



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS

# CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE COBRE BIOSINTETIZADAS A PARTIR DE DRENAJES ÁCIDOS MINEROS

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas de la  
Universidad de Concepción para optar al título de  
INGENIERA FÍSICA  
por

**Ayleen Elizabeth Contreras Solar**

Marzo 2023  
Concepción, Chile

Profesor Guía: **Dra. Noelia Benito Gómez**  
Profesor Co-Guía: **Dr. Gonzalo Recio Sánchez**



© 2023, Ayleen Elizabeth Contreras Solar

Ninguna parte de esta tesis puede reproducirse o transmitirse bajo ninguna forma o por ningún medio o procedimiento, sin permiso por escrito del autor.



## Resumen

Las aguas residuales mineras, como los drenajes ácidos mineros (AMD), son una de las principales causas de la presencia de sulfato en aguas subterráneas y superficiales, de ahí que surge la necesidad de una biotecnología novedosa para la remediación de aguas residuales. Ante esto, se presenta la biosulfidogénesis como una alternativa sostenible, en la que bacterias reductoras de sulfato (SRB) producen ácido sulfhídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ), el cual al entrar en contacto con el AMD actúa como agente precipitante de metales contenidos en su composición, permitiendo biosintetizar una variedad de nanomateriales. En esta tesis se biosintetizaron con éxito nanopartículas de sulfuro de cobre a partir de drenajes ácidos mineros reales provenientes de una mina de cobre en Chile, mediante la inyección de  $\text{H}_2\text{S}$ , generado en biorreactores sulfidogénicos. Posteriormente, se realizaron diversas caracterizaciones con el fin de estudiar algunas de las propiedades fisicoquímicas de estas. Las nanopartículas de sulfuro de cobre resultantes poseen morfología esférica con un diámetro medio de  $40 \pm 9$  nm, una estructura hexagonal con alta cristalinidad y parámetros de red  $a = b = 3,79$  Å y  $c = 16,445$  Å. En adición, están compuestas elementalmente por Cu y S, lo que da cuenta de la pureza de la covellita. Asimismo, exhiben un amplio espectro de absorción en la región UV-Vis-NIR, en el que a 630 nm alcanza un mínimo de absorción, que es producto de la absorción de pares electrón–hueco; mientras que, a 975 nm exhibe un pico de absorción causado por la resonancia de plasmones de superficie localizada.

**Keywords** – CuS nanoparticles; Sulfate-reducing bacteria; Green synthesis

## Abstract

Mineral wastewater, such as Acid Mine Drainage (AMD), is one of the main causes of sulfate presence in groundwater and surface water, hence the need for novel biotechnology for wastewater remediation. Given this, biosulfidogenesis is presented as a sustainable alternative, where sulfate-reducing bacteria (SRB) produce hydrogen sulfide ( $\text{H}_2\text{S}$ ), which, in contact with AMD, acts as a precipitating agent for metals contained in its composition, allowing the biosynthesis of a variety of nanomaterials. In this thesis, copper sulfide nanoparticles were successfully biosynthesized from real acid mine drainage from a copper mine in Chile, by injecting  $\text{H}_2\text{S}$ , generated in sulfidogenic bioreactors. Subsequently, several characterizations were carried out in order to study some of their physicochemical properties. The resulting copper sulfide nanoparticles possess spherical morphology with a mean diameter of  $40 \pm 9$  nm, a hexagonal structure with high crystallinity, and lattice parameters  $a = b = 3,79 \text{ \AA}$  y  $c = 16,445 \text{ \AA}$ . In addition, they are composed of Cu and S, which accounts for the purity of the covellite. Likewise, they exhibit a wide absorption spectrum in the UV-Vis-NIR region, in which at 630 nm it reaches a minimum absorption, as a result of the absorption of electron-hole pairs; while, at 975 nm, it exhibits an absorption peak produced by localized surface plasmon resonance.

**Keywords** – CuS nanoparticles; Sulfate-reducing bacteria; Green synthesis

# Índice general

<b>Resumen</b>	<b>I</b>
<b>Abstract</b>	<b>II</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Objetivos</b>	<b>3</b>
<b>3. Marco Teórico</b>	<b>4</b>
3.1. Sulfuro de cobre (CuS) . . . . .	4
3.1.1. Propiedades . . . . .	4
3.1.1.1. Propiedades estructurales y electrónicas . . . . .	4
3.2. Nanomateriales . . . . .	6
3.2.1. Nanopartículas de sulfuro de cobre . . . . .	9
3.2.1.1. Propiedades ópticas . . . . .	9
3.3. Métodos de síntesis . . . . .	12
3.3.1. Proceso hidrotérmico/solvotérmico . . . . .	12
3.3.2. Electrodeposición . . . . .	15
3.3.3. Proceso sol-gel . . . . .	16
3.3.4. Biosíntesis . . . . .	17
<b>4. Metodología</b>	<b>19</b>
4.1. Bioproducción de nanopartículas de sulfuro de cobre . . . . .	19
4.2. Técnicas de caracterización . . . . .	22
4.2.1. Técnicas para análisis estructurales . . . . .	22
4.2.1.1. Espectroscopía de ultravioleta-visible . . . . .	23
4.2.1.2. Difracción de rayos X . . . . .	25
4.2.1.3. Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X . . . . .	27
4.2.2. Técnicas para análisis morfológico. Microscopía electrónica . . . . .	29
4.2.2.1. Microscopía electrónica de transmisión . . . . .	29
4.2.2.2. Microscopía electrónica de barrido . . . . .	31
<b>5. Análisis y Discusión</b>	<b>33</b>
5.1. Síntesis de nanopartículas de CuS . . . . .	33

---

5.2. Propiedades morfológicas y estructurales . . . . .	34
5.2.1. Microscopía electrónica de barrido y transmisión . . . . .	34
5.2.2. Difracción de Rayos X . . . . .	36
5.3. Composición elemental de las nanopartículas de CuS . . . . .	37
5.4. Propiedades optoelectrónicas . . . . .	40
<b>6. Conclusión</b>	<b>45</b>
<b>Referencias</b>	<b>47</b>

# Índice de cuadros

4.1.1. Mediciones analíticas de la composición y concentración de contaminantes presentes en el drenaje minero. Análisis efectuado por el Laboratorio de ensayos EULA-Chile. . . . .	22
--	----

# Índice de figuras

3.1.1. Estructura cristalina hexagonal de CuS. . . . .	5
3.2.1. Imágenes de microscopio electrónico de barrido (SEM) y microscopio electrónico de transmisión (TEM) de diferentes tipos de nanomateriales 0-D. (A) Puntos cuánticos, (B) arreglos de nanopartículas, (C) nanopartículas de núcleo y cubierta, (D) cubos huecos y (E) nanoesferas. . . . .	7
3.2.2. Imágenes de SEM de diferentes tipos de nanomateriales 1-D. (A) nanocables, (B) nanovarillas, (C) nanotubos, (D) nanocinturones, (E) nanocintas y (F) nanoestructuras jerárquicas. . . . .	7
3.2.3. Imágenes de SEM y TEM de diferentes tipos de nanomateriales 2-D. (A) Uniones (islas continuas), (B) estructuras ramificadas, (C) nanoplacas, (D) nanoláminas, (E) nanoparedes y (F) nanodiscos. . . . .	8
3.2.4. Imágenes de SEM y TEM de diferentes tipos de nanomateriales 3-D. (A) Nanobolas (estructuras dendríticas), (B) nanoespiras, (C) nanoconos, (D) nanopilleres y (E) nanoflores. . . . .	8
3.3.1. Esquema proceso hidrotérmico. . . . .	14
3.3.2. Esquema de electrodeposición sobre un sustrato. . . . .	16
3.3.3. Esquema proceso sol-gel. . . . .	17
4.1.1. Representación esquemática del biorreactor . . . . .	21
4.2.1. Diagrama esquemático de los componentes de un espectrofotómetro UV-Vis. . . . .	24
4.2.2. Representación gráfica de la Ley de Bragg, en la que dos rayos se reflejan en dos planos distintos con distancia $d$ entre ellos. . . . .	26
4.2.3. Diagrama esquemático del funcionamiento de un difractómetro. . . . .	27
4.2.4. Diagrama de un espectrómetro de fotoelectrones. Se usa radiación de rayos X para ionizar una muestra y el analizador de energía registra la energía cinética de los electrones emitidos. . . . .	29
4.2.5. Esquema de los componentes de un microscopio electrónico de transmisión. . . . .	31
4.2.6. Esquema de los componentes de un microscopio electrónico de transmisión. . . . .	32

5.1.1. Proceso de síntesis de las nanopartículas de sulfuro de cobre. <b>(a)</b> Sistema integrado de precipitación de sulfuros por gas $H_2S$ generado por un biorreactor sulfidogénico. <b>(b)</b> Matraz de precipitación de sulfuro que contiene drenaje ácido minero. <b>(c)</b> Extracción de la solución de drenaje ácido minero con nanoestructuras de sulfuro de cobre precipitadas. <b>(d)</b> Nanoestructuras de sulfuro de cobre resultantes del proceso de síntesis previo (izquierda) y posterior (derecha) a curación térmica. . . . .	34
5.2.1. Imagen SEM de nanopartículas de sulfuro de cobre bioproducidas a partir de drenaje ácido real. . . . .	35
5.2.2. Distribución de diámetro y área de las nanopartículas de sulfuro de cobre. A partir de un total de 2300 mediciones, se determinó que el diámetro y área medio de las NPs es de $40 \pm 9$ nm y $1341 \pm 640$ nm <sup>2</sup> , respectivamente. . . . .	35
5.2.3. Imagen TEM de nanopartículas de sulfuro de cobre bioproducidas a partir de drenaje ácido real. . . . .	36
5.2.4. Patrones de difracción de rayos X de nanopartículas de CuS biosintetizadas. . . . .	37
5.3.1. Espectro XPS de las nanopartículas de CuS. . . . .	38
5.3.2. Espectro XPS de alta resolución de Cu 2p. . . . .	39
5.3.3. Espectro XPS de alta resolución de S 2p. . . . .	40
5.4.1. Espectro de absorción en el rango UV-Vis-NIR de las nanopartículas de CuS sintetizadas. . . . .	41
5.4.2. Variación de $(\alpha h\nu)^2$ frente a $h\nu/eV$ para la transición las NP de CuS. La intersección entre las rectas tangentes a la curva indican el valor de la banda prohibida óptica, $E_g = 2,001$ eV. . . . .	42

# Capítulo 1

## Introducción

La minería es una industria vital para la producción de bienes, servicios e infraestructura a nivel mundial y en Chile, la minería representa una de las actividades más importantes, siendo su aporte al PIB de un 12.5% en 2020 y 14.6% en 2021 [1]. Sin embargo, como en toda producción a gran escala, esta industria produce cantidades significativas de desechos que tienen un gran efecto en el entorno. Los residuos del relave de una mina es una de las consecuencias que más impacto tiene sobre la salud humana, la vida acuática, el medio ambiente y la economía [2] debido a que el agua residual de los relaves contiene altos niveles de sulfato, el cual es de los principales contaminantes de las aguas subterráneas y superficiales [3]. Las aguas residuales de un relave derivan en un drenaje ácido minero (AMD) con rangos de pH menores a 6, elevada concentración de sulfato y, frecuentemente, con un contenido significativo de metales disueltos. Es por esto que el tratamiento de aguas residuales del sector minero necesita una biotecnología novedosa, eficiente y sostenible.

Ante esta problemática se presenta la biosulfidogénesis como un enfoque sostenible, que consiste en la reducción de sulfato a ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) por medio de bacterias reductoras de sulfato (SRB). El  $H_2S$  bioproducido es capaz de actuar como agente precipitante de metales, es decir, se puede utilizar para que reaccione selectivamente con metales de transición contenidos en un drenaje ácido minero con el fin de recuperar sulfuros metálicos [4]. Esta alternativa permite biosintetizar una variedad de nanomateriales dependiendo de los metales que compongan al AMD y promover la remediación de estas aguas residuales.

La nanotecnología se define como la comprensión y el control de la materia en dimensiones entre 1 y 100 nm, donde los fenómenos únicos dependientes del tamaño de los materiales permiten aplicaciones transdisciplinarias novedosas [5]. Recientemente, ha habido un interés sustancial en la preparación, caracterización y aplicación de nanopartículas (NP) semiconductoras. Cuando el tamaño de materiales semiconductores se reduce a la nanoescala, sus propiedades físicas y químicas cambian drásticamente, dando como resultado alteraciones en la conductividad del semiconductor y en sus propiedades ópticas, tal como la manifestación de resonancia de plasmones de superficie localizada (LSPR), debido a que las NP presentan mayor área superficial. En particular, las nanopartículas de sulfuro de cobre (CuS) han destacado por su abundancia en la tierra, presentar una baja toxicidad, un bajo costo de producción en comparación con nanopartículas metálicas como las NP de oro y plata y por su variedad de prometedoras aplicaciones [6]. Las NP de CuS exhiben un comportamiento semiconductor tipo p, lo que las hace candidatas para aplicación en dispositivos fotovoltaicos [7]. En adición, posee una energía de banda prohibida óptica en el rango de 1,2 a 2,89 eV dependiendo de la estequiometría y, como tal, tiene una gran capacidad de absorción de luz visible y ultravioleta y puede aplicarse ampliamente como fotocatalizador [8], sensores [9] y materiales de electrodos para celdas solares [10].

La presente tesis explora la biosíntesis de NP de CuS a partir de drenajes ácidos mineros reales provenientes de una mina de cobre en Chile, mediante la inyección de H<sub>2</sub>S generado por la reducción biológica de sulfato producido por SRB al interior de biorreactores sulfidogénicos. Se estudiaron las principales propiedades fisicoquímicas de las NP por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM) y transmisión (TEM), difracción de rayos X (XRD), espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) y espectroscopía UV-Vis-NIR.

## Capítulo 2

### Objetivos

El objetivo general de la presente investigación es estudiar las principales propiedades fisicoquímicas de nanopartículas de sulfuro de cobre bioprecipitadas a partir de drenajes ácidos mineros. Para ello, los objetivos específicos son:

1. Sintetizar nanopartículas de sulfuro de cobre a partir de drenajes ácidos mineros, utilizando bioreactores sulfidogénicos.
2. Estudiar las propiedades morfológicas y estructurales de las nanopartículas resultantes.
3. Estudiar la composición química de las nanopartículas de CuS.
4. Estudiar las propiedades optoelectrónicas de las nanopartículas de CuS biosintetizadas.

# Capítulo 3

## Marco Teórico

### 3.1. Sulfuro de cobre (CuS)

Los sulfuros naturales son compuestos de minerales combinados con azufre, tales como la pirita (bisulfuro de hierro), galena (sulfuro de plomo), covelita (sulfuro de cobre). Químicamente, los sulfuros corresponden a la unión del azufre en estado de oxidación -2 con un elemento químico, siendo los sulfuros metálicos los más comunes, como los sulfuros de cobre, debido a la tendencia del anión de azufre a combinarse con otros metales.

En particular, los sulfuros de cobre son materiales inorgánicos binarios, cuya fórmula general es  $\text{Cu}_x\text{S}_y$ , en el que si  $x$  es mayor a  $y$  dicho sulfuro es rico en cobre, tal como la calcocita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ) y, en caso contrario, el sulfuro es deficiente en cobre, como la villamaninita ( $\text{CuS}_2$ ). Existen también compuestos intermedios estables como la covelita ( $\text{CuS}$ ), anillita ( $\text{Cu}_7\text{S}_4$ ), entre otros.

