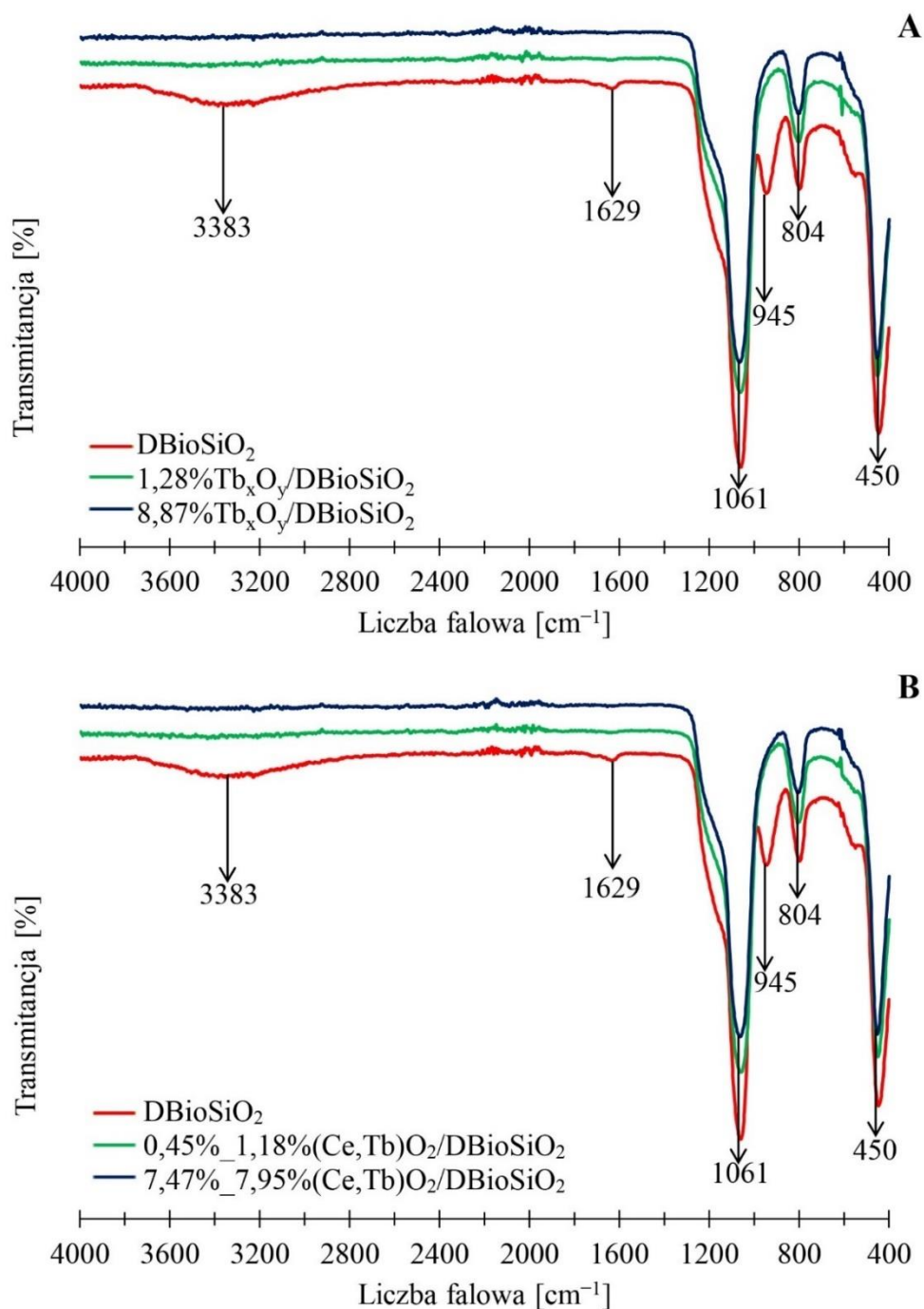
4.3.5. Widma FTIR

Na Rys.20 przedstawiono widma FTIR dla różnych kompozytów, w tym 1,28% Tb_xO_y/DBioSiO₂, 8,87% Tb_xO_y/DBioSiO₂, 0,45%_1,18%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ oraz 7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂, w kontekście biokrzemionki okrzemkowej.

Analiza spektroskopowa FTIR pozwoliła stwierdzić, że cztery charakterystyczne pasma widoczne przy 450, 804, 945 i 1061 cm⁻¹ są związane ze strukturą opalu-A. Szerokie pasmo w zakresie ~3000-3500 cm⁻¹, którego maksimum obserwuje się przy 3383 cm⁻¹, odpowiada drganiom rozciągającym O-H wody molekularnej związanymi z wiązaniami wodorowymi. Ponadto, należy zauważyć, że pasma w tym samym zakresie mogą maskować wiązania N-H amin alifatycznych. Wymienione grupy funkcyjne mogą być związane z obecnością poliamin i sylafin, które uczestniczą w procesie formowania biokrzemionki okrzemkowej. Pasmo przy 1635 cm⁻¹ odpowiada drganiom zginającym cząsteczek wody (H-O-H) w amorficznej strukturze biokrzemionki [65,66]. Liczba pasm badanych w analizowanych kompozytach jest ograniczona, skupiając się przede wszystkim na wynikach dla próbki matrycy. Jest to spowodowane poprzez występowanie efektu matrycowego, w którym to charakterystyczne piki związane z osadzonymi nanocząstkami są przykryte przez piki samej matrycy.

Potwierdzają to wyniki pracy Unal [149], która analizowała właściwości fotoluminescencyjne (PL) cząstek Tb₂O₃, otrzymanych metodą osadzania z roztworu. Podczas analizy wyników metody FTIR odnotowała, iż charakterystyczny pik występujący przy ~450 cm⁻¹ wiąże się z wiązaniami Tb-O należącymi do fazy Tb₂O₃ [155]. Badanie właściwości dielektrycznych nanocząstek tlenku ceru(IV) przez Zamiri i współpracowników [156] wykazało obecność charakterystycznych pasm w widmie FTIR. Pasmo zlokalizowane przy 450 cm⁻¹ odpowiadało drganiom rozciągającym CeO₂ [157–159]. Rahimi-Nasrabadi i współpracownicy [160] skoncentrowali się na opracowaniu procesu syntezy nanocząstek węglanu terbu do nanocząstek tlenku terbu. Analiza metodą FTIR wykazała znaczące zmniejszenie pasm odpowiadających grupom hydroksylowym i węglanowym po kalcynacji prekursora, co potwierdzało skuteczną transformację do charakteryzującego się wysoką czystością Tb₂O₃. Cui i współpracownicy [113] opisywali charakterystykę tlenku terbu(III), zwracając uwagę na silne pasma absorpcji związane z drganiami rozciągającymi metal-tlen (Tb-O)

w obszarze średniej podczerwieni. Warto zauważyć, że pasma te mogą różnić się w zależności od czynników takich jak struktura krystaliczna Tb_2O_3 czy obecność zanieczyszczeń.



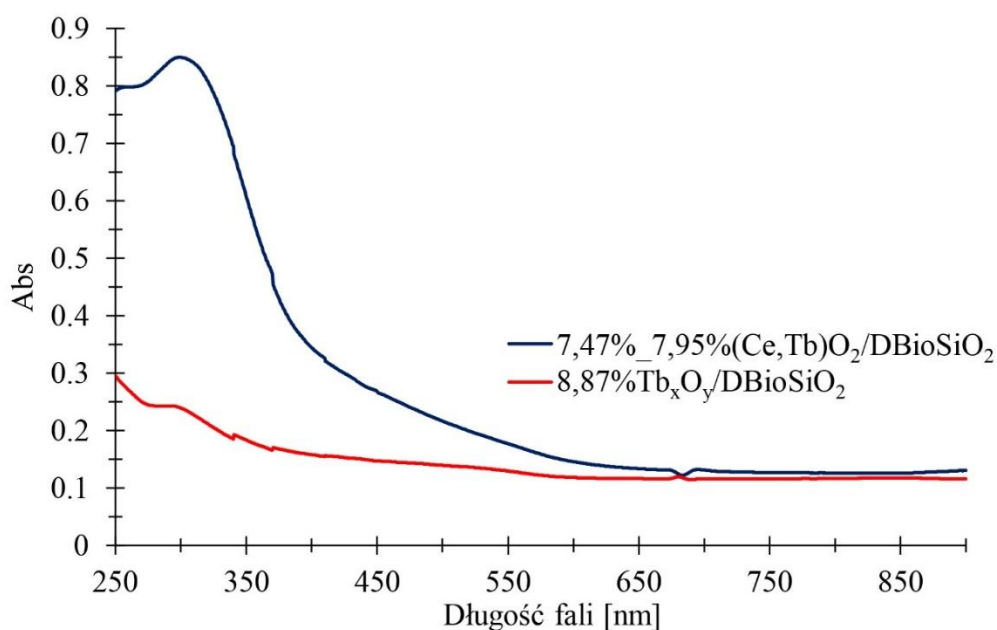
Rys.20. Widma FTIR kompozytów 1,28% Tb_xO_y/DBioSiO₂ i 8,87% Tb_xO_y/DBioSiO₂ (A) oraz 0,45%_1,18%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ i 7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂ (B) w odniesieniu do biokrzemionki krzemkowej

We wszystkich tych pracach możliwe do uzyskania pasma dla zidentyfikowanych tlenków pokrywały się z pasmami charakterystycznymi otrzymanymi dla matrycy – biokrzemionki [161]. Jednakże należy zwrócić uwagę na fakt, że temperatura kalcynacji

również wpływa na otrzymywane pasma w przypadku analizy tlenków terbu. Przykładem jest pojawienie się nowego piku oznaczonego przy 562 cm^{-1} , kiedy temperatura kalcynacji osiągała 900°C , co można przypisać rozciąganiu wiązań Tb-O [114].

4.3.6. Właściwości fotoluminescencyjne

Na Rys.21 przedstawiono widma absorpcyjne UV-Vis dla kompozytów $8,87\%\text{Tb}_x\text{O}_y/\text{DBioSiO}_2$ oraz $7,47\%_{-}7,95\%(\text{Ce,Tb})\text{O}_2/\text{DBioSiO}_2$ zarejestrowane w zakresie długości fal od 250 nm do 900 nm. Analiza widma dla kompozytu zawierającego nanocząstki mieszanego tlenku ceru i terbu (kolor niebieski) ujawnia znacząco wyższą absorpcję w zakresie krótkich długości fal, w przybliżeniu od 250 do 400 nm. Dla tego kompozytu, obserwuje się maksimum absorpcji ($\text{Abs}=0,850$) przy długości fali wynoszącej 299 nm, zaś wyraźny spadek absorpcji zaznacza się w okolicy 350 nm, po którym następuje stabilizacja absorpcji na poziomie $\text{Abs}\sim 0,13$, począwszy od długości fali 650 nm. Natomiast krzywa absorpcyjna dla kompozytu zawierającego mieszany tlenków terbu w formie nanocząstek (zaznaczona na czerwono) wykazuje niższą absorbancję w porównaniu z kompozytem $7,47\%_{-}7,95\%(\text{Ce,Tb})\text{O}_2/\text{DBioSiO}_2$, prezentując stopniowy i jednolity profil zmniejszającej się absorpcji od około 250 nm do 400 nm, gdzie osiąga niemal stały poziom o wartości $\text{Abs}\sim 0,11$. Wysoki poziom absorpcji w zakresie krótkich długości fal może sugerować efektywne pochłanianie promieniowania UV, co ma znaczenie w aplikacjach takich jak lampy fluorescencyjne lub wyświetlacze, gdzie zachodzi konwersja energii UV na światło widzialne. Mechanizm fotoluminescencji tych materiałów jest przypisywany przejściom elektronowym w jonach Ce^{4+} oraz Tb^{3+} . Jony Ce^{4+} nie posiadają elektronów na orbitalach *f*, co skutkuje rzadką luminescencją, głównie przez przejścia między pasmami w obrębie jonu. Maksymalne intensywności absorpcji przed 350 nm są zatem przypisywane obecności nanocząstek CeO_2 (CeO_2NPs), zgodnie z danymi dostępnymi w literaturze [162]. Jony Tb^{3+} są znane z intensywnych przejść *f-f* (do 300 nm), które odpowiadają za charakterystyczne linie emisyjne, zazwyczaj w zielonej części spektrum. Przejścia te są silnie dozwolone przez unikalną wewnętrzną strukturę elektronową jonów Tb^{3+} [163,164].

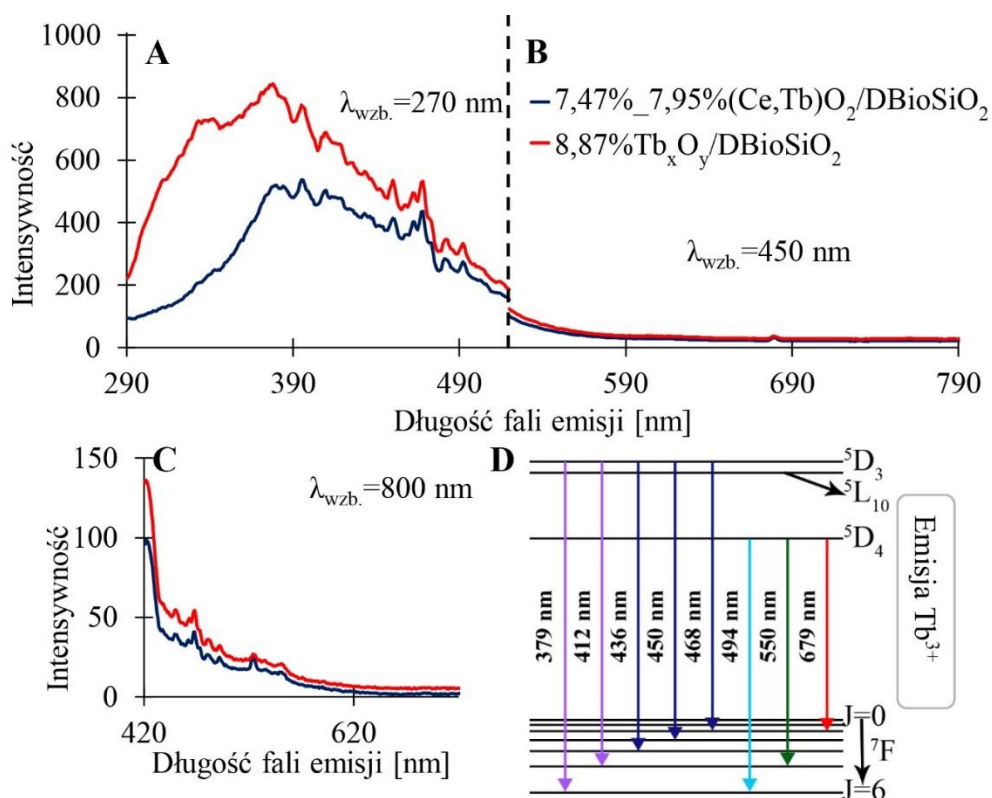


Rys.21. Widma absorpcji UV-Vis dla kompozytów $8,87\%Tb_xO_y/DBioSiO_2$ oraz $7,47\%_7,95\%(Ce,Tb)O_2/DBioSiO_2$

Na Rys.22 przedstawiono widma fotoluminescencji dla kompozytów $8,87\%Tb_xO_y/DBioSiO_2$ (linia czerwona) oraz $7,47\%_7,95\%(Ce,Tb)O_2/DBioSiO_2$ (linia niebieska). Spektra zostały zarejestrowane w trzech zakresach: pierwszy zakres obejmujący przedział od 290 do 520 nm, przy długości fali wzbudzenia równej 270 nm, drugi zakres od 520 do 790 nm, przy długości fali wzbudzenia 450 nm oraz trzeci zakres od 420 do 720 nm, przy długości fali wzbudzenia 800 nm.

Dla wzbudzenia przy 270 nm, które jest typowe dla emisji terbu(III) w zakresie UV, widoczne jest sześć pasm emisyjnych z czego jedno dla przejścia z poziomu 5D_4 do 7F_6 (emisja przy długości fali równej 494 nm) oraz pięć następujących z poziomu $^5D_3 \rightarrow ^7F_1$ (diagram na Rys.22.D). Kolejno wyróżnić tutaj można przejścia przy długości fali emisji równej 379 nm (J=6), 412 nm (J=5), 436 nm (J=4), 450 nm (J=3), 468 nm (J=2) jonów Tb^{3+} [165,166].

Wzbudzenie przy 450 nm charakteryzuje się występowaniem przejścia 5D_4 do 7F_2 w przypadku obu analizowanych kompozytów. Luminescencja w analizowanych materiałach jest emitowana podczas migracji energii w nanocząstkach tlenku terbu przed przejściem do ośrodków wygaszania. Energia wzbudzenia odpowiadająca przejściu $^5D_4 \rightarrow ^7F_2$ może przez długi czas migrować między jonami Tb^{3+} , a tym samym przejście to wykazuje wysokie prawdopodobieństwo emisji światła [167,168].



Rys.22. Widma fotoluminescencji dla kompozytu $8,87\%Tb_xO_y/DBioSiO_2$ oraz $7,47\%_7,95\%(Ce,Tb)O_2/DBioSiO_2$ w trzech analizowanych zakresach przy długości fali wzbudzenia: 270 nm, 450 nm oraz 800 nm

Wartość intensywności emisji przy 800 nm, jest znacznie niższa aniżeli wartości emisji przy niższych długościach fali. Zjawisko to jest typowe dla jonów ceru(IV), które zwykle absorbują światło w zakresie UV.

Ansari i współpracownicy [169] przeprowadzili badania nad właściwościami optycznymi i strukturalnymi filmów z tlenku ceru(IV) domieszkowanych terbem(III). W pracy skupiono się na analizie wpływu różnych czynników, takich jak długość fali wzbudzenia, temperatura oraz stężenie domieszki Tb^{3+} , na intensywność widm emisyjnych. Wyniki uzyskane w badaniach pokrywały się z wynikami przedstawionymi w niniejszej pracy. W warunkach, gdzie długość fali wzbudzenia osiągała najniższą wartość, zaobserwowano szeroki zakres/pasmo emisji, gdzie intensywność emisji dla kompozytu $8,87\%Tb_xO_y/DBioSiO_2$ była wyższa niż dla kompozytu $7,47\%_7,95\%(Ce,Tb)O_2/DBioSiO_2$. Zjawisko to może być wynikiem transferu ładunku między pasmem walencyjnym O^{2-} a pasmem przewodnictwa Ce^{4+} , a następnie transferu energii do Tb^{3+} [170–172].

Na przedstawionym wykresie (Rys.22.C), wzbudzenie następuje przy długości fali 800 nm, a emisja widoczna jest w zakresie 420-720 nm, co oznacza, że emitowane fotony mają niższą wartość długości fali i wyższą energię niż foton wzbudzający. Jest to związane ze zjawiskiem up-konwersji, w którym pochłanianie dwóch lub więcej fotonów o niższej energii (wyższej wartości długości fali) prowadzi do emisji jednego fotonu o wyższej energii (niższej wartości długości fali). Intensywność emisji w obu analizowanych kompozytach obniża się w miarę zwiększania długości fali emitowanego światła, co jest typowe przy up-konwersji. Główny pik emisji widoczny jest w obszarze niebieskiego światła, co sugeruje, że foton wzbudzający o wyższej długości fali (czerwone światło) został przekształcony w foton przy niższej długości fali i wyższej energii. Wykazywane przez materiały zjawisko up-konwersji może być wykorzystywane np. w fotowoltaice, bioobrazowaniu czy też przy produkcji wyświetlaczy charakteryzujących się wysoką rozdzielczością. Zidentyfikowany pik emisji przy 550 nm odpowiada Tb_xO_y NPs, który związany jest z przejściem $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ [173].

W oparciu o przytaczaną wiedzę literaturową oraz obserwowane trendy badawcze w dziedzinie materiałów luminescencyjnych, tlenki terbu i tlenek ceru oraz ich połączenia są uznawane za materiały czy też składowe charakteryzujące się znaczącymi właściwościami fotoluminescencyjnymi [174]. Materiały te są przedmiotem intensywnych badań ze względu na ich potencjał w różnorodnych zastosowaniach optycznych, w tym w laserach, co jest możliwe dzięki ich zdolności do intensywnej luminescencji przy zastosowaniu odpowiedniej wartości długości fali wzbudzenia [175,176]. Charakteryzujące się jaskrawo zieloną luminescencją spowodowaną przejściami elektronowymi $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$ jonów Tb^{3+} , tlenki terbu, znajdują zastosowanie w zaawansowanych technologiach oświetleniowych czy też przy produkcji wyświetlaczy LCD [177]. Z kolei tlenki ceru, domieszkowane terbem, prezentują polepszone właściwości luminescencyjne, dzięki roli ceru jako sensybilizatora jonów Tb^{3+} , co przekłada się na zwiększenie ogólnej efektywności tych materiałów [169].

Tab.4. Zestawienie danych niezbędnych do określenia wydajności kwantowej fluorescencji przy użyciu metody względnej.

Próbki	n_{fl_sample}	$n_{fl_reference}$	IF_{sample}	$IF_{reference}$	n_{sample}^2	$n_{reference}^2$
8,87%Tb_xO_y/ DBioSiO₂	0,00737	0,59	5393,952	443431,423	1,859	1,812
7,47%_7,95%(Ce,Tb)O₂/ DBioSiO₂	0,00739		5414,903			

Wartości wydajności kwantowej wyznaczonej z Równania 7 (około 0,74%) dla obu kompozytów mogą wynikać z kilku różnych przyczyn. Możliwe, że tlenki ceru i terbu wykazują największą intensywność emisji przy długościach fali powyżej 1000 nm [178]. Dodatkowo, możliwe straty energii mogą mieć miejsce w postaci ciepła. Zjawisko trwałej luminescencji, polegające na bardzo wolnym wydzielaniu energii z defektów sieci krystalicznej działających jako pułapki oraz rekombinacja pary elektron-dziura może generować pole elektryczne w otoczeniu nanocząstek tlenków lantanowców.

4.4. Biokrzemionka krzemkowa domieszkowana heteroepitaksjalnie wzrastającymi złożonymi nanocząstkami Ag/AgCl/CeO₂: Synteza, charakterystyka i zastosowanie antybakteryjne [P3]

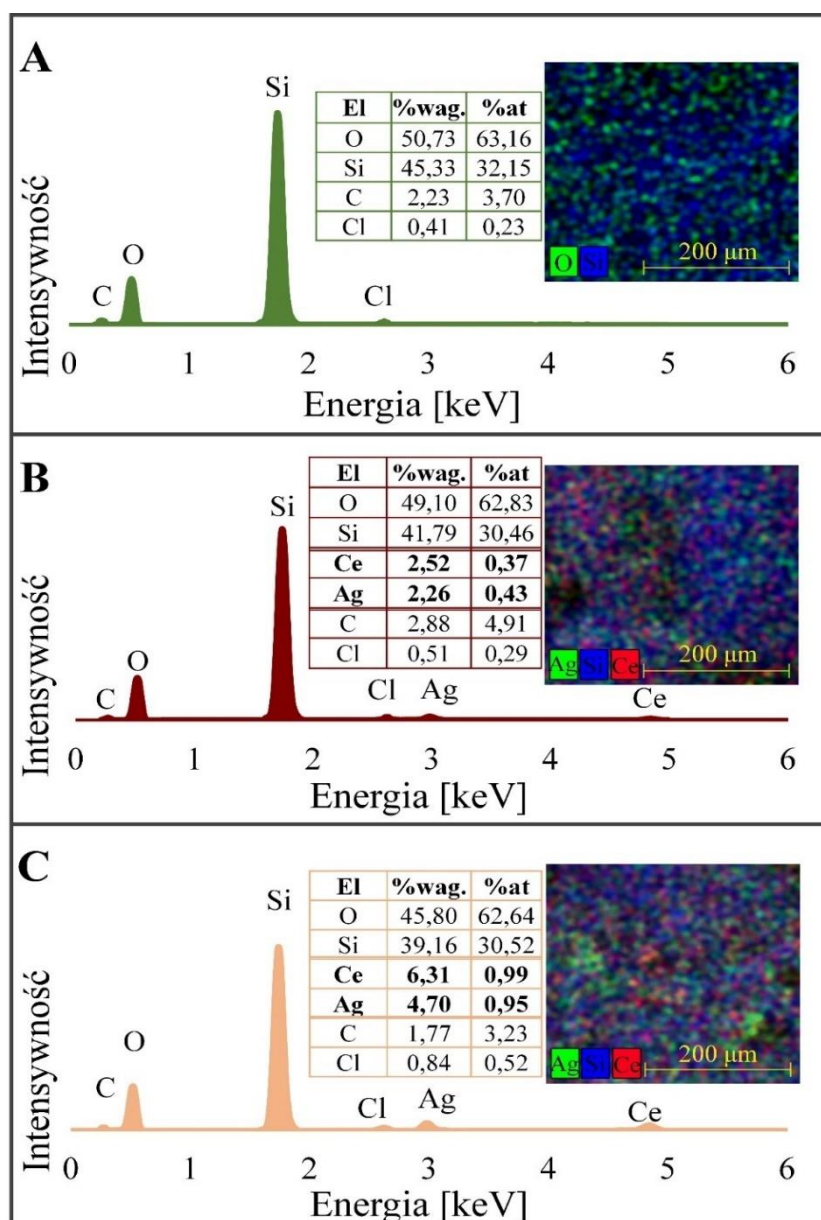
W niniejszym rozdziale pracy omówiono syntezę hybrydowych kompozytów ((Ag,AgCl,CeO₂)DBioSiO₂) zawierających nanocząstki AgNPs, AgClNPs i CeO₂NPs osadzone metodą impregnacji na matrycy w postaci biokrzemionki pozyskiwanej z okrzemek (DBioSiO₂). Nadtlenek wodoru, jako odczynnik bezpieczny dla środowiska, został użyty jako czynnik redukujący w celu uzyskania nanocząstek metalicznego srebra. Właściwości fizykochemiczne uzyskanych materiałów zostały przeanalizowane za pomocą szeregu metod instrumentalnych. Aktywność przeciwdrobnoustrojową otrzymanych nanokompozytów analizowano wobec bakterii Gram-dodatnich *Staphylococcus aureus* oraz Gram-ujemnych *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*, stosując metodę minimalnego stężenia hamującego.

4.4.1. Analiza SEM-EDX uzyskanych kompozytów

Na Rys.23 przedstawiono wyniki analizy SEM-EDX biokrzemionki krzemkowej oraz zsyntezowanych kompozytów zawierających dodatek srebra i ceru. Dla każdej z analizowanych próbek wykreślono widmo składu pierwiastkowego otrzymanych kompozytów, a także obraz skanowania obszaru próbki (mapowanie), który pokazuje dystrybucję analizowanych pierwiastków w próbkach.

Rys.23.A przedstawia wyniki dla biokrzemionki (DBioSiO₂) pozyskanej z okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii*. Należy zauważyć, że w opisywanej próbce można wyróżnić takie pierwiastki jak tlen, krzem, węgiel i chlor. Należy wspomnieć, że przedstawione mapa dystrybucji pierwiastków dla próbki wskazuje, że pierwiastki są równomiernie rozmieszczone. Obecność chloru w próbce była zabiegiem celowym, gdyż w syntezowanych kompozytach miały występować jednocześnie dwa rodzaje nanocząstek srebra. Rys.23.B przedstawia kompozyt biokrzemionki krzemkowej, w którym wyróżniono takie pierwiastki jak tlen, krzem, cer, srebro, węgiel i chlor. Kompozyt zawiera odpowiednio 2,26% i 2,52% srebra i ceru. Zawartość srebra w ilości 4,70% oraz ceru równą 6,31% wykryto w kolejnym przygotowanym kompozycie (Rys.23.C). Należy również zwrócić uwagę na jednorodny rozkład obu pierwiastków, zarówno srebra jak i ceru w matrycy biokrzemionkowej.

Okaiyeto i wsp. [27] w swojej pracy analizowali łączone nanocząstki srebra oraz chlorku srebra, które zostały pozyskane z ekstraktu roślinnego. Ponadto, należy zauważyć, że uzyskali oni wyraźne piki na spektrum w okolicy 2,7 keV, który jest charakterystyczny dla chloru oraz około 3,0 [keV], które przypisać srebru. Odpowiednie sygnały od chloru i srebra uzyskano również w tym przypadku. W pracy Wang i wsp. [179] opisano syntezę hybrydowych nanocząstek srebra i ceru z wykorzystaniem reakcji redoks. Główny pik ceru znajdujący się w obszarze około 5 [keV], został zaprezentowany na widmie EDX [179,180].



Rys.23. Widma SEM-EDX oraz mapy dystrybucji pierwiastków dla: (A) DBioSiO₂, (B) materiału 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂ oraz (C) kompozytu 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂

Z racji tego, iż opisane kompozyty 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂ oraz 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂, są kompozytami hybrydowymi, dodatkowo zostały dla nich określone korelacje molowe i masowe Ag i Cl. Z przeprowadzonych przeliczeń wynika, że analizowane kompozyty hybrydowe zawierają mieszaninę AgClNPs i AgNPs. Wyniki obliczeń zostały zaprezentowane w Tab.5.