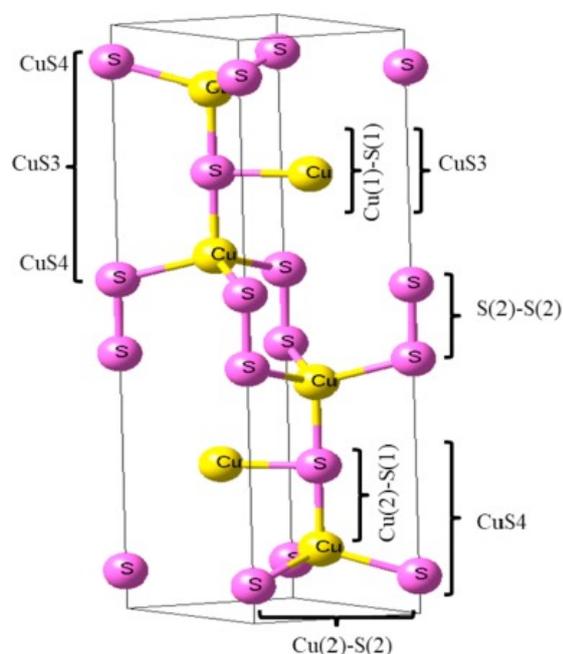
#### 3.1.1. Propiedades

##### 3.1.1.1. Propiedades estructurales y electrónicas

El CuS hexagonal, conocido como covelita, es un compuesto estequiométrico que puede existir de manera estable hasta los 500°K, por encima de esta temperatura se descompone en  $\text{Cu}_{2-x}\text{S}$  y líquido [11]. Gran parte de los sulfuros de cobre presentan un comportamiento semiconductor de tipo p, sin embargo, se ha informado que el CuS muestra conductividad metálica [12], [13] y que experimenta

una transición superconductor a 1.6 °K [14]. La causa de la superconductividad en el CuS se debe a su intrigante simetría cristalina. El CuS posee una fórmula química simple aunque una estructura cristalina bastante compleja, presentada en la Figura 3.1.1, que fue analizada por Oftedal (1932) y confirmada por Berry (1954), la cual sufre una transición desde una estructura hexagonal a una ortorrómbica.

A temperatura ambiente, cristaliza en un tipo de estructura hexagonal con grupo espacial  $P6_3/mmc$  ( $Z=6$ ), cuyos parámetros de red son  $a = 3,7938 \text{ \AA}$  y  $c = 16,341 \text{ \AA}$  [15]. Estructuralmente, consta de dos sitios cristalográficos distintos para los átomos de cobre (Cu) y azufre (S), que se denominan Cu1, Cu2, S1 y S2 respectivamente. La estructura tiene varios planos de enlaces Cu-S, tal como se muestra en la Figura 3.1.1, en donde las capas alternas del plano CuS4, CuS3, CuS4 están unidas entre sí por enlaces S-S a lo largo del eje  $c$ . En la capa de CuS3, Cu2 está ordenado de forma tetraédrica con los átomos S1 y S2. Mientras que en la capa de CuS3, Cu1 y S1 siguen una simetría trigonal [16].



**Figura 3.1.1:** Estructura cristalina hexagonal de CuS. Imagen extraída de Arora *et al.* [16]

A una temperatura de aproximadamente 55 °K, el sistema experimenta espontáneamente una transición de una estructura hexagonal a una estructura

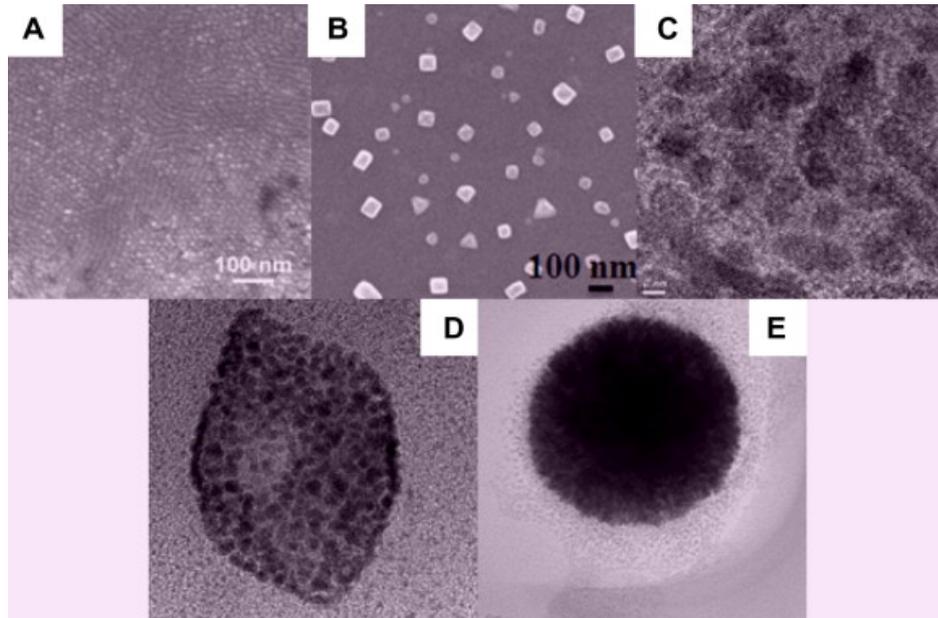
ortorrómbica ( $Cmcm$ ) de menor simetría. Esta transición implica un pequeño deslizamiento de las capas CuS con respecto a las de  $Cu_2S_2$ , además de una variación en las distancias de los enlaces Cu-Cu, lo que indica que la formación de los enlaces metálicos es la principal causa de la transición [17].

Nozaki *et al.* [12] atribuyeron la superconductividad observada a 1.6 °K a huecos en la banda de valencia que está asociada con los orbitales 3p del azufre [18]. La alta conductividad eléctrica del CuS le ha otorgado aplicaciones como material de cátodo para baterías recargables de litio [19], en celdas solares [20], electrodos [21] y también en actividades fotocatalíticas [22].

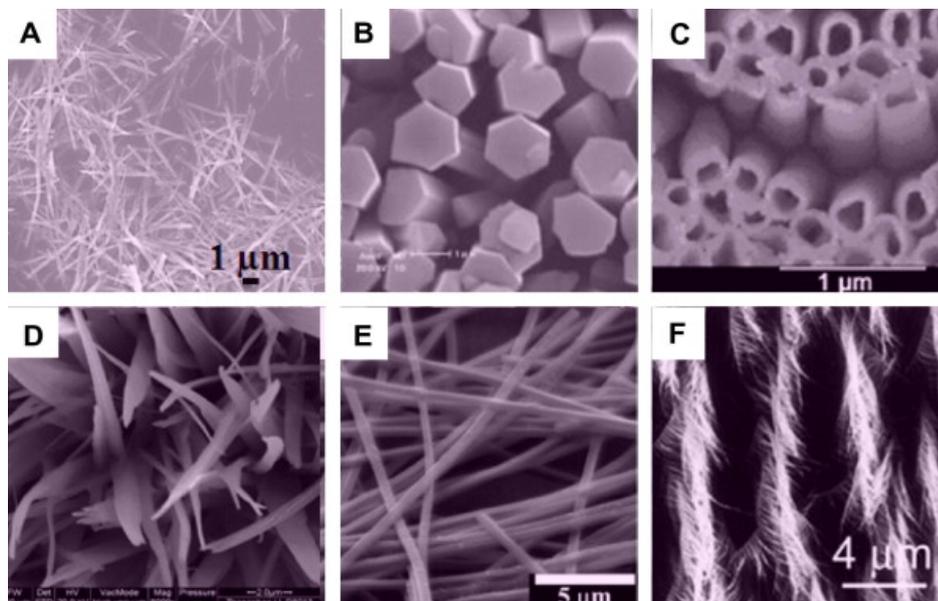
## 3.2. Nanomateriales

El concepto de nanotecnología fue presentado por primera vez por Richard Feynman en su famosa conferencia titulada “Hay mucho espacio en el fondo”, en el Instituto Americano de Tecnología [23]. El prefijo “nano” se deriva de la palabra griega *nanos*, que significa “enano”. Por tanto, los nanomateriales son materiales con un tamaño inferior a 100 nm en al menos una dimensión, lo que corresponde a  $10^{-9}$  m, es decir, una milmillonésima parte de un metro, siendo un tamaño muy inferior al de la microescala [24].

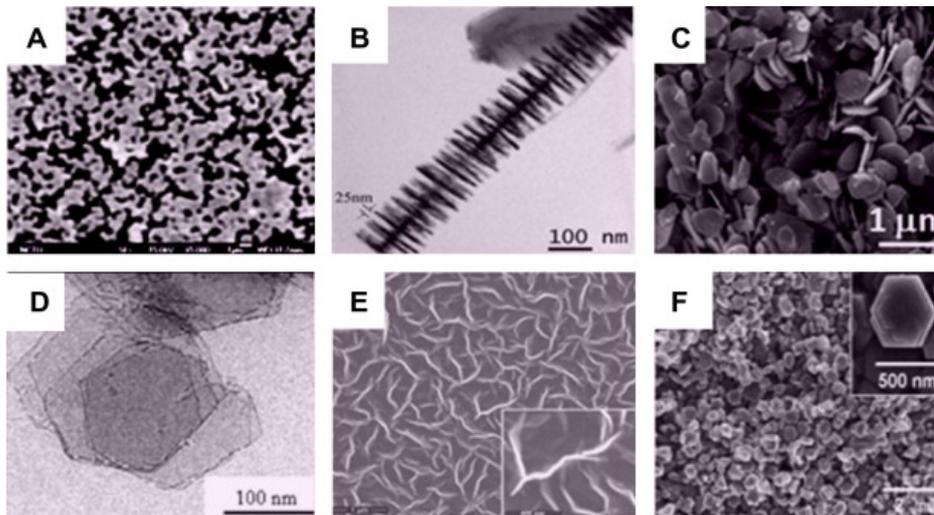
Una característica importante que discrimina a los nanomateriales es su dimensionalidad. En un nanomaterial de dimensión (0-D), las tres dimensiones de este se encuentran en el rango de la nanoescala ( $<100$  nm), tal como las nanopartículas y puntos cuánticos. En un nanomaterial unidimensional (1-D), dos de sus dimensiones pertenecen a la nanoescala, por ejemplo, nanotubos, nanocables y nanobarras. Por otro lado, en un nanomaterial bidimensional (2-D), una de sus dimensiones se encuentra en el rango de la nanoescala y dos fuera de él, por ejemplo, nanoláminas y nanorecubrimientos. Finalmente, un nanomaterial tridimensional (3-D) corresponde a una aglomeración de nanomateriales que, en conjunto forman un material que no está confinado a la nanoescala en ninguna dimensión, por ejemplo, nanocompuestos, múltiples nanocapas o paquete de nanotubos [25]. Las Figuras 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3 y 3.2.4 muestran imágenes de nanomateriales con distinta dimensionalidad.



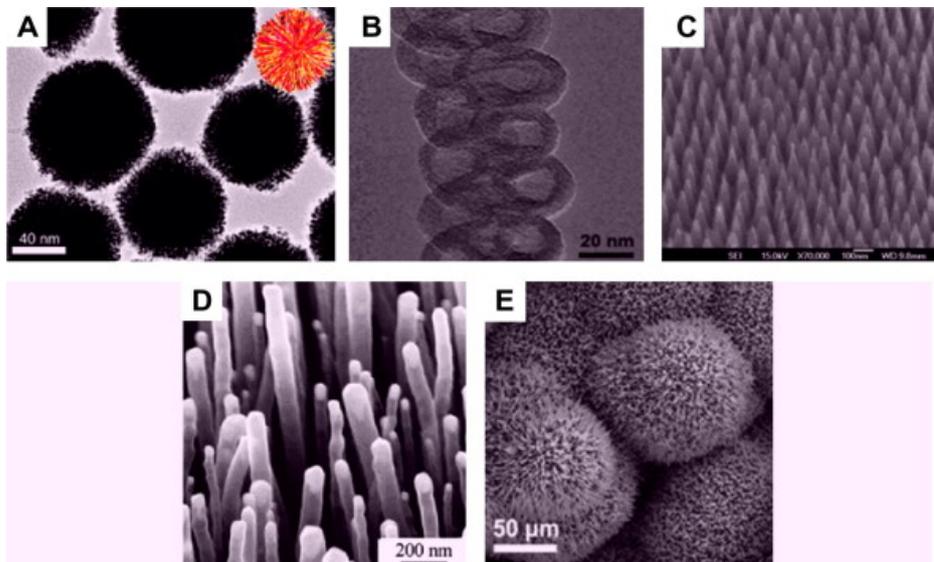
**Figura 3.2.1:** Imágenes de microscopio electrónico de barrido (SEM) y microscopio electrónico de transmisión (TEM) de diferentes tipos de nanomateriales 0-D. (A) Puntos cuánticos, (B) arreglos de nanopartículas, (C) nanopartículas de núcleo y cubierta, (D) cubos huecos y (E) nanoesferas. Imagen extraída de Tiwari *et al.* [26]



**Figura 3.2.2:** Imágenes de SEM de diferentes tipos de nanomateriales 1-D. (A) nanocables, (B) nanovarillas, (C) nanotubos, (D) nanocinturones, (E) nanocintas y (F) nanoestructuras jerárquicas. Imagen extraída de Tiwari *et al.* [26]



**Figura 3.2.3:** Imágenes de SEM y TEM de diferentes tipos de nanomateriales 2-D. (A) Uniones (islas continuas), (B) estructuras ramificadas, (C) nanoplacas, (D) nanoláminas, (E) nanoparedes y (F) nanodiscos. Imagen extraída de Tiwari *et al.* [26]



**Figura 3.2.4:** Imágenes de SEM y TEM de diferentes tipos de nanomateriales 3-D. (A) Nanobolas (estructuras dendríticas), (B) nanoespiras, (C) nanoconos, (D) nanopilleres y (E) nanoflores. Imagen extraída de Tiwari *et al.* [26]

Las nanopartículas (NP) pueden ser de origen natural (incendio forestal, erupción volcánica, etc.), origen antropogénico involuntario (producción durante la combustión o procesos térmicos como soldadura o emisiones de diesel, o bien partículas, polvo o aerosoles ultrafinos) y de origen antropogénico intencional

(NP sintetizadas en fábricas o laboratorios de investigación) [27]. Las NP se han estudiado ampliamente en diversas industrias como la automotriz [28, 29, 30], textil [31, 32, 33], cosmética [34, 35], farmacéutica [36, 37, 38] y medicina [39, 40, 41], debido a la variedad de propiedades que poseen a diferencia de respectivo compuesto a granel, tales como actividades catalíticas, electrónicas [42], magnéticas [43], químicas [44] y ópticas [45].

### 3.2.1. Nanopartículas de sulfuro de cobre

Las NP de sulfuro de cobre han atraído cada vez más la atención en diversas áreas de investigación debido a su abundante disponibilidad y asequibilidad [46]. Tal como hemos mencionado anteriormente, gracias a las diversas propiedades que poseen, como actividades catalíticas, electrónicas [42], magnéticas [43], químicas [44] y ópticas [45], es que las NP de sulfuro de cobre tienen una gran cantidad de potenciales aplicaciones en cuanto a energía, ambiental, biológico, etc. Particularmente, en medicina, gracias a sus propiedades metálicas, y que exhiben una fuerte absorbancia en el rango infrarrojo cercano (NIR), son candidatas para la destrucción de células de cáncer de mama por medio del efecto sinérgico de la terapia fototérmica [47]. A su vez, exhiben actividad antimicrobiana y antifúngica, lo que les otorga la capacidad de poder ser utilizadas como agentes antimicrobianos [48, 49, 50].

#### 3.2.1.1. Propiedades ópticas

Las propiedades ópticas de partículas metálicas se modifican drásticamente cuando su tamaño es menor que la longitud de onda de la luz, específicamente, con un radio de hasta 50 nm. Estas propiedades las determina la oscilación de los electrones libres en la partícula, los cuales están confinados en la superficie de la partícula. Cuando una partícula es iluminada con un haz de luz, además de absorber energía, también dispersa parte de la luz incidente. La dispersión y absorción de energía depende del material que constituye la partícula, su forma y tamaño y, el medio en donde esté suspendida.

La resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR) es una respuesta que ocurre principalmente en nanopartículas metálicas de tamaño mucho menor que la longitud de onda de la luz incidente, en la que exhiben una oscilación colectiva

de portadores libres cuando la frecuencia de la onda electromagnética coincide con la frecuencia de los portadores libres que oscilan contra la fuerza restauradora de los portadores con carga opuesta [51]. Las NP de metales nobles como Au y Ag exhiben principalmente sus LSPR en la región visible. Sin embargo, se ha revelado que la LSPR surge no solo en los metales, sino también en los semiconductores fuertemente dopados con una densidad apreciable de portadores libres, entre ellos, NPs de calcogenuro de cobre no estequiométrico ( $\text{Cu}_{2-x}\text{S}$ ), los cuales han exhibido una LSPR intensa en regiones del infrarrojo cercano (NIR) y hasta en el infrarrojo medio (MIR). [52]

A diferencia de los metales nobles basados en electrones, las respuestas LSPR en  $\text{Cu}_{2-x}\text{S}$  se originan a partir de la oscilación colectiva de huecos libres en la banda de valencia. Por lo tanto, el  $\text{Cu}_2\text{S}$  completamente estequiométrico es LSPR inactivo debido a la ausencia de huecos libres, mientras que los  $\text{Cu}_{2-x}\text{S}$  no estequiométricos están todos en estado LSPR activo. Además, las respuestas LSPR en  $\text{Cu}_{2-x}\text{S}$  son muy sensibles tanto a la estructura cristalina como a la estequiometría Cu/S. Se ha demostrado que la covellita es intrínsecamente metálica en lugar de ser un semiconductor fuertemente dopado. El enlace covalente S-S y la hipervalencia S ( $\text{S}_2^2$  y  $\text{S}^2$ ) generan dos huecos libres que se distribuyen casi por igual entre las seis capas por celda unitaria ( $\text{Cu}_6\text{S}_6$ ), dando lugar a un carácter metálico con una densidad de huecos de hasta aproximadamente  $10^{22} \text{ cm}^{-3}$ . [53] Debido al menor orden de magnitud de la densidad del portador con respecto a los metales nobles ( $N_e \approx 10^{23} \text{ cm}^{-3}$ ), las NP de CuS admiten respuestas LSPR en regiones del infrarrojo cercano (NIR) [54].

Además de la estructura cristalina, otro parámetro crucial es la morfología. El tamaño de las NP tiene un efecto en la respuesta de la LSPR y, en consecuencia, en las propiedades ópticas de las NP. La dependencia del tamaño sobre la LSPR afecta principalmente al ancho e intensidad de la banda de resonancia, mientras que el efecto sobre la longitud de onda de la resonancia es bastante reducido. La intensidad de la absorción de resonancia aumenta con el tamaño de las NP, en tanto el pico de resonancia se desplaza ligeramente. Asimismo, la forma de las NPs afecta en la resonancia de las LSPR. Dado que la fuerza de restauración de la LSPR está relacionada con la carga acumulada en la superficie de la NP, entonces estará influenciada por la geometría de esta [54].

Las propiedades plasmónicas del CuS se pueden calcular en el marco del modelo de Drude, el cual explica las propiedades de transporte de los electrones libres en metales, desde una perspectiva de la mecánica clásica. La única diferencia significativa es que la densidad de portadores, en este caso, es la densidad de huecos. Dicho esto, la permitividad dieléctrica compleja se puede escribir de la siguiente manera

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_1(\omega) + i\varepsilon_2(\omega), \quad (3.2.1)$$

donde

$$\varepsilon_1 = \varepsilon_\infty - \frac{\omega_p^2}{(\omega^2 + \Gamma^2)}, \quad (3.2.2)$$

$$\varepsilon_2 = \frac{\omega_p^2 \Gamma}{\omega(\omega^2 + \Gamma^2)}, \quad (3.2.3)$$

aquí  $\varepsilon_1(\omega)$  y  $\varepsilon_2(\omega)$  son partes real e imaginaria de la permitividad dieléctrica; el parámetro  $\Gamma$  es la constante de amortiguamiento del portador libre, que describe el amortiguamiento de las oscilaciones colectivas debido a la dispersión con electrones, fonones, defectos de red o impurezas; y  $\varepsilon_\infty$  es la constante dieléctrica de alta frecuencia.

La frecuencia de plasma de los portadores libres está determinada por la ecuación 3.2.4:

$$\omega_p = \sqrt{\frac{ne^2}{\varepsilon_0 m^*}}, \quad (3.2.4)$$

donde  $e$  es la carga del electrón,  $m$  es la masa efectiva,  $\varepsilon_0$  es la permitividad del espacio libre y  $n$  es la densidad de los portadores.

El coeficiente de extinción  $C_{ext}$  para las partículas esféricas pequeñas, donde solo las contribuciones dipolares juegan un papel predominante, viene determinado por la expresión 3.2.5:

$$C_{ext} = \frac{18\pi V \varepsilon_m^{3/2}}{\lambda} \frac{\varepsilon_2(\omega)}{(\varepsilon_1(\omega) + 2\varepsilon_m)^2 + \varepsilon_2^2(\omega)}, \quad (3.2.5)$$

donde  $\varepsilon_m$  es la permitividad dieléctrica del medio circundante,  $V$  es el volumen de nanopartículas y  $\lambda$  es la longitud de onda. Como se muestra en la ecuación

3.2.4,  $\omega_p$  está directamente relacionado con la densidad de portadores  $n$  y, por lo tanto, proporciona una base para determinar la concentración de portadores en una muestra en particular mediante la aplicación de modelos teóricos como el modelo de Drude para igualar la resonancia de plasmones de superficie localizada.

### 3.3. Métodos de síntesis

Las NP se sintetizan mediante una variedad de técnicas que incluyen métodos físicos, químicos y biológicos. Estas técnicas pueden clasificarse ampliamente en enfoques *top-down* (arriba hacia abajo) y *bottom-up* (abajo hacia arriba).

Los métodos *top-down* comienzan con un material a granel (*top*) que es reducido de tamaño a escalas nanométricas (*down*), por medio de procesos mecánicos, físicos y/o químicos. Estos métodos son fáciles de implementar para escalar la producción, sin embargo, la resolución conseguida en la escala nanométrica es muy limitada. Las técnicas más utilizadas son la molienda y la litografía. En contraste, los métodos *bottom-up* inician a partir de átomos o moléculas (*bottom*) que reaccionan bajo condiciones físicas o químicas para formar nanomateriales (*up*), dando como resultado el crecimiento o ensamblado de estructuras nanométricas de distinta dimensionalidad. Estos métodos son más versátiles en cuanto a la modificación de los parámetros físicos de los nanomateriales, tales como el tamaño y la forma. No obstante, su producción a gran escala es compleja debido a la dificultad de controlar los fenómenos de transporte de materia y energía involucrados en los procesos de nanocrystalización.[55] Los métodos de este enfoque involucran principalmente métodos químicos, entre éstos los más comunes para la síntesis de nanopartículas de sulfuro de cobre se encuentran; proceso sol-gel, método hidrotérmico, método de pirolisis, deposición química de vapor, método de electrodeposición, entre otros. [56]

#### 3.3.1. Proceso hidrotérmico/solvotérmico

El término "proceso hidrotérmico/solvotérmico" se define como la realización de reacciones químicas en disolventes contenidos en recipientes sellados en los que la temperatura de los disolventes puede llevarse a sus puntos críticos mediante el

calentamiento simultáneo con presiones autógenas [57]. El proceso se denomina "hidrotermal" cuando se utiliza agua como disolvente, mientras que el término "proceso solvotérmico" se utiliza cuando se utilizan compuestos orgánicos como disolventes.

La síntesis de materiales a través de métodos hidrotérmicos/solvotérmicos es un proceso de cristalización directamente a partir de soluciones que normalmente implica dos pasos: la nucleación de cristales y el posterior crecimiento. Al controlar las variables de procesamiento, como la temperatura, el pH, las concentraciones de reactivos y los aditivos, los productos finales podrían fabricarse con los tamaños y morfologías de partículas deseados. Los fenómenos subyacentes al control del tamaño y la morfología mediante el ajuste de las variables del proceso son las tasas generales de nucleación y crecimiento, que dependen de la sobresaturación [58].

La nucleación ocurre cuando la solubilidad del soluto excede su límite en la solución, es decir, cuando la solución se sobresatura (relación entre la concentración real y la concentración de saturación de las especies en la solución). [59] La reacción es irreversible; el soluto se precipita en grupos de cristales que pueden crecer hasta alcanzar un tamaño macroscópico [60]. Después de la nucleación, los cristales crecen de forma secuencial o concurrente a través de una serie de procesos que implican la incorporación de unidades de crecimiento, que tienen la misma composición que las entidades cristalinas, pero poseen estructuras iguales o diferentes, desde la solución a granel a las entidades cristalinas existentes y provocando tamaños aumentados. Estos diferentes procesos se pueden clasificar aproximadamente en cuatro pasos: transporte de unidades a través de la solución, unión de unidades a la superficie, movimiento de unidades en la superficie y unión de unidades a sitios de crecimiento.

El método hidrotermal produce materiales inorgánicos binarios en agua caliente a alta presión. La reacción se lleva a cabo dentro de un autoclave (recipiente de acero) que puede soportar las drásticas condiciones de temperatura y presión. El uso del método hidrotérmico en la preparación de metales o sulfuros metálicos, se ha convertido en una tendencia reciente debido a las ventajas asociadas con este método en términos de requisitos de temperatura

comparativamente bajos, reproducibilidad, homogeneidad y pureza del producto [6].

Las dimensiones y morfologías resultantes de las NP pueden modificarse en este proceso hidrotérmal, ya sea cambiando los precursores, la temperatura de reacción y el tiempo de reacción. Dado que los nanomateriales obtenidos por síntesis hidrotérmal poseen alta pureza y buena cristalinidad, y el proceso de preparación es relativamente simple, la síntesis hidrotérmal se convierte en la primera opción para preparar nanomateriales de CuS para varios investigadores. Por ejemplo, Patil S. *et al* [10] sintetizaron una película delgada de CuS con este método, cuya morfología es similar a la de *nanoflakes*, con un espesor de 420 nm y energía de banda prohibida óptica de 1.95 eV. En otro estudio, se sintetizaron nanoesferas y nanotubos de CuS, utilizando los reactivos sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) y tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) como fuentes de cobre y azufre, respectivamente. En cuanto a las nanoesferas, estas exhiben distribuciones de tamaño amplio de aproximadamente 1000 – 2000 nm. Mientras que los nanotubos presentan diámetros que están entre 200 y 500 nm.

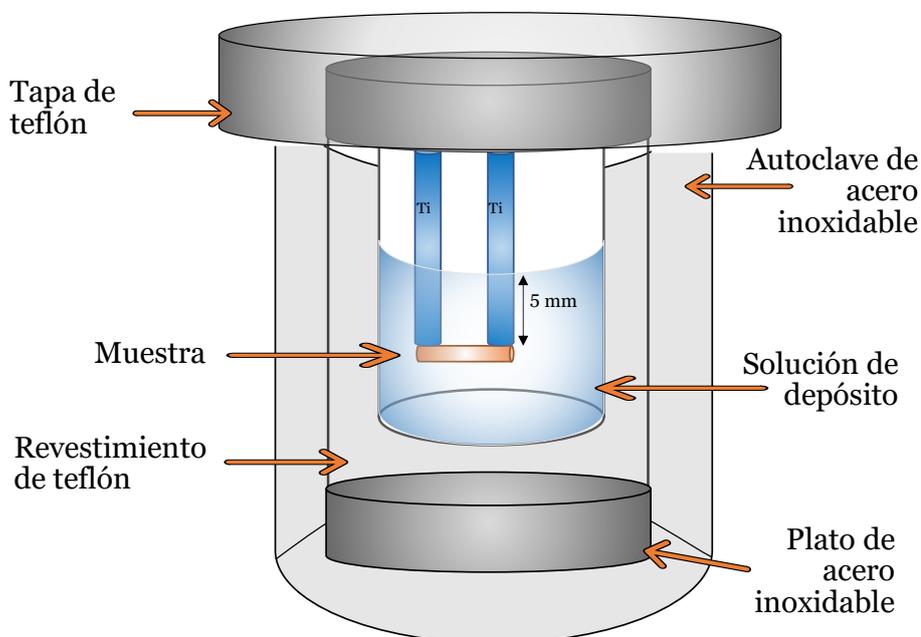


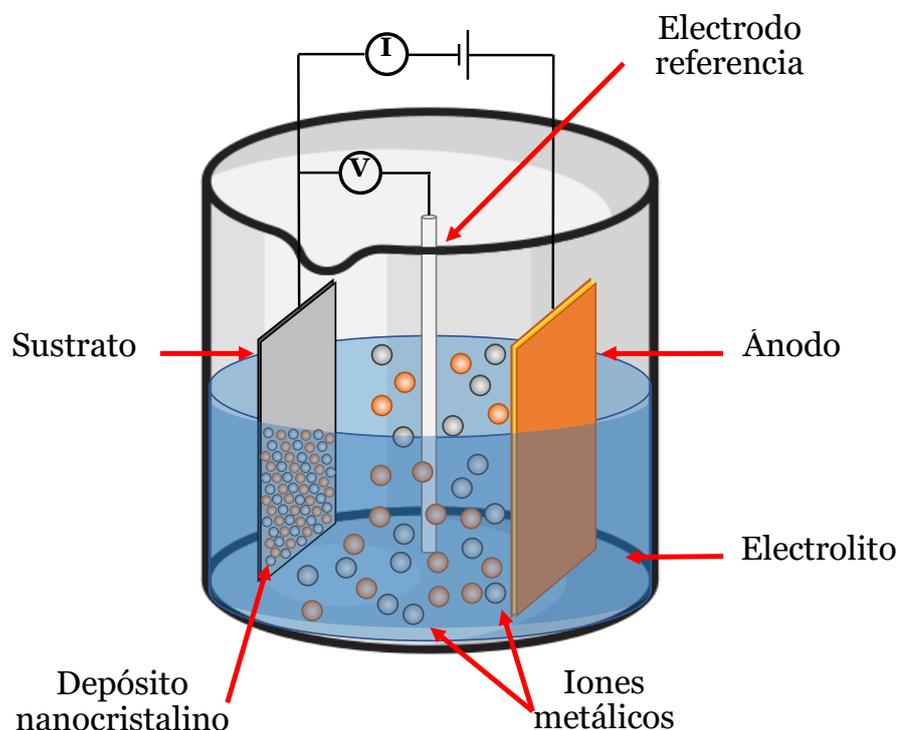
Figura 3.3.1: Esquema proceso hidrotérmico.

### 3.3.2. Electrodeposición

La electrodeposición es un proceso electroquímico que utiliza corriente eléctrica para depositar una fina capa de un determinado metal sobre un sustrato. Básicamente, este método implica el uso de un sistema electroquímico de dos o tres electrodos. Los iones en solución se depositan en el cátodo con carga negativa y transportan carga a una velocidad que se mide como corriente en el circuito externo. El proceso es relativamente barato y rápido y permite formas complejas de NP. El grosor de la capa depende simplemente de la densidad de corriente y del tiempo durante el cual fluye la corriente. El depósito puede desprenderse si se elige que el sustrato sea soluble disolviéndolo.

Este método utiliza corriente eléctrica para reducir los cationes metálicos disueltos para que formen una capa delgada en un electrodo. Además, no depende de una atmósfera de vacío, lo que reduce en gran medida el costo y aumenta la escalabilidad e incluso, se pueden lograr tasas de deposición relativamente altas. En este proceso, el ánodo está hecho del metal que se va a depositar y se oxida al suministrar corriente continua, esta oxidación crea iones que se disuelven y fluyen a través de la solución electrolítica, que contiene sales metálicas y otros iones para permitir el flujo de electricidad. Los iones disueltos se reducen y depositan sobre el cátodo.

El espesor del revestimiento se puede controlar variando la duración de la corriente eléctrica entre los metales y la fuerza de la corriente aplicada entre los metales. Aumentar uno o ambos de estos aumentará el grosor del revestimiento. En otras palabras, el espesor de la película puede controlarse monitoreando la cantidad de carga entregada, mientras que la tasa de deposición puede ser seguida por la variación de la corriente con el tiempo. Al controlar el grosor del revestimiento, se pueden evitar los problemas de revestimiento resultantes de geometrías complejas. Las películas finales pueden variar en espesor desde unos pocos nanómetros hasta decenas de micrones y pueden depositarse en grandes áreas de muestra de forma compleja, lo que hace que el proceso sea muy adecuado para uso industrial [61].

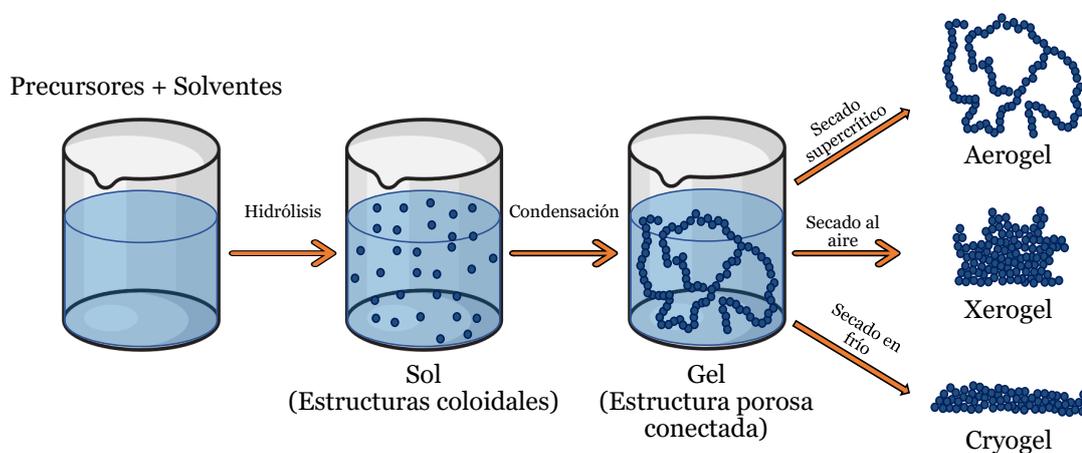


**Figura 3.3.2:** Esquema de electrodeposición sobre un sustrato.

### 3.3.3. Proceso sol-gel

El proceso sol-gel, también conocido como deposición de solución química, es un enfoque de síntesis química húmeda que se puede utilizar para generar nanopartículas mediante gelificación, precipitación y tratamiento hidrotérmico [62]. El método sol-gel es ampliamente utilizado en los campos de los materiales y la ciencia química. Dichos métodos se utilizan principalmente para la fabricación de materiales a partir de una solución química (o sol) que actúa como precursor de una red integrada (o gel) de partículas discretas o polímeros de red. Al cambiar ciertos parámetros experimentales, incluida la introducción de dopantes [63], el tratamiento térmico [64] y la elección adecuada de otros tensioactivos, incluidas las micelas invertidas [65], arquitectura de matriz polimérica basada en copolímeros de bloque [66] o mezclas de polímeros [67], vidrios porosos [68] y recubrimiento de partículas ex situ [69], es posible controlar mejor la distribución de tamaño y el control de estabilidad de los semiconductores de confinamiento cuántico, metal, nanopartículas de óxido de metal. A pesar de lo anterior, la química básica del proceso sol-gel es compleja debido a las diferentes reactividades de los componentes

que forman y modifican la red y la amplia variedad de parámetros de reacción, [70].



**Figura 3.3.3:** Esquema proceso sol-gel.

### 3.3.4. Biosíntesis

Hemos revisado varios métodos de síntesis química, sin embargo, se han asociado muchos efectos adversos a estos procesos debido a la presencia de sustancias químicas tóxicas absorbida en la superficie. Las alternativas ecológicas a los métodos químicos y físicos son formas biológicas de síntesis de nanopartículas utilizando microorganismos [71], enzimas [72], hongos [73] y plantas o extractos de plantas [74]. El desarrollo de estos métodos ecológicos para la síntesis de nanopartículas se está convirtiendo en una rama importante de la nanotecnología, especialmente las nanopartículas de plata, que tienen muchas aplicaciones [75, 76].

La biosíntesis de nanopartículas por microorganismos es una tecnología verde y ecológica. Diversos microorganismos, tanto procariotas como eucariotas, se utilizan para la síntesis de nanopartículas metálicas, a saber. plata, oro, platino, zirconio, paladio, hierro, cadmio y óxidos metálicos tales como óxido de titanio, óxido de zinc, etc. Estos microorganismos incluyen bacterias, actinomicetos, hongos y algas. La síntesis de nanopartículas puede ser intracelular o extracelular según la ubicación de las nanopartículas [25].

**Síntesis intracelular de nanopartículas por hongos:** este método implica el transporte de iones a las células microbianas para formar nanopartículas

en presencia de enzimas. En comparación con el tamaño de las nanopartículas reducidas extracelularmente, las nanopartículas formadas dentro del organismo son más pequeñas. El límite de tamaño probablemente esté relacionado con las partículas que se nuclean dentro de los organismos [77].

**Síntesis extracelular de nanopartículas por hongos:** La síntesis extracelular de nanopartículas tiene más aplicaciones en comparación con la síntesis intracelular, ya que carece de componentes celulares adyacentes innecesarios de la célula. En su mayoría, se sabe que los hongos producen nanopartículas extracelularmente debido a sus enormes componentes secretores, que están involucrados en la reducción y protección de las nanopartículas [77].

**Microbios para la producción de nanopartículas:** tanto los organismos unicelulares como los multicelulares producen materiales inorgánicos ya sea intra o extracelularmente [78]. La capacidad de microorganismos como bacterias y hongos para controlar la síntesis de nanopartículas metálicas se emplea en la búsqueda de nuevos materiales. Por su tolerancia y capacidad de bioacumulación de metales, los hongos han ocupado el centro de los estudios sobre la generación biológica de nanopartículas metálicas [79].

Sin embargo, además de todos estos métodos ecológicos de sintetizar nanopartículas, recientemente se ha desarrollado un método novedoso de biosíntesis, el cual hace uso de bioreactores sulfidogénicos que contienen poblaciones de bacterias y que pueden ser utilizados en la bioremediación de drenajes ácidos mineros [4]. En esta investigación, se biosintetizaron nanopartículas de sulfuro de cobre a partir de drenajes ácidos mineros y posteriormente se realizaron diversas caracterizaciones físicoquímicas que serán abordadas en los siguientes capítulos.

## Capítulo 4

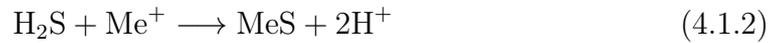
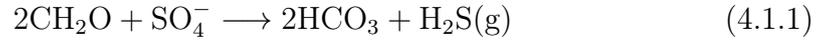
### Metodología

#### 4.1. Bioproducción de nanopartículas de sulfuro de cobre

El proceso de síntesis de las nanopartículas comienza con el cultivo de una población de bacterias acidófilas reductoras de sulfato (SRB) contenidas en un bioreactor, en el que se controlan diversos parámetros que propician la sobrevivencia de la población por medio de la unidad Fermcac 310/60, fabricado por *Electrolab Biotech*. Esta unidad proporciona un ambiente con condiciones estables, tales como un pH ácido de 4.5, temperatura de 23°C y agitación mecánica de 30 rpm. Además, se les entrega un flujo continuo de alimentación, que permite mantener las condiciones previas fijas. La alimentación consiste en una solución salina base (HBS 50 %) a 20 mL/L, glicerol 1M a 3 mL/L, sulfato de potasio ( $K_2SO_4$ ) a 0.9 g/L, elementos traza ( $TE \times 1000$ ) a 1 mL/L y extracto de levadura a 0.1 g/L.

Las bacterias reducen el sulfato aportado como alimento, y generan ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) en fase gaseosa, por medio de la reacción química 4.1.1. Este gas, al interactuar con una solución con metales, es capaz de reaccionar con iones metálicos, permitiendo la precipitación de estos como sulfuros metálicos, mediante

la reacción química [4.1.2](#).



Experimentalmente, mediante la inyección de nitrógeno en el biorreactor (fijado a 100 mL/min), el flujo de H<sub>2</sub>S es transportado a un vaso precipitado que contiene un drenaje ácido real de una mina ubicada en la Región de Valparaíso, Chile, cuya composición se basa, principalmente, en cobre (860.9 mg/L), magnesio (662.5 mg/mL), aluminio (381.6 mg/L) y manganeso (232.6 mg/L). En la tabla [4.1.1](#) se especifica las concentraciones de todos los elementos presentes en el drenaje y la figura [4.1.1](#) exhibe un esquema del montaje del bioreactor.

Al establecer un tiempo de retención hidráulica de 48 horas, además de un pH ácido de 4.5, por solubilidad, el primer metal que reacciona con este gas es el cobre, permitiendo la precipitación de nanopartículas de sulfuro de cobre. Esto ocurre, debido a que cuanto más bajo es el pH de una solución, en este caso agua, mayor es la concentración de cobre *libre* en la misma.

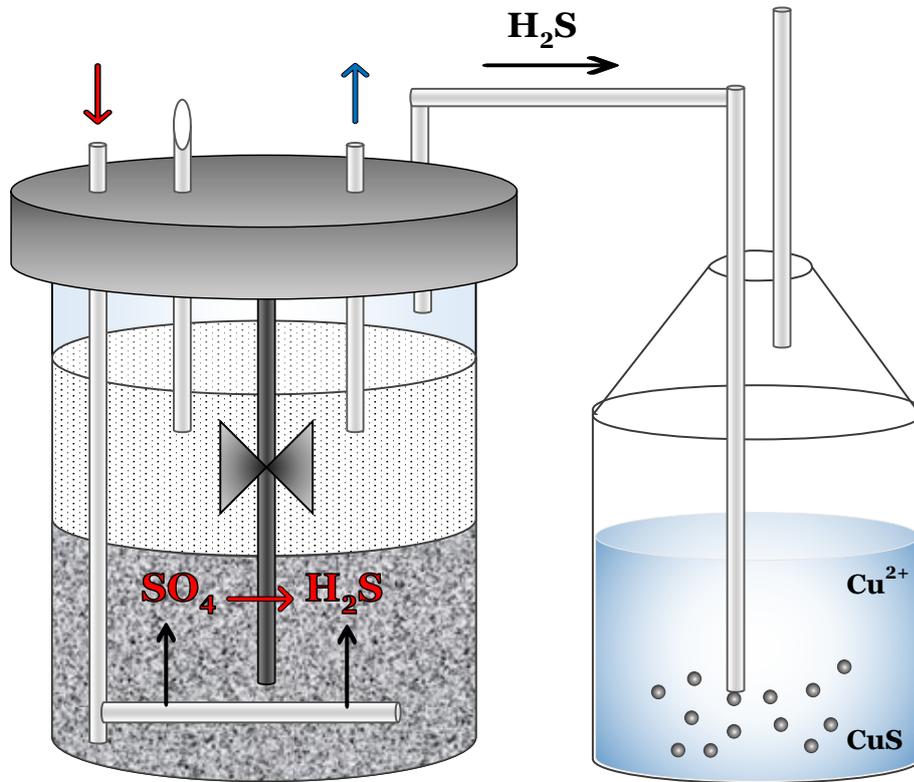


Figura 4.1.1: Representación esquemática del biorreactor

Parámetros en Agua de Mina	Unidad	Concentración
Aluminio	mg/L	381.6
Arsénico	mg/L	0.0042
Boro	mg/L	0.149
Calcio	mg/L	185.6
Carbonatos	mgCaCO <sub>3</sub> /L	<1.0
Cloruro	mg/L	85.3
Cobalto	mg/L	2.23
Cobre	mg/L	860.9
Fósforo	mg/L	<0.006
Hierro	mg/L	1.40
Magnesio	mg/L	662.5
Manganeso	mg/L	232.6
Nitrato	mg/L	0.77
Potasio	mg/L	7.05
Silicio	mg/L	20.2
Sodio	mg/L	51.9
Zinc	mg/L	78.2

**Cuadro 4.1.1:** Mediciones analíticas de la composición y concentración de contaminantes presentes en el drenaje minero. Análisis efectuado por el Laboratorio de ensayos EULA-Chile.

## 4.2. Técnicas de caracterización

El desarrollo actual de la Nanociencia y la Nanotecnología no sería posible sin la caracterización a través de técnicas de identificación de materiales. Existen técnicas basadas en microscopía electrónica (p. ej. de transmisión y de barrido), que brindan información sobre el tamaño y la morfología de los nanomateriales. Otras técnicas proporcionan información sobre la estructura cristalina, composición elemental, propiedades ópticas y otras propiedades físicas comunes y más específicas de las muestras de nanopartículas. Ejemplos de estas técnicas incluyen técnicas de rayos X y espectroscopia, dentro de las cuales destacan la difracción de rayos X, la espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X y la espectroscopía de ultravioleta-visible.

### 4.2.1. Técnicas para análisis estructurales

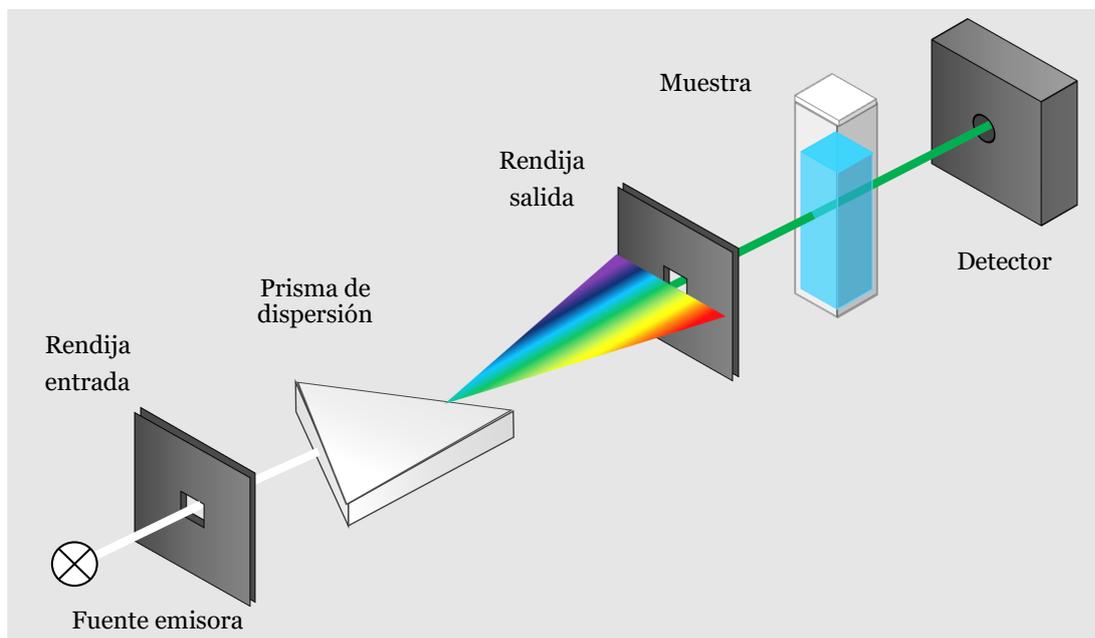
Entre las tecnologías de caracterización, las técnicas de rayos X proporcionan una gran cantidad de conocimientos sobre las características de los materiales,

incluida la estructura atómica de los materiales cristalinos, la composición y el estado químico de los elementos en una mezcla compleja, las características de la superficie de los materiales, así como una gran cantidad de otra información. Por ejemplo, el tamaño de los cristales de las nanopartículas se refleja en el ancho de los picos en los patrones de difracción de rayos X (XRD), mientras que la espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS) proporciona información sobre la estructura electrónica de las nanopartículas y la transferencia de carga entre los elementos constituyentes en nanopartículas heteroestructuradas o de aleación.

#### 4.2.1.1. Espectroscopía de ultravioleta-visible

La espectroscopía de ultravioleta-visible (UV-Vis) consiste en irradiar una muestra con radiación electromagnética de varias longitudes de onda en el rango UV-Vis. Según el compuesto, la muestra absorbe parcialmente la radiación incidente y transmite el resto, lo cual genera un espectro de absorción único de cada compuesto. La espectroscopía UV-Vis está basada en la medición de la atenuación de radiación electromagnética por parte de un compuesto en solución o sólido, promoviendo la excitación de electrones de enlace desde el estado fundamental (HOMO) hasta el primer estado excitado (LUMO). La radiación UV-Vis sobre un rango de energía entre 1.5 – 6.2 eV, que corresponde a la separación energética entre los orbitales moleculares en los que se produce transiciones electrónicas y que se relaciona con un rango de longitud de onda entre 190 y 780 nm aproximadamente [80].

Los componentes básicos de un espectrofotómetro son una fuente de luz (generalmente, una lámpara de deuterio o tungsteno), un monocromador, un portamuestras y un detector. El haz de luz inicial pasa a través de la primera rendija del monocromador y se refracta en un arcoíris de colores al incidir sobre un prisma, para luego atravesar por una rendija de salida que permite seleccionar la longitud de onda deseada, de forma que solo una banda estrecha de estas pueda pasar a través de la muestra. Esta luz monocromática atraviesa un compuesto contenido en una cubeta que permite el paso de la radiación en la región espectral de interés. Finalmente, el detector detrás de la muestra capta la radiación que logra transmitirse a través de la muestra. La Figura 4.2.1 muestra esquemáticamente este proceso.