Tab.5. Korelacje molowe i masowe Ag i Cl w kompozytach hybrydowych

Próbki	Ag		Cl		AgClNPs		AgNPs	
	% wag.	n, mol	% wag.	n, mol	n, mol	% wag.	n, mol	% wag.
2,26%Ag/2,52%Ce/ DBioSiO₂	2,26	0,021	0,51	0,014	0,014	66,67	0,007	33,33
4,70%Ag/6,31%Ce/ DBioSiO₂	4,70	0,044	0,84	0,024	0,024	54,55	0,02	45,45

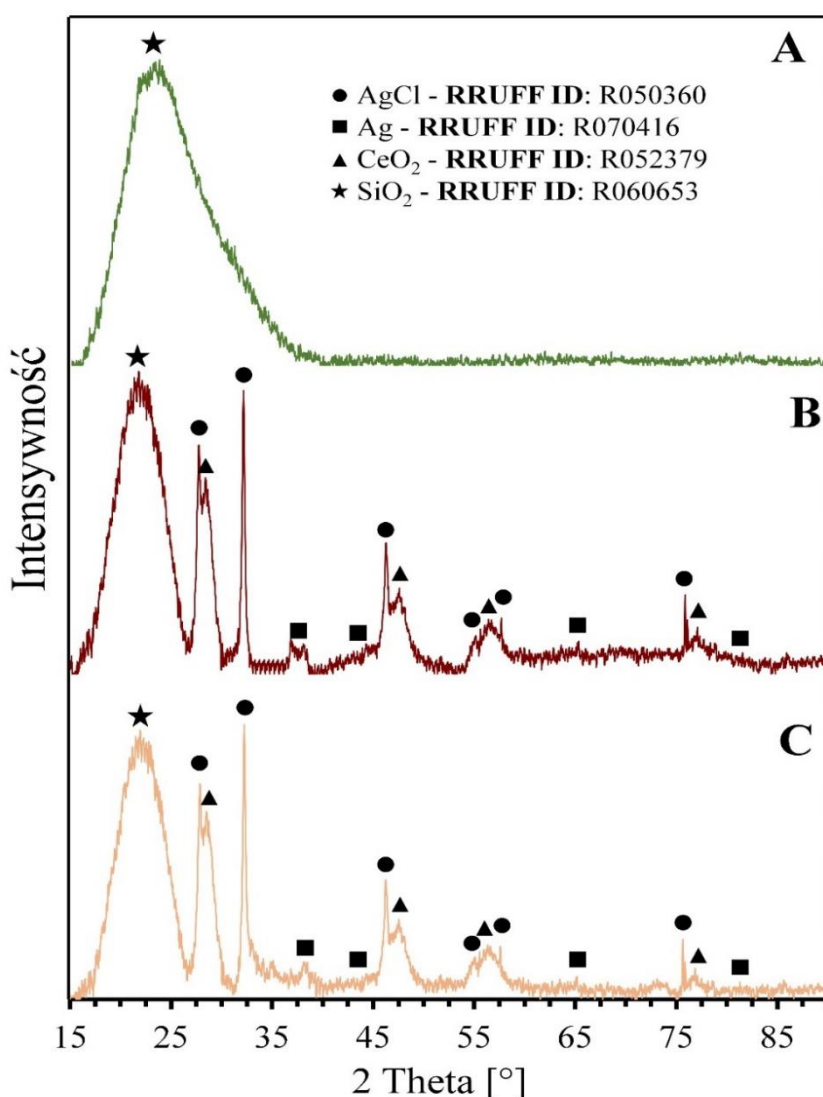
Uzyskane obliczenia wskazują, że dla kompozytu 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂ stosunek nanocząstek AgClNPs do nanocząstek AgNPs wynosi 67:33 (%), natomiast dla kompozytu 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂ stosunek AgClNPs:AgNPs wynosi 55:45 (%). W obu analizowanych materiałach hybrydowych odnotowano zatem przewagę nanocząstek chlorku srebra nad nanocząstkami srebra metalicznego. Jest to związane z faktem, iż AgCl ma bardzo niską wartość iloczynu rozpuszczalności, niższą niż srebro metaliczne. Dlatego w procesie wytrącania AgCl wytrąci się jako pierwszy, przed Ag. Metaliczne srebro zacznie się wytrącać dopiero po związaniu wszystkich jonów chlorkowych. Podobne wyniki analiz hybrydowych nanocząstek srebra uzyskano w pracy Kubasheva i wsp. [25]. We wspomnianej pracy analizowano kompozyty zawierające nanocząstki srebra i chlorku srebra w połączeniu z diatomitem. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem zawartości jonów srebra w kompozytach wzrasta również stosunek nanocząstek AgNPs do AgClNPs.

4.4.2. Widma rentgenowskiej dyfrakcji proszkowej

Na Rys.24 zaprezentowane zostały rentgenowskie dyfraktogramy proszkowe dla biokrzemionki krzemkowej (DBioSiO₂) oraz zsyntetyzowanych kompozytów (2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂, 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂). Wśród nich wyróżnić

można kolejno: metaliczne srebro (RRUFF ID: R070416), chlorek srebra (RRUFF ID: R050360), tlenek ceru (IV) (RRUFF ID: R052379) oraz opal-A (RRUFF ID: R060653).

W części Rys.24.A został zaprezentowany dyfraktogram dla DBioSiO₂. Należy zauważyć, że występuje tutaj szeroki pik w zakresie ~15 - 30° dla kąta 2θ, który można przypisać amorficznej krzemionce, takiej jak opal-A (RRUFF ID: R060653). Występowanie takiego zakresu dla biokrzemionki pozyskiwanej z okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii*, zostało potwierdzone również w pracy Sprynskiego i wsp. [65]. Brak innych pików do charakteryzowania świadczy o wysokiej czystości analizowanego materiału.



Rys.24. Wykresy dyfrakcji rentgenowskiej badanych próbek: (A) biokrzemionki okrzemkowej - DBioSiO₂, (B) kompozytu 2,26% Ag/2,52% Ce/DBioSiO₂, (C) kompozytu 4,70% Ag/6,31% Ce/DBioSiO₂

Na Rys.24.B przedstawiono dyfraktogram dla próbki 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂, który zaznaczono kolorem niebieskim. Dla analizowanego kompozytu można przypisać piki pochodzące od AgCl (RRUFF ID: R050360), które można zauważyć przy wartościach kąta 2θ wynoszących odpowiednio 28,00°, 32,40°, 46,40°, 54,90°, 57,70° oraz 75,65°. Wartości kąta 2θ dla metalicznego srebra (Ag - RRUFF ID: R070416) wyznaczono przy wartościach: 38,17°, 44,35°, 64,48° oraz 81,75°. Ponadto należy zauważyć, że możliwe jest również przypisanie pików dla tlenku ceru(IV) (RRUFF ID: R052379) o wartościach kąta 2θ wynoszących 28,55°; 47,49°; 56,35° oraz 76,71°. Dodatkowo w analizowanym kompozycie 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂ można wyróżnić pik należący do opalu-A w zakresie wyznaczonym dla próbki DBioSiO₂.

W analogiczny sposób zostały wyznaczone i przypisane wartości kąta 2θ dla kompozytu 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂, który został zaprezentowany na Rys.24.C. Należy zauważyć, że niniejszy dyfraktogram posiada piki, które można przypisać do: chlorku srebra (RRUFF ID: R050360 – wartości 28,00°; 32,40°; 46,40°; 54,90°; 57,70°), metalicznego srebra (RRUFF ID: R070416 – 38,17°; 44,35°; 64,48°; 81,75°), (tlenku ceru(IV) (RRUFF ID: R052379 – 28,55°; 47,49°; 56,35°; 76,71°) oraz do opalu-A. Wyznaczone piki dla głównych składowych kompozytów pokrywają się z danymi literaturowymi.

W pracy Arellano i wsp. [181] analizowano kompozyt zawierający nanocząstki metalicznego srebra i nanocząstki tlenku ceru(IV) w połączeniu z amorficzną krzemionką SBA-15, zsyntetyzowaną w warunkach laboratoryjnych. Należy zauważyć, że intensywność pików w analizowanych materiałach nieznacznie wzrosła wraz ze wzrostem zawartości jonów, co może wskazywać na niewielki wzrost wielkości krystalitów. Należy również zauważyć, że charakterystyczne piki pochodzące od tlenku srebra Ag₂O nie zostały wykryte na dyfraktogramach.

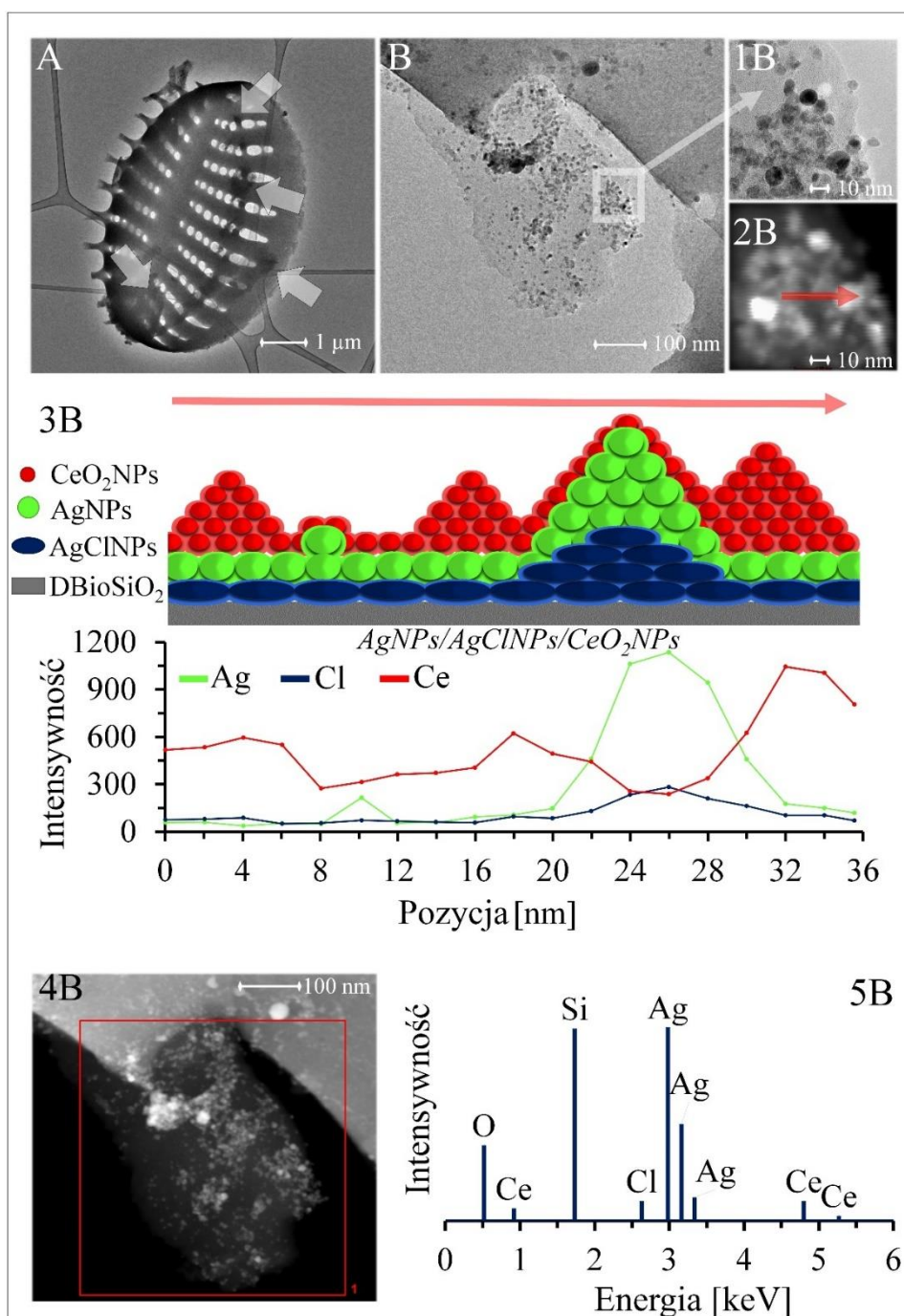
Widoczne jest, iż piki XRD zarejestrowane dla nanocząstek tlenku ceru(IV) i nanocząstek metalicznego srebra są mniej wyraźne i szersze niż piki zarejestrowane dla nanocząstek chlorku srebra. Może to być spowodowane bardzo małymi rozmiarami nanocząstek tlenku ceru(IV) i metalicznego srebra oraz odpowiadającymi im defektami w strukturze krystalicznej, co wpływa na odbicie sygnałów, a w konsekwencji na kształt uzyskanych pików. Z drugiej strony, dobrze zdefiniowana struktura krystaliczna

nanocząstek chlorku srebra prowadzi do spiczastych i wyraźnych pików potwierdzających ich obecność.

4.4.3. Analiza kompozytu za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej

Wyniki transmisyjnej mikroskopii elektronowej dla kompozytu 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂ przedstawiono na Rys.25. Mikroskopia TEM została wykorzystana do zbadania morfologii, rozkładu i rozmiarów utworzonych nanocząstek w analizowanym kompozycie. Mikrofotografię TEM okrzemki domieszkowanej nanocząstkami srebra i ceru przedstawiono w części Rys.25.A. Widoczne jest, że domieszkowane nanocząstki występują jako skupiska na powierzchni okrzemki w postaci cienkich jednowarstwowych płatków o nieregularnych kształtach. Skupiska te (płatki) są rozmieszczone na całej powierzchni frustuli. W części Rys.25.B przedstawiony jest powiększony przekrój frustuli okrzemki, który ilustruje bardziej szczegółowo zsyntetyzowane NPs. Różnice w widocznych odcieniach (szary, czarny) otrzymanych nanocząstek związane są z ich niejednorodną (kompozytową) strukturą. Rys.25.1B przedstawia fragment cienkiego jednowarstwowego płatka z domieszkowanymi nanocząstkami. Należy zauważyć, że widoczne nanocząstki posiadają quasi-sferyczny kształt, a ich rozmiary są mniejsze lub równe 10 nm w zależności od typu. Rys.25.2B ilustruje zdjęcie STEM analizowanego fragmentu. Czerwona linia oznacza sekcję skanowania STEM-EDX. W skanowaniu liniowym wyodrębniono profile stężeń trzech najważniejszych pierwiastków (Ag, Cl i Ce) tworzących nanocząstki (Rys.25.3B). Profile wymienionych pierwiastków potwierdziły heteroapitaksjalny charakter tworzenia nanocząstek kompozytowych chlorku srebra, srebra metalicznego i tlenku ceru(IV).

Analizując cały profil skanowania (Rys.25.3B) można założyć, że mniejsze nanocząstki należą do CeO₂, natomiast większe i bardziej wyraźne nanocząstki należą do Ag. Co więcej, mniejsze nanocząstki tlenku ceru są bardziej zdolne do aglomeracji. W pracy Patil i wsp. [98] wykazano, że otrzymane CeO₂NPs o małym rozmiarze (3-5 nm) miały większą tendencję do aglomeracji, co potwierdza stawiane założenie. W analizowanym kompozycie 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂ widać wyraźnie, że nanocząstki, których głównym pierwiastkiem jest cer, są znacznie mniejsze niż obecne AgNPs, a ponadto skupiają się w niewielkich odległościach względem siebie.



Rys.25. Obrazy TEM kompozytu 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂: (A) frustuła okrzemki z oznaczonymi skupiskami nanocząstek, (B) występujące płatkowe skupiska nanocząstek przy powiększeniu 26500x, (1) przy powiększeniu 180000x, (2) przy powiększeniu 1250000x, (3) profil skanu liniowego STEM-EDX z modelem powstawania nanocząstek, (4) obszar skanu STEM-EDX, (5) widmo STEM-EDX skupisk nanocząstek w postaci cienkich jednowarstwowych płatków

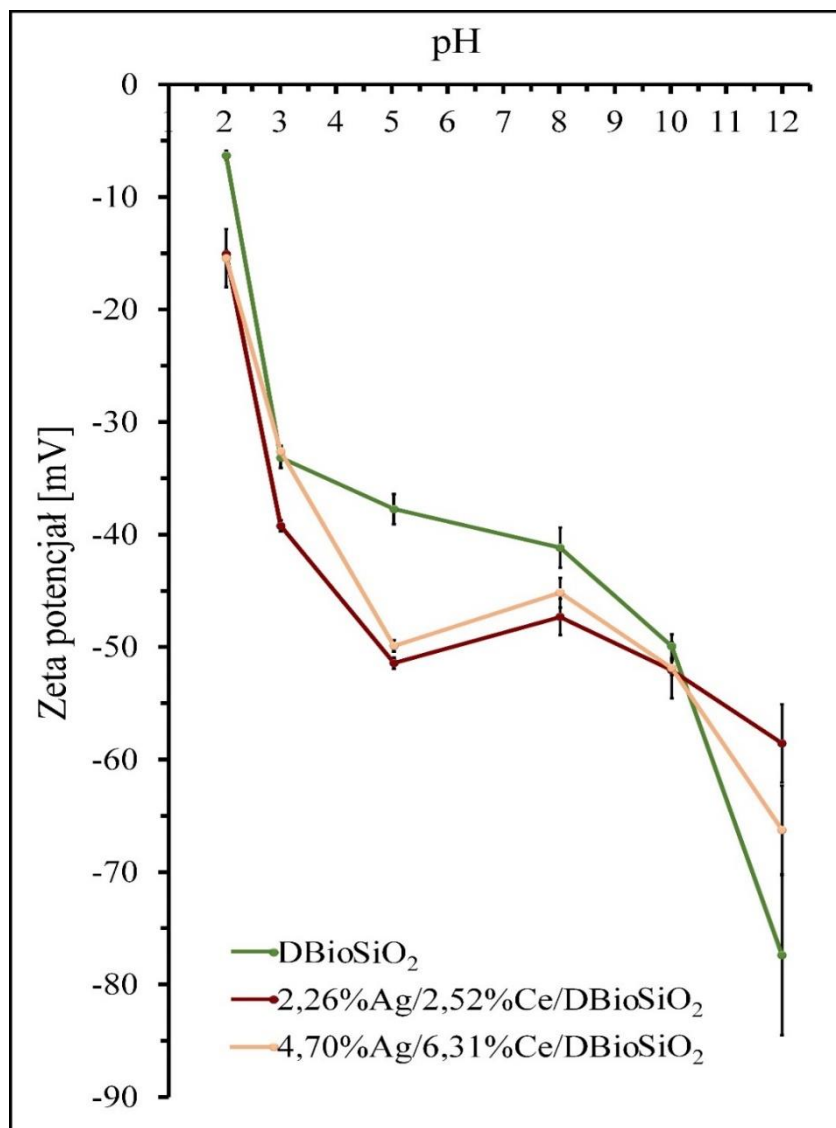
Wyniki analizy TEM pozwalają postawić hipotezę, że nanocząstki powstają w kolejności AgCINPs, AgNPs i CeO₂NPs (co przedstawiono jako model w sekcji 3B). Zjawisko epitaksji, a dokładniej heteroepitaksji, jest tutaj wyraźnie widoczne. W tej sytuacji najbardziej odpowiednim z możliwych modeli jest model Volmera-Webera,

który jest inaczej nazywany modelem trójwymiarowym lub "wyspowym" [42]. Zgodnie z tym modelem, na początku następuje jednoczesny wzrost zarodków krystalizacji na powierzchni matrycy (tutaj biokrzemionka okrzemkowa), który działa jako załączek wzrostu większej struktury krystalicznej w postaci trójwymiarowych wysp (nanocząstek). Oddziaływanie między atomami lub cząsteczkami zaangażowanymi w tworzenie niewielkiego zarodka jest znacznie silniejsze niż z powierzchnią podłoża. W omawianym przypadku najpierw na powierzchni biokrzemionki powstają nanocząstki chlorku srebra, a następnie na powierzchni nanocząstek chlorku srebra epitaksjalnie rosną nanocząstki metalicznego srebra, na których następuje epitaksjalny wzrost nanocząstek tlenku ceru (Rys.25.1-3B). Wyniki analizy STEM-EDX potwierdziły obecność pierwiastków ceru, srebra i chloru w klastrach nanocząstek przypominających płatki (Rys.25.4-5B).

Należy zaznaczyć, że syntezowane nanokompozyty zawierające heteroepitaksjalnie wzrastające nanocząstki złożone z Ag/AgCl/CeO₂ zostały otrzymane po raz pierwszy. W literaturze naukowej można znaleźć jedynie pojedyncze doniesienia na temat syntezy nanokompozytów zawierających pojedyncze kombinacje AgNPs z CeO₂NPs [181–183]. Nanocząstki CeO₂ i AgNPs zostały zsyntetyzowane przy użyciu jednoetapowej metody chemicznej [182,183]. Metoda chemicznego osadzania z roztworu (CSD) została wykorzystana do wytworzenia epitaksjalnych warstw CeO₂ na Ni [184]. Opisano również epitaksję cienkich warstw CeO₂ na Al₂O₃ [185].

4.4.4. Pomiar potencjału zeta otrzymanych kompozytów

Wpływ pH na wartość potencjału zeta analizowanych materiałów: DBioSiO₂, 2,26% Ag/2,52% Ce/DBioSiO₂ oraz 4,70% Ag/6,31% Ce/DBioSiO₂, został zaprezentowany na Rys.26. Wartość zeta potencjału w zakresie pH od 2,03 do 12,00 dla biokrzemionki pozyskiwanej z okrzemek oraz kompozytów z dodatkiem jonów srebra i ceru na matrycy biokrzemionkowej, jest ujemna dla wszystkich analizowanych materiałów i waha się od -6,31 mV do -77,40 mV.



Rys.26. Wpływ pH na wartość potencjału zeta próbek: (A) biokrzemionki okrzemkowej (DBioSiO₂), (B) kompozytu 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂, (C) kompozytu 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂

Dodatek jonów srebra i ceru obniżył wartości potencjału zeta do $-15,07$ mV dla 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂ i do $-15,43$ mV dla 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂, w stosunku do DBioSiO₂ ($-6,31$ mV) przy pH=2. Przy pH 3,01 wartość potencjału zeta dla kompozytu 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂ jest nieco wyższa niż dla biokrzemionki okrzemkowej i wynosi $-39,23$ mV. W zakresie od 5,04 do 10,02 najniższe potencjały zeta obserwuje się dla kompozytu 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂. Odpowiednie wartości wynoszą odpowiednio $-51,43$ mV; $-47,33$ mV i $-52,07$ mV. Wyższe wartości potencjału zeta dla kompozytu 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂ w stosunku do 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂ mogą być związane z faktem, że nanocząstki srebra mają mniejszy rozmiar wraz ze wzrostem wartości pH [186]. Należy zatem zauważyć, iż

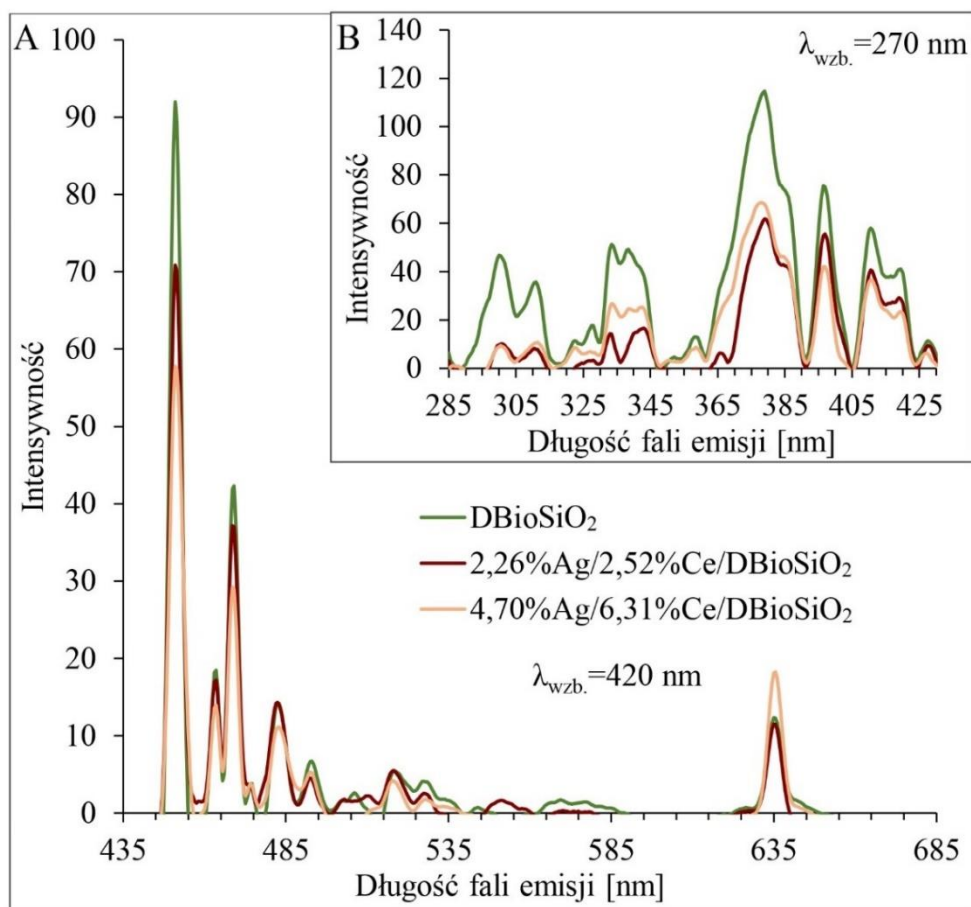
powierzchnia nanocząstek była naładowana ujemnie, co sprzyjało ich wzajemnemu odpychaniu, a tym samym zmniejszało możliwość tworzenia się agregatów [187]. Efekt ten może być kompensowany przez dodatnio naładowaną powierzchnię nanocząstek tlenku ceru(IV) obecnych w kompozycie [188]. Należy zauważyć, że dla obu analizowanych kompozytów nie zaobserwowano punktu izoelektrycznego. Wynika to z bogatej matrycy analizowanych materiałów. Prawdopodobnie znajduje się on poniżej pH 2. W literaturze, w zależności od metody zastosowanej do syntezy nanocerii mikroemulsyjnych, IEP wynosi około 4,5 i około 9,5 dla nanocerii hydrotermalnych. Różnica w IEP wynika z różnych potencjałów zeta zsyntezowanych nanocząstek [98]. Natomiast w przypadku AgNPs występowanie punktu izoelektrycznego można zaobserwować przy pH równym 3 [189].

4.4.5. Właściwości fotoluminescencyjne

Na Rys.27 przedstawiono widma fotoluminescencyjne biokrzemionki pozyskiwanej z okrzemek (DBioSiO₂) oraz heteroepitaksjalnie wzrastających nanocząstek kompozytowych Ag/AgCl/CeO₂ (2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂, 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂). Przedstawione widma obejmują zakresy: od 285 do 425 nm przy długości fali wzbudzenia 270 nm (Rys.27.B) oraz od 435 do 685 nm przy długości fali wzbudzenia 420 nm (Rys.27.A). Należy zauważyć, że dla wszystkich analizowanych materiałów można wyróżnić cztery główne typy aktywności fotoluminescencyjnej. Pierwszy z nich zlokalizowany jest w obszarze ultrafioletu (do 425 nm) przy długości fali wzbudzenia 270 nm. Drugi rodzaj aktywności PL znajduje się w niebieskim obszarze widma od 440 nm do 490 nm. Możliwe jest wyszczególnienie sygnałów emisji dla długości fal równych: 451 nm; 463 nm; 469 nm; 482 nm; 493 nm przy długości fali wzbudzającej 420 nm. Trzeci zakres o niskiej aktywności fotoluminescencji znajduje się w zakresie emisji od 500 nm do 535 nm. W analizowanym obszarze najbardziej widoczny jest pik emisji przy długości fali 518 nm. Czwarty i ostatni rodzaj aktywności fotoluminescencyjnej można scharakteryzować dla obszaru światła czerwonego w zakresie od 625 nm do 645 nm z intensywnym pikiem przy 635 nm.

Należy zauważyć, że nanocząstki AgClNPs w czystej postaci powinny wykazywać pasmo emisji przy długości fali λ równej 240 nm, jednak identyfikacja tego sygnału nie była możliwa - analiza była ograniczona możliwościami sprzętowymi dostępnej aparatury. Dodatkowo należy pamiętać, że powyższe zmiany mogą zależeć również od morfologii i wielkości nanocząstek. W przypadku AgNPs możliwe jest zlokalizowanie

sygnału w niebieskim obszarze widzianego widma, o długości fali emisji odpowiadającej 483 nm [26,186,190].



Rys.27. Widma fotoluminescencji biokrzemionki krzemkowej (DBioSiO₂) i zsyntetyzowanych kompozytów 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂ i 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂ analizowane w zakresie: (A) od 435 do 685 nm przy długości fali wzbudzenia 420 nm i (B) od 285 do 425 nm przy długości fali wzbudzenia 270 nm

Należy zauważyć, że w przypadku zsyntetyzowanych kompozytów występuje pewne przesunięcie sygnału w zakresie od 325 do 425 nm. Wynika to z rosnącej zawartości jonów srebra w kompozytach, a dokładniej odnosi się do defektów w postaci wakancji tlenowych spowodowanych większą ilością jonów srebra wokół cząstek tlenku ceru(IV). Inne przesunięcia obecnych sygnałów mogą być związane z defektami powierzchniowymi (jak w przypadku piku przy 420 nm) lub defektami punktowymi. Ponadto, w zależności od stopnia koncentracji defektów i dyslokacji, proces rekombinacji elektronów i dziur jest opóźniony, co może wpływać na różnice w intensywności sygnałów obecnych dla analizowanych kompozytów [182].

Pasmo emisji obserwowane w części A przy 635 nm dla kompozytu 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂ może być spowodowane transferem ładunku pomiędzy O²⁻ i Ce⁴⁺. Obserwowany pik może wynikać z bezpośredniej rekombinacji elektronów między pasmem przewodnictwa Ce 4f a występującymi dziurami w paśmie walencyjnym O 2p. Większość lantanowców może wykorzystywać tylko trzy elektrony jako elektrony walencyjne, ponieważ pozostałe elektrony 4f są zbyt silnie związane. Cer jest wyjątkiem ze względu na stabilność powłoki f w Ce⁴⁺ [191–194].

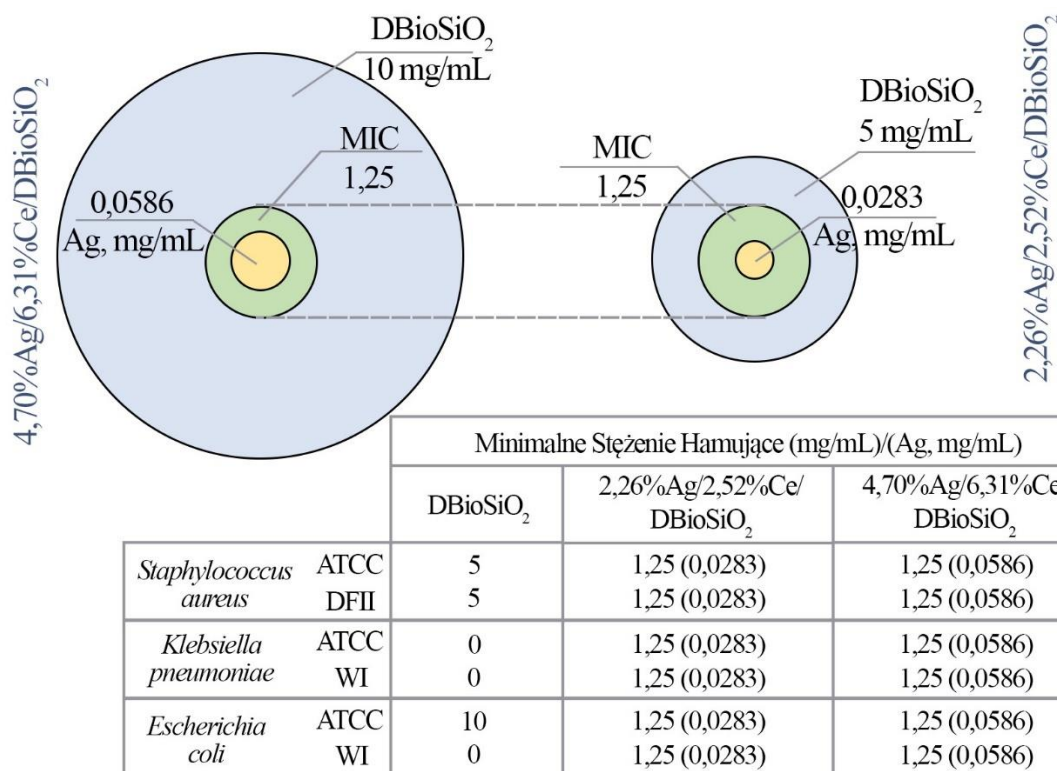
4.4.6. Właściwości antybakteryjne otrzymanych kompozytów

Zidentyfikowane wartości MIC dla badanych produktów zostały podsumowane i zilustrowane na Rys.28. Zgodnie z uzyskanymi wynikami, wybrane szczepy bakterii wykazują wrażliwość na kompozyty DBioSiO₂ zawierające srebro (2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂ i 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂). Oba materiały wskazują tę samą wartość MIC (1,25 mg/mL). Co więcej, DBioSiO₂ bez zawartości srebra wykazuje selektywne działanie przeciwdrobnoustrojowe; tylko szczepy *Staphylococcus aureus* (ATCC, DFII) i *Escherichia coli* (ATCC) wykazują wrażliwość na preparat DBioSiO₂. Warto zauważyć, że nanokompozyty 4,70%Ag/6,31%Ce/DBioSiO₂ zawierające większą ilość srebra (0,0586 mg Ag/mL) wykazują taką samą wartość MIC jak nanokompozyty 2,26%Ag/2,52%Ce/DBioSiO₂, które zawierały mniejszą ilość srebra (0,0283 mg Ag/mL).

Wyniki te sugerują istotny wpływ wielkości, morfologii i kształtu NPs na działanie przeciwdrobnoustrojowe. Co więcej, dane literaturowe szeroko przedstawiają wpływ właściwości fizykochemicznych na efektywność działania NPs, jednakże określony mechanizm działania jest nadal przedmiotem rozważań i ciągłej dyskusji. Oprócz znanych mechanizmów (np. adhezji na powierzchni ściany komórkowej i błony komórkowej bakterii, mechanizmu "konia trojańskiego", indukcji stresu oksydacyjnego i zakłócenia wewnątrzkomórkowych biomolekuł itp.), efekty fotowzbudzenia wywołane przez gatunki ROS są obecnie często brane pod uwagę i szeroko dyskutowane [195].

Z drugiej strony, matryca zastosowana do przygotowania nanokompozytów może również wpływać na aktywność przeciwdrobnoustrojową, ponieważ uzyskane w niniejszych badaniach materiały wykazują niższą wartość MIC (1,25 mg/mL) w porównaniu do nanokompozytu AgNPs/kaolinit [187], podczas gdy nanokompozyt AgNPs/TiO₂/DBP [196], w którym wartość MIC mieściła się w zakresie od 2,5 do 10

mg/mL przeciwko tym samym szczepom bakterii. Ponadto na uwagę zasługuje fakt, że DBioSiO₂ zastosowana w niniejszym badaniu jako nośnik wykazuje aktywność antybakteryjną w porównaniu do nośnika TiO₂/DBP i kaolinitu, które nie wykazały żadnej aktywności wobec tych samych szczepów bakterii. Co więcej, w przypadku wszystkich nośników aktywność przeciwdrobnoustrojowa wzrosła po dodaniu zawartości srebra.



Rys.28. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa badanych nanokompozytów wobec wybranych szczepów bakteryjnych

Z drugiej strony, istotne jest zwrócenie uwagi na fakt, że obserwowana aktywność fotoluminescencyjna w zakresie ultrafioletu, niebieskiego i czerwonego stanowiła bodziec do sformułowania hipotezy sugerującej, że przeprowadzone badania mogą przyczynić się do dalszego rozwoju syntezy nanokompozytów. Działanie przeciwdrobnoustrojowe może być wywołane zarówno przez niemodyfikowaną matrycę (nośnik), jak i matrycę modyfikowaną srebrem (Ag/Ce/DBioSiO₂), co znajduje potwierdzenie w mechanizmie przeciwdrobnoustrojowym opisanym w literaturze naukowej [197,198].

Ponadto, kolejnym kluczowym aspektem, który wymaga podkreślenia, jest ograniczona wiedza na temat przeciwdrobnoustrojowego potencjału kombinacji takiej jak Ag/Ce/DBioSiO₂. O ile liczne badania potwierdziły właściwości przeciwdrobnoustrojowe połączenia Ag/Ce [199,200], o tyle dyskusja na temat minimalnego stężenia hamującego (MIC) pozostaje niepełna. Mimo to, prezentowane są badania dotyczące aktywności przeciwnowotworowej czystego ceru i CeO₂ z domieszką Ag na komórkach EPG 85-257, które wykazały niższą cytotoksyczność nawet przy stężeniu 31,25 mM [199]. W porównaniu z tymi danymi, wartość MIC badanych związków w omawianym eksperymencie okazała się być znacząco niższa.



Diatomaceous Biosilica Doped with Heteroepitaxially Growing Ag/AgCl/CeO₂ Composite Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application

Izabela Wojtczak¹ · Weronika Brzozowska^{2,3} · Viorica Railean^{4,5} · Zhanar Bekissanova^{6,7} · Grzegorz Trykowski⁸ · Myroslav Sprynskyy¹

Received: 3 May 2023 / Accepted: 11 August 2023 / Published online: 31 August 2023
© The Author(s) 2023

Abstract

Modern technology's development is also towards using microorganisms as micro-factories of biomaterials with unique properties and combining the original properties of biosilica extracted from diatoms (microalgae) together with immobilised silver and cerium in nanoparticle forms allowed to obtain a modern composite material with antibacterial activity. The synthesised composites containing heteroepitaxially growing Ag/AgCl/CeO₂ complex nanoparticles were studied using different types of instrumental analysis. SEM-EDX and XRD analysis allowed the qualitative and quantitative determination of the elements present and their forms in the composites. TEM permitted analysis of information about the created nanoparticles shape, size and structure specificity. The possible mechanism of nanoparticle formation was suggested. Antibacterial properties of synthesised composites were characterised using a minimum inhibitory concentration test on six selected bacterial strains. Diatomaceous biosilica containing heteroepitaxially growing silver chloride, metallic silver, and cerium (IV) oxide nanoparticles have been prepared for the first time. The proposed method for synthesising composites did not use toxic reagents, making it environmentally friendly.

✉ Myroslav Sprynskyy
mspryn@umk.pl
Izabela Wojtczak
izabelawojtczak1991@gmail.com
Weronika Brzozowska
weronika.brzozowska@phd.usz.edu.pl
Viorica Railean
viorica.railean@umk.pl
Zhanar Bekissanova
bekissanova@gmail.com
Grzegorz Trykowski
tryki@umk.pl

¹ Department of Environmental Chemistry and Bioanalytics, Faculty of Chemistry, Nicolaus Copernicus University in Torun, Gagarina 7, 87-100 Torun, Poland

² Institute of Marine and Environmental Sciences, University of Szczecin, Mickiewicza 16, 70-383 Szczecin, Poland

³ Institute of Marine and Environmental Sciences, Doctoral School, University of Szczecin, Mickiewicza 16, 70-383 Szczecin, Poland

⁴ Department of Infectious, Invasive Diseases and Veterinary Administration, Institute of Veterinary Medicine, Nicolaus Copernicus University in Torun, Gagarina 7, 87-100 Torun, Poland

⁵ Interdisciplinary Center for Modern Technologies, Nicolaus Copernicus University in Torun, Wilenska 4, 87-100 Torun, Poland

⁶ Faculty of Chemistry and Chemical Technology, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty 050040, Kazakhstan

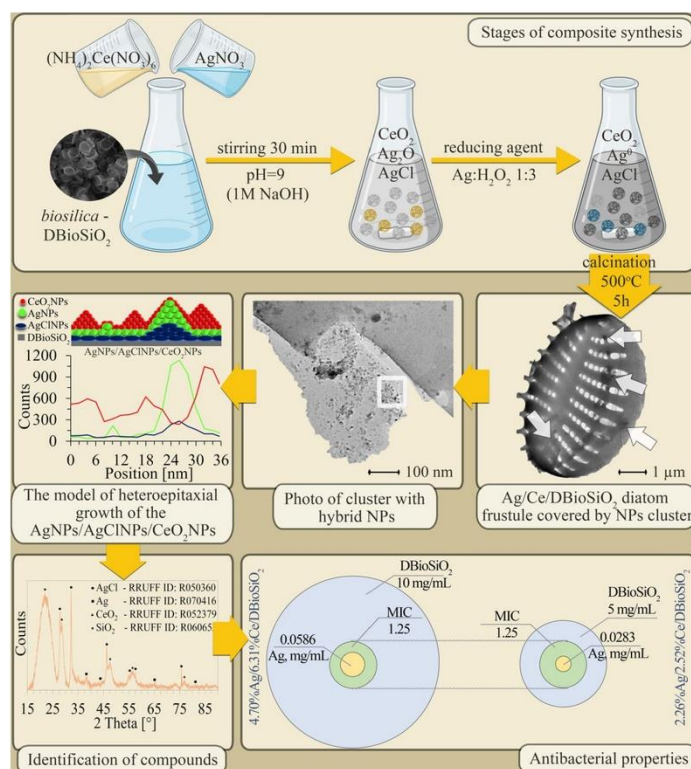
⁷ Center of Physical-Chemical Methods of Research and Analysis, Almaty 050012, Kazakhstan

⁸ Faculty of Chemistry, Nicolaus Copernicus University in Torun, Gagarina 7, 87-100, Torun, Poland



Content courtesy of Springer Nature, terms of use apply. Rights reserved.

Graphical Abstract



Keywords Diatomaceous biosilica · Silver nanoparticles · Cerium dioxide nanoparticles · Heteroepitaxial growth · (Ag AgCl CeO₂) Diatomaceous biosilica composites · Antibacterial activity

Introduction

Nanotechnology is an ever-evolving interdisciplinary science that combines knowledge from biology, chemistry, physics, engineering and materials science, among others. It thus enables practical applications in many areas of industry and science, from traditional chemical techniques to medical, environmental and military technologies [1–3]. The central concept of nanotechnology is the use of particles smaller than 100 nm in size. This size gives materials new properties and functions [4, 5]. The basic nanomaterials include, for example, nanometals, nanoceramics, nanopolymers, nanocomposites or carbon nanostructures [6–10]. New methods

of synthesising nanomaterials are currently being searched for which will be environmentally friendly and thus contribute to developing and popularising green chemistry [11]. However, such methods are gaining increasing relevance, as the aim is to reduce the use of expensive and toxic reagents to synthesise nanomaterials.

Silver nanoparticles (AgNPs) are among the most popular and demanded nanomaterials. These nanoparticles have a maximum contribution to various applications in nanomedicine, biology, cosmetology, food, textiles etc. [12–17]. Furthermore, they are an essential element in the photocatalytic decomposition of organic dyes [18, 19]. Despite conflicting information on the toxicity of AgNPs [20–22], their role as

a disinfectant and antimicrobial agent has been significantly appreciated. Smaller silver nanoparticles exhibit more significant antibacterial activity. The selection of appropriate synthesis conditions strongly influences the shape and size of the obtained AgNPs [23, 24]. Nowadays, hybrid combined composites comprising silver nanoparticles and silver chloride nanoparticles can also be specified [25]. These combinations have been analysed for antibacterial activity [26, 27], and their synthesis followed the tenets of green chemistry because they were obtained from a plant extract [28]. This fundamental approach should be widely promoted as one should strive for eco-friendly activities.

Cerium oxide nanoparticles are becoming increasingly important due to their properties and application possibilities. Their unique surface, chemistry, biocompatibility and high stability are significant for the long-term effects of nanoparticles [29, 30]. Cerium oxide nanoparticles have a unique ecological potential [31] due to their antioxidant properties, making it possible to replace chemically prepared antioxidants [32, 33]. Cerium oxide nanoparticles (nanoceria) are used, for example, as a catalyst in diesel engines [34], as a raw material in the production of solar cells [35], or as a protective agent against corrosion [36]. Preliminary biological studies have shown that CeO₂ nanoparticles exhibit a cell-protective effect, improving stem cell adhesion and suggesting a potential application in tissue engineering [37]. Currently, nanoparticles of this type can be synthesised using mainly chemical or physical methods. However, there is a risk that the resulting NPs will be unstable and toxic which may significantly reduce their performance and applicability [38]. Therefore, methods are being developed to obtain CeO₂NPs from various biological resources, rich sources of phytochemicals responsible for lowering and stabilising the selected salts into target nanoparticles [39].

Microorganisms also have an essential role in the development of nanotechnology. In this group, microalgae, especially single-celled diatoms, deserve special attention whose undoubted advantage is their natural abundance and unique ability to biosynthesise silica shells. Biomass synthesis of a selected diatom species can be carried out under laboratory conditions, respecting the principles promoted by green chemistry [40]. Siliceous frustules (biosilica) of diatoms have a three-dimensional (3D) structure ornamented with periodic arrangements of pores from the nano- to microscale which can be successfully exploited in the development of modern technologies [41, 42]. The unique structural and physicochemical properties and biocompatibility undoubtedly point to the prospect of using this material for, among other things, the synthesis of antibacterial agents. Additionally, due to its adsorption properties, diatomaceous biosilica can be an excellent support for the synthesis of nanoparticles, reducing their toxic effects on living cells [43].

Many research studies demonstrated the antimicrobial activity, synergistic effect of silver formulations against clinical isolates and its application in pharmacology and cosmetology [44–46]. In another trend of thoughts, our previous studies [43, 47] show dissimilarity in the antimicrobial activity of AgNPs/kaolinite and AgNPs/TiO₂/DBP nanocomposites that used additional support for the synthesis. Additionally, the support influences the antimicrobial effect, the metal (element) used, and the synthesis method; the TiO₂/DBP nanocomposites display higher antimicrobial potential against the same bacterial strains than AgNPs/kaolinite.

Therefore, in the present study, we propose the synthesis of hybrid composites ((Ag, AgCl, CeO₂)/DBioSiO₂) containing AgNPs, AgClNPs and CeO₂NPs nanoparticles deposited on a matrix in the form of biosilica extracted from diatoms (DBioSiO₂) using an impregnation method. Environmentally safe (ecology-friendly) hydrogen peroxide was used as a reducing agent to obtain metallic silver nanoparticles. The physicochemical properties of the composites were characterised by X-ray diffractometry, spectrofluorimetry, scanning electron microscopy, transmission electron microscopy and zeta potential measurements. In the present research, the antimicrobial activity of the obtained nanocomposites was analysed against the same Gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus* and Gram-negative bacteria *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, using the minimum inhibitory concentration method.

Materials and Methods

Biomass Cultivation of Diatom Species *Pseudostaurosira Trainorii*

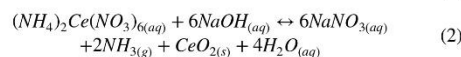
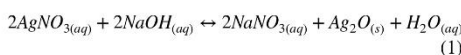
The pure diatom strain of *Pseudostaurosira trainorii* was obtained from the Baltic Algae Culture Collection of the Institute of Oceanography, University of Gdansk. The diatom species were provided as *Opephora* sp. by the Culture Collection of Baltic, but our previous study results of the frustule morphology features using scanning electron microscopy allowed defining this diatom species as *Pseudostaurosira trainorii* [40]. As mentioned, the diatom species were cultivated in 5 L Erlenmeyer flasks at approximately 25°C. The culture used Guillard medium F/2 and sodium metasilicate (Na₂SiO₃×5H₂O - ≥95.0%, *Sigma Aldrich, Poznan, Poland*), a source of soluble silicon (in an amount of 7 mg/L of culture). In addition, the pH of the culture medium was kept constant (8.4), aeration and controlled illumination on a 12:12 day/night cycle (using two 1500 lux lamps). The entire diatom biomass cultivation experiment was conducted for 12 days.

Procedure for Cleaning Diatom Frustules

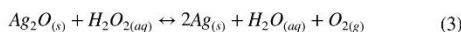
After the diatom culture process, the filtered biomass was purified to obtain diatom biosilica. This process was carried out in 600 mL flat-bottomed beakers using hydrogen peroxide solution (30% H₂O₂ – S.A.F.C., Sigma Aldrich, Poznan, Poland), with continuous heating (to 80°C) and stirring on a magnetic stirrer. The process of purifying the diatom cells from organic matter took 4 hours. After this, a few drops of 37% HCl (Supelco, Sigma Aldrich, Poznan, Poland) were added to remove the calcium carbonates and excess H₂O₂. The obtained biosilica colloidal solution was left for 24 h to sediment the precipitate formed. Subsequently, the supernatant liquid was decanted, and the obtained material was washed with distilled water centrifuging on an Eppendorf Centrifuge 5810 R at 10000 rpm for 10 minutes. This was repeated five times. The obtained diatomaceous biosilica (DBioSiO₂) was dried at 120°C and transferred to sterile Eppendorf tubes.

Synthesis of (Ag, AgCl, CeO₂) Diatomaceous Biosilica Composites

Synthesis of (Ag, AgCl, CeO₂)DBioSiO₂ composites was carried out by adding an aqueous solution of silver nitrate (≥99.0%, Sigma Aldrich, Poznan, Poland) and ammonium cerium (IV) nitrate (≥99.0%, Supelco, Sigma Aldrich, Poznan, Poland) to diatomaceous biosilica suspension. The synthesis of the composites was carried out using the above solutions of silver nitrate and ammonium cerium (IV) nitrate in two different concentrations of the primary ions Ag and Ce: 50 mg/L, 100 mg/L, or 5 and 10% about the mass of diatomaceous biosilica used solutions at such concentrations aimed to obtain composites by adding 5 and 10 % ions. To a solution (50 mL) of the specified concentration of silver and cerium ions, 100 mg of biosilica was added. The resulting suspension was stirred for 30 minutes, and then 0.1 M NaOH (S.A.F.C., Sigma Aldrich, Poznan, Poland) was alkalisated to pH=9 (equations 1 and 2).



Further reduction of the resulting silver oxide was carried out with hydrogen peroxide. The reducing agent was added at a molar ratio of AgNO₃/H₂O₂ of 1:3. The slurry was stirred for another 15 minutes at 300 rpm to lessen the silver (equation 3).



The whole was then stirred for 24 h at 80°C. The samples were washed five times with distilled water and centrifuged

(centrifuge 9000, MPW-251 rpm). The precipitates obtained were dried at 110°C for 12 hours. After this time, the composites were calcined at 500°C for five hours.

Characterisation Methods of Obtained Composites

The morphological features and elemental composition of the analysed materials as well as the sizes, crystalline forms and distribution of created nanoparticles, were investigated by scanning electron microscopy (SEM, LEO 1430 VP, Electron Microscopy Ltd, Cambridge, UK) coupled to an Energy Dispersive X-Ray detector (XFlash 4010, Bruker AXS, Bremen, Germany), and a transmission electron microscopy (TEM, FEITecna F20 X-Twintool) coupled to a with EDX while placing the sample on a carbon-coated copper grid (Lacey Carbon Support Film 400 mesh).

The mineral composition of the diatomaceous biosilica and the synthesised nanocomposites was characterised using X-ray powder diffraction (XRD) with a Philips X'Pert Pro diffractometer (XRD, Malvern Panalytical Ltd, Malvern, UK) with Cu- Kα (γ = 0.1541 nm, 40 kV, 30 mA). XRD analysis data were collected over an angular range of 5-90° 2θ with a step size 0.01.

The surface potential (zeta potential values) of diatomaceous biosilica and composites containing silver and cerium ions (Ag, AgCl, CeO₂)DBioSiO₂ were measured using a Zetasizer Nano Series instrument (Malvern Instruments, Malvern, UK). Before measurement, analysed samples of a given concentration (0.05 mg/mL) were suspended in the water of a given pH (2.03, 3.01, 5.04, 8.02, 10.02, 12.00). In addition, samples were sonified in a Polsonic ultrasonic bath for 360 min at 25°C. DTS1070 measuring cell was used for zeta potential measurements. The measurements for each analysed example included three repetitions at the pH mentioned above.

Photoluminescence (PL) properties of diatomaceous biosilica and (Ag, AgCl, CeO₂)DBioSiO₂ composites were analysed using a Hitachi F-2500 fluorescence spectrophotometer equipped with a xenon lamp. PL spectra were recorded at excitation wavelengths of 270 and 420 nm. Measurements were carried out at about 20°C. Solid composites were analysed and placed in a particular cell. According to the instrument's capabilities, the measurement range was from 285 to 800 nm.

Antimicrobial Assays

The antimicrobial properties of the obtained composites were tested using the minimum inhibitory concentration (MIC) test. The method was carried out using Miller Hilton (MH) medium, according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) procedures, and by microdilution in

96-well plates with resazurin. Six bacterial strains were used to analyse the composites' antibacterial properties. Three photogenic isolates were purchased from the Centre for Modern Interdisciplinary Technologies collection (CMITC), while three others are from the American Type Culture Collection (ATCC). CMITC strains analysed are *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 THL (DFI), *Klebsiella pneumoniae* 9295-1 CHB (WI), *Escherichia coli* MB 11464-1 CHB (WI). The abbreviation DFI stands for a strain isolated from a diabetic foot infection, while WI refers to a strain isolated from a wound infection. Strains from the ATCC collection used in the analysis of antibacterial properties of composites are *Staphylococcus aureus* ATCC 700699, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, and *Escherichia coli* ATCC 10031. First, the bacterial cells were introduced into the M.H. medium for 24 h at 37°C. Then on 96-well plates (*Sigma Aldrich, Poznan, Poland*), the cultured bacterial strain (1×10^8 CFU/mL) and different concentrations of analysed materials were mixed. Subsequently, 12 μ L of the resazurin-based *in vivo* toxicology kit (*Sigma Aldrich, St. Louis, MO, U.S.A.*) was added to each well on the plate. After sample preparation, the leaves were stored at 37°C with continuous stirring for 24 h. The MIC value was determined by changing the indicator's colour from blue to pink.

Results and discussion

SEM-EDX Studies of Synthesised Composites

The results of SEM-EDX analysis of diatomaceous biosilica and synthesised composites containing the addition of silver and cerium are presented in Fig. 1. For each of the analysed samples, the elemental content spectrum of the obtained composites is plotted, as well as a sample area scan image (mapping), which shows the distribution of analysed elements in the samples.

Fig. 1.A. presents the results for biosilica (DBioSiO₂) extracted from diatoms of the species *Pseudostaurosira trainorii*. It should be noted that elements such as oxygen, silicon, carbon and chlorine can be distinguished in the described sample. It is essential to mention that the presented mapping indicates that the elements are evenly distributed throughout the piece. The presence of chlorine in the model was a deliberate procedure, as two types of silver nanoparticles were to be present simultaneously in the synthesised composites. The chlorine residue observed in the sample came from the purification process of the diatom biomass (procedure described in section "Procedure for cleaning diatom frustules" of the publication). Fig. 1.B. represents a diatomaceous biosilica composite with elements such as oxygen, silicon, cerium, silver, carbon and chlorine distinguished in the above composite.

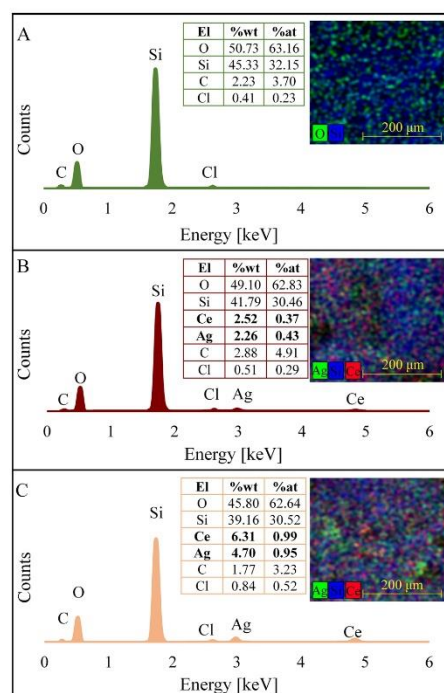


Fig. 1 SEM-EDX spectra and mapping of the analysed materials: A DBioSiO₂ - diatomaceous biosilica, B 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ composite, C 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂ composite

The composite contains 2.26%, and 2.52% of the silver and cerium, respectively. The content of silver in the amount of 4.70% and cerium equal to 6.31% was detected in another prepared composite (Fig. 1.C). The homogenous distribution of both elements as silver as good cerium in the supported diatomaceous biosilica matrix should also be noted.

Okaiyeto et al. [28], in their work, have analysed combined silver and silver chloride nanoparticles that were synthesised using plant extracts. The clear peak in the 2.7 [keV] region, characteristic of chlorine, and the height around 3.0 [keV], which can be attributed to silver, were detected on the EDX spectrum. Appropriate signals from chlorine and silver were also obtained in our case. The work of Wang et al. [48] was reported about synthesised hybrid silver and cerium nanoparticles using a redox reaction. The main peak assigned to cerium in the region around 5 [keV] was detected on the EDX spectrum [48, 49].

The SEM-EDX results showed that the synthesised composites were 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ and 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂.

Ag and Cl's molar and mass correlations were determined for obtained hybrid composites: 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ and 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂. The calculations showed that the hybrid composites contain a mixture of AgCINPs and AgNPs. The results of the analyses are presented in Table 1.

The obtained calculations show that for the 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ composite, the ratio of AgCINPs nanoparticles to AgNPs nanoparticles is 67:33 (%), while for the 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂ composite the ratio AgCINPs: AgNPs is 55:45 (%). Thus, the predominance of silver chloride nanoparticles over metallic silver nanoparticles is noted in both hybrid analysed materials. This is related to the fact that AgCl has a low solubility product value, more down than metallic silver. Therefore in the precipitation process, AgCl will precipitate first before Ag. The metallic silver will only start to precipitate when all the chloride ions have been bound. Similar results of analyses of hybrid silver nanoparticle combinations were obtained in the work of Kubasheva et al. [26]. The piece mentioned above-analysed composites containing silver nanoparticles, silver chloride nanoparticles, and diatomite. As the content of the silver ions in the composites increased, the ratio of AgNPs nanoparticles to AgCINPs also increased.

Powder X-ray Diffraction Analysis of Characterised Materials

Figure 2 presents X-ray powder diffractograms for diatomaceous biosilica (DBioSiO₂) and synthesised composites (2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂, 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂). The diffractogram for DBioSiO₂ is presented in the part of Fig. 2.A. Note that there is a broad peak in the range ~15–30° for angle 2θ, which can be attributed to amorphous silica such as opal-A (RRUFF ID: R060653). The occurrence of such a range for biosilica extracted from the diatom species *Pseudostaurosira trainorii* was also confirmed in the work of Sprynskyy et al. [40]. The absence of other peaks to characterise indicates the high purity of the analysed material.

Fig. 2.B. presents the diffractogram for the sample 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂, marked in dark red. For the

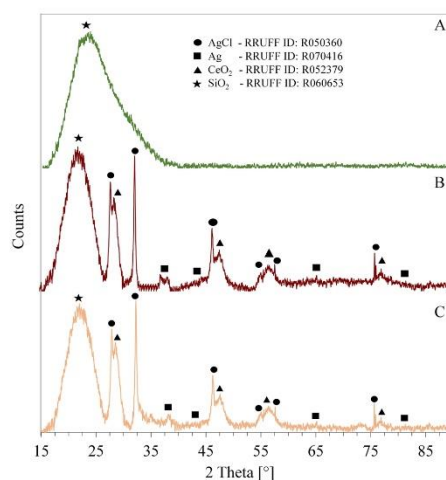


Fig. 2 X-ray diffraction diagrams of the studied samples: (a) diatomaceous biosilica DBioSiO₂, (b) composite 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂, (c) composite 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂

composite analysed, it is possible to assign peaks originating from AgCl (RRUFF ID: R050360) which can be noted at angle 2θ values of 28.00°, 32.40°, 46.40°, 54.90°, 57.70° and 75.65°, respectively. The signals for metallic silver (RRUFF ID: R070416) were determined at angle 2θ values of: 38.17°, 44.35°, 64.48° and 81.75°. Furthermore, the peaks attributed to cerium (IV) oxide (RRUFF ID: R052379) were detected at angle 2θ values of 28.55°, 47.49°, 56.35° and 76.71°. Peaks with the same angle 2θ values were determined for the 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂ composite presented in Fig. 2.C. Note that this diffractogram has peaks that can be assigned to: silver chloride (RRUFF ID: R050360) – 28.00°, 32.40°, 46.40°, 54.90°, 57.70°, 75.65°, metallic silver (RRUFF ID: R070416) – 38.17°, 44.35°, 64.48°, 81.75°, cerium (IV) oxide (RRUFF ID: R052379) – 28.55°, 47.49°, 56.35°, 76.71° and opal-A.