**Figura 4.2.1:** Diagrama esquemático de los componentes de un espectrofotómetro UV-Vis.

A partir de las mediciones es posible conocer la absorbancia de la muestra, es decir, la cantidad de luz absorbida por esta, por medio de la ley de Beer-Lambert (ecuación 4.2.1)

$$A = -\log_{10} \left( \frac{I_T}{I_0} \right) = \varepsilon c \ell \quad (4.2.1)$$

donde  $I_0$  es la intensidad del haz incidente,  $I_T$  es la luz transmitida,  $\varepsilon$  es la absorptividad molar de la muestra ( $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ),  $c$  es la concentración de la solución (M) y  $\ell$  es el camino óptico, es decir, la profundidad de la muestra (generalmente, 1 cm). Esta ley relaciona la absorción de la radiación incidente con la concentración del material absorbente. Por lo tanto, la segunda forma de la ecuación 4.2.1 permite una relación proporcional entre la concentración y absorbancia de una solución. Además, a partir del coeficiente de absorción ( $\alpha$ ) (ecuación 4.2.2), que corresponde al porcentaje de energía absorbida con respecto a la energía incidente, se puede extraer información respecto las energías de transición para un electrón que pasa del estado fundamental al estado excitado, por medio la relación 4.2.3

$$\alpha(\text{cm}^{-1}) = \frac{\ln 10 \times 10}{\ell(\text{cm})} \quad (4.2.2)$$

$$\alpha h\nu \propto (h\nu - E_g)^n \quad (4.2.3)$$

donde  $h\nu$  es la energía del haz incidente y  $E_g$  es la energía de la banda prohibida de la muestra. Además,  $n$  puede tomar los valores 2, 1/2, 2/3 y 1/3, correspondientes a cada tipo de transición electrónica, esto es, transición directa permitida, indirecta permitida, directa no permitida e indirecta no permitida, respectivamente. Por lo tanto, al realizar un gráfico  $(\alpha h\nu)^2$  vs  $h\nu$  es posible obtener el valor del *gap óptico* para cada transición [81].

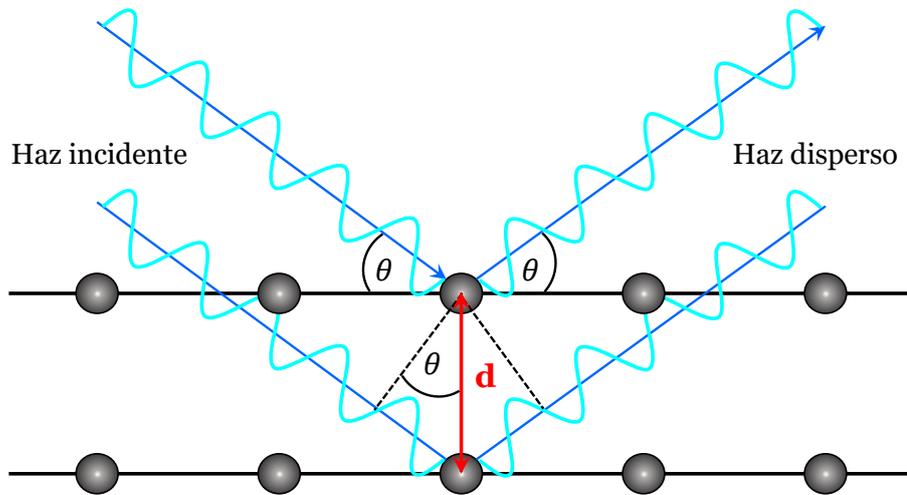
Los espectros UV-Vis de las nanopartículas sintetizadas se midieron en un espectrofotómetro *Jasco V-730* en el rango espectral de 200 a 850 nm. Se colocaron cubetas de cuarzo selladas (volumen de muestra de 1 mL) en un soporte de cubetas a temperatura ambiente. Cada muestra se registró al menos tres veces (pasando previamente por el sonicador en cada repetición).

#### 4.2.1.2. Difracción de rayos X

La *difracción de rayos X* (XRD, por sus siglas en inglés) se basa en la interferencia constructiva de rayos X monocromáticos en fase y una muestra cristalina. Cuando los rayos X viajan a través de una estructura cristalina, los átomos dispersan la radiación incidente en todas direcciones y en algunas, los rayos dispersados estarán completamente en fase y, por tanto, se reforzarán mutuamente para formar rayos difractados. Cuando se cumple la Ley de Bragg, la interacción de los rayos incidentes con la muestra genera interferencia constructiva y un rayo difractado (Figura 4.2.2). Esta ley (ecuación 4.2.4) correlaciona la longitud de onda de la radiación electromagnética ( $\lambda$ ) con el ángulo de difracción ( $\theta$ ) y el espacio interplanar entre los planos cristalinos de la muestra [80].

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (4.2.4)$$

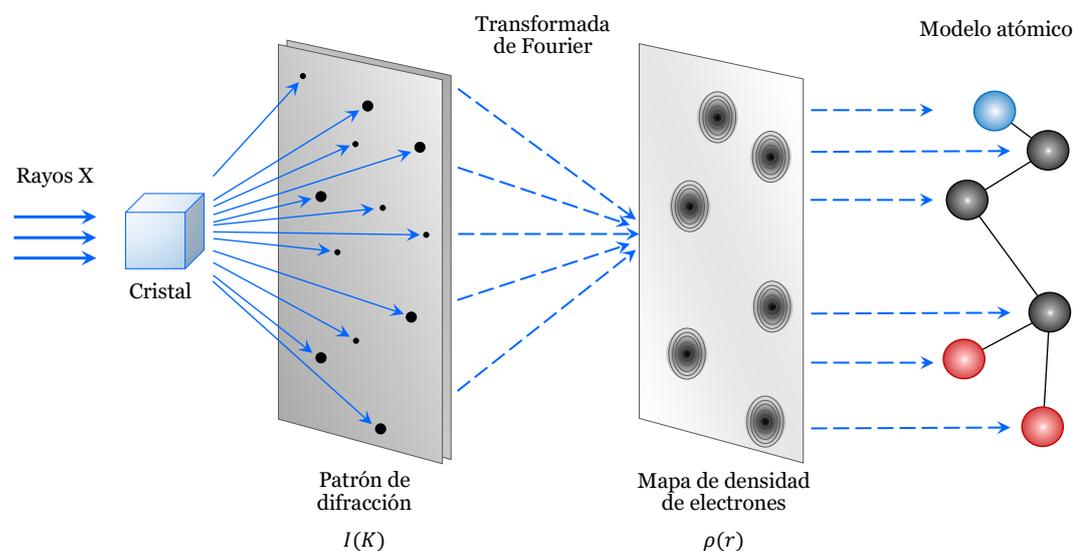
En los estudios XRD, la muestra se escanea a través de un rango de ángulos predeterminados de  $2\theta$  y se recolectan todos los rayos X difractados de la muestra. Además, estos estudios se realizan, generalmente, a una longitud de onda fija; por lo tanto, una medida de los ángulos de difracción permitirá calcular los espaciamentos asociados. La radiación X tiene una longitud de onda de 0.1 a 100 Å, que está cerca de la distancia interplanar en un cristal y, por lo tanto, permite que la estructura del cristal difracte los rayos X [82]



**Figura 4.2.2:** Representación gráfica de la Ley de Bragg, en la que dos rayos se reflejan en dos planos distintos con distancia  $d$  entre ellos.

Los difractómetros consisten principalmente en una fuente de rayos X, una rendija divergente, un portamuestras, una rendija receptora y un detector de rayos X (Figura 4.2.3). Los rayos X producidos se mueven a través de las rendijas divergentes y llegan a la muestra donde se difractan en varias direcciones. Los rayos difractados llegan al detector después de pasar por la rendija receptora. La configuración óptica para dirigir los rayos X utiliza un sistema de rendijas y un monocromador, encargado de colimar y filtrar el haz, tal que se suprimen otras longitudes de onda, de manera que solo la radiación  $\text{CuK}\alpha$  esté presente en el haz. [83]

La estructura cristalina de nuestras nanopartículas fue estudiada con el difractómetro *Bruker D4 Endeavor*, la radiación utilizada es  $\text{CuK}\alpha$  con  $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ .



**Figura 4.2.3:** Diagrama esquemático del funcionamiento de un difractómetro.

#### 4.2.1.3. Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X

El principio fundamental de la *espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X* (XPS, por sus siglas en inglés) se basa en el efecto fotoeléctrico, que fue descubierto por Heinrich Hertz en 1887 y explicado teóricamente por Albert Einstein en 1905. Este efecto corresponde a la emisión de electrones cuando la luz (en este caso, rayos X) golpea la superficie de un material y excita sus átomos. Por lo tanto, los electrones emitidos bajo este fenómeno se denominan *fotoelectrones*.

Los electrones en el nivel central de los átomos están unidos al núcleo con una energía de enlace característica de su elemento particular, que es conceptualmente igual a la energía de los fotones del haz de rayos X. Cuando un material sólido absorbe radiación de rayos X, emite un fotoelectrón cuya energía cinética ( $E_K$ ) depende de la energía del fotón radiado ( $h\nu$ ) y de la energía de enlace ( $E_B$ ) de electrones en la capa correspondiente

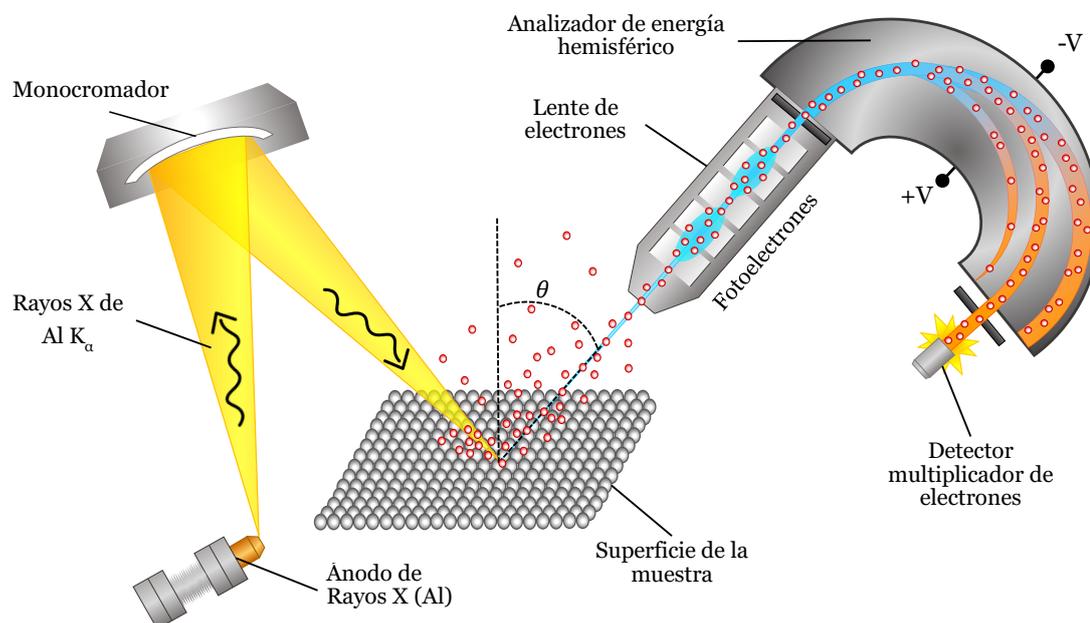
$$E_K = h\nu - (E_B + \varphi) \quad (4.2.5)$$

donde  $\varphi$  es la función de trabajo del espectrómetro (aproximadamente 4–5 eV), que se agrega a la ecuación 4.2.5 para compensar los electrovoltios de energía cinética perdidos por el fotoelectrón debido a la absorción por parte del detector del instrumento [80].

La instrumentación básica para XPS se muestra en la Figura 4.2.4 e incluye una fuente primaria de rayos X, un analizador de energía de electrones y un detector, todo contenido dentro de una cámara de ultra vacío (UHV), con presiones operativas por debajo de aproximadamente  $10^{-7}$  Pa, con el propósito de mantener la superficie de la muestra libre de contaminación y evitar que los contaminantes produzcan una señal XPS y conduzca a un análisis incorrecto de la composición de la superficie [82]

La configuración más comúnmente aplicada consiste en un ánodo doble, que proporciona líneas monocromáticas de  $AlK\alpha$  y  $MgK\alpha$ . La fuente de rayos X, que proporciona fotones, debe tener suficiente energía (por lo general, una energía de 15 keV) para excitar intensos picos de fotoelectrones de todos los elementos de la tabla periódica (a excepción del hidrógeno y helio). Los fotoelectrones emitidos tienen una energía de penetración baja, por lo que solo se pueden detectar los átomos presentes en una profundidad de hasta 10 nm. Los fotoelectrones más energéticos pueden escapar de la superficie superior de la materia (alrededor de 50–100 Å). Estos fotoelectrones, después de ser enfocados en la trayectoria de un analizador de energía de electrones por lentes electromagnéticas, y de medir su energía cinética, se dirigen al detector para contar el número de fotoelectrones entregados con una energía cinética específica. El número de electrones detectados se cuenta para cierto intervalo de tiempo, y luego se repite el conteo de electrones a un nuevo valor de energía cinética. La escala de energía cinética se convierte en una escala de energía vinculante utilizando la conservación de energía ( $E_B = h\nu - E_K - \varphi$ ). Finalmente, los conteos (eje Y) se representan frente a la energía de enlace de los electrones detectados (eje X). Dado que la energía de enlace de los fotoelectrones del núcleo es característica de cada átomo, XPS permite la determinación de elementos en la superficie de la muestra midiendo las energías de los fotoelectrones que salen de la muestra [84].

La composición elemental de las nanopartículas sintetizadas fue obtenida mediante un analizador de energía hemisférico (*SPECS, Phoibos 100MDC-5*) con radiación  $MgK\alpha$  (1253,6 eV) de una fuente de rayos X de ánodo doble (Al-Mg) operada a 300 W.



**Figura 4.2.4:** Diagrama de un espectrómetro de fotoelectrones. Se usa radiación de rayos X para ionizar una muestra y el analizador de energía registra la energía cinética de los electrones emitidos.

## 4.2.2. Técnicas para análisis morfológico. Microscopía electrónica

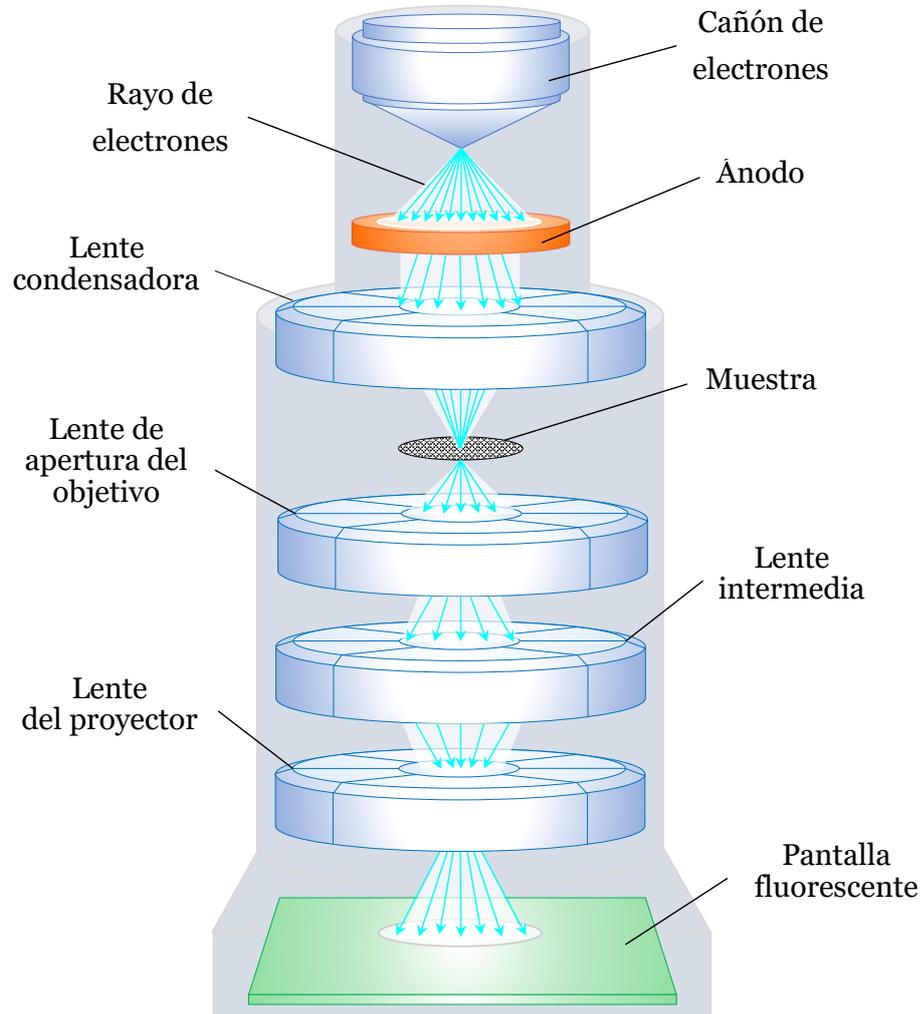
La *microscopía electrónica* se basa en la utilización de un haz de electrones acelerados que inciden sobre la muestra formando una imagen aumentada de la misma. Se utilizan lentes electromagnéticas para dirigir y enfocar el haz de electrones, junto con un sistema de vacío en el interior del microscopio, con el fin de aumentar el recorrido libre medio de los electrones. La microscopía electrónica aporta información sobre la morfología y estructura de superficies. Existen dos tipos básicos de microscopías electrónicas: La microscopía electrónica de transmisión y microscopía electrónica de barrido.