The work of Arellano et al. [50] analysed a composite that contained metallic silver nanoparticles and cerium (IV) oxide nanoparticles in combination with amorphous silica

SBA-15 was synthesised under laboratory conditions. The intensity of the peaks in the analysed materials

Table 1 Molar and mass correlations of Ag and Cl in hybrid composites

Samples	Ag		Cl		AgCINPs		AgNPs	
	Mass%	n, mol	Mass%	n, mol	n, mol	%	n, mol	%
2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO ₂	2.26	0.021	0.51	0.014	0.014	66.67	0.007	33.33
4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO ₂	4.70	0.044	0.84	0.024	0.024	54.55	0.02	45.45

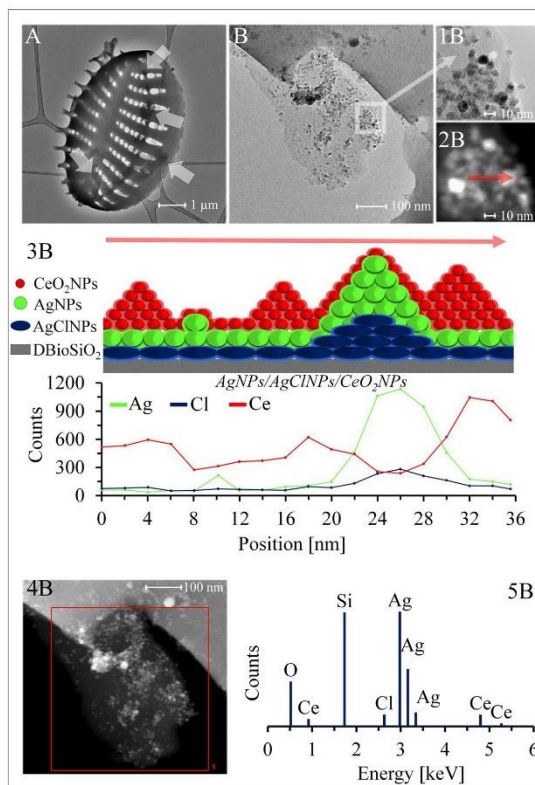
increased slightly with increased ion content, possibly indicating a slight increase in the size of the crystallites. It should also be noted that the characteristic peaks originating from the silver oxide Ag₂O were not detected in the diffractograms.

It can be seen that the XRD peaks registered for cerium (IV) oxide nanoparticles and metallic silver nanoparticles are less pronounced and broader than the peaks recorded for silver chloride nanoparticles. This may be due to the minimal size of the cerium oxide and metallic silver nanoparticles and the corresponding fluctuations (defects) in the outline of their crystal structure, which affects the reflection of signals and, consequently, the appearance of the obtained peaks. On the other hand, the well-defined crystal structure of silver chloride nanoparticles leads to pointed and clear peaks confirming their presence.

Transmission Electron Microscopy Analysis

The results of transmission electron microscopy for the 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂ composite is presented in Fig. 3. TEM was used to study the morphology, distribution and sizes of the created nanoparticles in the analysed composite. A TEM microphotograph of the diatom frustule doped with silver and cerium nanoparticles is shown in the part of Fig. 3.A. It is visible that the doped nanoparticles exist as clusters on the surface of the diatom frustule in the form of thin single-layer flakes of irregular shapes. These clusters (flakes) are distributed throughout the surface frustules. In part of Fig. 3.B., a zoomed-in section of the diatom frustule is presented, which illustrates in more detail the synthesised NPs. The differences in the visible shades (grey, black) of obtained nanoparticles are related to their heterogeneity (composite) structure. Figure 3.1B presents a sectional view of a thin monolayer flake with doped nanoparticles.

Fig. 3 TEM images of the composite 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂: **(A)** diatom frustule with labelled nanoparticle clusters. **B** the occurring flake-like clusters of nanoparticles at magnification 26500x, (1) at magnification 180000 x, (2) at magnification 1250000 x, (3) STEM-EDX line scan profile with a model of nanoparticle formation, (4) STEM-EDX scan area, (5) STEM-EDX spectrum of the nanoparticles clusters in the form of thin single-layer flakes



It should be noted that the visible nanoparticles have a quasi-spherical form, and their sizes are smaller or equal to 10 nm, depending on the type. Fig. 3.2B illustrates the STEM capture of the analysed fragment. The red line marks the scan section of the STEM-EDX. The line scan extracted the concentration profiles of the three essential elements (Ag, Cl, and Ce) forming the nanoparticles (Fig. 3.3B). The shapes of the listed elements confirmed the heteroepitaxial nature of the formation of silver chloride, metallic silver, and cerium (IV) oxide composite nanoparticles.

Analysis of the complete scan profile (Fig. 3.3B) allows us to assume that the smaller nanoparticles belong to CeO₂NPs, but larger and more distinct nanoparticles belong to the AgNPs. Furthermore, the smaller cerium oxide nanoparticles are more able to agglomerate. In their work, Patil et al. [51] were shown that the obtained CeO₂NPs with a small size (3–5 nm) had a greater tendency to agglomerate. In the 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂ composite analysed it is evident that the nanoparticles, whose main element is cerium, are much smaller than the AgNPs present and, in addition, they cluster at small distances relative to each other.

The results of the TEM analysis allow us to hypothesise that the nanoparticles are formed in the order of AgClNPs, AgNPs and CeO₂NPs (which is depicted as a model in section “Results and discussion”B). The phenomenon of epitaxy, or more precisely heteroepitaxy, is evident here. The most appropriate possible model in this situation is the Volmer-Weber model, otherwise considered a three-dimensional or “island” model [52]. According to this model, at the beginning takes place the simultaneous growth of the crystallisation nuclei on a support surface (here diatomaceous biosilica), which acts as a seed for the development of a larger crystallite structure in the form of the three-dimensional islands (nanoparticles). The interaction between atoms or molecules forming a small nucleus is much stronger than with the substrate surface. In our case, silver chloride nanoparticles are first formed on the biosilica surface. Then metallic silver nanoparticles grow epitaxially on the surface of silver chloride nanoparticles, where the epitaxial growth of cerium dioxide nanoparticles occurs (Fig. 3.1-3B). The results of STEM-EDX analysis confirmed the presence of cerium, silver, and chlorine elements in flake-like clusters of nanoparticles (Fig. 3.4-5B). In addition, the detected silicon content may indicate that the nanocomposites of silver and cerium nanoparticles are contained in thin layers of biosilica forming flake-like clusters.

It should be marked that the synthesised nanocomposites containing heteroepitaxially growing Ag/AgCl/CeO₂ complex nanoparticles have been prepared for the first time. In the scientific literature, only single reports on synthesising nanocomposites containing single combinations of AgNPs with CeO₂NPs can be found [50, 53, 54]. The AgNPs

dispersed on the CeO₂ layer coated on the surface of SBA-15 were demonstrated in work [50]. The CeO₂ nanoparticles decorated with AgNPs have been synthesised using a facile one-step chemical method [53, 54]. The chemical solution deposition (CSD) approach has been used to grow epitaxial CeO₂ films on textured Ni in the work of [55]. Growth rate-induced epitaxial of CeO₂ thin films produced on Al₂O₃ by oxygen plasma-assisted molecular beam epitaxy was also reported [56].

Zeta Potential Measurements of the Obtained Composites

The effect of pH on the zeta potential value of the analysed materials, DBioSiO₂, 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ and 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂, is presented in Fig. 4. The zeta potential value in the pH range from 2.03 to 12.00 for biosilica obtained from diatoms biomass and diatom biosilica doped with a nanocomposite of silver and cerium nanoparticles, is negative to all materials analysed and ranges from – 6.31 to – 77.40 mV.

The addition of silver and cerium ions reduced the zeta potential values to –15.07 mV for 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ and to – 15.43 mV for 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂, relative to DBioSiO₂ (– 6.31 mV) at pH=2. At a pH of 3.01, the zeta potential value for the 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ composite is slightly higher than for diatomaceous biosilica, at – 39.23 mV. From 5.04 to 10.02, the lowest zeta potentials are observed for the 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ composite. The corresponding values are – 51.43

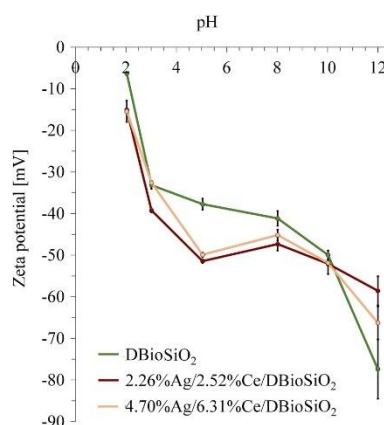


Fig. 4 Effect of pH on zeta potential value of samples: **A** diatomaceous biosilica (DBioSiO₂), **B** 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ composite, **C** 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂ composite

mV, -47.33 mV and -52.07 mV, respectively. The higher zeta potential values for the 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂ composite, relative to 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂, may be related to the fact that the silver nanoparticles are smaller in size as the pH value increases [57]. It is, therefore, essential to note that the surface of the nanoparticles was negatively charged, favouring their mutual repulsion and thus reducing the possibility of aggregate formation [47]. This effect could be compensated for by the positively charged surface of the cerium (IV) oxide nanoparticles present in the composite [58]. It should be noted that no isoelectric point is observed for both composites analysed. This is due to the rich matrix of the investigated materials. It is likely to be located below pH 2. In the literature, depending on the method used to synthesise the microemulsion nanoceria, the IEP is approximately 4.5 and is about 9.5 for hydrothermal nanoceria. The difference in the IEP is due to the different zeta potentials of the synthesised nanoparticles [51]. In contrast, for AgNPs, the occurrence of an isoelectric point can be observed around a pH equal to 3 [59].

Photoluminescence Properties of Combined Silver and Cerium Composites

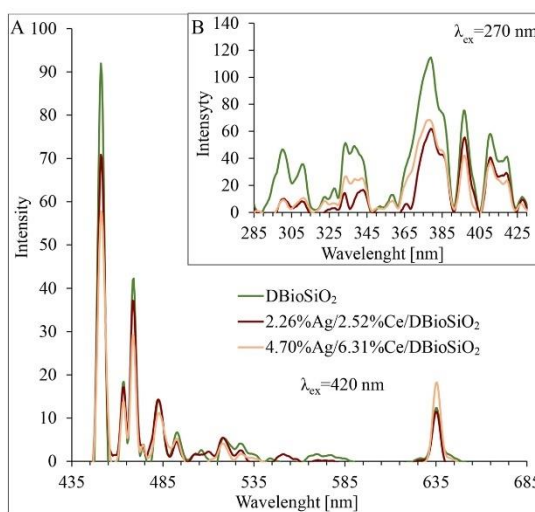
In Figure 5 are presented the photoluminescence spectra of biosilica extracted from diatoms (DBioSiO₂) and heteroepitaxially growing Ag/AgCl/CeO₂ composite nanoparticles (2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂, 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂). The presented spectra cover the ranges: from 285 to 425 nm with an excitation wavelength of 270 nm (part of

Fig. 5.B.), as well as from 435 to 685 nm with an excitation wavelength of 420 nm (part of Fig. 5.A.). It should be noted that for all analysed materials, it is possible to distinguish four main types of photoluminescence activity. The first is located in the ultraviolet region (up to 425 nm) at an excitation wavelength of 270 nm. The second type of PL activity is located in the blue part of the spectrum seen from 440 to 490 nm. Detailing emission signals for wavelengths equal to 451 nm, 463 nm, 469 nm, 482 nm, and 493 nm with an excitation wavelength of 420 nm is possible. In the emission range, the third range of weak photoluminescence activity is from 500 to 535 nm. The emission peak at 518 nm is the most prominent in the analysed region. The fourth and last type of photoluminescence activity can be characterised by the red light region ranging from 625 to 645 nm with an intense peak at 635 nm.

It should be noted that pure AgCINPs nanoparticles should show an emission band at λ equal to 240 nm. However, identification of this signal was not possible - the hardware capabilities of the available equipment limited the analysis. In addition, it should be kept in mind that the above changes may also depend on the morphology and size of the nanoparticles. For AgNPs, it is possible to localise the signal in the blue region of the spectrum seen, with the emission wavelength corresponding to 483 nm [27, 57, 60].

It is important to note that for the synthesised composites, some signal shift occurs in the region from 325 to 425 nm. This is due to the increasing content of silver ions in the composites and, more specifically, relates to defects in the form of oxygen vacancies caused by more silver ions around

Fig. 5 Photoluminescence spectra of diatomaceous biosilica (DBioSiO₂) and synthesised composites of 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ and 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂ analysed in the range: **A** from 435 to 685 nm with an excitation wavelength of 420 nm and **B** from 285 to 425 nm with an excitation wavelength of 270 nm



the cerium (IV) oxide particles. Other shifts in the signals present can be related to surface defects (as for the peak at 420 nm) or point defects. In addition, depending on the concentration of defects and dislocations present, the electron and hole recombination process is delayed which can affect the differences in the intensity of the signal current for the composites analysed [53].

The emission band observed in part A at 635 nm for the 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂ composite may be due to charge transfer between O²⁻ and Ce⁴⁺. The observed peak may arise from direct electron recombination between the conduction band of Ce 4f and the occurring holes in the valence band of O 2p. Most lanthanides can only use three electrons as valence electrons because the remaining 4f electrons are too strongly bonded. Cerium is an exception due to the stability of the f shell in Ce⁴⁺ [61–64].

Antibacterial Activity Assay

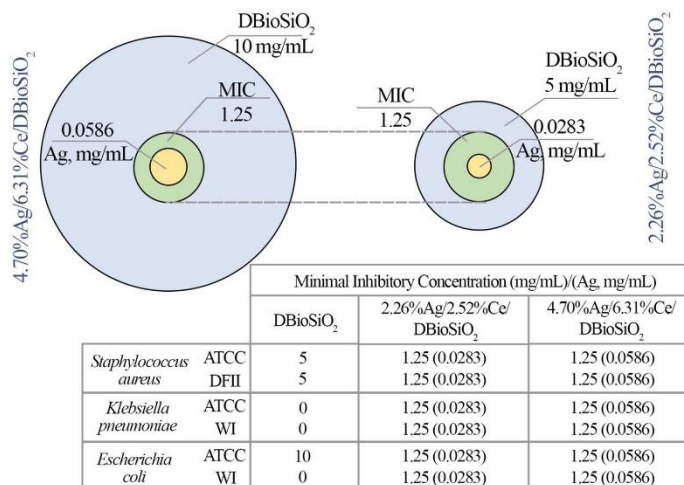
The identified MIC values of the investigated formulations are summarised and illustrated in Figure 6. According to the obtained results, the selected bacterial strains show sensitivity to the DBioSiO₂ formulations incorporating silver content (2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ and 4.70%Ag/6.31%Ce/DBioSiO₂). Both formulations indicate the same MIC value (1.25 mg/mL). Moreover, even the DBioSiO₂ formulation without silver content demonstrates a selective antimicrobial effect; only *Staphylococcus aureus* strains (ATCC, DFII), whereas *Escherichia coli* (ATCC) shows sensitivity to the DBioSiO₂ formulation. Notable to specify that the 4.70%Ag/6.31%Ce/

DBioSiO₂ nanocomposites containing higher silver amount (0.0586 Ag mg/mL) show the same MIC value as the 2.26%Ag/2.52%Ce/DBioSiO₂ nanocomposites it that had lower silver amount (0.0283 Ag mg/mL).

This finding suggests the impact of NPs size, morphology and shape on antimicrobial effect since the microscopy study confirmed the formation of larger AgNPs with increasing concentration. Moreover, literature data present widely the influence of physicochemical properties on the effectiveness. However, the definite action mechanism is still under consideration and continuously discussed. Besides based known mechanisms (e.g. adhesion on the surface of the bacterial cell wall and membrane, “Trojan-horse” mechanism, induction of oxidative stress and disruption of intracellular biomolecules etc.), the photoexcitation effects induced by the ROS species nowadays are frequently taken into consideration and widely discussed [65].

On the other hand, the support used for the nanocomposites preparation can also influence the antimicrobial activity once the formulations obtained in the present research display a lower MIC value (1.25 mg/mL) compared to the based AgNPs/kaolinite [47], whereas AgNPs/TiO₂/DBP [43] nanocomposite where the MIC value was found to be ranged between 2.5 and 10 mg/mL against the same bacterial strains. Furthermore, noteworthy the fact that DBioSiO₂ (unmodified matrix) used in the present study as support exhibits antimicrobial activity compared to the TiO₂/DBP and kaolinite support that have not displayed any move against the same bacterial strains. Moreover, in the case of all supports, the antimicrobial activity increased after adding silver content.

Fig. 6 Antimicrobial activity of the investigated nanocomposites against selected bacterial strains. ATCC - American Type Culture Collection strains, DFI - diabetic foot infection isolate, WI - Wound isolate, NI - no inhibitory effect



On the other trend of thought, it is notable for underlining the fact that for all encourageable to hypothesise that this research will indeed shed further investigated formulations in the present study, even support, have been registered photoluminescence activity in the ultraviolet, blue and red range. This phenomenon suggests that the antimicrobial could be induced from an unmodified matrix (support) and modified with silver (Ag/Ce/DBioSiO₂). Such results prove the antimicrobial mechanism discussed previously in the literature [44, 66].

Moreover, another fundamental subject necessary to specify is that more is needed about the antimicrobial potential of such combinations as Ag/Ce/SiO₂. Many recent types of research show the antimicrobial potential of Ag/Ce [67, 68]. However, the discussion regarding MIC value could be more extensive. Nevertheless, the anticancer activity of pure ceria and Ag-doped CeO₂ on EPG 85–257 cells has been presented, showing lower cytotoxicity even at 31.25 mM [67]. Compared to this, the MIC value of the investigated formulations in the current study was much less.

Conclusion

In this study, we proposed a method for synthesising innovative composites on a diatomaceous biosilica matrix doped with heteroepitaxially growing Ag/AgCl/CeO₂ composite nanoparticles. Such a hybrid combination of nanoparticles has been innovatively proposed and characterised. The combined synthesis method promotes an environmentally friendly approach by using a non-toxic reductant in hydrogen peroxide. Furthermore, the work uses a natural carrier for the composites characterised by high biodegradability, biocompatibility and lack of toxic environmental effects in biosilica obtained from the diatom species *Pseudotaurosira trainorii*. The results of the SEM-EDX analysis showed the homogenous distribution of both elements as silver and cerium in a supported diatomaceous biosilica matrix with a load of silver in the amounts of 2.3–4.7% and cerium–2.5–6.3%. The results of XRD analysis confirmed the presence in prepared composites such as mineral phase opal-A and metallic silver, silver chloride, and cerium (IV) oxide. The results of the TEM analysis allow us hypothesising that confirmed the heteroepitaxial nature of the formation of silver chloride, metallic silver, and cerium (IV) oxide composite nanoparticles on the diatomaceous biosilica surface. Moreover, according to the obtained results, it is encourageable to hypothesise that this research will shed further light on the discovery of efficient and safe bioactive nanocomposites for pharmaceutical applications (e.g. skin infection). However, additional investigations are required.

Acknowledgments The authors are grateful to mgr P. Rybczyński (Faculty of Chemistry, Nicolaus Copernicus University)

Authors' Contributions IW: Investigation, Writing – original draft, Writing—initial draft, Visualization, WB: Visualization, Investigation, VR: Investigation, Visualization, Writing—original draft, Methodology, ZB: Investigation, GT: Investigation, Writing—review & editing, MS: Writing—review & editing, Conceptualization, Methodology, Resources, Supervision, Validation.

ity, Poland) for help in photoluminescence measurement.

Funding This work was not supported by any funding

Data Availability Data will be made available on request.

Declarations

Competing interest The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Ethical Approval Not applicable

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

1. C. Tarafdar, J. S. Shikha, and R. Ramesh (2013). Nanotechnology: Interdisciplinary science of applications. *Undefined*. **12**, 219–226. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2481>.
2. B. Sarkar, A. Mahanty, S. K. Gupta, A. R. Choudhury, A. Daware, and S. Bhattacharjee (2022). Nanotechnology: A next-generation tool for sustainable aquaculture. *Aquaculture*. **546**, 737330. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737330>.
3. F. Matteucci, R. Giannantonio, F. Calabi, A. Agostiano, G. Gigli, and M. Rossi (2018). Deployment and exploitation of nanotechnology nanomaterials and nanomedicine. *AIP Conf. Proc.* **1990**, 020001. <https://doi.org/10.1063/1.5047755>.
4. F. Sanchez and K. Sobolev (2010). Nanotechnology in concrete – A review. *Constr. Build. Mater.* **24**, 2060–2071. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2010.03.014>.
5. S. Rai, A. Rai, and S. K. L. Mahavidyalaya (2015). Review: Nanotechnology- The secret of fifth industrial revolution and the future of next generation. *Nusant. Biosci.* **7**, 61–66. <https://doi.org/10.13057/NUSBIOSCI/N070201>.
6. K. Gajanan and S. N. Tijare (2018). Applications of nanomaterials. *Mater. Today Proc.* **5**, 1093–1096. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.11.187>.
7. E. Roduner (2006). Size matters: why nanomaterials are different. *Chem. Soc. Rev.* **35**, 583–592. <https://doi.org/10.1039/B502142C>.

8. M. Kaliva and M. Vamvakaki (2020). Nanomaterials characterization. *Polym Sci Nanotechnol Fundam Appl*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816806-6.00017-0>.
9. Y. Yina and D. Talapin (2013). The chemistry of functional nanomaterials. *Chem. Soc. Rev.* **42**, 2484–2487. <https://doi.org/10.1039/C3CS90011H>.
10. A. Bratovic (2019). Different Applications of Nanomaterials and Their Impact on the Environment. *Int. J. Mater. Sci. Eng.* **5**, 1–7. <https://doi.org/10.14445/23948884/IJMSE-V5I1P101>.
11. D. Dutta and B. M. Das (2021). Scope of green nanotechnology towards amalgamation of green chemistry for cleaner environment: A review on synthesis and applications of green nanoparticles. *Environ. Nanotechnology Monit. Manag.* **15**, 100418. <https://doi.org/10.1016/j.ENMM.2020.100418>.
12. I. Sur, D. Cam, M. Kahraman, A. Baysal, and M. Culha (2010). Interaction of multi-functional silver nanoparticles with living cells. *Nanotechnology*. **21**, 175104. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/21/17/175104>.
13. Y. Zhang, K. Zhang, and H. Ma (2009). Electrochemical DNA biosensor based on silver nanoparticles/poly(3-(3-pyridyl) acrylic acid)/carbon nanotubes modified electrode. *Anal. Biochem.* **387**, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.AB.2008.10.043>.
14. Z. Yu, W. Wang, F. Kong, M. Lin, and A. Mustapha (2019). Cellulose nanofibril/silver nanoparticle composite as an active food packaging system and its toxicity to human colon cells. *Int. J. Biol. Macromol.* **129**, 887–894. <https://doi.org/10.1016/j.IJBIO MAC.2019.02.084>.
15. S. Gajbhiye, S. Sakharwade, S. Gajbhiye, and S. Sakharwade (2016). Silver Nanoparticles in Cosmetics. *J. Cosmet. Dermatological Sci. Appl.* **6**, 48–53. <https://doi.org/10.4236/JCDSA.2016.61007>.
16. A. Syafuddin (2019). Toward a comprehensive understanding of textiles functionalized with silver nanoparticles. *J. Chinese Chem. Soc.* **66**, 793–814. <https://doi.org/10.1002/JCCS.201800474>.
17. A. A. Yaqoob, K. Umar, and M. N. M. Ibrahim (2020). (2020) Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review. *Appl. Nanosci.* **10**(5), 1369–1378. <https://doi.org/10.1007/S13204-020-01318-W>.
18. L. Wang, F. Lu, Y. Liu, Y. Wu, and Z. Wu (2018). Photocatalytic degradation of organic dyes and antimicrobial activity of silver nanoparticles fast synthesized by flavonoids fraction of *Psidium guajava* L. leaves. *J. Mol. Liq.* **263**, 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.MOLLIQ.2018.04.151>.
19. S. Marimuthu, A. J. Antonisamy, S. Malayandi, K. Rajendran, P. C. Tsai, A. Pugazhendhi, and V. K. Ponnusamy (2020). Silver nanoparticles in dye effluent treatment: A review on synthesis, treatment methods, mechanisms, photocatalytic degradation, toxic effects and mitigation of toxicity. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **205**, 111823. <https://doi.org/10.1016/j.JPHOTOBIO.2020.111823>.
20. P. Nie, Y. Zhao, and H. Xu (2023). Synthesis, applications, toxicity and toxicity mechanisms of silver nanoparticles: A review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **253**, 114636. <https://doi.org/10.1016/j.ECOENV.2023.114636>.
21. R. Rajan, P. P. Huo, K. Chandran, B. Manickam Dakshinamoorthi, S. Il Yun, and B. Liu (2022). A review on the toxicity of silver nanoparticles against different biosystems. *Chemosphere* **292**, 133397. <https://doi.org/10.1016/j.CHEMOSPHERE.2021.133397>.
22. C. Beer, R. Foldbjerg, Y. Hayashi, D. S. Sutherland, and H. Autrup (2012). Toxicity of silver nanoparticles—Nanoparticle or silver ion? *Toxicol. Lett.* **208**, 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.TOXLET.2011.11.002>.
23. S. Tang and J. Zheng (2018). Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. *Adv. Healthc. Mater.* **7**, 1701503. <https://doi.org/10.1002/ADHM.201701503>.
24. S. Qamer, M. H. Romli, F. Che-Hamzah, N. Misni, N. M. S. Joseph, N. A. Al-Haj, and S. (2021). Amin-Nordin. Systematic Review on Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Antibacterial Activities: Application and Theoretical Perspectives. *Mol.* **26**, 5057–5057. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26165057>.
25. M. Nasrollahzadeh, S. Mahmoudi-Gom Yek, N. Motahharifar, and M. Ghafoori Gorab (2019). Recent Developments in the Plant-Mediated Green Synthesis of Ag-Based Nanoparticles for Environmental and Catalytic Applications. *Chem. Rec.* **19**, 2436–2479. <https://doi.org/10.1002/TCR.201800202>.
26. Z. Kubasheva, M. Sprynsky, V. Railean-Plugaru, P. Pomastowski, A. Ospanova, and B. Buszewski (2020). Synthesis and Antibacterial Activity of (AgCl, Ag)NPs/Diatomite Hybrid Composite. *Mater.* **13**, 3409–3409. <https://doi.org/10.3390/MA13153409>.
27. N. D. Trinh, T. T. B. Nguyen, and T. H. Nguyen (2015). Preparation and characterization of silver chloride nanoparticles as an antibacterial agent. *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.* **6**, 045011. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/6/4/045011>.
28. K. Okaiyeto, M. O. Ojemaye, H. Hoppe, L. V. Mabinya, and A. I. Okoh (2019). Phytofabrication of Silver/Silver Chloride Nanoparticles Using Aqueous Leaf Extract of *Oedera genitifolia*: Characterization and Antibacterial Potential. *Mol.* **24**, 4382. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24234382>.
29. S. Das, J. M. Dowding, K. E. Klump, J. F. McGinnis, W. Self, and S. Seal (2013). Cerium oxide nanoparticles: applications and prospects in nanomedicine. *Nanomedicine (Lond)*. **8**, 1483–1508. <https://doi.org/10.2217/NNM.13.133>.
30. L. He, Y. Su, J. Lanhong, and S. Shi (2015). Recent advances of cerium oxide nanoparticles in synthesis, luminescence and biomedical studies: a review. *J. Rare Earths.* **33**, 791–799. [https://doi.org/10.1016/S1002-0721\(14\)60486-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0721(14)60486-5).
31. I. Celardo, J. Z. Pedersen, E. Traversa, and L. Ghibelli (2011). Pharmacological potential of cerium oxide nanoparticles. *Nanoscale*. **3**, 1411–1420. <https://doi.org/10.1039/C0NR00875C>.
32. A. Y. Estevez and J. S. Erlichman (2014). The potential of cerium oxide nanoparticles (nanoceria) for neurodegenerative disease therapy. *Nanomaterials* **9**, 1437–1440. <https://doi.org/10.2217/NNM.14.87>.
33. M. Khan, Z. U. R. Mashwani, M. Ikram, N. I. Raja, A. H. Mohamed, G. Ren, and A. A. Omar (2022). Efficacy of Green Cerium Oxide Nanoparticles for Potential Therapeutic Applications: Circumstantial Insight on Mechanistic Aspects. *Nanomater.* **12**, 2117. <https://doi.org/10.3390/NANO12122117>.
34. A. C. Sajeevan and V. Sajith (2013). Diesel engine emission reduction using catalytic nanoparticles: An experimental investigation. *J. Eng.* <https://doi.org/10.1155/2013/589382>.
35. A. Corma, P. Atienzar, H. García, and J. Y. (2004). Chane-Ching. Hierarchically mesostructured doped CeO₂ with potential for solar-cell use. *Nat. Mater.* **3**(6), 394–397. <https://doi.org/10.1038/nmat1129>.
36. V. K. Ivanov, A. B. Shcherbakov, and A. V. Usatenko (2009). Structure-sensitive properties and biomedical applications of nanodispersed cerium dioxide. *Russ. Chem. Rev.* **78**, 855–871. <https://doi.org/10.1070/RC2009V078N09ABEH004058/XML>.
37. M. Hosseini and M. Mozafari (2020). Cerium Oxide Nanoparticles: Recent Advances in Tissue Engineering. *Mater.* **13**, 3072. <https://doi.org/10.3390/MA13143072>.
38. S. Rajeshkumar and P. Naik (2018). Synthesis and biomedical applications of Cerium oxide nanoparticles – A Review. *Biotechnol. Reports.* **17**, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.BTRE.2017.11.008>.
39. M. Nadeem, R. Khan, K. Afridi, A. Nadhman, S. Ullah, S. Faisal, Z. U. Mabood, C. Hano, and B. H. Abbasi (2020). Green Synthesis of Cerium Oxide Nanoparticles (CeO₂ NPs) and Their Antimicrobial Applications: A Review. *Int. J. Nanomedicine.* **15**, 5951–5961. <https://doi.org/10.2147/IJN.S255784>.

40. M. Sprynskyy, P. Pomastowski, M. Hornowska, A. Król, K. Rafińska, and B. Buszewski (2017). Naturally organic functionalized 3D biosilica from diatom microalgae. *Mater. Des.* **132**, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2017.06.044>.
41. A. P. Nowak, M. Sprynskyy, W. Brzozowska, and A. Lisowska-Oleksiak (2019). Electrochemical behavior of a composite material containing 3D-structured diatom biosilica. *Algal Res.* **41**, 101538. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101538>.
42. A. P. Nowak, M. Sprynskyy, I. Wojtczak, K. Trzciniński, J. Wysocka, M. Szkoda, B. Buszewski, and A. Lisowska-Oleksiak (2020). Diatoms Biomass as a Joint Source of Biosilica and Carbon for Lithium-Ion Battery Anodes. *Mater.* **13**, 1673. <https://doi.org/10.3390/MA13071673>.
43. W. Brzozowska, I. Wojtczak, V. Railean, Z. Bekissanova, G. Trykowski, B. Buszewski, and M. Sprynskyy (2023). Pyrolyzed Diatomaceous Biomass Doped with Epitaxially Growing Hybrid Ag/TiO₂ Nanoparticles: Synthesis Characterisation and Antibacterial Application. *Mater.* **16**, 4345. <https://doi.org/10.3390/MA16124345>.
44. W. He, H. K. Kim, W. G. Wamer, D. Melka, J. H. Callahan, and J. J. Yin (2014). Photogenerated charge carriers and reactive oxygen species in ZnO/Au hybrid nanostructures with enhanced photocatalytic and antibacterial activity. *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 750–757. https://doi.org/10.1021/JA410800Y/SUPPL_FILE/JA410800Y_SI_001.PDF.
45. S. S. D. Kumar, N. K. Rajendran, N. N. Houreld, and H. Abrahamse (2018). Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer-based biomaterials for wound healing applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **115**, 165–175. <https://doi.org/10.1016/j.IJBIOMAC.2018.04.003>.
46. P. Kanmani and J. W. Rhim (2014). Physical, mechanical and antimicrobial properties of gelatin based active nanocomposite films containing AgNPs and nanoclay. *Food Hydrocoll.* **35**, 644–652. <https://doi.org/10.1016/j.FOODHYD.2013.08.011>.
47. Z. Bekissanova, V. Railean, W. Brzozowska, I. Wojtczak, A. Ospanova, B. Buszewski, and M. Sprynskyy (2022). Synthesis, characterization of silver/kaolinite nanocomposite and studying its antibacterial activity. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* **220**, 112908. <https://doi.org/10.1016/j.COLSURFB.2022.112908>.
48. K. Wang, P. Su, H. Li, Y. Wu, D. Zhang, H. Feng, and H. Fan (2019). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of hybrid-structured Ag@CeO₂ nanoparticles. *Chem. Pap.* **73**, 1279–1286. <https://doi.org/10.1007/S11696-019-00681-5/METRICS>.
49. P. Latha, K. Prakash, and S. Karuthapandian (2018). Effective Photodegradation of CR & MO dyes by morphologically controlled Cerium oxide nanocubes under visible light illumination. *Optik (Stuttg)*. **154**, 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.IJLEO.2017.10.054>.
50. U. Arellano, J. A. Wang, L. M. Balcázar, L. Chen, J. Salmones, S. Solís, M. Asomoza, J. González, U. Arellano, J. A. Wang, L. M. Balcázar, L. Chen, J. Salmones, S. Solís, M. Asomoza, and J. González (2020). Ag/CeO₂/SBA-15 hybrid catalysts for the elimination of E. coli in potable water system. *J Appl. Res. Technol.* **18**, 315–332. <https://doi.org/10.22201/ICAT.24486736E.2020.18.5.1285>.
51. S. Patil, A. Sandberg, E. Heckert, W. Self, and S. Seal (2007). Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential. *Biomaterials.* **28**, 4600–4607. <https://doi.org/10.1016/j.BIOMATERIALS.2007.07.029>.
52. K. A. Lozovoy, A. G. Korotaev, A. P. Kokhanenko, V. V. Dirko, and A. V. Voitsekhoyskii (2020). Kinetics of epitaxial formation of nanostructures by Frank–van der Merwe, Volmer–Weber and Stranski–Krastanow growth modes. *Surf. Coatings Technol.* **384**, 125289. <https://doi.org/10.1016/j.SURFCOAT.2019.125289>.
53. G. Murugadoss, D. D. Kumar, M. R. Kumar, N. Venkatesh, and P. Sakthivel (2021). Silver decorated CeO₂ nanoparticles for rapid photocatalytic degradation of textile rose bengal dye. *Sci. Reports.* **11** (1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79993-6>.
54. E. Murugan, S. Santhosh Kumar, and A. Raman (2018). Synthesis of Ag nanoparticles decorated CeO₂ nanocomposite material for effective SERS analysis. *Adv. Mater. Proc.* **3**, 112–117. <https://doi.org/10.5185/AMP.2018/870>.
55. E. Stewart, M. S. Bhuiyan, S. Sathyamurthy, and M. Paranthaman (2006). Studies of solution deposited cerium oxide thin films on textured Ni-alloy substrates for YBCO superconductor. *Mater. Res. Bull.* **41**, 1063–1068. <https://doi.org/10.1016/J.MATERRESBULL.2005.11.015>.
56. M. I. Nandasiri, P. Nachimuthu, T. Varga, V. Shuththanandan, W. Jiang, S. V. N. T. Kuchibhatla, S. Thevuthasan, S. Seal, and A. Kayani (2011). Influence of growth rate on the epitaxial orientation and crystalline quality of CeO₂ thin films grown on Al₂O₃(0001). *J. Appl. Phys.* **109**, 013525. <https://doi.org/10.1063/1.3525558>.
57. N. Durán, G. Nakazato, and A. B. Seabra (2016). Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100** (15), 6555–6570. <https://doi.org/10.1007/S00253-016-7657-7>.
58. Á. G. Aponte, M. A. L. Ramírez, Y. C. Mora, J. F. S. Marín, R. B. Sierra, Á. G. Aponte, M. A. L. Ramírez, Y. C. Mora, J. F. S. Marín, and R. B. Sierra (2020). Cerium oxide nanoparticles for color removal of indigo carmine and methylene blue solutions. *AIMS Mater. Sci.* **4** (7), 468–485. <https://doi.org/10.3934/MATERSCI.2020.4.468>.
59. L. A. P. Gontijo, E. Raphael, D. P. S. Ferrari, J. L. Ferrari, J. P. Lyon, and M. A. Schiavon (2020). pH effect on the synthesis of different size silver nanoparticles evaluated by dls and their size-dependent antimicrobial activity. *Rev. Mater.* **25**, 1–10. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620200004.1145/REFERENCENES>.
60. X. Dong, X. Ji, H. Wu, L. Zhao, J. Li, and W. Yang (2009). Shape control of silver nanoparticles by stepwise citrate reduction. *J. Phys. Chem. C.* **113**, 6573–6576. https://doi.org/10.1021/JP900775B/SUPPL_FILE/JP900775B_SI_001.PDF.
61. I. N. Bazhukova, S. Y. Sokovnin, V. G. Ilves, A. V. Myshkina, R. A. Vazirov, N. Pizurova, and V. V. Kasyanova (2019). Luminescence and optical properties of cerium oxide nanoparticles. *Opt. Mater. (Amst)* **92**, 136–142. <https://doi.org/10.1016/J.OPTMAT.2019.04.021>.
62. R. C. Deus, C. R. Foschini, B. Spitova, F. Moura, E. Longo, and A. Z. Simões (2014). Effect of soaking time on the photoluminescence properties of cerium oxide nanoparticles. *Ceram. Int.* **40**, 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2013.06.043>.
63. R. C. Deus, J. A. Cortés, M. A. Ramirez, M. A. Ponce, J. Andres, L. S. R. Rocha, E. Longo, and A. Z. Simões (2015). Photoluminescence properties of cerium oxide nanoparticles as a function of lanthanum content. *Mater. Res. Bull.* **70**, 416–423. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2015.05.006>.
64. G. Wang, Q. Mu, T. Chen, and Y. Wang (2010). Synthesis, characterization and photoluminescence of CeO₂ nanoparticles by a facile method at room temperature. *J. Alloys Compd.* **493**, 202–207. <https://doi.org/10.1016/J.JALLCOM.2009.12.053>.
65. E. O. Mikhailova (2020). Silver Nanoparticles: Mechanism of Action and Probable Bio-Application. *J. Funct. Biomater.* **11** (4), 84. <https://doi.org/10.3390/JFB11040084>.
66. I. L. Hsiao, Y. K. Hsieh, C. F. Wang, I. C. Chen, and Y. J. Huang (2015). Trojan-horse mechanism in the cellular uptake of silver nanoparticles verified by direct intra- and extracellular silver speciation analysis. *Environ. Sci. Technol.* **49**, 3813–3821.

- https://doi.org/10.1021/ES504705P/SUPPL_FILE/ES504705P_SI_001.PDF.
67. P. Maleki, F. Nemati, A. Gholoobi, A. Hashemzadeh, Z. Sabouri, and M. Darroudi (2021). Green facile synthesis of silver-doped cerium oxide nanoparticles and investigation of their cytotoxicity and antibacterial activity. *Inorg. Chem. Commun.* **131**, 108762. <https://doi.org/10.1016/J.INOCHE.2021.108762>.
68. A. Ahmad, M. S. Javed, S. Khan, T. M. Almutairi, A. A. A. Mohammed, and R. Luque (2023). Green synthesized Ag decorated CeO₂ nanoparticles: Efficient photocatalysts and potential antibacterial agents. *Chemosphere.* **310**, 136841. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.136841>.

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Terms and Conditions

Springer Nature journal content, brought to you courtesy of Springer Nature Customer Service Center GmbH ("Springer Nature").

Springer Nature supports a reasonable amount of sharing of research papers by authors, subscribers and authorised users ("Users"), for small-scale personal, non-commercial use provided that all copyright, trade and service marks and other proprietary notices are maintained. By accessing, sharing, receiving or otherwise using the Springer Nature journal content you agree to these terms of use ("Terms"). For these purposes, Springer Nature considers academic use (by researchers and students) to be non-commercial.

These Terms are supplementary and will apply in addition to any applicable website terms and conditions, a relevant site licence or a personal subscription. These Terms will prevail over any conflict or ambiguity with regards to the relevant terms, a site licence or a personal subscription (to the extent of the conflict or ambiguity only). For Creative Commons-licensed articles, the terms of the Creative Commons license used will apply.

We collect and use personal data to provide access to the Springer Nature journal content. We may also use these personal data internally within ResearchGate and Springer Nature and as agreed share it, in an anonymised way, for purposes of tracking, analysis and reporting. We will not otherwise disclose your personal data outside the ResearchGate or the Springer Nature group of companies unless we have your permission as detailed in the Privacy Policy.

While Users may use the Springer Nature journal content for small scale, personal non-commercial use, it is important to note that Users may not:

1. use such content for the purpose of providing other users with access on a regular or large scale basis or as a means to circumvent access control;
2. use such content where to do so would be considered a criminal or statutory offence in any jurisdiction, or gives rise to civil liability, or is otherwise unlawful;
3. falsely or misleadingly imply or suggest endorsement, approval, sponsorship, or association unless explicitly agreed to by Springer Nature in writing;
4. use bots or other automated methods to access the content or redirect messages
5. override any security feature or exclusionary protocol; or
6. share the content in order to create substitute for Springer Nature products or services or a systematic database of Springer Nature journal content.

In line with the restriction against commercial use, Springer Nature does not permit the creation of a product or service that creates revenue, royalties, rent or income from our content or its inclusion as part of a paid for service or for other commercial gain. Springer Nature journal content cannot be used for inter-library loans and librarians may not upload Springer Nature journal content on a large scale into their, or any other, institutional repository.

These terms of use are reviewed regularly and may be amended at any time. Springer Nature is not obligated to publish any information or content on this website and may remove it or features or functionality at our sole discretion, at any time with or without notice. Springer Nature may revoke this licence to you at any time and remove access to any copies of the Springer Nature journal content which have been saved.

To the fullest extent permitted by law, Springer Nature makes no warranties, representations or guarantees to Users, either express or implied with respect to the Springer nature journal content and all parties disclaim and waive any implied warranties or warranties imposed by law, including merchantability or fitness for any particular purpose.

Please note that these rights do not automatically extend to content, data or other material published by Springer Nature that may be licensed from third parties.

If you would like to use or distribute our Springer Nature journal content to a wider audience or on a regular basis or in any other manner not expressly permitted by these Terms, please contact Springer Nature at

onlineservice@springernature.com

5. Podsumowanie i wnioski

W ramach przeprowadzonych badań skoncentrowano się na innowacyjnych procesach metabolicznego domieszkowania oraz chemicznej modyfikacji jonami Ce, Tb oraz Ag biokrzemionki okrzemkowej, pozyskanej z hodowli okrzemek gatunku *Pseudostaurosira trainorii* w warunkach laboratoryjnych. Zaprojektowane metody syntezy umożliwiły otrzymanie zaawansowanych 3D mikro-nanostrukturyzowanych kompozytów, które zintegrowały unikatowe właściwości biokrzemionki z funkcjonalnymi właściwościami domieszkowanych elementów (nanocząstek tlenku ceru(IV), tlenków terbu, mieszanego tlenku ceru i terbu oraz hybrydowego połączenia nanocząstek metalicznego srebra, chlorków srebra i tlenku ceru.

[P1] Metaboliczne domieszkowanie jonami ceru hodowanych komórek okrzemek z gatunku *Pseudostaurosira trainorii* zostało skutecznie zrealizowane. Po raz pierwszy uzyskano trójwymiarową mikro-nanostrukturalną amorficzną biokrzemionkę funkcjonalizowaną nanocząstkami tlenku ceru, wykorzystując metodę biosyntezy z udziałem jednokomórkowych mikroalg (okrzemek) zdolnych do metabolicznego wchłaniania i osadzania ceru z medium hodowlanego na ich krzemionkowym egzozskieście ("biokrzemionce okrzemkowej"). Uzyskano kompozyt (Ce-DBioSiO₂), który łączy unikalne właściwości strukturalne i foniczne biokrzemionki okrzemkowej z funkcjonalnością immobilizowanych nanocząstek CeO₂. Biokrzemionka okrzemkowa domieszkowana tlenkiem ceru(IV) charakteryzuje się równomiernym rozmieszczeniem utworzonych nanoklastrów (około 100 nm) nanocząstek CeO₂ (10-25 nm) o nieregularnym, quasi-sześciennym kształcie. Wyniki analizy XRD potwierdziły obecność krystalicznych form CeO₂NPs z niewielką deformacją sieci krystalicznej, która prawdopodobnie mogła być spowodowana oczyszczeniem biokrzemionki z części organicznej za pomocą nadtlenu wodoru. Obróbka biomasy okrzemek prowadzona z wykorzystaniem H₂O₂, mogła być również przyczyną dwukrotnego wzrostu uwodnienia biokrzemionki z domieszką CeO₂ w porównaniu do niedomieszkowanej biokrzemionki, co zostało ustalone za pomocą analizy termogravimetrycznej. Kompozyt Ce-DBioSiO₂ wykazuje intensywną fluorescencję w obszarze niebieskim pod wpływem promieniowania UV oraz intensywną emisję up-konwersyjną w obszarze niebieskim przy wzbudzeniu 800 nm w bliskiej podczerwieni za pomocą lampy ksenonowej w temperaturze pokojowej i atmosferze otoczenia. Zsyntetyzowany kompozyt

10%Ce-DBioSiO₂ jest obiecującym materiałem do ogniw słonecznych, fotokatalizy, rekultywacji środowiska i biomedycyny.

[P2] Kompozyty biokrzemionki krzemkowej funkcjonalizowane nanocząstkami tlenku terbu (Tb_xO_y) i nanocząstkami mieszanego tlenku ceru i terbu [(Ce,Tb)O₂] zostały zsyntetyzowane po raz pierwszy za pomocą metody impregnacji. Nanocząstki tlenku terbu i nanocząstki mieszanego tlenku ceru i terbu, o wielkości od 5 do 10 nm, tworzą cienkowarstwowe skupiska ("piankową" sieć) na powierzchni okrzemkowych panczyków (biokrzemionki). Zakłada się, że grupy silanolowe (Si-OH) biokrzemionki okrzemek promują agregację nanocząstek, podczas gdy grupy siloksanowe (Si-O-Si) hamują wzrost pojedynczych nanocząstek. Efekty bliźniacze zaobserwowano dla klasterowych skupisk nanocząstek mieszanego tlenku Ce-Tb. Polifazowa struktura quasi-kryształiczna została potwierdzona dla nanocząstek terbu. Wyniki XRD sugerują obecność różnych faz tlenków terbu, zarówno krystalicznych (Tb₄O₇; Tb_xO_y; Tb₂O₃), jak i quasi-amorficznych, w strukturze poszczególnych nanocząstek terbu. Natomiast nanocząstki mieszanego tlenku Ce-Tb występują w postaci krystalicznej przypisywanej symetrii sześcienniej struktury fluorytu (grupa przestrzenna Fm3m). Wyniki analizy termogravimetrycznej wskazują na wyjątkowo wysoką termostabilność (do 1000°C) i hydrofobowość) zsyntetyzowanych kompozytów z udziałem tlenków lantanowców. Niezwykła hydrofobowość biokrzemionki okrzemkowej jest spowodowana obecnością domieszkowanych nanocząstek tlenków lantanowców, z ich naturalną ekstremalną hydrofobowością wynikającą z ich unikalnej struktury elektronowej, która zapobiega wiązaniu wodoru z cząsteczkami wody. Ujawnia to potencjał do produkcji stabilnych w wysokich temperaturach i hydrofobowych materiałów ceramicznych na bazie krzemionki. W widmach FTIR uzyskanych dla kompozytów całkowicie zanikają pasma w zakresie 3000-3500 cm⁻¹ (O-H), 1635 cm⁻¹ (H-O-H) i 945 cm⁻¹ (Si-OH), co wskazuje na transformację formy hydrofilowej biokrzemionki w hydrofobową w wyniku domieszkowania terbu i ceru. Wykryte pasmo FTIR przy 450 cm⁻¹, należące do drgań wiązań Ce - O - Ce i Tb - O - Tb, może również sugerować zwarte połączenie tlenku terbu i ceru z grupami siloksanowymi biokrzemionki Si-O-Si. Zsyntetyzowane kompozyty wykazują powinowactwo do intensywnej absorpcji promieniowania ultrafioletowego w zakresie długości fal 250-350 nm, przy czym kompozyty zawierające nanocząstki mieszanego tlenku ceru i terbu wykazują znacznie większą intensywność absorpcji. Kompozyty charakteryzują się intensywną fluorescencją w szerokim spektrum światła widzialnego, w szczególności w zakresie długości fal 350-500 nm (fioletowo-

niebieski), przy czym wyższą intensywność emisji obserwuje się w kompozytach domieszkowanych terbem. Ponadto, kompozyty wykazują intensywną fluorescencję anty-Stokesa w wąskim zakresie światła widzialnego (indygo) przy wzbudzeniu promieniowaniem o długości fali 800 nm. Wyniki charakterystyki zsyntetyzowanych kompozytów czynią je obiecującymi materiałami do potencjalnych zastosowań takich jak: ogniwa słoneczne, znakowanie fluorescencyjne, termokataliza, elektrokataliza, fotokataliza, detekcja gazów, biomedycyna i optoelektronika.

[P3] Zaproponowana metoda syntezy innowacyjnych kompozytów na matrycy z biokrzemionki okrzemkowej domieszkowanej heteroepitaksjalnie wzrastającymi nanocząstkami kompozytowymi Ag/AgCl/CeO₂ powiodła się, co zostało zaprezentowane wynikami szeregu przeprowadzonych badań instrumentalnych. Wyniki analizy SEM-EDX wykazały homogeniczny rozkład pierwiastków zarówno srebra jak i ceru w matrycy biokrzemionkowej z zawartością srebra w ilości 2,3-4,7% i ceru – 2,5-6,3%. Wyniki analizy XRD potwierdziły obecność w przygotowanych kompozytach fazy mineralnej opalu-A oraz metalicznego srebra, chlorku srebra i tlenku ceru(IV). Wyniki analizy TEM pozwalają na wysunięcie hipotezy potwierdzającej heteroepitaksjalny charakter formowania się hybrydowych nanocząstek chlorku srebra, metalicznego srebra i tlenku ceru(IV) na powierzchni biokrzemionki okrzemkowej. Ponadto, zgodnie z uzyskanymi wynikami, można postawić hipotezę, że badania te rzucą dalsze światło na odkrywanie skutecznych i bezpiecznych bioaktywnych nanokompozytów do zastosowań farmaceutycznych (np. infekcji skóry). Jednakże do tego wymagane są zaawansowane badania medyczne.

6. Oświadczenia współautorów



UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Chemii



UCZELNIA
BADAWCZA
INICJATYWA DOŚKONALOŚCI

Toruń, 23.04.2024r.

Mgr Izabela Wojtczak
Wydział Chemii,
Katedra Chemii Środowiska i Bioanalityki,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

OŚWIADCZENIE

Ja, niżej podpisana, zobowiązuję się do systematycznego informowania Biura Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych (*Academia Scientiarum Thoruniensis*) oraz Przewodniczącego Rady Dyscypliny Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o wszelkich aktualizacjach dotyczących statusu moich publikacji naukowych. Zobowiązuję się do natychmiastowego powiadomienia o wszelkich zmianach w procesie publikacyjnym prac [P1] oraz [P2], włączając w to etap recenzji, akceptację publikacji oraz jej ostateczne wydanie.

Izabela Wojtczak
.....
(podpis osoby składającej oświadczenie)



Toruń, 23.04.2024r.

Dr hab. inż. Myrosław Sprynskyy, prof. UMK
Wydział Chemii,
Katedra Chemii Środowiska i Bioanalitiky,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

OŚWIADCZENIE

W związku z ubieganiem się Pani mgr Izabeli Wojtczak o stopień doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne oświadczam, że w pracy:

[P1] Dotyczącej funkcjonalizacji biokrzemionki okrzemkowej nanocząstkami tlenku ceru(IV) poprzez proces metabolicznej insercji, mój wkład polegał na: kształtowaniu koncepcji badawczej, redagowaniu oraz recenzowaniu tekstu, opracowaniu metodologii, nadzorowaniu nad całością pracy oraz potwierdzaniu wiarygodności wyników.

[P2] Dotyczącej otrzymywania nanokompozytów biokrzemionki okrzemkowej modyfikowanej nanocząstkami mieszanego tlenku Ce-Tb i quasi-krystalicznymi nanocząstkami tlenków Tb, mój wkład polegał na: definiowaniu głównych celów oraz zadań eksperymentu, procesie redakcyjnym, opracowaniu metodologii, zarządzaniu zasobami, nadzorowaniu nad projektem oraz walidacji wyników.

[P3] Wojtczak, Izabela & Brzozowska, Weronika & Railean, Viorica & Bekissanova, Zhanar & Trykowski, Grzegorz & Sprynskyy, Myrosław. (2023). *Diatomaceous Biosilica Doped with Heteroepitaxially Growing Ag/AgCl/CeO₂ Composite Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application*. Journal of Cluster Science. 35. 1-14. 10.1007/s10876-023-02492-x.

Mój wkład polegał na: recenzowaniu i edycji tekstu, rozwijaniu koncepcji badawczych, opracowywaniu metodologii, zapewnieniu zasobów, nadzorowaniu prac oraz potwierdzeniu poprawności wyników.

(podpis osoby składającej oświadczenie)

Bydgoszcz, 23.04.2024r.

Dr Weronika Brzozowska
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej,
Zakład Fizykochemii Powierzchni,
Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich,
ul. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

OŚWIADCZENIE

W związku z ubieganiem się Pani mgr Izabeli Wojtczak o stopień doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne oświadczam, że w pracy:

[P1] dotyczącej funkcjonalizacji biokrzemionki okrzemkowej nanocząstkami tlenu ceru(IV) poprzez proces metabolicznej insercji, mój wkład polegał na: tworzeniu wizualizacji wyników, przeprowadzaniu szczegółowych badań oraz redagowaniu i korekcie manuskryptu.

[P2] dotyczącej otrzymywania nanokompozytów biokrzemionki okrzemkowej modyfikowanej nanocząstkami mieszanego tlenu Ce-Tb i quasi-krystalicznymi nanocząstkami tlenków Tb, mój wkład polegał na: tworzeniu grafik, aktywnym uczestnictwie w części badawczej oraz procesie pisania, recenzowania i edytowania tekstu.

[P3] Wojtczak, Izabela & Brzozowska, Weronika & Railean, Viorica & Bekissanova, Zhanar & Trykowski, Grzegorz & Sprynskyy, Myroslav. (2023). *Diatomaceous Biosilica Doped with Heteroepitaxially Growing Ag/AgCl/CeO₂ Composite Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application*. Journal of Cluster Science. 35. 1-14. 10.1007/s10876-023-02492-x.

Mój wkład polegał na: graficznej prezentacji wyników badań i analizie zgromadzonych danych.



(podpis osoby składającej oświadczenie)



UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Chemii



Toruń, 23.04.2024r.

Dr Grzegorz Trykowski
Wydział Chemii,
Katedra Chemii Materiałów, Adsorpcji i Katalizy,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

OŚWIADCZENIE

W związku z ubieganiem się Pani mgr Izabeli Wojtczak o stopień doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne oświadczam, że w pracy:

[P1] Dotyczącej funkcjonalizacji biokrzemionki okrzemkowej nanocząstkami tlenku ceru(IV) poprzez proces metabolicznej insercji, mój wkład polegał na: wykonaniu analizy TEM oraz na tworzeniu koncepcji wizualizacji wyników.

[P2] Dotyczącej otrzymywania nanokompozytów biokrzemionki okrzemkowej modyfikowanej nanocząstkami mieszanego tlenku Ce-Tb i quasi-krystalicznymi nanocząstkami tlenków Tb, mój wkład polegał na: wykonaniu analizy TEM oraz na tworzeniu koncepcji wizualizacji wyników.

[P3] Wojtczak, Izabela & Brzozowska, Weronika & Railean, Viorica & Bekissanova, Zhanar & Trykowski, Grzegorz & Sprynsky, Myroslav. (2023). *Diatomaceous Biosilica Doped with Heteroepitaxially Growing Ag/AgCl/CeO₂ Composite Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application*. Journal of Cluster Science. 35. 1-14. 10.1007/s10876-023-02492-x.

Mój wkład polegał na: wykonaniu analizy TEM oraz omówieniu uzyskanych wyników i weryfikacji ich poprawności.


.....
(podpis osoby składającej oświadczenie)



UNIwersytet
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Nauk Biologicznych
i Weterynaryjnych

23/04/2024
Toruń,

Dr. Viorica Railean

Faculty of Biological and Veterinary Sciences
Institute of Veterinary Medicine
Department of Infectious, Invasive Diseases and Veterinary Administration,
ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń
Interdisciplinary Center of Modern Technologies
Nicolaus Copernicus University in Toruń
ul. Wileńska 4, 87-100 Toruń

STATEMENT

As a co-author of the following publication:

[P3] Wojtczak Izabela, Brzozowska Weronika, **Railean, Viorica**, Bekissanova Zhanar, Trykowski Grzegorz, Sprynskyy Myroslav. (2023). *Diatomaceous Biosilica Doped with Heteroepitaxially Growing Ag/AgCl/CeO₂ Composite Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application*. Journal of Cluster Science. 35. 1-14. <https://doi.org/10.1007/s10876-023-02492-x>.

part of doctoral dissertation of Mrs. Izabeli Wojtczak MSc, I declare that my involvement has included cooperation in preparation of antimicrobial activity section along with the development in results visualization.

.....
(signature of the person making the statement)

23.04.2024r.

Zhanar Bekissanova

Department of Physical Chemistry, Catalysis and Petrochemistry,

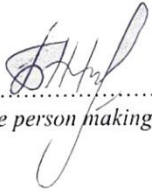
Al-Farabi Kazakh National University,

71 al-Farabi Ave., Almaty, Republic of Kazakhstan

DECLARATION

In connection with the application of Ms Izabela Wojtczak, M.Sc., for the award of a doctoral degree in the field of exact sciences in the discipline of chemical sciences, I declare that my contribution to the work related to my doctoral dissertation :

[P2] concerning the preparation of nanocomposites with diatom biosilica modified with mixed Ce-Tb oxide nanoparticles and quasi-crystalline Tb oxide nanoparticles and [P3] Wojtczak, Izabela & Brzozowska, Weronika & Railean, Viorica & Bekissanova, Zhanar & Trykowski, Grzegorz & Sprynskyy, Myroslav. (2023). *Diatomaceous biosilica doped with heteroepitaxially grown Ag/AgCl/CeO₂ composite nanoparticles: Synthesis, characterisation and antimicrobial application*. Journal of Cluster Science. 35. 1-14. 10.1007/s10876-023-02492-x, was associated with participating in synthesising the materials discussed and collecting data necessary for the broad characterisation of the composites obtained.


.....
(signature of the person making the declaration)



UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Chemii



UCZELNIA
BADAWCZA
INICJATYWA DROGOWA

Toruń, 23.04.2024r.

Prof. Dr hab. Borys Ośmiałowski
Wydział Chemii,
Katedra Chemii Organicznej,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

OŚWIADCZENIE

W związku z ubieganiem się Pani mgr Izabeli Wojtczak o stopień doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne oświadczam, że w pracy:

[P1] Dotyczącej funkcjonalizacji biokrzemionki krzemkowej nanocząstkami tlenku ceru(IV) poprzez proces metabolicznej insercji, [P2] dotyczącej otrzymywania nanokompozytów biokrzemionki krzemkowej modyfikowanej nanocząstkami mieszanego tlenku Ce-Tb i quasi-kryształicznymi nanocząstkami tlenków Tb, oraz [P3] Wojtczak, Izabela & Brzozowska, Weronika & Railean, Viorica & Bekissanova, Zhanar & Trykowski, Grzegorz & Sprynskyy, Myroslav. (2023). *Diatomaceous Biosilica Doped with Heteroepitaxially Growing Ag/AgCl/CeO₂ Composite Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application*. Journal of Cluster Science. 35. 1-14. 10.1007/s10876-023-02492-x, mój wkład polegał na udostępnieniu aparatury, prowadzeniu dyskusji oraz proponowaniu nowych rozwiązań i metod optymalizacji, które usprawniły analizę właściwości fotoluminescencyjnych materiałów opracowanych przez mgr Izabelę Wojtczak, przyczyniając się do poprawy jakości wyników.