### 4.2.2.1. Microscopía electrónica de transmisión

La *microscopía electrónica de transmisión* (TEM, por sus siglas en inglés) consiste en la formación de imágenes bidimensionales a partir de un haz de electrones enfocado de alta energía (60 – 150 keV), que es transmitida a través de una muestra muy delgada [85].

Los electrones son generados por un cañón de electrones, generalmente, por emisión termoiónica de cátodos de tungsteno calentado mediante una diferencia de potencial bajo un vacío típico de  $10^{-3}$  Pa. El haz de electrones es acelerado por un ánodo, enfocado por lentes electromagnéticas condensadoras y transmitido a través de la muestra, en donde la difracción del cristal causa que parte del haz incidente se disperse fuera de este y parte sea absorbido por la muestra. El haz atenuado transporta información sobre la morfología de la muestra y que es ampliada por un sistema de lentes objetivo del microscopio. Finalmente, la imagen es proyectada en una pantalla de visualización fluorescente recubierta de un material de centelleo, por tanto y debido a que la imagen es producto del haz transmitido a través de la muestra, la preparación de estas es esencial [86]. Las muestras deben estar libres de suciedad para evitar la contaminación cruzada, además deben ser lo suficientemente delgadas para obtener mediciones favorables, típicamente de 100 – 200 nm de espesor [87]. La figura 4.2.5 presenta un esquema de los componentes principales de un equipo TEM.

El equipo utilizado en esta investigación es un *Hitachi HT7700* 120kV, con el que se realizaron estudios del tamaño medio de las nanopartículas sintetizadas.



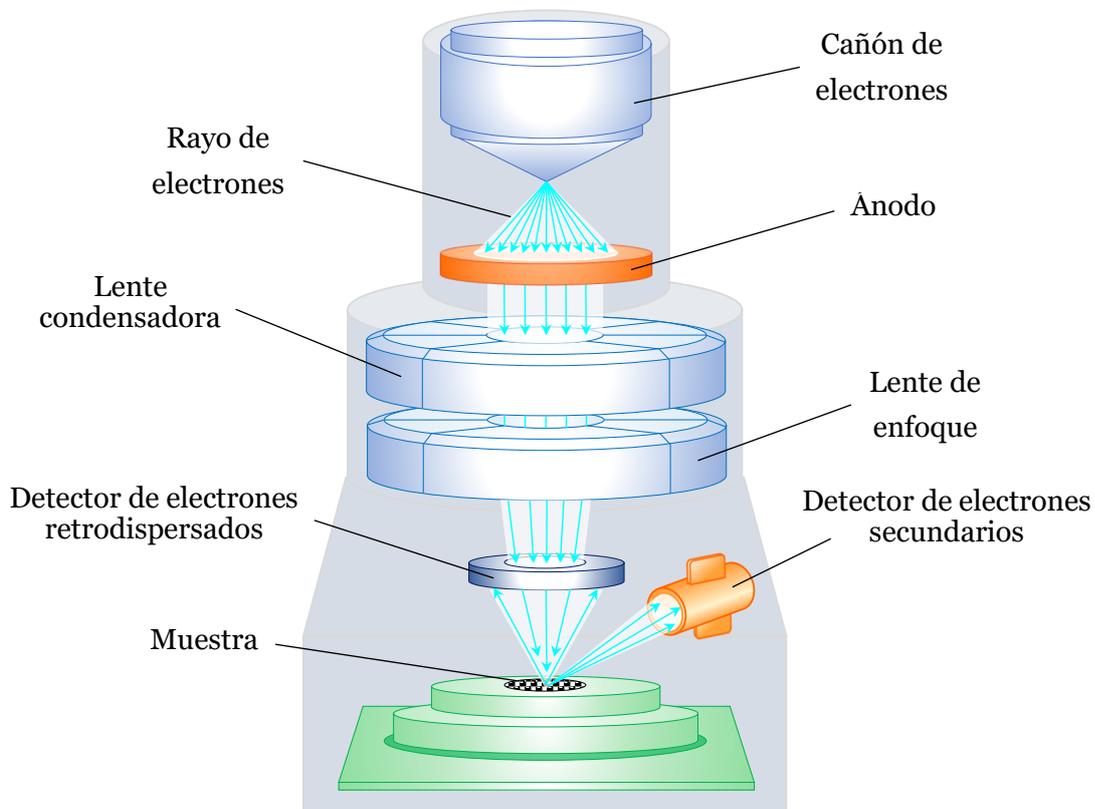
**Figura 4.2.5:** Esquema de los componentes de un microscopio electrónico de transmisión.

#### 4.2.2.2. Microscopía electrónica de barrido

La *microscopía electrónica de barrido* (SEM, por sus siglas en inglés) es un dispositivo de mapeo más que de imágenes, en el que se utiliza un haz de electrones, que barre un patrón de trama regular idéntico (generalmente de  $1000 \times 1000$  puntos), la superficie de una muestra conductora. [88]

Los componentes principales de un equipo SEM es presentado en la figura 4.2.6. El funcionamiento de un SEM consiste en la emisión de un haz de electrones, acelerados a una energía típica de 500 eV a 30 keV y que son enfocados mediante una serie de lentes electromagnéticas condensadoras, tal que el haz incide sobre

la superficie de la muestra [88]. Las interacciones del haz con la muestra dan como resultado la emisión de electrones secundarios de baja energía (2 – 5 eV) y electrones dispersados (con energías que alcanzan los 50 eV) a medida que los electrones del haz penetra la superficie. [89] Un detector mide la cantidad de electrones secundarios que arroja la intensidad de la zona de la muestra, siendo capaz de mostrar figuras en tres dimensiones. Su resolución máxima está entre 4 y 20 nm dependiendo del microscopio [90]. En particular, en este estudio se utilizó un equipo SEM *JEOL JSM - 7100F* con el fin de observar e identificar la morfología y medir el tamaño de las NP de CuS sintetizadas.



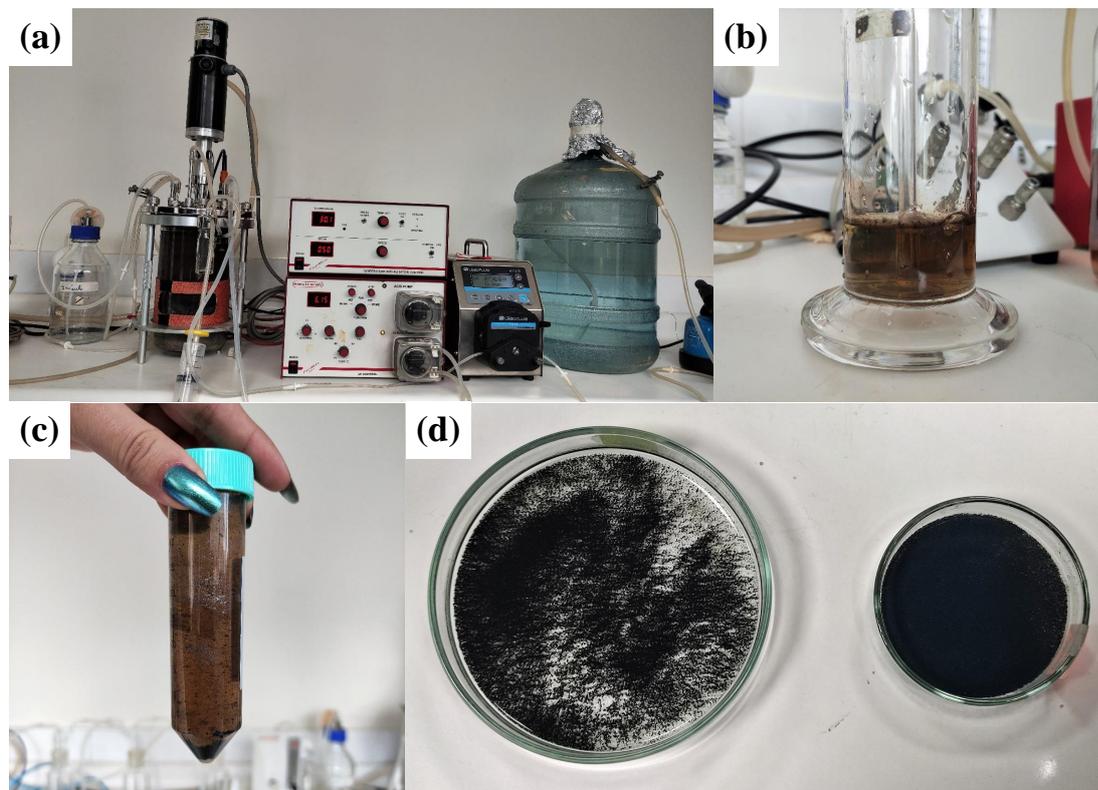
**Figura 4.2.6:** Esquema de los componentes de un microscopio electrónico de transmisión.

## Capítulo 5

# Análisis y Discusión

### 5.1. Síntesis de nanopartículas de CuS

Las nanoestructuras de sulfuro de cobre fueron sintetizadas con éxito utilizando un flujo de ácido sulfhídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ) en fase gaseosa producido por un biorreactor sulfidogénico continuo de biopelícula de flujo ascendente a pH 4.5 (Fermac 200; Electrolab Biotech, Reino Unido) con un volumen de trabajo de 2.3 L (Figura 5.1.1(a)). El  $\text{H}_2\text{S}$  es enviado a través de una corriente de nitrógeno libre de oxígeno hacia un recipiente fuera de línea que contiene un drenaje ácido minero real, dando paso a la precipitación de nanoestructuras de sulfuro de cobre (Figura 5.1.1(b) y (c)). Una vez que las NPs de CuS decantan al fondo del matraz, se recolecta la solución con una jeringa desechable y se recoge el precipitado, el cual es lavado y posteriormente secado térmicamente.



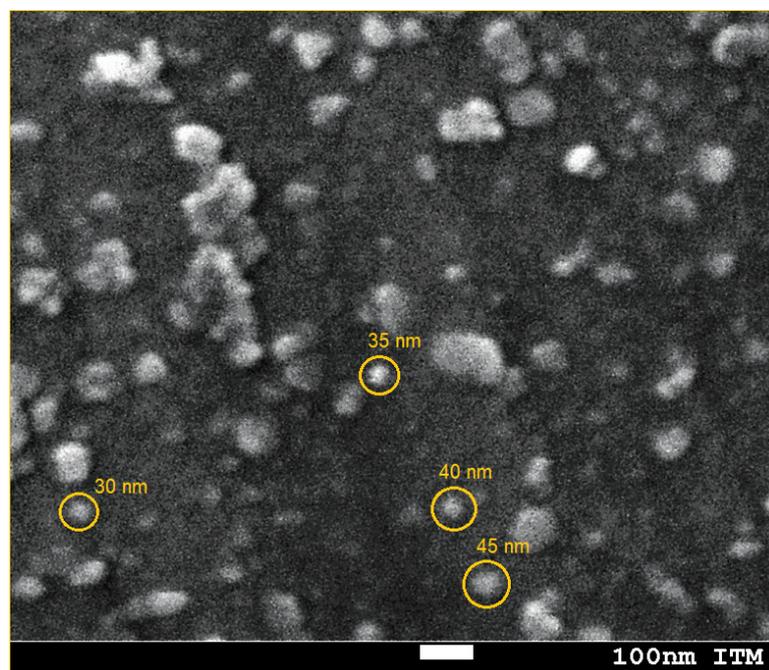
**Figura 5.1.1:** Proceso de síntesis de las nanopartículas de sulfuro de cobre. **(a)** Sistema integrado de precipitación de sulfuros por gas  $H_2S$  generado por un biorreactor sulfidogénico. **(b)** Matraz de precipitación de sulfuro que contiene drenaje ácido minero. **(c)** Extracción de la solución de drenaje ácido minero con nanoestructuras de sulfuro de cobre precipitadas. **(d)** Nanoestructuras de sulfuro de cobre resultantes del proceso de síntesis previo (izquierda) y posterior (derecha) a curación térmica.

## 5.2. Propiedades morfológicas y estructurales

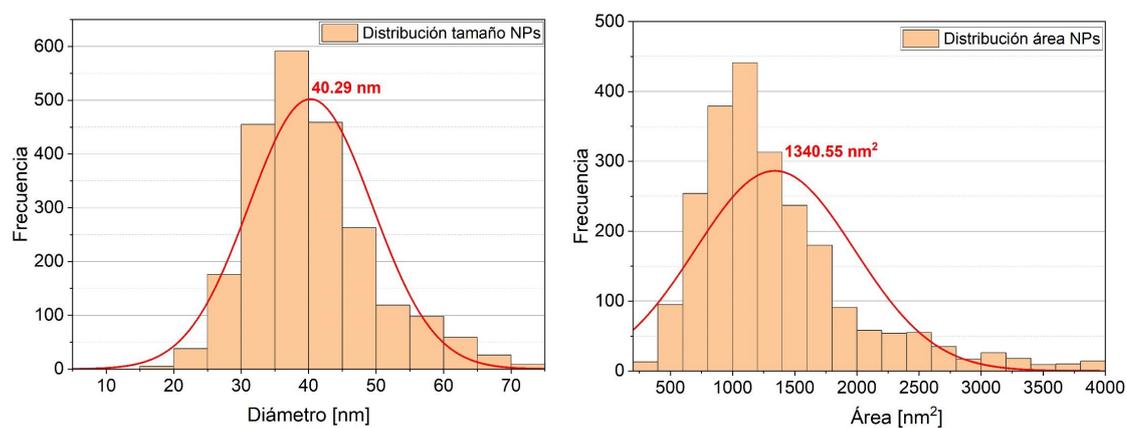
### 5.2.1. Microscopía electrónica de barrido y transmisión

Para validar que, efectivamente, se sintetizaron nanopartículas, se llevaron a cabo estudios morfológicos de estas. La Figura 5.2.1 muestra una imagen SEM de las nanoestructuras de  $CuS$  bioproducidas por la corriente de  $H_2S$ , en la que a primera vista, se observa que existe una tendencia a la formación de cúmulos de nanoestructuras y además, es posible notar nanoestructuras monodispersas que poseen una forma esférica con un diámetro promedio de  $40 \pm 9$  nm y área promedio de  $1341 \pm 640$  nm<sup>2</sup>. Las mediciones de tamaño se realizaron luego de 2300 mediciones con el software *ImageJ*. Los datos se promediaron y se determinó

su distribución (ver Figura 5.2.2).



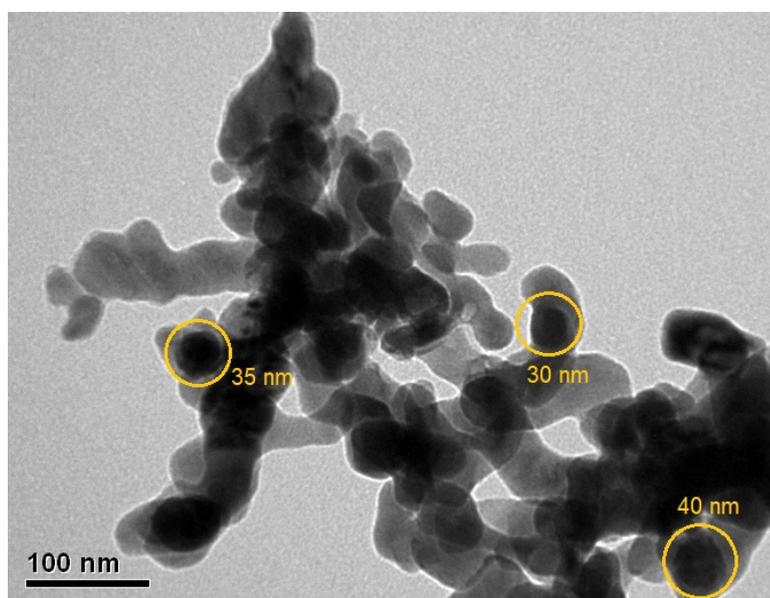
**Figura 5.2.1:** Imagen SEM de nanopartículas de sulfuro de cobre bioproducidas a partir de drenaje ácido real.