(podpis osoby składającej oświadczenie)



UNIwersYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Chemii



UCZELNIA
BADAWCZA
INICJATYWA DOBROCI

Toruń, 23.04.2024r.

Mgr Patryk Rybczyński
Wydział Chemii,
Katedra Chemii Organicznej,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

OŚWIADCZENIE

W związku z ubieganiem się Pani mgr Izabeli Wojtczak o stopień doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne oświadczam, że w pracy:

[P1] Dotyczącej funkcjonalizacji biokrzemionki okrzemkowej nanocząstkami tlenku ceru(IV) poprzez proces metabolicznej insercji, [P2] dotyczącej otrzymywania nanokompozytów biokrzemionki okrzemkowej modyfikowanej nanocząstkami mieszanego tlenku Ce-Tb i quasi-kryształicznymi nanocząstkami tlenków Tb, oraz [P3] Wojtczak, Izabela & Brzozowska, Weronika & Railean, Viorica & Bekissanova, Zhanar & Trykowski, Grzegorz & Sprynskyy, Myroslav. (2023). *Diatomaceous Biosilica Doped with Heteroepitaxially Growing Ag/AgCl/CeO₂ Composite Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application*. Journal of Cluster Science. 35. 1-14. 10.1007/s10876-023-02492-x, mój wkład polegał na zapoznaniu magistrantki z działaniem aparatu i stosowanym do niego oprogramowaniem, prowadzeniu dyskusji oraz proponowaniu nowych rozwiązań, które usprawniły analizę właściwości fotoluminescencyjnych materiałów opracowanych przez mgr Izabelę Wojtczak.

Patryk Rybczyński
.....
(podpis osoby składającej oświadczenie)

7. Streszczenie rozprawy

7.1. Streszczenie w języku polskim

Tematyka rozprawy doktorskiej koncentrowała się na innowacyjnym podejściu do tworzenia nanokompozytów wykorzystując biokrzemionkę okrzemkową funkcjonalizowaną nanocząstkami tlenków metali ziem rzadkich (Ce, Tb) oraz nanocząstkami srebra. Praca łączy interdyscyplinarne podejście z zakresu chemii, biologii i nanotechnologii, dążąc do stworzenia nowych materiałów z potencjalnym zastosowaniem aplikacyjnym.

Po raz pierwszy uzyskano trójwymiarową mikro-nanostrukturalną amorficzną biokrzemionkę funkcjonalizowaną nanocząstkami tlenku ceru, wykorzystując metodę biosyntezy z udziałem jednokomórkowych mikroalg (okrzemek) zdolnych do metabolicznego wchłaniania i osadzania ceru z medium hodowlanego na ich krzeminkowym pancerzyku (biokrzemionce okrzemkowej). Optymalizacja procesu metabolicznego domieszkowania biokrzemionki cerem polegała na badaniu wpływu różnych warunków hodowli, w tym pH, składu pożywki oraz stosunku domieszkowanych pierwiastków. Uzyskany kompozyt (Ce-DBioSiO₂) charakteryzuje się równomiernym rozmieszczeniem utworzonych nanoklastrów (około 100 nm) nanocząstek CeO₂ (10-25 nm) o nieregularnym, quasi-sześciennym kształcie. Wykryta (XRD) niewielka deformacja sieci krystalicznej tlenku ceru jak również dwukrotny wzrost hydratacji biokrzemionki (TGA) wynika z prawdopodobnego wpływu nadtlenu wodoru stosowanego na etapie oczyszczania domieszkowanej biokrzemionki z części organicznej. Kompozyt Ce-DBioSiO₂ wykazuje intensywną fluorescencję w obszarze niebieskim pod wpływem promieniowania UV oraz intensywną emisję up-konwersyjną w obszarze niebieskim przy wzbudzeniu 800 nm za pomocą lampy ksenonowej w temperaturze pokojowej i atmosferze otoczenia.

Kompozyty biokrzemionki okrzemkowej funkcjonalizowane nanocząstkami tlenków terbu (Tb_xO_y) i nanocząstkami mieszanego tlenku ceru i terbu (Ce,Tb)O₂ zostały zsyntetyzowane po raz pierwszy. Nanocząstki tlenków terbu i nanocząstki mieszanego tlenku ceru i terbu, o wielkości od 5 do 10 nm, tworzą cienkowarstwowe skupiska ("piankową" sieć) na powierzchni okrzemkowych pancerzyków (biokrzemionki). Efekty bliźniacze zaobserwowano dla klasterowych skupisk nanocząstek mieszanego tlenku Ce-Tb. Polifazowa struktura quasi-krystaliczna została potwierdzona dla nanocząstek

terbu. Kompozyty ($Tb_xO_y/DBioSiO_2$ oraz $(Ce,Tb)O_2/DBioSiO_2$) wykazują wyjątkowo wysoką termostabilność (do $1000^\circ C$) i hydrofobowość oraz powinowactwo do intensywnej absorpcji promieniowania ultrafioletowego w zakresie długości fal 250-350 nm. Kompozyty charakteryzują się intensywną fluorescencją w zakresie długości fal 350-500 nm (fioletowo-niebieski) oraz intensywną fluorescencją anty-Stokesa w wąskim zakresie światła widzialnego (indygo) przy wzbudzeniu promieniowaniem o długości fali 800 nm.

Zaproponowana metoda syntezy innowacyjnych kompozytów na bazie biokrzemionki okrzemkowej domieszkowanej heteroepitaksjalnie wzrastającymi nanocząstkami kompozytowymi Ag/AgCl/CeO₂. Wyniki wykazały homogeniczny rozkład pierwiastków zarówno srebra jak i ceru w matrycy biokrzemionkowej z zawartością srebra w ilości 2 - 5% i ceru - 2 – 6%. Synergiczne właściwości tych nanocząstek, szczególnie ich działanie antybakteryjne, zostały przetestowane wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych namnażanych laboratoryjnie jak również z izolatów klinicznych, co podkreśla ich potencjalne zastosowania w terapiach stosowanych w medycynie.

Wyniki badań właściwości zsyntetyzowanych kompozytów wskazują na perspektywę ich zastosowań jako materiałów funkcyjnych w nowoczesnych technologiach takich jak: ogniwa słoneczne, znakowanie fluorescencyjne, termokataliza, elektrokataliza, fotokataliza, detekcja gazów, biomedycyna i optoelektronika.

7.2. Streszczenie w języku angielskim

The doctoral dissertation embarked on a novel path, exploring the creation of nanocomposites through the unique utilisation of diatomaceous biosilica. This innovative approach involved functionalising the biosilica with rare earth metal oxides (Ce, Tb) and silver nanoparticles. The work was a testament to the power of interdisciplinary collaboration, drawing insights from chemistry, biology, and nanotechnology to forge new materials with promising applications.

For the first time, a three-dimensional micro-nanostructured amorphous biosilica functionalised with cerium oxide nanoparticles was obtained using a biosynthesis method involving single-cell microalgae (diatoms) capable of metabolically absorbing and depositing cerium from the culture medium onto their siliceous exoskeleton (diatom biosilica). The optimisation of the metabolic process of doping biosilica with cerium involved studying the impact of various culture conditions, including pH, nutrient composition, and the ratio of doped elements. The resulting composite (Ce-DBioSiO₂) features evenly distributed nanoclusters (about 100 nm) of CeO₂ nanoparticles (10-25 nm) with an irregular, quasi-cubic shape. The detected (XRD) minor deformation of the cerium oxide's crystal lattice and the twofold increase in hydration of the biosilica (TGA) likely resulted from using hydrogen peroxide in cleaning the doped biosilica from organic parts. The Ce-DBioSiO₂ composite exhibits intense fluorescence in the blue region under UV radiation and intense up-conversion emission in the blue region when excited at 800 nm by a xenon lamp at room temperature and ambient atmosphere.

Diatomaceous biosilica composites functionalised with terbium oxide nanoparticles (TbxO_y) and mixed cerium and terbium oxide nanoparticles (Ce,Tb)O₂ have been synthesised for the first time. Terbium oxide nanoparticles and mixed cerium and terbium oxide nanoparticles, ranging from 5 to 10 nm, form thin-layer clusters ("foamy" network) on the surface of diatomaceous exoskeletons (biosilica). Twin effects were observed for cluster aggregates of mixed oxide Ce-Tb nanoparticles. A polyphasic quasi-crystalline structure was confirmed for terbium nanoparticles. The composites (TbxO_y/DBioSiO₂ and (Ce,Tb)O₂/DBioSiO₂) exhibit exceptionally high thermostability (up to 1000°C) and hydrophobicity, as well as an affinity for intense ultraviolet radiation absorption in the 250-350 nm wavelength range. The composites are characterised by intense fluorescence in the visible light spectrum, particularly in the 350-500 nm (violet-blue) range, and

intense anti-Stokes fluorescence in a narrow range of visible light (indigo) when excited by radiation at 800 nm wavelength.

A proposed synthesis method for innovative composites based on diatomaceous biosilica heteroepitaxially grown with composite nanoparticles Ag/AgCl/CeO₂. The results showed a homogeneous distribution of silver and cerium elements in the biosilica matrix with silver content ranging from 2% to 5% and cerium from 2% to 6%. The synergistic properties of these nanoparticles, especially their antibacterial action, were tested against laboratory-cultured Gram-positive and Gram-negative bacteria and clinical isolates, highlighting their potential applications in medical therapies.

The research findings on the properties of the synthesised composites open up a world of possibilities. These materials hold immense potential as functional components in cutting-edge technologies such as solar cells, fluorescent marking, thermocatalysis, electrocatalysis, photocatalysis, gas detection, biomedicine, and optoelectronics. This breadth of applications is a testament to the transformative power of nanocomposites.

8. Bibliografia

1. Filho, W.L.; Kotter, R.; Özyar, P.G.; Abubakar, I.R.; Eustachio, J.H.P.P.; Matandirotya, N.R. Understanding Rare Earth Elements as Critical Raw Materials. *Sustainability* **2023**, *15*, Page 1919 **2023**, *15*, 1919, doi:10.3390/SU15031919.
2. Khan, A.M.; Bakar, N.K.A.; Bakar, A.F.A.; Ashraf, M.A. Chemical Speciation and Bioavailability of Rare Earth Elements (REEs) in the Ecosystem: A Review. *Environmental Science and Pollution Research* **2017**, *24*, 22764–22789, doi:10.1007/S11356-016-7427-1/FIGURES/8.
3. Kegl, T.; Košak, A.; Lobnik, A.; Novak, Z.; Kralj, A.K.; Ban, I. Adsorption of Rare Earth Metals from Wastewater by Nanomaterials: A Review. *J Hazard Mater* **2020**, *386*, 121632, doi:10.1016/J.JHAZMAT.2019.121632.
4. J, C.T.; Shikha, S.; Ramesh, R. Nanotechnology: Interdisciplinary Science of Applications. *undefined* **2013**, *12*, 219–226, doi:10.5897/AJB12.2481.
5. Sarkar, B.; Mahanty, A.; Gupta, S.K.; Choudhury, A.R.; Daware, A.; Bhattacharjee, S. Nanotechnology: A next-Generation Tool for Sustainable Aquaculture. *Aquaculture* **2022**, *546*, 737330, doi:10.1016/J.AQUACULTURE.2021.737330.
6. Matteucci, F.; Giannantonio, R.; Calabi, F.; Agostiano, A.; Gigli, G.; Rossi, M. Deployment and Exploitation of Nanotechnology Nanomaterials and Nanomedicine. *AIP Conf Proc* **2018**, *1990*, 020001, doi:10.1063/1.5047755.
7. Sanchez, F.; Sobolev, K. Nanotechnology in Concrete – A Review. *Constr Build Mater* **2010**, *24*, 2060–2071, doi:10.1016/J.CONBUILDMAT.2010.03.014.
8. Rai, S.; Rai, A.; Kesharbai Lahoti Mahavidyalaya, S. Review: Nanotechnology- The Secret of Fifth Industrial Revolution and the Future of next Generation. *Nusantara Bioscience* **2015**, *7*, 61–66, doi:10.13057/NUSBIOSCI/N070201.
9. Gajanan, K.; Tijare, S.N. Applications of Nanomaterials. *Mater Today Proc* **2018**, *5*, 1093–1096, doi:10.1016/J.MATPR.2017.11.187.
10. Roduner, E. Size Matters: Why Nanomaterials Are Different. *Chem Soc Rev* **2006**, *35*, 583–592, doi:10.1039/B502142C.
11. Kaliva, M.; Vamvakaki, M. Nanomaterials Characterization. *Polymer Science and Nanotechnology: Fundamentals and Applications* **2020**, 401–433, doi:10.1016/B978-0-12-816806-6.00017-0.

12. Yina, Y.; Talapin, D. The Chemistry of Functional Nanomaterials. *Chem Soc Rev* **2013**, *42*, 2484–2487, doi:10.1039/C3CS90011H.
13. Bratovcic, A. Different Applications of Nanomaterials and Their Impact on the Environment. *International Journal of Material Science and Engineering* **2019**, *5*, 1–7, doi:10.14445/23948884/IJMSE-V5I1P101.
14. Dutta, D.; Das, B.M. Scope of Green Nanotechnology towards Amalgamation of Green Chemistry for Cleaner Environment: A Review on Synthesis and Applications of Green Nanoparticles. *Environ Nanotechnol Monit Manag* **2021**, *15*, 100418, doi:10.1016/J.ENMM.2020.100418.
15. Sur, I.; Cam, D.; Kahraman, M.; Baysal, A.; Culha, M. Interaction of Multi-Functional Silver Nanoparticles with Living Cells. *Nanotechnology* **2010**, *21*, 175104, doi:10.1088/0957-4484/21/17/175104.
16. Zhang, Y.; Zhang, K.; Ma, H. Electrochemical DNA Biosensor Based on Silver Nanoparticles/Poly(3-(3-Pyridyl) Acrylic Acid)/Carbon Nanotubes Modified Electrode. *Anal Biochem* **2009**, *387*, 13–19, doi:10.1016/J.AB.2008.10.043.
17. Yu, Z.; Wang, W.; Kong, F.; Lin, M.; Mustapha, A. Cellulose Nanofibril/Silver Nanoparticle Composite as an Active Food Packaging System and Its Toxicity to Human Colon Cells. *Int J Biol Macromol* **2019**, *129*, 887–894, doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2019.02.084.
18. Gajbhiye, S.; Sakharwade, S.; Gajbhiye, S.; Sakharwade, S. Silver Nanoparticles in Cosmetics. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications* **2016**, *6*, 48–53, doi:10.4236/JCDSA.2016.61007.
19. Syafiuddin, A. Toward a Comprehensive Understanding of Textiles Functionalized with Silver Nanoparticles. *Journal of the Chinese Chemical Society* **2019**, *66*, 793–814, doi:10.1002/JCCS.201800474.
20. Yaqoob, A.A.; Umar, K.; Ibrahim, M.N.M. Silver Nanoparticles: Various Methods of Synthesis, Size Affecting Factors and Their Potential Applications—a Review. *Applied Nanoscience* **2020**, *10*, 1369–1378, doi:10.1007/S13204-020-01318-W.
21. Wang, L.; Lu, F.; Liu, Y.; Wu, Y.; Wu, Z. Photocatalytic Degradation of Organic Dyes and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Fast Synthesized by Flavonoids Fraction of Psidium Guajava L. Leaves. *J Mol Liq* **2018**, *263*, 187–192, doi:10.1016/J.MOLLIQ.2018.04.151.

22. Marimuthu, S.; Antonisamy, A.J.; Malayandi, S.; Rajendran, K.; Tsai, P.C.; Pugazhendhi, A.; Ponnusamy, V.K. Silver Nanoparticles in Dye Effluent Treatment: A Review on Synthesis, Treatment Methods, Mechanisms, Photocatalytic Degradation, Toxic Effects and Mitigation of Toxicity. *J Photochem Photobiol B* **2020**, *205*, 111823, doi:10.1016/J.JPHOTOBIOL.2020.111823.
23. Tang, S.; Zheng, J. Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. *Adv Healthc Mater* **2018**, *7*, 1701503, doi:10.1002/ADHM.201701503.
24. Qamer, S.; Romli, M.H.; Che-Hamzah, F.; Misni, N.; Joseph, N.M.S.; Al-Haj, N.A.; Amin-Nordin, S. Systematic Review on Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Antibacterial Activities: Application and Theoretical Perspectives. *Molecules* **2021**, *Vol. 26, Page 5057* **2021**, *26*, 5057, doi:10.3390/MOLECULES26165057.
25. Kubasheva, Z.; Sprynskyy, M.; Railean-Plugaru, V.; Pomastowski, P.; Ospanova, A.; Buszewski, B. Synthesis and Antibacterial Activity of (AgCl, Ag)NPs/Diatomite Hybrid Composite. *Materials* **2020**, *Vol. 13, Page 3409* **2020**, *13*, 3409, doi:10.3390/MA13153409.
26. Yen Thi Tran, N.; Tan Phat, D.; Thinh Pham, V.; Duong Trinh, N.; Thanh Binh Nguyen, T.; Hai Nguyen, T. Preparation and Characterization of Silver Chloride Nanoparticles as an Antibacterial Agent. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology* **2015**, *6*, 045011, doi:10.1088/2043-6262/6/4/045011.
27. Okaiyeto, K.; Ojemaye, M.O.; Hoppe, H.; Mabinya, L. V.; Okoh, A.I. Phytofabrication of Silver/Silver Chloride Nanoparticles Using Aqueous Leaf Extract of *Oedera Genistifolia*: Characterization and Antibacterial Potential. *Molecules* **2019**, *Vol. 24, Page 4382* **2019**, *24*, 4382, doi:10.3390/MOLECULES24234382.
28. Nadeem, M.; Khan, R.; Afridi, K.; Nadhman, A.; Ullah, S.; Faisal, S.; Mabood, Z.U.; Hano, C.; Abbasi, B.H. Green Synthesis of Cerium Oxide Nanoparticles (CeO₂ Nps) and Their Antimicrobial Applications: A Review. *Int J Nanomedicine* **2020**, *15*, 5951–5961, doi:10.2147/IJN.S255784.
29. Aneggi, E.; Boaro, M.; Colussi, S.; de Leitenburg, C.; Trovarelli, A. Ceria-Based Materials in Catalysis: Historical Perspective and Future Trends. *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths* **2016**, *50*, 209–242, doi:10.1016/BS.HPCRE.2016.05.002.

30. Charbgoon, F.; Ahmad, M. Bin; Darroudi, M. Cerium Oxide Nanoparticles: Green Synthesis and Biological Applications. *Int J Nanomedicine* **2017**, *12*, 1401–1413, doi:10.2147/IJN.S124855.
31. Surendra, T. V.; Roopan, S.M. Photocatalytic and Antibacterial Properties of Phytosynthesized CeO₂ NPs Using Moringa Oleifera Peel Extract. *J Photochem Photobiol B* **2016**, *161*, 122–128, doi:10.1016/J.JPHOTOBIOL.2016.05.019.
32. Alaraby, M.; Hernández, A.; Annangi, B.; Demir, E.; Bach, J.; Rubio, L.; Creus, A.; Marcos, R. Antioxidant and Antigenotoxic Properties of CeO₂ NPs and Cerium Sulphate: Studies with Drosophila Melanogaster as a Promising in Vivo Model. *Nanotoxicology* **2015**, *9*, 749–759, doi:10.3109/17435390.2014.976284.
33. Saikia, H.; Hazarika, K.K.; Chutia, B.; Choudhury, B.; Bharali, P. A Simple Chemical Route toward High Surface Area CeO₂ Nanoparticles Displaying Remarkable Radical Scavenging Activity. *ChemistrySelect* **2017**, *2*, 3369–3375, doi:10.1002/SLCT.201700354.
34. Das, S.; Dowding, J.M.; Klump, K.E.; McGinnis, J.F.; Self, W.; Seal, S. Cerium Oxide Nanoparticles: Applications and Prospects in Nanomedicine. *Nanomedicine (Lond)* **2013**, *8*, 1483–1508, doi:10.2217/NNM.13.133.
35. He, L.; Su, Y.; Lanhong, J.; Shi, S. Recent Advances of Cerium Oxide Nanoparticles in Synthesis, Luminescence and Biomedical Studies: A Review. *Journal of Rare Earths* **2015**, *33*, 791–799, doi:10.1016/S1002-0721(14)60486-5.
36. Celardo, I.; Pedersen, J.Z.; Traversa, E.; Ghibelli, L. Pharmacological Potential of Cerium Oxide Nanoparticles. *Nanoscale* **2011**, *3*, 1411–1420, doi:10.1039/C0NR00875C.
37. Estevez, A.Y.; Erlichman, J.S. The Potential of Cerium Oxide Nanoparticles (Nanoceria) for Neurodegenerative Disease Therapy. <https://doi.org/10.2217/nnm.14.87> **2014**, *9*, 1437–1440, doi:10.2217/NNM.14.87.
38. Khan, M.; Mashwani, Z.U.R.; Ikram, M.; Raja, N.I.; Mohamed, A.H.; Ren, G.; Omar, A.A. Efficacy of Green Cerium Oxide Nanoparticles for Potential Therapeutic Applications: Circumstantial Insight on Mechanistic Aspects. *Nanomaterials* **2022**, *Vol. 12*, *Page 2117* **2022**, *12*, 2117, doi:10.3390/NANO12122117.
39. Sajeevan, A.C.; Sajith, V. Diesel Engine Emission Reduction Using Catalytic Nanoparticles: An Experimental Investigation. *Journal of Engineering (United Kingdom)* **2013**, *2013*, doi:10.1155/2013/589382.

40. Corma, A.; Atienzar, P.; García, H.; Chane-Ching, J.Y. Hierarchically Mesostructured Doped CeO₂ with Potential for Solar-Cell Use. *Nature Materials* **2004**, *3*, 394–397, doi:10.1038/nmat1129.
41. Ivanov, V.K.; Shcherbakov, A.B.; Usatenko, A. V Structure-Sensitive Properties and Biomedical Applications of Nanodispersed Cerium Dioxide. *Russian Chemical Reviews* **2009**, *78*, 855–871, doi:10.1070/RC2009V078N09ABEH004058/XML.
42. Hosseini, M.; Mozafari, M. Cerium Oxide Nanoparticles: Recent Advances in Tissue Engineering. *Materials* **2020**, *Vol. 13*, Page 3072 **2020**, *13*, 3072, doi:10.3390/MA13143072.
43. Chen, J.; Chen, Y.; Zhou, M.; Huang, Z.; Gao, J.; Ma, Z.; Chen, J.; Tang, X. Enhanced Performance of Ceria-Based NO_x Reduction Catalysts by Optimal Support Effect. *Environ Sci Technol* **2017**, *51*, 473–478, doi:10.1021/ACS.EST.6B04050/SUPPL_FILE/ES6B04050_SI_001.PDF.
44. Li, W.; Li, Y.; Zhang, D.; Lan, Y.; Guo, J. CuO-Co₃O₄@CeO₂ as a Heterogeneous Catalyst for Efficient Degradation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid by Peroxymonosulfate. *J Hazard Mater* **2020**, *381*, 121209, doi:10.1016/J.JHAZMAT.2019.121209.
45. Wu, K.; Sun, L.D.; Yan, C.H. Recent Progress in Well-Controlled Synthesis of Ceria-Based Nanocatalysts towards Enhanced Catalytic Performance. *Adv Energy Mater* **2016**, *6*, 1600501, doi:10.1002/AENM.201600501.
46. Zhang, G.; Ao, J.; Guo, Y.; Zhang, Z.; Shao, M.; Wang, L.; Zhou, L.; Shao, J. Green Synthesis and Catalytic Performance of Nanoscale CeO₂ Sheets. *RSC Adv* **2014**, *4*, 20131–20135, doi:10.1039/C4RA01004C.
47. Asyikin, A.S.; Halimah, M.K.; Latif, A.A.; Faznny, M.F.; Nazrin, S.N. Physical, Structural and Optical Properties of Bio-Silica Borotellurite Glass System Doped with Samarium Oxide Nanoparticles. *J Non Cryst Solids* **2020**, *529*, 119777, doi:10.1016/J.JNONCRY SOL.2019.119777.
48. Hamza, A.M.; Halimah, M.K.; Muhammad, F.D.; Chan, K.T. Physical Properties, Ligand Field and Judd-Ofelt Intensity Parameters of Bio-Silicate Borotellurite Glass System Doped with Erbium Oxide. *J Lumin* **2019**, *207*, 497–506, doi:10.1016/J.JLUMIN.2018.11.038.
49. Cao, C.; Xie, A.; Zhou, T.; Zhong, H.; Lu, X.; Xie, A.; Noh, H.M.; Jeong, J.H. Eu³⁺ Doped Lutetium Molybdenum Oxides: Synthesis, Optical Properties,

- Thermal Behavior, and LED Packaging. *J Lumin* **2020**, *217*, 116759, doi:10.1016/J.JLUMIN.2019.116759.
50. Sambasiva Rao, T.; Krishna Reddy, D. V.; Taherunnisa, S.K.; Siva Sesha Reddy, A.; Venkateswara Rao, P.; Veeraiah, N.; Rami Reddy, M. Studies on Structural Characterization and near White Light Emission through Energy Transfer between Ce³⁺ and Tb³⁺ in Barium Gallium Borosilicate Glasses. *J Mol Struct* **2019**, *1190*, 184–195, doi:10.1016/J.MOLSTRUC.2019.04.065.
51. Klimesz, B.; Ryba-Romanowski, W.; Lisiecki, R. Oxyfluorotellurite Glasses Doped by Dysprosium Ions. Thermal and Optical Properties. *Opt Mater (Amst)* **2015**, *42*, 538–543, doi:10.1016/J.OPTMAT.2015.02.012.
52. Seed Ahmed, H.A.A.; Ntwaeaborwa, O.M.; Kroon, R.E. High Efficiency Energy Transfer in Ce,Tb Co-Doped Silica Prepared by Sol-Gel Method. *J Lumin* **2013**, *135*, 15–19, doi:10.1016/J.JLUMIN.2012.10.037.
53. Ratnam, B. V.; Jayasimhadri, M.; Bhaskar Kumar, G.; Jang, K.; Kim, S.S.; Lee, Y.I.; Lim, J.M.; Shin, D.S.; Song, T.K. Synthesis and Luminescent Features of NaCaPO₄:Tb³⁺ Green Phosphor for near UV-Based LEDs. *J Alloys Compd* **2013**, *564*, 100–104, doi:10.1016/J.JALLCOM.2013.01.203.
54. Kim, S.; Choi, M.; Park, J. Cerium-Doped Oxide-Based Materials for Energy and Environmental Applications. *Crystals 2023, Vol. 13, Page 1631* **2023**, *13*, 1631, doi:10.3390/CRYST13121631.
55. Mansor, M.; Zainol Abidin, N.H.; Liew, J.Y.C.; Alresheedi, M.T.; Garg, A.K.; Janyani, V.; Mahdi, M.A. Cerium Oxide/Polydimethylsiloxane Composite Tapered Fiber Saturable Absorber for Mode-Locked Pulsed Erbium-Doped Fiber Laser. *Infrared Phys Technol* **2022**, *125*, 104220, doi:10.1016/J.INFRARED.2022.104220.
56. Imanaka, N. Physical and Chemical Properties of Rare Earth Oxides. *Binary Rare Earth Oxides* **2005**, 111–133, doi:10.1007/1-4020-2569-6_5/COVER.
57. Hidouci, A.; Pelletier, J.M.; Ducoin, F.; Dezert, D.; El Guerjouma, R. Microstructural and Mechanical Characteristics of Laser Coatings. *Surf Coat Technol* **2000**, *123*, 17–23, doi:10.1016/S0257-8972(99)00394-1.
58. Nowak, A.P.; Sprynskyy, M.; Brzozowska, W.; Lisowska-Oleksiak, A. Electrochemical Behavior of a Composite Material Containing 3D-Structured Diatom Biosilica. *Algal Res* **2019**, *41*, 101538, doi:10.1016/j.algal.2019.101538.

59. Nowak, A.P.; Sprynskyy, M.; Wojtczak, I.; Trzciński, K.; Wysocka, J.; Szkoda, M.; Buszewski, B.; Lisowska-Oleksiak, A. Diatoms Biomass as a Joint Source of Biosilica and Carbon for Lithium-Ion Battery Anodes. *Materials* 2020, Vol. 13, Page 1673 **2020**, 13, 1673, doi:10.3390/MA13071673.
60. Abu-Zied, B.M.; Mohamed, A.R.N.; Asiri, A.M. Effect of Thermal Treatment on the Formation, Textural and Electrical Conductivity Properties of Nanocrystalline Tb₄O₇. *J Nanosci Nanotechnol* **2015**, 15, 4487–4492, doi:10.1166/JNN.2015.9605.
61. Balabanov, S.S.; Permin, D.A.; Rostokina, E.Y.; Egorov, S. V.; Sorokin, A.A.; Kuznetsov, D.D. Synthesis and Structural Characterization of Ultrafine Terbium Oxide Powders. *Ceram Int* **2017**, 43, 16569–16574, doi:10.1016/J.CERAMINT.2017.09.044.
62. Belaya, S. V.; Bakovets, V. V.; Boronin, A.I.; Koshcheev, S. V.; Lobzareva, M.N.; Korolkov, I. V.; Stabnikov, P.A. Terbium Oxide Films Grown by Chemical Vapor Deposition from Terbium(III) Dipivaloylmethanate. *Inorganic Materials* **2014**, 50, 379–386, doi:10.1134/S0020168514040037/METRICS.
63. Hungria, A.B.; Martínez-Arias, A.; Fernández-García, M.; Iglesias-Juez, A.; Guerrero-Ruiz, A.; Calvino, J.J.; Conesa, J.C.; Soria, J. Structural, Morphological, and Oxygen Handling Properties of Nanosized Cerium-Terbium Mixed Oxides Prepared by Microemulsion. *Chemistry of Materials* **2003**, 15, 4309–4316, doi:10.1021/CM031028N/ASSET/IMAGES/MEDIUM/CM031028NN00001.GIF.
64. Würth, C.; Grabolle, M.; Pauli, J.; Spieles, M.; Resch-Genger, U. Relative and Absolute Determination of Fluorescence Quantum Yields of Transparent Samples. *Nature Protocols* 2013 8:8 **2013**, 8, 1535–1550, doi:10.1038/nprot.2013.087.
65. Sprynskyy, M.; Pomastowski, P.; Hornowska, M.; Król, A.; Rafińska, K.; Buszewski, B. Naturally Organic Functionalized 3D Biosilica from Diatom Microalgae. *Mater Des* **2017**, 132, 22–29, doi:10.1016/J.MATDES.2017.06.044.
66. Brzozowska, W.; Sprynskyy, M.; Wojtczak, I.; Dąbek, P.; Markuszewski, M.J.; Witkowski, A.; Buszewski, B. Metabolically Doping of 3D Diatomaceous Biosilica with Titanium. *Materials* 2022, Vol. 15, Page 5210 **2022**, 15, 5210, doi:10.3390/MA15155210.