**Figura 5.2.2:** Distribución de diámetro y área de las nanopartículas de sulfuro de cobre. A partir de un total de 2300 mediciones, se determinó que el diámetro y área medio de las NPs es de  $40 \pm 9$  nm y  $1341 \pm 640$  nm<sup>2</sup>, respectivamente.

Por otra parte, la Figura 5.2.3 presenta una imagen TEM de las nanoestructuras resultantes. Nos confirma la morfología esférica de estas y la consistencia en cuanto al tamaño medio que poseen. A partir de este análisis morfológico, podemos

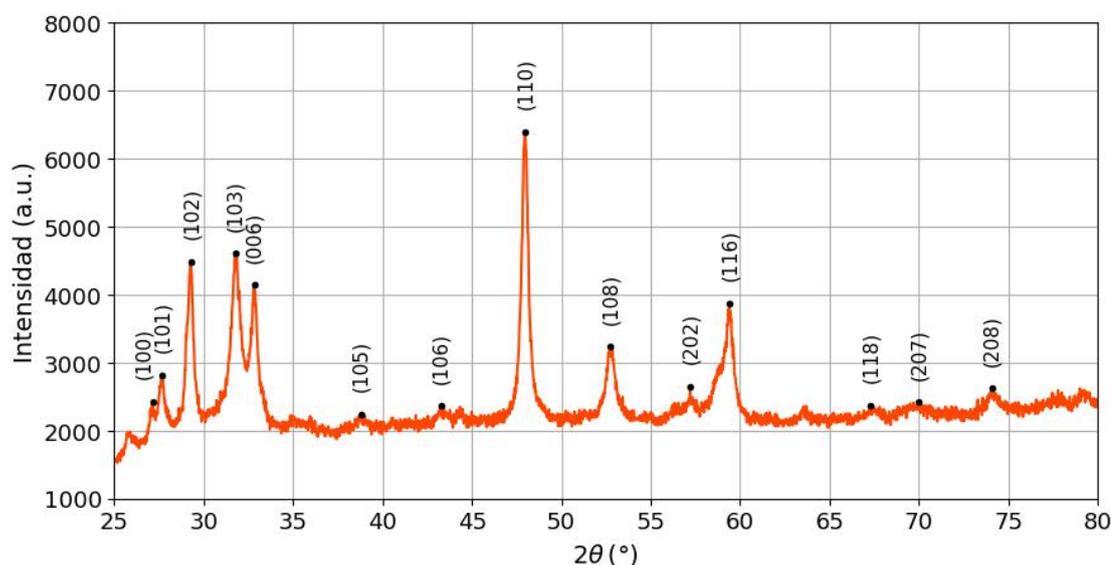
afirmar que el proceso de síntesis llevado a cabo da como resultado la formación de nanopartículas.



**Figura 5.2.3:** Imagen TEM de nanopartículas de sulfuro de cobre bioproducidas a partir de drenaje ácido real.

### 5.2.2. Difracción de Rayos X

Uno de los estudios realizados a las nanopartículas de CuS biosintetizadas fue la difracción de rayos X, con el propósito de analizar la estructura y validar la formación de covellita. La Figura 5.2.4 muestra el patrón XRD de estas nanopartículas de CuS. Los picos bien definidos en el patrón XRD indican la formación de CuS pura en fase hexagonal con alta cristalinidad, presentando un pico intenso a  $2\theta = 47.97^\circ$  orientado a lo largo del plano cristalino (110). Además, se observan picos de difracción prominentes a  $27.16^\circ$ ,  $27.68^\circ$ ,  $29.29^\circ$ ,  $31.77^\circ$ ,  $32.83^\circ$ ,  $38.79^\circ$ ,  $43.26^\circ$ ,  $52.74^\circ$ ,  $57.20^\circ$ ,  $59.4^\circ$ ,  $67.3^\circ$ ,  $69.99^\circ$  y  $74.06^\circ$  orientados respectivamente con los planos (100), (101), (102), (103), (006), (105), (106), (108), (202), (116), (118), (207) y (208). A partir del plano (100), se calculó los parámetros de red, obteniendo  $a = b = 3.79 \text{ \AA}$  y  $c = 16.445 \text{ \AA}$ . Los picos observados son consistentes con los índices de Miller y la disposición hexagonal de los átomos de Cu y S, dados por el espectro estándar de CuS hexagonal. (JCPDS File No. 06-464). Por tanto, podemos confirmar que, en efecto, las nanopartículas biosintetizadas corresponden a la estructura hexagonal de la fase pura de covellita CuS (grupo espacial  $P63/mmc$ ).



**Figura 5.2.4:** Patrones de difracción de rayos X de nanopartículas de CuS biosintetizadas.

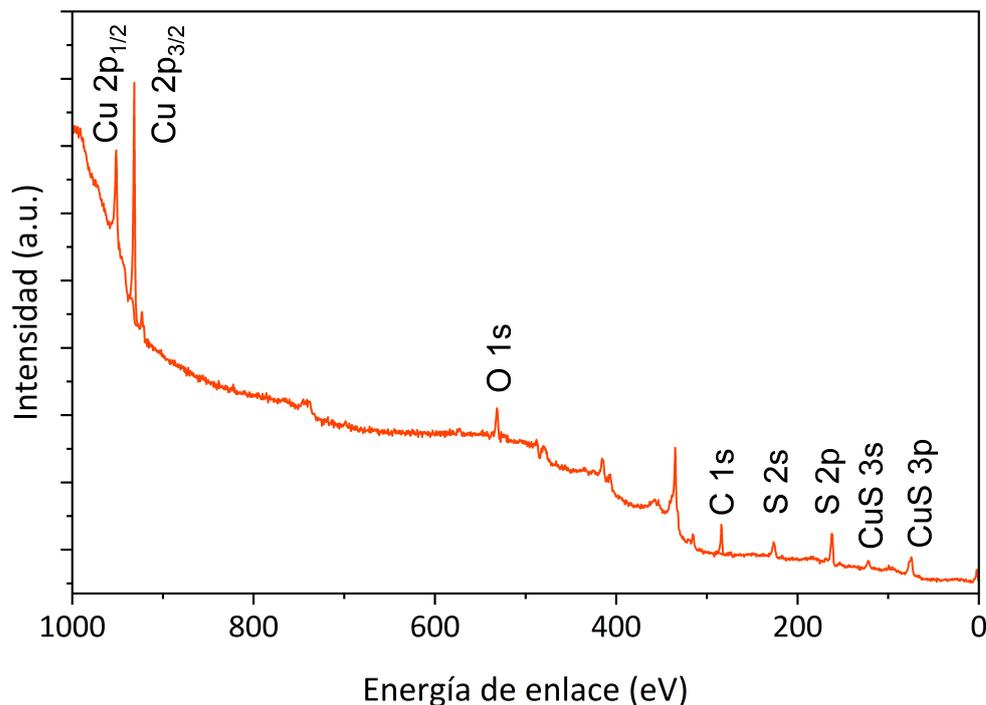
El tamaño nanocristalino ( $D$ ) se calculó en base al pico de difracción correspondiente al plano de red (110) siguiendo la fórmula de Debye Scherrer

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (5.2.1)$$

donde el factor de forma  $K$  se evaluó como 0.9,  $\lambda = 0.15406$  nm es la longitud de onda de la radiación de rayos X,  $\beta = 0.013$  es la anchura a media altura del pico de difracción en radianes y  $\theta = 0.42$  es el ángulo de difracción en radianes. Obteniendo que el tamaño medio del cristal es  $D = 12.14$  nm.

### 5.3. Composición elemental de las nanopartículas de CuS

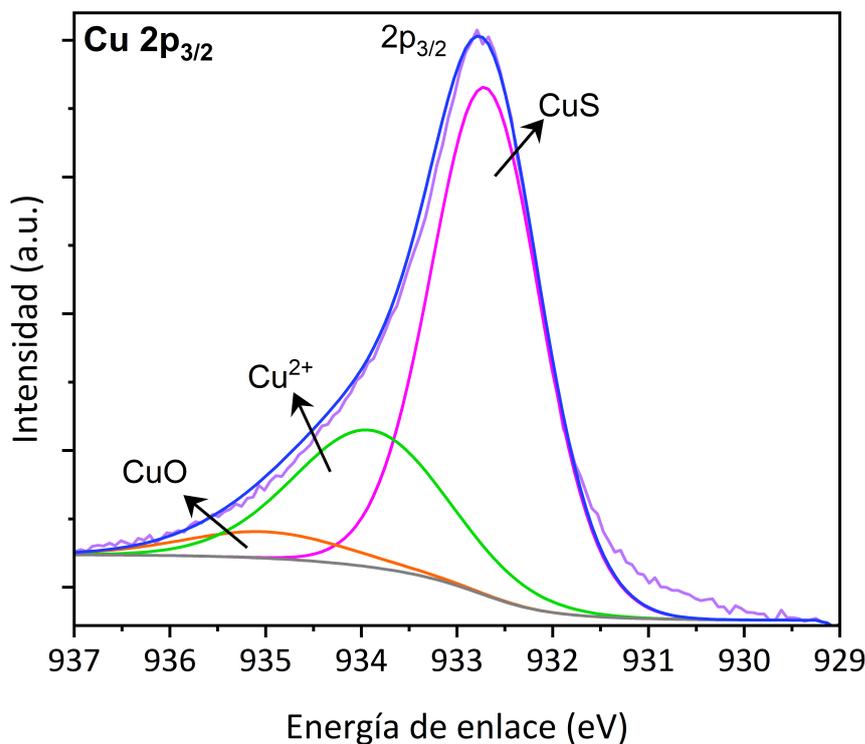
Se llevó a cabo un análisis XPS para confirmar la composición y la pureza de las nanopartículas de CuS. El espectro completo, que se muestra en la Figura 5.3.1, indica la presencia de picos de Cu 2p, S 2p junto con picos de C 1s y O 1s. La presencia de los picos de carbono y oxígeno puede deberse a que son elementos presentes en la superficie y atmósfera del equipo XPS. Los espectros de Cu 2p y S 2p se presentan en las Figuras 5.3.2 y 5.3.3 respectivamente. Todas las posiciones de los picos se calibraron con referencia al pico C 1s a 285 eV.



**Figura 5.3.1:** Espectro XPS de las nanopartículas de CuS.

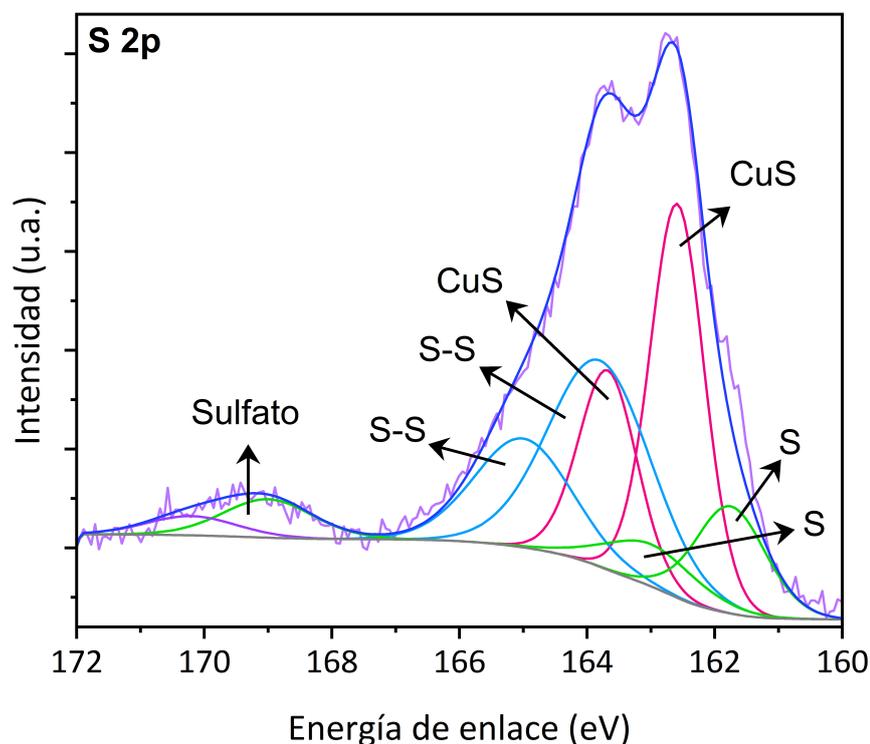
En el espectro de alta resolución de Cu 2p (Figura 5.3.2) se observa un pico intenso alrededor de una energía de enlace de 932.8 eV correspondiente al estado de energía Cu 2p<sub>3/2</sub>, lo cual coincide con el valor informado [91].

El pico de Cu 2p<sub>3/2</sub> se ajustó con tres picos a 935.0, 933.9 y 932.7 eV. La principal contribución al ajuste es debido al pico a 932.7 eV, que corresponde a CuS (Figura 5.3.2, línea rosada) [92]. La energía de enlace de 933.9 eV contribuye a la existencia de Cu<sup>2+</sup> en CuS (Figura 5.3.2, línea verde) [93]. El pico a 935.0 eV se asigna al estado Cu 2p<sub>3/2</sub> en CuO (Figura 5.3.2, línea naranja) [94], que podría provenir de una pequeña cantidad de CuSO<sub>4</sub> en la muestra.



**Figura 5.3.2:** Espectro XPS de alta resolución de Cu 2p.

En la Figura 5.3.3, el espectro XPS de alta resolución en la región S 2p muestra la presencia de dos a picos a 163.7 y 162.6 eV correspondientes a los estados energéticos S 2p<sub>1/2</sub> y S 2p<sub>3/2</sub>, respectivamente [95], cuya separación de enlace de 1.1 eV es característica de las especies de disulfuro [96]. Los picos S 2p<sub>1/2</sub> y S 2p<sub>3/2</sub> se ajustaron con cuatro dobletes, de los cuales la principal contribución es dada por el doblete a 162.6/163.7 eV, que es indicativo de la presencia de CuS [97]. El doblete a 163.9/165.0 eV es característico de las especies de sulfuro [8], que se atribuye al enlace S–S en la estructura multicapa de la covelita [98]. El doblete a 161.8/162.9 eV está relacionado con S<sup>0</sup>, SH<sup>-</sup> y/o sulfuros no estequiométricos deficientes en Cu [4]. Finalmente, a 169.0 eV se nota un pico satélite, que es producto de la presencia de especies de sulfatos SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> y que fue ajustado con un doblete a 169.0/170.1 eV [99].