67. Lebeau, T.; Robert, J.M. Diatom Cultivation and Biotechnologically Relevant Products. Part II: Current and Putative Products. *Appl Microbiol Biotechnol* **2003**, *60*, 624–632, doi:10.1007/S00253-002-1177-3/METRICS.
68. Li, X.L.; Marella, T.K.; Tao, L.; Li, R.; Tiwari, A.; Li, G. Optimization of Growth Conditions and Fatty Acid Analysis for Three Freshwater Diatom Isolates. *Phycological Res* **2017**, *65*, 177–187, doi:10.1111/PRE.12174.
69. Thamatrakoln, K.; Hildebrand, M. Silicon Uptake in Diatoms Revisited: A Model for Saturable and Nonsaturable Uptake Kinetics and the Role of Silicon Transporters. *Plant Physiol* **2008**, *146*, 1397–1407, doi:10.1104/PP.107.107094.
70. Ketheesan, B.; Nirmalakhandan, N. Modeling Microalgal Growth in an Airlift-Driven Raceway Reactor. *Bioresour Technol* **2013**, *136*, 689–696, doi:10.1016/J.BIORTECH.2013.02.028.
71. Richmond, A.; Hu, Q. Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology: Second Edition. *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology: Second Edition* **2013**, 1–719, doi:10.1002/9781118567166.
72. Morales, E.A. Morphological Studies in Selected Fragilarioid Diatoms (Bacillariophyceae) from Connecticut Waters (U.S.A.). [https://doi.org/10.1635/0097-3157\(2001\)151\[0105:MSISFD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1635/0097-3157(2001)151[0105:MSISFD]2.0.CO;2) **2001**, *151*, 105–120, doi:10.1635/0097-3157(2001)151.
73. Spaulding, S.A.; Potapova, M.G.; Bishop, I.W.; Lee, S.S.; Gasperak, T.S.; Jovanoska, E.; Furey, P.C.; Edlund, M.B. Diatoms.Org: Supporting Taxonomists, Connecting Communities. *Diatom Research* **2021**, *36*, 291–304, doi:10.1080/0269249X.2021.2006790.
74. Bour, A.; Mouchet, F.; Verneuil, L.; Evariste, L.; Silvestre, J.; Pinelli, E.; Gauthier, L. Toxicity of CeO₂ Nanoparticles at Different Trophic Levels – Effects on Diatoms, Chironomids and Amphibians. *Chemosphere* **2015**, *120*, 230–236, doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2014.07.012.
75. Qian, J.; Chen, Z.; Liu, C.; Wang, F.; Zhang, Y.; Wang, M. Biotemplated Fabrication of Hierarchical Mesoporous CeO₂ Derived from Diatom and Its Application for Catalytic Oxidation of CO. *Chinese Science Bulletin* **2014**, *59*, 3260–3265, doi:10.1007/S11434-014-0306-6/METRICS.

76. Marlow, W.H. Van Der Waals Energies in the Formation and Interaction of Nanoparticle Aggregates. *Gas Phase Nanoparticle Synthesis* **2004**, 1–27, doi:10.1007/978-1-4020-2444-3_1.
77. Wojtczak, I.; Brzozowska, W.; Railean, V.; Bekissanova, Z.; Trykowski, G.; Sprynskyy, M. Diatomaceous Biosilica Doped with Heteroepitaxially Growing Ag/AgCl/CeO₂ Composite Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application. *J Clust Sci* **2024**, *35*, 429–442, doi:10.1007/S10876-023-02492-X/FIGURES/6.
78. Zhang, F.; Chan, S.W.; Spanier, J.E.; Apak, E.; Jin, Q.; Robinson, R.D.; Herman, I.P. Cerium Oxide Nanoparticles: Size-Selective Formation and Structure Analysis. *Appl Phys Lett* **2002**, *80*, 127–129, doi:10.1063/1.1430502.
79. Ioannou, M.E.; Pouroutzidou, G.K.; Chatzimentor, I.; Tsamesidis, I.; Florini, N.; Tsiaoussis, I.; Lymperaki, E.; Komninou, P.; Kontonasaki, E. Synthesis and Characterization of Cerium Oxide Nanoparticles: Effect of Cerium Precursor to Gelatin Ratio. *Applied Sciences* **2023**, *Vol. 13, Page 2676* **2023**, *13*, 2676, doi:10.3390/APP13042676.
80. Sreeremya, T.S.; Krishnan, A.; Remani, K.C.; Patil, K.R.; Brougham, D.F.; Ghosh, S. Shape-Selective Oriented Cerium Oxide Nanocrystals Permit Assessment of the Effect of the Exposed Facets on Catalytic Activity and Oxygen Storage Capacity. *ACS Appl Mater Interfaces* **2015**, *7*, 8545–8555, doi:10.1021/ACSAMI.5B00298/SUPPL_FILE/AM5B00298_SI_001.PDF.
81. Zhang, J.; Ohara, S.; Umetsu, M.; Naka, T.; Hatakeyama, Y.; Adschiri, T. Colloidal Ceria Nanocrystals: A Tailor-Made Crystal Morphology in Supercritical Water. *Advanced Materials* **2007**, *19*, 203–206, doi:10.1002/ADMA.200600964.
82. Ansari, A.A.; Labis, J.; Alam, M.; Ramay, S.M.; Ahmad, N.; Mahmood, A. Effect of Cobalt Doping on Structural, Optical and Redox Properties Cerium Oxide Nanoparticles. *Phase Transitions* **2016**, *89*, 261–272, doi:10.1080/01411594.2015.1116532.
83. Zhang, J.; Guo, J.; Liu, W.; Wang, S.; Xie, A.; Liu, X.; Wang, J.; Yang, Y. Facile Preparation of Mn⁺-Doped (M = Cu, Co, Ni, Mn) Hierarchically Mesoporous CeO₂ Nanoparticles with Enhanced Catalytic Activity for CO Oxidation. *Eur J Inorg Chem* **2015**, *2015*, 969–976, doi:10.1002/EJIC.201403078.

84. Brugnoli, L.; Urata, S.; Pedone, A. H₂O₂ Adsorption and Dissociation on Various CeO₂ (111) Surface Models: A First-Principles Study. *Journal of Physics: Condensed Matter* **2022**, *34*, 164006, doi:10.1088/1361-648X/AC5278.
85. Zang, C.; Yu, K.; Hu, S.; Chen, F. Adsorption-Depended Fenton-like Reaction Kinetics in CeO₂-H₂O₂ System for Salicylic Acid Degradation. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* **2018**, *553*, 456–463, doi:10.1016/J.COLSURFA.2018.05.100.
86. Breznan, D.; Nazemof, N.; Kunc, F.; Hill, M.; Vladisavljevic, D.; Gomes, J.; Johnston, L.J.; Vincent, R.; Kumarathasan, P. Acellular Oxidative Potential Assay for Screening of Amorphous Silica Nanoparticles. *Analyst* **2020**, *145*, 4867–4879, doi:10.1039/D0AN00380H.
87. Kunc, F.; Balhara, V.; Sun, Y.; Daroszewska, M.; Jakubek, Z.J.; Hill, M.; Brinkmann, A.; Johnston, L.J. Quantification of Surface Functional Groups on Silica Nanoparticles: Comparison of Thermogravimetric Analysis and Quantitative NMR. *Analyst* **2019**, *144*, 5589–5599, doi:10.1039/C9AN01080G.
88. Chaudhary, S.; Sharma, P.; Kumar, R.; Mehta, S.K. Nanoscale Surface Designing of Cerium Oxide Nanoparticles for Controlling Growth, Stability, Optical and Thermal Properties. *Ceram Int* **2015**, *41*, 10995–11003, doi:10.1016/J.CERAMINT.2015.05.044.
89. Bourja, L.; Bakiz, B.; Benlhachemi, A.; Ezahri, M.; Villain, S.; Favotto, C.; Valmalette, J.C.; Gavarri, J.R. Structural Modifications of Nanostructured Ceria CeO₂,XH₂O during Dehydration Process. *Powder Technol* **2012**, *215–216*, 66–71, doi:10.1016/J.POWTEC.2011.09.008.
90. Phonthammachai, N.; Rumruangwong, M.; Gulari, E.; Jamieson, A.M.; Jitkarnka, S.; Wongkasemjit, S. Synthesis and Rheological Properties of Mesoporous Nanocrystalline CeO₂ via Sol–Gel Process. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* **2004**, *247*, 61–68, doi:10.1016/J.COLSURFA.2004.08.030.
91. Zdravković, J.; Simović, B.; Golubović, A.; Poleti, D.; Veljković, I.; Šćepanović, M.; Branković, G. Comparative Study of CeO₂ Nanopowders Obtained by the Hydrothermal Method from Various Precursors. *Ceram Int* **2015**, *41*, 1970–1979, doi:10.1016/J.CERAMINT.2014.08.122.
92. Kujawa, J.; Al-Gharabli, S.; Wrzeszcz, G.; Knozowska, K.; Lagzdins, R.; Talik, E.; Dzedzic, A.; Loulergue, P.; Szymczyk, A.; Kujawski, W. Physicochemical and Magnetic Properties of Functionalized Lanthanide Oxides with Enhanced

- Hydrophobicity. *Appl Surf Sci* **2021**, *542*, 148563, doi:10.1016/J.APSUSC.2020.148563.
93. Ayodele, B. V.; Hossain, M.A.; Chong, S.L.; Soh, J.C.; Abdullah, S.; Khan, M.R.; Cheng, C.K. Non-Isothermal Kinetics and Mechanistic Study of Thermal Decomposition of Light Rare Earth Metal Nitrate Hydrates Using Thermogravimetric Analysis. *J Therm Anal Calorim* **2016**, *125*, 423–435, doi:10.1007/S10973-016-5450-6/TABLES/9.
 94. Lundy, R.; Byrne, C.; Bogan, J.; Nolan, K.; Collins, M.N.; Dalton, E.; Enright, R. Exploring the Role of Adsorption and Surface State on the Hydrophobicity of Rare Earth Oxides. *ACS Appl Mater Interfaces* **2017**, *9*, 13751–13760, doi:10.1021/ACSAMI.7B01515/SUPPL_FILE/AM7B01515_SI_001.PDF.
 95. Khalil, K.M.S.; Elkabee, L.A.; Murphy, B. Formation and Characterization of Different Ceria/Silica Composite Materials via Dispersion of Ceria Gel or Soluble Ceria Precursors in Silica Sols. *J Colloid Interface Sci* **2005**, *287*, 534–541, doi:10.1016/J.JCIS.2005.02.041.
 96. Lee, J.; Lee, H.A.; Shin, M.; Juang, L.J.; Kastrup, C.J.; Go, G.M.; Lee, H. Diatom Frustule Silica Exhibits Superhydrophilicity and Superhemophilicity. *ACS Nano* **2020**, *14*, 4755–4766, doi:10.1021/ACSNANO.0C00621/SUPPL_FILE/NN0C00621_SI_001.PDF.
 97. Szekeres, M.; Dékány, I.; De Keizer, A. Adsorption of Dodecyl Pyridinium Chloride on Monodisperse Porous Silica. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* **1998**, *141*, 327–336, doi:10.1016/S0927-7757(97)00116-7.
 98. Patil, S.; Sandberg, A.; Heckert, E.; Self, W.; Seal, S. Protein Adsorption and Cellular Uptake of Cerium Oxide Nanoparticles as a Function of Zeta Potential. *Biomaterials* **2007**, *28*, 4600–4607, doi:10.1016/J.BIOMATERIALS.2007.07.029.
 99. Bekissanova, Z.; Railean, V.; Wojtczak, I.; Brzozowska, W.; Trykowski, G.; Ospanova, A.; Sprynskyy, M. Synthesis and Antimicrobial Activity of 3D Micro–Nanostructured Diatom Biosilica Coated by Epitaxially Growing Ag–AgCl Hybrid Nanoparticles. *Biomimetics* **2024**, *Vol. 9, Page 5* **2023**, *9*, 5, doi:10.3390/BIOMIMETICS9010005.
 100. Kumar, V.; Kashyap, M.; Gautam, S.; Shukla, P.; Joshi, K.B.; Vinayak, V. Fast Fourier Infrared Spectroscopy to Characterize the Biochemical Composition in

- Diatoms. *J Biosci* **2018**, *43*, 717–729, doi:10.1007/S12038-018-9792-Z/FIGURES/13.
101. Zemnukhova, L.A.; Panasenko, A.E.; Tsoi, E.A.; Fedorishcheva, G.A.; Shapkin, N.P.; Artem'Yanov, A.P.; Maiorov, V.Y. Composition and Structure of Amorphous Silica Produced from Rice Husk and Straw. *Inorganic Materials* **2014**, *50*, 75–81, doi:10.1134/S0020168514010208/METRICS.
 102. Al Khafaji, S.J.S.; Ghobeh, M.; Mashergi, M.; Es-haghi, A. Biological Synthesis of Cerium Oxide Nanoparticles Using Funnel Extract: Characterization and Evaluation of Its Angiogenesis and Cytotoxicity Properties Against Breast Cancer Cells. *Bionanoscience* **2024**, 1–12, doi:10.1007/S12668-024-01355-7/FIGURES/7.
 103. De Stefano, L.; Rendina, I.; De Stefano, M.; Bismuto, A.; Maddalena, P. Marine Diatoms as Optical Chemical Sensors. *Appl Phys Lett* **2005**, *87*, 1–3, doi:10.1063/1.2140087/330048.
 104. Blahuta, S.; Bessière, A.; Viana, B.; Dorenbos, P.; Ouspenski, V. Evidence and Consequences of Ce⁴⁺ in LYSO:Ce,Ca and LYSO:Ce,Mg Single Crystals for Medical Imaging Applications. *IEEE Trans Nucl Sci* **2013**, *60*, 3134–3141, doi:10.1109/TNS.2013.2269700.
 105. Wang, Z.; Quan, Z.; Lin, J. Remarkable Changes in the Optical Properties of CeO₂ Nanocrystals Induced by Lanthanide Ions Doping. *Inorg Chem* **2007**, *46*, 5237–5242, doi:10.1021/IC0701256/SUPPL_FILE/IC0701256SI20070125_123823.PDF.
 106. Portillo, M.C.; Moreno, O.P.; Mora-Ramírez, M.A.; Santiesteban, H.J.; Avendaño, C.B.; Bernal, Y.P. Optical and Structural Analysis of the Charge Transfer of Ce³⁺⁺ E⁻ → Ce⁴⁺ Ion in the Cerium Oxide (CeO₂). *Optik (Stuttg)* **2021**, *248*, 168178, doi:10.1016/J.IJLEO.2021.168178.
 107. Ho, C.; Yu, J.C.; Kwong, T.; Mak, A.C.; Lai, S. Morphology-Controllable Synthesis of Mesoporous CeO₂ Nano- and Microstructures. *Chemistry of Materials* **2005**, *17*, 4514–4522, doi:10.1021/CM0507967/SUPPL_FILE/CM0507967SI20050530_052422.PDF.
 108. Malleshappa, J.; Nagabhushana, H.; Prasad, B.D.; Sharma, S.C.; Vidya, Y.S.; Anantharaju, K.S. Structural, Photoluminescence and Thermoluminescence Properties of CeO₂ Nanoparticles. *Optik (Stuttg)* **2016**, *127*, 855–861, doi:10.1016/J.IJLEO.2015.10.114.

109. Anufrick, S.S.; Kurian, N.N.; Sergienko, I.G.; Anuchin, S.N. Morphology and Structure of Coatings Obtained by Laser Ablation of Rare-Earth Metals. *J Appl Spectrosc* **2024**, *90*, 1229–1235, doi:10.1007/S10812-024-01658-3/METRICS.
110. Qin, T.; Gutu, T.; Jiao, J.; Chang, C.H.; Rorrer, G.L. Photoluminescence of Silica Nanostructures from Bioreactor Culture of Marine Diatom *Nitzschia Frustulum*. *J Nanosci Nanotechnol* **2008**, *8*, 2392–2398, doi:10.1166/JNN.2008.241.
111. Defects in SiO₂ and Related Dielectrics: Science and Technology. *Defects in SiO₂ and Related Dielectrics: Science and Technology* **2000**, doi:10.1007/978-94-010-0944-7.
112. Aitasalo, T.; Dereń, P.; Hölsä, J.; Jungner, H.; Krupa, J.C.; Lastusaari, M.; Legendziewicz, J.; Niittykoski, J.; Stręk, W. Persistent Luminescence Phenomena in Materials Doped with Rare Earth Ions. *J Solid State Chem* **2003**, *171*, 114–122, doi:10.1016/S0022-4596(02)00194-9.
113. Cui, F.; Yu, J.; Cui, T. Decoration of Silica with Tb₂O₃ Nanoparticles by a Facile Method Free of Additional Catalyst. *Chem Lett* **2015**, *44*, 1500–1502, doi:10.1246/CL.150722.
114. Dai, J.; Pan, Y.; Chen, H.; Xie, T.; Kou, H.; Li, J. Synthesis of Tb₄O₇ Nanopowders by the Carbonate-Precipitation Method for Tb₃Al₅O₁₂ Magneto-Optical Ceramics. *Opt Mater (Amst)* **2017**, *73*, 706–711, doi:10.1016/J.OPTMAT.2017.09.036.
115. Wang, X.; Cong, Q.; Feng, C.; Sun, Z.; Cai, Z.; Fan, C.; Pei, L. Terbium Vanadate Nanowires-Based Electrochemical Sensors for Mercury Ions. *Appl Biochem Biotechnol* **2024**, 1–17, doi:10.1007/S12010-024-04882-X/TABLES/2.
116. Das, S.; Reed McDonagh, P.; Selvan Sakthivel, T.; Barkam, S.; Killion, K.; Ortiz, J.; Saraf, S.; Kumar, A.; Gupta, A.; Zweit, J.; et al. Tissue Deposition and Toxicological Effects of Commercially Significant Rare Earth Oxide Nanomaterials: Material and Physical Properties. *Environ Toxicol* **2017**, *32*, 904–917, doi:10.1002/TOX.22290.
117. Prieur, D.; Bonani, W.; Popa, K.; Walter, O.; Kriegsman, K.W.; Engelhard, M.H.; Guo, X.; Eloirdi, R.; Gouder, T.; Beck, A.; et al. Size Dependence of Lattice Parameter and Electronic Structure in CeO₂ Nanoparticles. *Inorg Chem* **2020**, *59*, 5760–5767, doi:10.1021/ACS.INORGCHEM.0C00506/ASSET/IMAGES/LARGE/IC0C00506_0006.JPEG.

118. Amidani, L.; Plakhova, T. V.; Romanchuk, A.Y.; Gerber, E.; Weiss, S.; Efimenko, A.; Sahle, C.J.; Butorin, S.M.; Kalmykov, S.N.; Kvashnina, K.O. Understanding the Size Effects on the Electronic Structure of ThO₂ Nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2019**, *21*, 10635–10643, doi:10.1039/C9CP01283D.
119. Shi, M.; Kitamoto, Y.; Wada, H. Synthesis of CeO₂/RGO Nanocomposites by Laser Ablation in Liquid Method and the Characterization for Advanced Materials Development. *JLMN-Journal of Laser Micro/Nanoengineering* *18*, 2023, doi:10.2961/jlmn.2023.03.2010.
120. Kulpinski, P.; Erdman, A.; Grzyb, T.; Lis, S. Luminescent Cellulose Fibers Modified with Cerium Fluoride Doped with Terbium Particles. *Polym Compos* **2016**, *37*, 153–160, doi:10.1002/PC.23166.
121. Wang, W.; Zhang, B.; Jiang, S.; Bai, H.; Zhang, S. Use of CeO₂ Nanoparticles to Enhance UV-Shielding of Transparent Regenerated Cellulose Films. *Polymers* *2019*, *Vol. 11*, *Page 458* **2019**, *11*, 458, doi:10.3390/POLYM11030458.
122. Heredia, A.; Figueira, E.; Rodrigues, C.T.; Rodríguez-Galván, A.; Basiuk, V.A.; Vrieling, E.G.; Almeida, S.F.P. Cd²⁺ Affects the Growth, Hierarchical Structure and Peptide Composition of the Biosilica of the Freshwater Diatom *Nitzschia Palea* (Kützing) W. Smith. *Phycological Res* **2012**, *60*, 229–240, doi:10.1111/J.1440-1835.2012.00652.X.
123. Berlin, J.; Salge, T.; Falke, M.; Goran, D. RECENT ADVANCES IN EDS AND EBSD TECHNOLOGY: REVOLUTIONIZING THE CHEMICAL ANALYSIS OF CHONDRITIC METEORITES AT THE MICRO-AND NANOMETER SCALE.
124. Ranger, N.; Constantinescu, C.D.; Lucas-Roper, R.; Boulle, A.; Glandut, N. Structural and Electrochemical Properties of High Quality Epitaxial Titanium Carbide Thin Films Grown by Pulsed Laser Deposition on MgO (111) and Al₂O₃ (001) Substrates. *Thin Solid Films* **2023**, *782*, 140007, doi:10.1016/J.TSF.2023.140007.
125. Chen, Y.; Yao, B.; Zou, Y.; Yan, Y. Intercalation of Tb(III) into Magadiite and Characterization of Tb-Intercalated Magadiites. *Clay Miner* **2016**, *51*, 697–706, doi:10.1180/CLAYMIN.2016.051.4.11.
126. Daniyeva, N.; Zhumanova, K.; Kang, M.S.; Molkenova, A.; Kim, K.S.; Han, D.W.; Atabaev, T.S. Terbium-Doped Mesoporous Silica Nanoparticles for Bioimaging Purposes. *IEEE International Conference on Nano/Molecular*

- Medicine and Engineering, NANOMED* **2021**, 2021-November, 3–6, doi:10.1109/NANOMED54179.2021.9766769.
127. Ramasamy, V.; Mohana, V.; Rajendran, V. Characterization of Ca Doped CeO₂ Quantum Dots and Their Applications in Photocatalytic Degradation. *OpenNano* **2018**, 3, 38–47, doi:10.1016/J.ONANO.2018.04.002.
128. Acuña, L.M.; Muñoz, F.F.; Albornoz, C.A.; Leyva, A.G.; Baker, R.T.; Fuentes, R.O. Nanostructured Terbium-Doped Ceria Spheres: Effect of Dopants on Their Physical and Chemical Properties under Reducing and Oxidizing Conditions. *J Mater Chem A Mater* **2015**, 3, 16120–16131, doi:10.1039/C5TA02535D.
129. Llusar, M.; Vitásková, L.; Šulcová, P.; Tena, M.A.; Badenes, J.A.; Monrós, G. Red Ceramic Pigments of Terbium-Doped Ceria Prepared through Classical and Non-Conventional Coprecipitation Routes. *J Eur Ceram Soc* **2010**, 30, 37–52, doi:10.1016/J.JEURCERAMSOC.2009.08.005.
130. Tseng, K.P.; Yang, Q.; McCormack, S.J.; Kriven, W.M. High-Entropy, Phase-Constrained, Lanthanide Sesquioxide. *Journal of the American Ceramic Society* **2020**, 103, 569–576, doi:10.1111/JACE.16689.
131. Brunckova, H.; Mudra, E.; Streckova, M.; Medvecký, L.; Sopcak, T.; Shepa, I.; Kovalcikova, A.; Lisnichuk, M.; Kolev, H. Transformation of Amorphous Terbium Metal–Organic Framework on Terbium Oxide TbO_x(111) Thin Film on Pt(111) Substrate: Structure of Tb_xO_y Film. *Nanomaterials* **2022**, 12, doi:10.3390/nano12162817.
132. Zhang, Y.; Deng, J.; Zhang, H.; Liu, Y.; Dai, H. Three-Dimensionally Ordered Macroporous Pr₆O₁₁ and Tb₄O₇ with Mesoporous Walls: Preparation, Characterization, and Catalytic Activity for CO Oxidation. *Catal Today* **2015**, 245, 28–36, doi:10.1016/J.CATTOD.2014.09.017.
133. Fursikov, P. V.; Abdusalyamova, M.N.; Makhmudov, F.A.; Shairmardanov, E.N.; Kovalev, I.D.; Kovalev, D.Y.; Morgunov, R.B.; Koplak, O. V.; Volodin, A.A.; Khodos, I.I.; et al. Structural Features and Magnetic Behavior of Nanocrystalline Powders of Terbium Oxide Prepared by the Thermal Decomposition of Terbium Acetate in Air. *J Alloys Compd* **2016**, 657, 163–173, doi:10.1016/J.JALLCOM.2015.09.274.
134. Parsons, S. Introduction to Twinning. *urn:issn:0907-4449* **2003**, 59, 1995–2003, doi:10.1107/S0907444903017657.

135. Huang, Q.; Zhu, Q.; Chen, Y.; Gong, M.; Li, J.; Zhang, Z.; Yang, W.; Wang, J.; Zhou, H.; Wang, J. Twinning-Assisted Dynamic Adjustment of Grain Boundary Mobility. *Nature Communications* 2021 12:1 **2021**, 12, 1–10, doi:10.1038/s41467-021-27002-3.
136. Dai, Z.R.; Sun, S.; Wang, Z.L. Phase Transformation, Coalescence, and Twinning of Monodisperse FePt Nanocrystals. *Nano Lett* **2001**, 1, 443–447, doi:10.1021/NL0100421/ASSET/IMAGES/LARGE/NL0100421F00005.JPEG.
137. Raju, M.; Van Duin, A.C.T.; Fichthorn, K.A. Mechanisms of Oriented Attachment of TiO₂ Nanocrystals in Vacuum and Humid Environments: Reactive Molecular Dynamics. *Nano Lett* **2014**, 14, 1836–1842, doi:10.1021/NL404533K/SUPPL_FILE/NL404533K_SI_001.PDF.
138. Wang, J.; Chen, S.; Cui, K.; Li, D.; Chen, D. Approach and Coalescence of Gold Nanoparticles Driven by Surface Thermodynamic Fluctuations and Atomic Interaction Forces. *ACS Nano* **2016**, 10, 2893–2902, doi:10.1021/ACSNANO.5B08236/SUPPL_FILE/NN5B08236_SI_002.PDF.
139. Yuk, J.M.; Jeong, M.; Kim, S.Y.; Seo, H.K.; Kim, J.; Lee, J.Y. In Situ Atomic Imaging of Coalescence of Au Nanoparticles on Graphene: Rotation and Grain Boundary Migration. *Chemical Communications* **2013**, 49, 11479–11481, doi:10.1039/C3CC46545D.
140. Tsai, P.C.; Jeng, Y.R. Coalescence and Epitaxial Self-Assembly of Cu Nanoparticles on Graphene Surface: A Molecular Dynamics Study. *Comput Mater Sci* **2019**, 156, 104–110, doi:10.1016/J.COMMATSCI.2018.09.039.
141. Grammatikopoulos, P.; Cassidy, C.; Singh, V.; Sowwan, M. Coalescence-Induced Crystallisation Wave in Pd Nanoparticles. *Scientific Reports* 2014 4:1 **2014**, 4, 1–9, doi:10.1038/srep05779.
142. Grammatikopoulos, P.; Sowwan, M.; Kioseoglou, J. Computational Modeling of Nanoparticle Coalescence. *Adv Theory Simul* **2019**, 2, 1900013, doi:10.1002/ADTS.201900013.
143. D'Angelo, A.M.; Chaffee, A.L. Oxygen Uptake, Selectivity and Reversibility of Tb–CeO₂ Mixed Oxides for Air Separation. *Adsorption* **2017**, 23, 465–475, doi:10.1007/S10450-016-9855-0/FIGURES/8.
144. D'Angelo, A.M.; Chaffee, A.L. Correlations between Oxygen Uptake and Vacancy Concentration in Pr-Doped CeO₂. *ACS Omega* **2017**, 2, 2544–2551,

doi:10.1021/ACSOMEGA.7B00550/ASSET/IMAGES/LARGE/AO-2017-00550T_0007.JPEG.

145. Li, L.; Chen, F.; Lu, J.Q.; Luo, M.F. Study of Defect Sites in Ce_{1-x}MxO_{2-δ} (x = 0.2) Solid Solutions Using Raman Spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry A* **2011**, *115*, 7972–7977, doi:10.1021/JP203921M/SUPPL_FILE/JP203921M_SI_001.PDF.
146. D'Angelo, A.M.; Liu, A.C.Y.; Chaffee, A.L. Oxygen Uptake of Tb-CeO₂: Analysis of Ce³⁺ and Oxygen Vacancies. *Journal of Physical Chemistry C* **2016**, *120*, 14382–14389, doi:10.1021/ACS.JPCC.6B04063/ASSET/IMAGES/LARGE/JP-2016-04063J_0008.JPEG.
147. Wang, X.; Hanson, J.C.; Liu, G.; Rodriguez, J.A.; Iglesias-Juez, A.; Fernández-García, M. The Behavior of Mixed-Metal Oxides: Physical and Chemical Properties of Bulk Ce_{1-x}TbxO₂ and Nanoparticles of Ce_{1-x}TbxO_y. *J Chem Phys* **2004**, *121*, 5434–5444, doi:10.1063/1.1781116.
148. Li, Q.; Song, L.; Liang, Z.; Sun, M.; Wu, T.; Huang, B.; Luo, F.; Du, Y.; Yan, C.H. A Review on CeO₂-Based Electrocatalyst and Photocatalyst in Energy Conversion. *Advanced Energy and Sustainability Research* **2021**, *2*, 2000063, doi:10.1002/AESR.202000063.
149. Unal, F. A Novel Strong Cyan Luminescence Emission of Tb₂O₃ Particles. **2021**, doi:10.21203/RS.3.RS-319887/V1.
150. Chen, Q.; Chen, Q.; Wang, H.; Wang, G.; Yin, S. Magneto Optical Properties of Rare Earth Tb₂O₃ Doped PbO-Bi₂O₃-B₂O₃ Glass. *J Non Cryst Solids* **2017**, *470*, 99–107, doi:10.1016/J.JNONCRY SOL.2017.05.008.
151. Franco, D.; Ledemi, Y.; Messaddeq, S.H.; Nalin, M. Large Faraday Effect and Structural Properties of Heavily Tb³⁺-Doped Borogermanate Glasses: A Potential Precursor of Magneto-Optical Fibers. **2021**, doi:10.21203/RS.3.RS-235342/V1.
152. Arul, N.S.; Mangalaraj, D.; Kim, T.W. Photocatalytic Degradation Mechanisms of CeO₂/Tb₂O₃ Nanotubes. *Appl Surf Sci* **2015**, *349*, 459–464, doi:10.1016/J.APSUSC.2015.04.206.
153. Azimi, G.; Dhiman, R.; Kwon, H.M.; Paxson, A.T.; Varanasi, K.K. Hydrophobicity of Rare-Earth Oxide Ceramics. *Nature Materials* **2013**, *12*:4 **2013**, *12*, 315–320, doi:10.1038/nmat3545.

154. Turkten, N. A Novel Low-Cost Photocatalyst: Preparation, Characterization, and Photocatalytic Properties of CeO₂-Diatomite Composites. *Water (Switzerland)* **2022**, *14*, 3373, doi:10.3390/W14213373/S1.
155. Balabanov, S.S.; Permin, D.A.; Rostokina, E.Y.; Palashov, O. V.; Snetkov, I.L. Characterizations of REE:Tb₂O₃ Magneto-Optical Ceramics. *physica status solidi (b)* **2020**, *257*, 1900474, doi:10.1002/PSSB.201900474.
156. Zamiri, R.; Ahangar, H.A.; Kaushal, A.; Zakaria, A.; Zamiri, G.; Tobaldi, D.; Ferreira, J.M.F. Dielectrical Properties of CeO₂ Nanoparticles at Different Temperatures. *PLoS One* **2015**, *10*, e0122989, doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0122989.
157. Mokkelbost, T.; Kaus, I.; Grande, T.; Einarsrud, M.A. Combustion Synthesis and Characterization of Nanocrystalline CeO₂-Based Powders. *Chemistry of Materials* **2004**, *16*, 5489–5494, doi:10.1021/CM048583P/ASSET/IMAGES/MEDIUM/CM048583PE00001.GIF.
158. Wu, N.C.; Shi, E.W.; Zheng, Y.Q.; Li, W.J. Effect of PH of Medium on Hydrothermal Synthesis of Nanocrystalline Cerium(IV) Oxide Powders. *Journal of the American Ceramic Society* **2002**, *85*, 2462–2468, doi:10.1111/J.1151-2916.2002.TB00481.X.
159. Pautrot-D'Alençon, L.; Barboux, P.; Boilot, J.P. Synthesis and Acid Functionalization of Cerium Oxide Nanoparticles. *J Solgel Sci Technol* **2006**, *39*, 261–267, doi:10.1007/S10971-006-7803-2/METRICS.
160. Rahimi-Nasrabadi, M.; Pourmortazavi, S.M.; Ganjali, M.R.; Norouzi, P. Nanosized Terbium Carbonate and Oxide Particles: Optimized Synthesis, and Application as Photodegradation Catalyst. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* **2018**, *29*, 2988–2998, doi:10.1007/S10854-017-8229-Z/TABLES/3.
161. Cui, J.; Hope, G.A. Raman and Fluorescence Spectroscopy of CeO₂, Er₂O₃, Nd₂O₃, Tm₂O₃, Yb₂O₃, La₂O₃, and Tb₄O₇. *Journal of Spectroscopy* **2015**, *2015*, doi:10.1155/2015/940172.
162. Ali, M.M.; Mahdi, H.S.; Parveen, A.; Azam, A. Optical Properties of Cerium Oxide (CeO₂) Nanoparticles Synthesized by Hydroxide Mediated Method. *AIP Conf Proc* **2018**, *1953*, doi:10.1063/1.5032379/857877.

163. Singh, N.S.; Singh, S.D.; Meetei, S.D. Structural and Photoluminescence Properties of Terbium-Doped Zinc Oxide Nanoparticles. *Chinese Physics B* **2014**, *23*, 058104, doi:10.1088/1674-1056/23/5/058104.
164. Pal, P.P.; Manam, J. Photoluminescence and Thermoluminescence Studies of Tb³⁺ Doped ZnO Nanorods. *Materials Science and Engineering: B* **2013**, *178*, 400–408, doi:10.1016/J.MSEB.2013.01.006.
165. Nigoghossian, K.; Kulakova, A.N.; Félix, G.; Khrustalev, V.N.; Shubina, E.S.; Long, J.; Guari, Y.; Sene, S.; Carlos, L.D.; Bilyachenko, A.N.; et al. Temperature Sensing in Tb³⁺/Eu³⁺-Based Tetranuclear Silsesquioxane Cages with Tunable Emission. *RSC Adv* **2021**, *11*, 34735–34741, doi:10.1039/D1RA06755A.
166. Candela, M.T.; Aguado, F.; González-Lavín, J.; González, J.A.; Valiente, R. Modification of the Spectroscopic Properties of Tb₂O₃ Phosphor under the High-Pressure Phase Transitions Sequence. *J Alloys Compd* **2021**, *859*, 157899, doi:10.1016/J.JALLCOM.2020.157899.
167. Choi, H.; Kim, J.H.; Yi, S.S.; Moon, B.K.; Jeong, J.H. Photoluminescence Properties of Tb₂O₃ Embedded in the TiO₂ Nanocrystals. *J Alloys Compd* **2006**, *408–412*, 816–819, doi:10.1016/J.JALLCOM.2005.01.067.
168. Shcherbakov, A.B.; Zholobak, N.M.; Baranchikov, A.E.; Ryabova, A. V.; Ivanov, V.K. Cerium Fluoride Nanoparticles Protect Cells against Oxidative Stress. *Materials Science and Engineering: C* **2015**, *50*, 151–159, doi:10.1016/J.MSEC.2015.01.094.
169. Ansari, A.A.; Singh, S.P.; Malhotra, B.D. Optical and Structural Properties of Nanostructured CeO₂:Tb³⁺ Film. *J Alloys Compd* **2011**, *509*, 262–265, doi:10.1016/J.JALLCOM.2010.07.009.
170. Danielson, E.; Devenney, M.; Giaquinta, D.M.; Golden, J.H.; Haushalter, R.C.; McFarland, E.W.; Poojary, D.M.; Reaves, C.M.; Weinberg, W.H.; Wu, X. Di A Rare-Earth Phosphor Containing One-Dimensional Chains Identified through Combinatorial Methods. *Science (1979)* **1998**, *279*, 837–839, doi:10.1126/SCIENCE.279.5352.837/SUPPL_FILE/975265.XHTML.
171. Danielson, E.; Golden, J.H.; McFarland, E.W.; Reaves, C.M.; Henry Weinberg, W.; Wu, X. Di A Combinatorial Approach to the Discovery and Optimization of Luminescent Materials. *Nature 1997 389:6654* **1997**, *389*, 944–948, doi:10.1038/40099.

172. Wang, T.; Pang, F.; Wen, J.; Luo, W.; Jiang, D.; Guo, Q.; Chen, Z.; Jia, M.; Xiao, Z. Luminescence and Energy Transfer Characteristics in Silica Optical Fiber Materials with Cerium and Terbium Co-Doping. *Optical Materials Express*, Vol. 8, Issue 6, pp. 1593-1602 **2018**, 8, 1593–1602, doi:10.1364/OME.8.001593.
173. Unal, F. The Effects of Precursor Concentration and Morphology on Photoluminescence Behavior of Tb₂O₃ Phosphors. *Journal of the Chinese Chemical Society* **2022**, 69, 332–338, doi:10.1002/JCCS.202100480.
174. Pedrini, C.; Belsky, A.; Ivanovskikh, K. V.; Petrosyan, A.G.; Sargsyan, R. V.; Kamenskikh, I. Cerium-, Praseodymium- and Terbium-Trapped Excitons in Oxides. *Chem Phys Lett* **2011**, 515, 258–262, doi:10.1016/J.CPLETT.2011.09.029.
175. Unger, S.; Schwuchow, A.; Jetschke, S.; Grimm, S.; Scheffel, A.; Kirchhof, J. Optical Properties of Cerium-Codoped High Power Laser Fibers. <https://doi.org/10.1117/12.2002399> **2013**, 8621, 260–270, doi:10.1117/12.2002399.
176. Marzahl, D.-T.; Metz, P.W.; Kränkel, C.; Huber, G. Performance and Wavelength Tuning of Green Emitting Terbium Lasers. *Optics Express*, Vol. 25, Issue 5, pp. 5716-5724 **2017**, 25, 5716–5724, doi:10.1364/OE.25.005716.
177. Getsis, A.; Mudring, A.V. Switchable Green and White Luminescence in Terbium-Based Ionic Liquid Crystals. *Eur J Inorg Chem* **2011**, 2011, 3207–3213, doi:10.1002/EJIC.201100168.
178. Rakhmatullin, R.M.; Kurkin, I.N.; Pavlov, V. V.; Semashko, V. V. EPR, Optical, and Dielectric Spectroscopy of Er-Doped Cerium Dioxide Nanoparticles. *physica status solidi (b)* **2014**, 251, 1545–1551, doi:10.1002/PSSB.201451116.
179. Wang, K.; Su, P.; Li, H.; Wu, Y.; Zhang, D.; Feng, H.; Fan, H. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Hybrid-Structured Ag@CeO₂ Nanoparticles. *Chemical Papers* **2019**, 73, 1279–1286, doi:10.1007/S11696-019-00681-5/METRICS.
180. Latha, P.; Prakash, K.; Karuthapandian, S. Effective Photodegradation of CR & MO Dyes by Morphologically Controlled Cerium Oxide Nanocubes under Visible Light Illumination. *Optik (Stuttg)* **2018**, 154, 242–250, doi:10.1016/J.IJLEO.2017.10.054.
181. Arellano, U.; Wang, J.A.; Balcázar, L.M.; Chen, L.; Salmones, J.; Solís, S.; Asomoza, M.; González, J.; Arellano, U.; Wang, J.A.; et al. Ag/CeO₂/SBA-15

- Hybrid Catalysts for the Elimination of E. Coli in Potable Water System. *Journal of applied research and technology* **2020**, *18*, 315–332, doi:10.22201/ICAT.24486736E.2020.18.5.1285.
182. Murugadoss, G.; Kumar, D.D.; Kumar, M.R.; Venkatesh, N.; Sakthivel, P. Silver Decorated CeO₂ Nanoparticles for Rapid Photocatalytic Degradation of Textile Rose Bengal Dye. *Scientific Reports* *2021 11:1* **2021**, *11*, 1–13, doi:10.1038/s41598-020-79993-6.
183. Murugan, E.; Santhosh Kumar, S.; Raman, A. Synthesis of Ag Nanoparticles Decorated CeO₂ Nanocomposite Material for Effective SERS Analysis. *Advanced Materials Proceedings* **2018**, *3*, 112–117, doi:10.5185/AMP.2018/870.
184. Stewart, E.; Bhuiyan, M.S.; Sathyamurthy, S.; Paranthaman, M. Studies of Solution Deposited Cerium Oxide Thin Films on Textured Ni-Alloy Substrates for YBCO Superconductor. *Mater Res Bull* **2006**, *41*, 1063–1068, doi:10.1016/J.MATERRESBULL.2005.11.015.
185. Nandasiri, M.I.; Nachimuthu, P.; Varga, T.; Shutthanandan, V.; Jiang, W.; Kuchibhatla, S.V.N.T.; Thevuthasan, S.; Seal, S.; Kayani, A. Influence of Growth Rate on the Epitaxial Orientation and Crystalline Quality of CeO₂ Thin Films Grown on Al₂O₃(0001). *J Appl Phys* **2011**, *109*, 013525, doi:10.1063/1.3525558.
186. Durán, N.; Nakazato, G.; Seabra, A.B. Antimicrobial Activity of Biogenic Silver Nanoparticles, and Silver Chloride Nanoparticles: An Overview and Comments. *Applied Microbiology and Biotechnology* *2016 100:15* **2016**, *100*, 6555–6570, doi:10.1007/S00253-016-7657-7.
187. Bekissanova, Z.; Railean, V.; Brzozowska, W.; Wojtczak, I.; Ospanova, A.; Buszewski, B.; Sprynskyy, M. Synthesis, Characterization of Silver/Kaolinite Nanocomposite and Studying Its Antibacterial Activity. *Colloids Surf B Biointerfaces* **2022**, *220*, 112908, doi:10.1016/J.COLSURFB.2022.112908.
188. Aponte, Á.G.; Ramírez, M.A.L.; Mora, Y.C.; Marín, J.F.S.; Sierra, R.B.; Aponte, Á.G.; Ramírez, M.A.L.; Mora, Y.C.; Marín, J.F.S.; Sierra, R.B. Cerium Oxide Nanoparticles for Color Removal of Indigo Carmine and Methylene Blue Solutions. *AIMS Materials Science* *2020 4:468* **2020**, *7*, 468–485, doi:10.3934/MATERSCI.2020.4.468.
189. Gontijo, L.A.P.; Raphael, E.; Ferrari, D.P.S.; Ferrari, J.L.; Lyon, J.P.; Schiavon, M.A. PH Effect on the Synthesis of Different Size Silver Nanoparticles Evaluated

- by DIs and Their Size-Dependent Antimicrobial Activity. *Revista Materia* **2020**, 25, 1–10, doi:10.1590/S1517-707620200004.1145/REFERENCES.
190. Dong, X.; Ji, X.; Wu, H.; Zhao, L.; Li, J.; Yang, W. Shape Control of Silver Nanoparticles by Stepwise Citrate Reduction. *Journal of Physical Chemistry C* **2009**, 113, 6573–6576, doi:10.1021/JP900775B/SUPPL_FILE/JP900775B_SI_001.PDF.
 191. Bazhukova, I.N.; Sokovnin, S.Y.; Ilves, V.G.; Myshkina, A. V.; Vazirov, R.A.; Pizurova, N.; Kasyanova, V. V. Luminescence and Optical Properties of Cerium Oxide Nanoparticles. *Opt Mater (Amst)* **2019**, 92, 136–142, doi:10.1016/J.OPTMAT.2019.04.021.
 192. Deus, R.C.; Foschini, C.R.; Spitova, B.; Moura, F.; Longo, E.; Simões, A.Z. Effect of Soaking Time on the Photoluminescence Properties of Cerium Oxide Nanoparticles. *Ceram Int* **2014**, 40, 1–9, doi:10.1016/J.CERAMINT.2013.06.043.
 193. Deus, R.C.; Cortés, J.A.; Ramirez, M.A.; Ponce, M.A.; Andres, J.; Rocha, L.S.R.; Longo, E.; Simões, A.Z. Photoluminescence Properties of Cerium Oxide Nanoparticles as a Function of Lanthanum Content. *Mater Res Bull* **2015**, 70, 416–423, doi:10.1016/j.materresbull.2015.05.006.
 194. Wang, G.; Mu, Q.; Chen, T.; Wang, Y. Synthesis, Characterization and Photoluminescence of CeO₂ Nanoparticles by a Facile Method at Room Temperature. *J Alloys Compd* **2010**, 493, 202–207, doi:10.1016/J.JALLCOM.2009.12.053.
 195. Mikhailova, E.O. Silver Nanoparticles: Mechanism of Action and Probable Bio-Application. *Journal of Functional Biomaterials 2020, Vol. 11, Page 84* **2020**, 11, 84, doi:10.3390/JFB11040084.
 196. Brzozowska, W.; Wojtczak, I.; Railean, V.; Bekissanova, Z.; Trykowski, G.; Buszewski, B.; Sprynskyy, M. Pyrolyzed Diatomaceous Biomass Doped with Epitaxially Growing Hybrid Ag/TiO₂ Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application. *Materials 2023, Vol. 16, Page 4345* **2023**, 16, 4345, doi:10.3390/MA16124345.
 197. He, W.; Kim, H.K.; Wamer, W.G.; Melka, D.; Callahan, J.H.; Yin, J.J. Photogenerated Charge Carriers and Reactive Oxygen Species in ZnO/Au Hybrid Nanostructures with Enhanced Photocatalytic and Antibacterial Activity. *J Am Chem Soc* **2014**, 136, 750–757, doi:10.1021/JA410800Y/SUPPL_FILE/JA410800Y_SI_001.PDF.

198. Hsiao, I.L.; Hsieh, Y.K.; Wang, C.F.; Chen, I.C.; Huang, Y.J. Trojan-Horse Mechanism in the Cellular Uptake of Silver Nanoparticles Verified by Direct Intra- and Extracellular Silver Speciation Analysis. *Environ Sci Technol* **2015**, *49*, 3813–3821, doi:10.1021/ES504705P/SUPPL_FILE/ES504705P_SI_001.PDF.
199. Maleki, P.; Nemati, F.; Gholoobi, A.; Hashemzadeh, A.; Sabouri, Z.; Darroudi, M. Green Facile Synthesis of Silver-Doped Cerium Oxide Nanoparticles and Investigation of Their Cytotoxicity and Antibacterial Activity. *Inorg Chem Commun* **2021**, *131*, 108762, doi:10.1016/J.INOCHE.2021.108762.
200. Ahmad, A.; Javed, M.S.; Khan, S.; Almutairi, T.M.; Mohammed, A.A.A.; Luque, R. Green Synthesized Ag Decorated CeO₂ Nanoparticles: Efficient Photocatalysts and Potential Antibacterial Agents. *Chemosphere* **2023**, *310*, 136841, doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.136841.

9. Dorobek naukowy

9.1. Lista publikacji naukowych

1. Nowak, Andrzej & Sprynskyy, Myroslav & **Wojtczak, Izabela** & Trzciniński, Konrad & Wysocka, Joanna & Szkoda, Mariusz & Buszewski, Bogusław & Lisowska-Oleksiak, Anna. (2020). *Diatoms Biomass as a Joint Source of Biosilica and Carbon for Lithium-Ion Battery Anodes*. *Materials*. 13. 1673. 10.3390/ma13071673. [*Czasopismo - Materials, liczba punktów ministerialnych: 140, wskaźnik cytowań (IF): 3.748*].
2. Brzozowska, Weronika & Sprynskyy, Myroslav & **Wojtczak, Izabela** & Dąbek, Przemysław & Andrzej, Witkowski & Buszewski, Bogusław. (2020). *“Outsourcing” Diatoms in Fabrication of Metal-Doped 3D Biosilica*. *Materials*. 13. 2576. 10.3390/ma13112576. [*Czasopismo - Materials, liczba punktów ministerialnych: 140, wskaźnik cytowań (IF): 3.748*].
3. Olewnik-Kruszkowska, Ewa & Brzozowska, Weronika & Adamczyk, Arkadiusz & Gierszewska, Magdalena & **Wojtczak, Izabela** & Sprynskyy, Myroslav. (2020). *Effect of Diatomaceous Biosilica and Talc on the Properties of Dielectric Elastomer Based Composites*. *Energies*. 13. 5828. 10.3390/en13215828. [*Czasopismo - Energies, liczba punktów ministerialnych: 140, wskaźnik cytowań (IF): 3.252*].
4. Buszewski, Bogusław & Walczak-Skierska, Justyna & Wrona, Olga & **Wojtczak, Izabela**. (2021). *Linear solvation energy relationships in the determination of phospholipids by supercritical fluid chromatography*. *The Journal of Supercritical Fluids*. 173. 105206. 10.1016/j.supflu.2021.105206. [*Czasopismo - The Journal of Supercritical Fluids, liczba punktów ministerialnych: 100, wskaźnik cytowań (IF): 3.900*].
5. Brzozowska, Weronika & **Wojtczak, Izabela** & Sprynskyy, Myroslav & Buszewski, Bogusław. (2021). *3D Ornamentowane zdefiniowane struktury krzemionki otrzymane przez okrzemki*. <https://doi.org/10.15199/62.2021.3.8>. [*Czasopismo – PRZEMYSŁ CHEMICZNY, liczba punktów ministerialnych: 70, wskaźnik cytowań (IF): 0.5*].
6. Sprynskyy, Myroslav & Szczyglewska, Paulina & **Wojtczak, Izabela** & Nowak, Izabela & Andrzej, Witkowski & Buszewski, Bogusław & Feliczak-Guzik,

- Agnieszka. (2021). *Diatom Biosilica Doped with Palladium(II) Chloride Nanoparticles as New Efficient Photocatalysts for Methyl Orange Degradation*. International Journal of Molecular Sciences. 22. 6734. 10.3390/ijms22136734. [*Czasopismo - International Journal of Molecular Sciences, liczba punktów ministerialnych: 140, wskaźnik cytowań (IF): 5.600*].
7. Brzozowska, Weronika & Sprynskyy, Myroslav & **Wojtczak, Izabela** & Dąbek, Przemysław & Markuszewski, Michał & Andrzej, Witkowski & Buszewski, Bogusław. (2022). *Metabolically Doping of 3D Diatomaceous Biosilica with Titanium*. Materials. 15. 5210. 10.3390/ma15155210. [*Czasopismo - Materials, liczba punktów ministerialnych: 140, wskaźnik cytowań (IF): 3.748*].
 8. Bekissanova, Zhanar & Railean, Viorica & Brzozowska, Weronika & **Wojtczak, Izabela** & Ospanova, Alyiya & Buszewski, Bogusław & Sprynskyy, Myroslav. (2022). *Synthesis, characterization of silver/kaolinite nanocomposite and studying its antibacterial activity*. Colloids and surfaces B: Biointerfaces. 220. 112908. 10.1016/j.colsurfb.2022.112908. [*Czasopismo - Colloids and Surfaces B Biointerfaces, liczba punktów ministerialnych: 100, wskaźnik cytowań (IF): 5.999*].
 9. Szumski, Michał & Al. Saoud, Hussam & **Wojtczak, Izabela** & Sprynskyy, Myroslav & Gadzała-Kopciuch, Renata & Bocian, Szymon & Dembek, Mikołaj & Potrzebowski, Marek & Buszewski, Bogusław. (2023). *Diatom Biosilica for the Chromatographic Purposes*. 10.2139/ssrn.4449844. – Preprint
 10. Brzozowska, Weronika & **Wojtczak, Izabela** & Railean, Viorica & Bekissanova, Zhanar & Trykowski, Grzegorz & Buszewski, Bogusław & Sprynskyy, Myroslav. (2023). *Pyrolyzed Diatomaceous Biomass Doped with Epitaxially Growing Hybrid Ag/TiO₂ Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application*. Materials. 16. 10.3390/ma16124345. [*Czasopismo - Materials, liczba punktów ministerialnych: 140, wskaźnik cytowań (IF): 3.748*].
 11. **Wojtczak, Izabela** & Brzozowska, Weronika & Railean, Viorica & Bekissanova, Zhanar & Trykowski, Grzegorz & Sprynskyy, Myroslav. (2023). *Diatomaceous Biosilica Doped with Heteroepitaxially Growing Ag/AgCl/CeO₂ Composite Nanoparticles: Synthesis, Characterisation and Antibacterial Application*. Journal of Cluster Science. 35. 1-14. 10.1007/s10876-023-02492-x. [*Czasopismo - Journal of Cluster Science, liczba punktów ministerialnych: 70, wskaźnik cytowań (IF): 2.800*].

12. Bekissanova, Zhanar & Railean, Viorica & **Wojtczak, Izabela** & Brzozowska, Weronika & Trykowski, Grzegorz & Ospanova, Alyiya & Sprynskyy, Myroslav. (2023). *Synthesis and Antimicrobial Activity of 3D Micro–Nanostructured Diatom Biosilica Coated by Epitaxially Growing Ag-AgCl Hybrid Nanoparticles*. *Biomimetics*. 9. 5. 10.3390/biomimetics9010005. [*Czasopismo – Biomimetics, liczba punktów ministerialnych: 20, wskaźnik cytowań (IF): 4.500*].
13. Brzozowska, Weronika & **Wojtczak, Izabela** & Sprynskyy, Myroslav. (2024). *The Use of Diatoms in the Synthesis of New 3D Micro-Nanostructured Composites (SiO₂/CaCO₃/Corg/NdVO₄NPs and SiO₂/CaO/Corg/NdVO₄NPs) Exhibiting an Intense Anti-Stokes Photoluminescence*. *Materials*. 17. 490. 10.3390/ma17020490. [*Czasopismo - Materials, liczba punktów ministerialnych: 140, wskaźnik cytowań (IF): 3.748*].

9.2. Konferencje

Aktywny udział (referat lub plakat) w konferencji międzynarodowej lub krajowej, udokumentowany w materiałach zjazdowych:

1. **Kopernikańskie E-Seminarium Doktoranckie** (konferencja online), Tytuł: Metaboliczna insercja biokrzemionki pozyskiwanej z okrzemek jonami ceru – opis eksperymentu i wstępne założenia, Toruń, Polska, 7 września 2020 – wystąpienie ustne;
2. **Metabolomics Circle 2020** (konferencja online), Tytuł: Metabolic insertion of biosilica obtained from diatoms with cerium ions, Białystok, Polska, 4-6 listopad 2020 – ePoster
3. **MKDUS – I Międzynarodowa Multidyscyplinarna Konferencja Doktorantów Uniwersytetu Szczecińskiego** (konferencja online), Metaboliczna insercja biokrzemionki pozyskiwanej z okrzemek jonami ceru – charakterystyka materiału, Szczecin, Polska, 23-25 czerwca 2021 – wystąpienie ustne;
4. **QUO VADIS Life Sciences** (konferencja online), Tytuł: Diatom biosilica metabolically inserted with cerium, Opole, Polska, 23-27 czerwca 2021 – wystąpienie ustne;
5. **The 8th Conference of Polish Metabolomic Society, Metabolomics Circle 2021** (konferencja on-line), Tytuł: “Diatomaceous Biosilica Inserted Metabolically With A Selected Rare Earth Element”, Katowice, Poland, 17-19.11.2021 – forma e-poster;

6. **MKDUS 2.0** - II Międzynarodowa Multidyscyplinarna Konferencja Doktorantów Uniwersytetu Szczecińskiego (konferencja on-line), Tytuł: „Synteza kompozytów na bazie biokrzemionki okrzemkowej z dodatkiem srebra i ceru”, Szczecin, Polska, 22-24.06.2022 – forma ustna;

9.3. Inne aktywności doktoranta (np. działalność popularyzatorska, udział bierny w konferencjach itp.)

1. **IX Konferencja Naukowo-Techniczna „Diagnostyka Materiałów Polimerowych”**, Tytuł: Właściwości fizykochemiczne kompozytów na bazie elastomeru dielektrycznego z dodatkiem materiałów krzemianowych, Temù, Włochy, 18-25 styczeń 2020 – ePoster;
2. **Moderacja sesji popołudniowej „Panelu zielonego” podczas MKDUS 2.0** - II Międzynarodowej Multidyscyplinarnej Konferencji Doktorantów Uniwersytetu Szczecińskiego (konferencja on-line), Szczecin, Polska, 22-24.06.2022;
3. **IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Biopolimery – źródło nowych materiałów”** (konferencja on-line), Weronika Brzozowska (Uniwersytet Szczeciński), Izabela Wojtczak, Myroslav Sprynskyy, Ewa Olewnik-Kruszkowska, Przemysław Dąbek, Andrzej Witkowski, Bogusław Buszewski Tytuł: „Wpływ biokrzemionki okrzemkowej na właściwości kompozytów na bazie elastomerów dielektrycznych”, Polska, 14.10.2021 – udział bierny oraz współautorstwo tworzenia materiałów konferencyjnych;
4. **7th World Congress on Recent Advances in Nanotechnology (RAN'22)** (konferencja on-line), Weronika Brzozowska (Uniwersytet Szczeciński), Izabela Wojtczak, Myroslav Sprynskyy, Ewa Olewnik-Kruszkowska, Bogusław Buszewski Tytuł: „Influence of Diatomaceous Biosilica on the Properties of Composites Based On Dielectric Elastomers”, 04-06.04.2022 – współautorstwo tworzenia materiałów konferencyjnych;
5. **Opiekun pracy magisterskiej Pani Anny Kowalskiej** pt. „Ekstrakcja karotenoidów z biomasy hodowanych okrzemek” (praca obroniona dnia 17.06.2022r.);

9.4. Udokumentowany udział doktoranta w projektach naukowych oraz finansowanie badań naukowych ze zdobytych grantów

1. **Projekt PRELUDIUM** pod kierownictwem: dr Olgi Wrony, Opracowanie metod analiz chromatograficznych wybranych związków bioaktywnych z ekstraktów pozyskanych z polskich roślin uprawnych (analiza QSRR), rodzaj uczestnictwa w projekcie – wykonawca;
2. Wykonywanie prac naukowo-badawczych w zakresie opracowania, rozwoju i zastosowania metodyk hodowli okrzemek w celu uzyskania nowych biosyntetycznych materiałów krzemionkowych (biokrzemionki) w ramach projektu **Zaawansowane biokompozyty dla gospodarki jutra BIOG-NET**, rodzaj uczestnictwa w projekcie – wykonawca;
3. **Czterokrotnie uzyskany GRANT MŁODYCH dla uczestników Studiów Doktoranckich, Szkoły Doktorskiej oraz młodych pracowników Wydziału Chemii (magistrów, do 35 roku życia)**; Numery grantów (od najstarszego): Grant 2092/2019; Grant 492/2020; Grant PDB/ granty wydziałowe; Projekt: WCh / podstawowa działalność badawcza (4001.00000001) Budżet: WCh / 2022 limit na podstawową działalność badawczą (03.0600000243) Etap: Zad. 13. Granty wydziałowe / środki do dyspozycji Zasób: 05.89. pozostałe koszty.