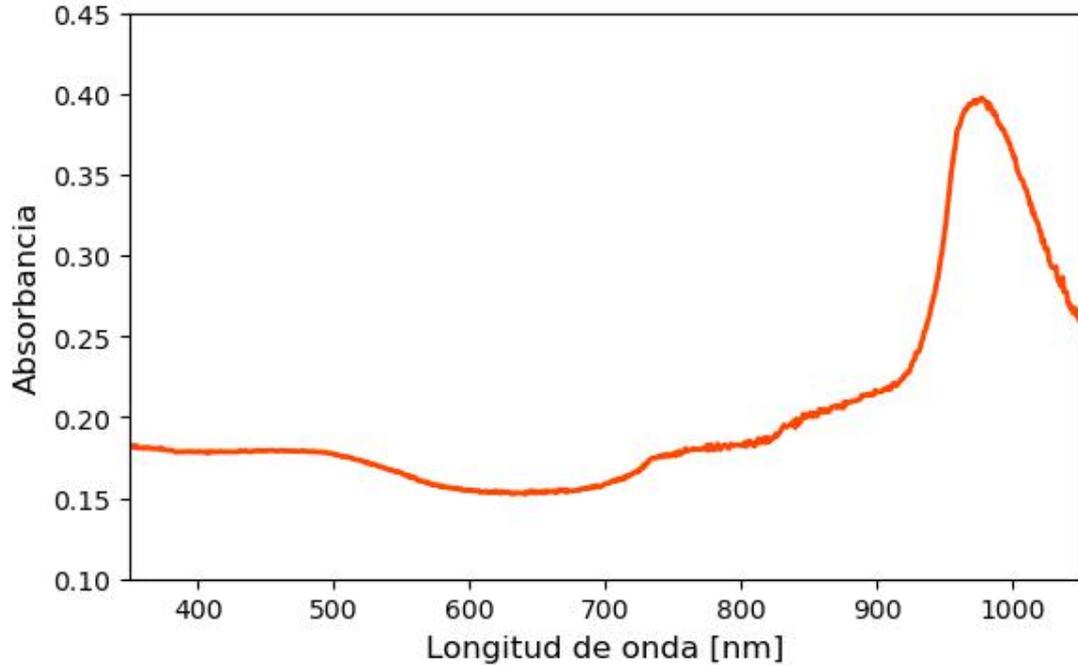


**Figura 5.3.3:** Espectro XPS de alta resolución de S 2p.

## 5.4. Propiedades optoelectrónicas

Se estudiaron las propiedades ópticas de las nanopartículas de CuS sintetizadas por espectroscopía de absorción en la región UV-vis-NIR en un intervalo de longitud de onda de 300 a 1100 nm. La Figura 5.4.1 muestra el espectro de absorción de las NP de CuS que exhiben, por un lado, una baja absorción en la región UV-Vis entre 500 y 750 nm que alcanza un mínimo en alrededor de 630 nm y, por otro lado, un pico de absorción bien definido centrado en aproximadamente 975 nm. La amplia absorción observada en la región UV-Vis se atribuye a la absorción de pares electrón–hueco en la covellita CuS. Esta absorción es debida a las transiciones entre bandas de estados de valencia a estados desocupados del CuS [100]. Mientras, la banda de absorción observada en la región NIR es causada por la resonancia de plasmones de superficie localizada (LSPR) [101]. Por lo general, en los calcogenuros de cobre con una composición deficiente en cobre, los estados de mayor energía en la banda de valencia están vacíos. Los huecos libres asociados con estos estados desocupados son responsables de la LSPR. Además, la posición e intensidad de la LSPR son muy sensibles a la fase de los sulfuros de cobre y a

la morfología de las NP de CuS. A modo de comparación, Y. Zhao *et. al* [102] sintetizaron varios nanocompuestos de  $\text{Cu}_{2-x}\text{S}$ , entre ellos CuS con tamaño medio de partícula de  $14.9 \pm 7.1$  nm y obtuvieron que la absorbancia de los NC de CuS tiene un amplio margen y que alcanza un mínimo en torno a 650 nm y que exhibe un pico de absorción alrededor de 1100 nm.

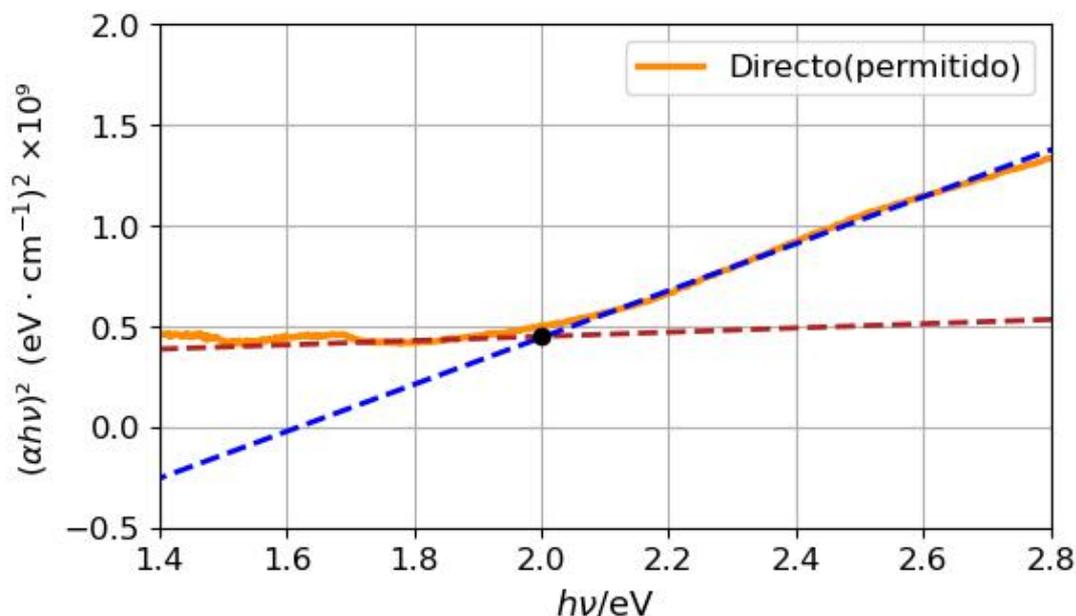


**Figura 5.4.1:** Espectro de absorción en el rango UV-Vis-NIR de las nanopartículas de CuS sintetizadas.

La energía de banda prohibida ( $E_g$ ) de las NP de CuS sintetizadas se evaluó por medio de la gráfica de Tauc de los espectros UV-Vis. A partir de la gráfica de Tauc de transición directa permitida de electrones entre bandas del material, dada por

$$\alpha h\nu \propto (h\nu - E_g)^n \quad (5.4.1)$$

donde  $\alpha$  es el coeficiente de absorción,  $h\nu$  es la energía del fotón. La Figura 5.4.2 muestra la variación de  $(\alpha h\nu)^2$  frente a  $h\nu/eV$  para las NPs de CuS. Esta indica que la energía de banda prohibida óptica de las nanopartículas de covellita es 2.001 eV, lo cual concuerda con el valor de CuS a granel ( $E_g = 2,0$  eV). Este valor nos reafirma la pureza de las NP de CuS biosintetizadas y que poseen comportamiento semiconductor.



**Figura 5.4.2:** Variación de  $(\alpha h\nu)^2$  frente a  $h\nu/eV$  para la transición de las NP de CuS. La intersección entre las rectas tangentes a la curva indica el valor de la banda prohibida óptica,  $E_g = 2,001$  eV.

Gracias a la pureza de las NPs de sulfuro de cobre biosintetizadas y sus propiedades discutidas, podemos esperar que tengan un gran potencial de aplicación en diversas áreas de investigación. Por ejemplo, J. Tirado *et al.* [92] sintetizaron por medio de una reacción química NPs de CuS de tipo p, que exhiben propiedades similares a las sintetizadas en este estudio. Poseen una forma semejante a un disco 2D, con un tamaño máximo de 20 nm y un grosor de alrededor 4 nm, además presenta una banda óptica de alrededor de 2.4 eV y una sola banda de extinción intensa en longitudes de onda NIR. Estas NPs se estudiaron como material transportador de huecos (HTM) totalmente inorgánico y de bajo costo en celdas solares de perovskita. S. Patil *et al.* [10] sintetizaron una película delgada de CuS de tipo n a través de un método hidrotermal, con un espesor de 420 nm, una banda prohibida óptica de 1.95 eV y morfología similar a la de *nanoflakes*, con el fin de evaluar su aplicación en celdas solares. Un estudio fotoelectroquímico (PEC) demostró que la película delgada de CuS sintetizada tiene una eficiencia de conversión de energía del 0.162%. Por otra parte, S. Adhikari *et al.* [100] diseñaron diferentes fotocatalizadores de CuS por medio de un método hidrotermal utilizando distintas fuentes de azufre y se evaluó la actividad fotocatalítica de estos para la degradación de un pesticida 4-clorofenol (4-CP)

bajo irradiación de luz visible. Los resultados mostraron que las nanoestructuras de CuS con un proceso hidrotérmico prolongado exhibieron la mayor eficiencia de degradación. En cuanto a aplicaciones biomédicas, N. Mbewana-Ntshanka *et al.* [50] sintetizaron NPs de CuS por medio del método de inyección coloidal en caliente, las cuales poseen un borde de banda óptica a 538 nm (2.30 eV) y morfología esférica con tamaño entre 1 a 18 nm. El estudio antibacteriano reveló que todos los microorganismos analizados (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*) eran susceptibles a las NPs de CuS. La sensibilidad de las NPs se atribuye a la capacidad del cobre para liberar iones  $\text{Cu}^{2+}$  que tienen la capacidad de penetrar y alterar la membrana celular. Asimismo, D. Singaravelu *et al.* [48] utilizó un antimicrobiano catiónico basado en lípidos biomiméticos como agente estabilizador en la preparación de NPs de CuS (cN16E-CuS), resultando NPs con un tamaño entre 6 a 8 nm. El cN16E-CuS exhibe una excelente actividad antimicrobiana contra *Acinetobacter baumannii* resistente a fármacos carbapenémicos con una concentración inhibitoria mínima (MIC) de 62,5  $\mu\text{M}$ , que es dos veces menor que la MIC de cN16E puro. Además, el estudio mecanicista mostró que el cN16E puro daña las membranas bacterianas, mientras que el cN16E-CuS produce un efecto adicional al producir un exceso de especies reactivas de oxígeno y exhibe una actividad antimicrobiana superior a una concentración más baja. Mientras que, S. Roy *et al.* [49] prepararon películas funcionales a base de gelatina incorporadas con NPs de CuS para su uso en envases alimentarios activos. La inclusión de las NPs mejoró las propiedades mecánicas de la película de gelatina en más del 40 % y amplificó las propiedades de barrera contra el vapor de agua en más del 25 %. Además, la adición de NPs de CuS mejoró el efecto de protección UV de la película de gelatina en al menos un 90 %. Las películas de gelatina/CuSNP presentaron, también, una potente actividad antimicrobiana contra las bacterias patógenas transmitidas por los alimentos, tales como *Escherichia coli*, y cierta acción contra *Listeria monocytogenes*. Se espera que las películas funcionales de gelatina/CuSNP con propiedades antibacterianas y bloqueadoras de rayos UV sean útiles en aplicaciones de envasado activo de alimentos.

Tal como hemos expuesto, la variedad de aplicaciones que brinda las nanopartículas de sulfuro de cobre es muy amplia. Sin embargo, en todos los estudios mencionados, la síntesis de las NPs se realizó mediante métodos químicos.

Mientras que el método utilizado en esta investigación se destaca debido a la reutilización de residuos, principalmente del sector minero, ofreciendo una síntesis verde y de bajo costo de nanopartículas de sulfuro de cobre, en el que el uso de microorganismos es fundamental.

## Capítulo 6

### Conclusión

Con base a los objetivos planteados en esta investigación y de acuerdo al análisis de los resultados, podemos evidenciar que es factible sintetizar exitosamente nanopartículas de sulfuro de cobre a partir de drenajes ácidos mineros reales, permitiendo una reutilización de residuos del sector minero, disminuyendo el impacto ambiental provocado por esta industria. El drenaje ácido minero utilizado entrega una concentración de cobre suficiente (860.9 mg/L) para sintetizar y recuperar con éxito nanopartículas de sulfuro de cobre mediante la inyección de  $H_2S$  en él, generado por reducción biológica de sulfato al interior de un biorreactor que tiene contenido bacterias acidófilas. Las nanopartículas de CuS resultantes poseen morfología esférica con un diámetro medio de  $40 \pm 9$  nm.

El análisis de los estudios XRD y XPS demostraron que las NPs biosintetizadas corresponden a covellita pura, pues, por un lado, exhiben una estructura hexagonal con alta cristalinidad, cuyos parámetros de red ( $a = b = 3.79 \text{ \AA}$  y  $c = 16.445 \text{ \AA}$ ) son consistentes con el espectro estándar de CuS hexagonal y, por otra parte, elementalmente están compuestos por Cu y S, afirmando la pureza de la covellita. Asimismo, los estudios de espectroscopía UV-Vis-NIR mostraron que las NPs de CuS biosintetizadas exhiben un amplio espectro de absorción, en el que en la región UV-Vis se presenta una baja absorción entre 500 y 750 nm que alcanza un mínimo en alrededor de 630 nm y que es producto de las transiciones entre bandas de estados de valencia a estados desocupados del CuS. Por otro lado, el espectro de absorción exhibe un pico de absorción bien definido centrado en aproximadamente 975 nm, que es causado por la resonancia de plasmones de

superficie localizada (LSPR).

Las potenciales aplicaciones de las NPs de CuS sintetizadas son variadas gracias a las características descritas anteriormente, por ello, estudiar su desempeño en el ámbito biomédico es de gran interés. Es por esto que se plantea estudiar la potencial actividad antimicrobiana de las NPs de CuS al ser implementadas como aditivos antimicrobianos de gases estériles. También, se plantea modificar el proceso de síntesis de las NP de CuS, pues en esta investigación el drenaje ácido minero fue utilizado solamente para precipitar las NP, mediante la inyección de H<sub>2</sub>S bioproducto por bacterias acidófilas reductoras de sulfato (SRB). Sin embargo, el drenaje contiene en su composición no solo metales residuales sino también sulfatos, que corresponden a uno de los principales contaminantes de las aguas subterráneas y superficiales y, además, es alimento fundamental de las SRB utilizadas. Por lo tanto, ser capaces de emplear el drenaje ácido minero como suministro de alimentación de las bacterias y como medio de precipitación de sulfuros metálicos es realmente valioso y nos permitiría realizar una alternativa de remediación de aguas residuales exitosa y de bajo costo.

## Bibliografía

- [1] Transparencia Minera, “Aporte de la minería a la economía nacional,” 2022.
- [2] O. Agboola, “The role of membrane technology in acid mine water treatment: a review,” *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 36, no. 9, pp. 1389–1400, 2019.
- [3] T. P. Luoto, J. J. Leppänen, and J. Weckström, “Waste water discharge from a large Ni-Zn open cast mine degrades benthic integrity of Lake Nuasjärvi (Finland),” *Environmental Pollution*, vol. 255, no. 2, p. 113268, 2019.
- [4] I. Nancucheo, A. Segura, P. Hernández, J. Hernández-Montelongo, H. Pesenti, A. Arranz, N. Benito, M. Romero-Sáez, B. Contreras, V. Díaz, and G. Recio-Sánchez, “Covellite nanoparticles with high photocatalytic activity bioproduced by using H<sub>2</sub>S generated from a sulfidogenic bioreactor,” *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 10, p. 107409, 6 2022.
- [5] J. Hulla, S. Sahu, and A. Hayes, “Nanotechnology,” *Human & Experimental toxicology*, vol. 34, no. 12, pp. 1318–1321, 2015.
- [6] U. Shamraiz, R. A. Hussain, and A. Badshah, “Fabrication and applications of copper sulfide (CuS) nanostructures,” *Journal of Solid State Chemistry*, vol. 238, no. 1, pp. 25–40, 2016.
- [7] J. Qi, J. Wen, Q. Wang, X. Jin, and X. Zhou, “Preparation and photocatalytic properties of hexagonal and orthogonal CuS micro-nanoparticles by an oil-water interface method,” *Materials Chemistry and Physics*, vol. 255, p. 123629, 11 2020.
- [8] L. An, L. Huang, H. Y. Liu, P. X. Xi, F. J. Chen, Y. P. Du, L. An, L. Huang, H. Liu, P. Xi, F. Chen, and Y. Du, “High-Quality Copper Sulfide Nanocrystals with Diverse Shapes and Their Catalysis for Electrochemical Reduction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,” *Particle & Particle Systems Characterization*, vol. 32, no. 5, pp. 536–541, 2015.
- [9] S. Goel, F. Chen, and W. Cai, “Synthesis and Biomedical Applications of Copper Sulfide Nanoparticles: From Sensors to Theranostics,” *Small*, vol. 10, no. 4, pp. 631–645, 2014.
- [10] S. Patil, N. Desai, S. Kharade, M. Joshi, K. Khot, R. Mane, and P. Bhosale,

- “Single step fabrication of CuS thin film via hydrothermal route for solar cell application,” *AIP Conference Proceedings*, vol. 1989, no. 1, p. 020029, 2018.
- [11] R. Blachnik and A. Muller, “The formation of Cu<sub>2</sub>S from the elements: I. Copper used in form of powders,” *Thermochimica Acta*, vol. 361, no. 1-2, pp. 31–52, 2000.
- [12] H. Nozaki, K. Shibata, and N. Ohhashi, “Metallic hole conduction in CuS,” *Journal of Solid State Chemistry*, vol. 91, no. 2, pp. 306–311, 1991.
- [13] C. Pearce, R. A. Pattrick, and D. Vaughan, “Electrical and Magnetic Properties of Sulfides,” *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, vol. 61, no. 1, pp. 127–180, 2006.
- [14] A. Gonçalves, E. Lopes, A. Casaca, M. Dias, and M. Almeida, “Growth of CuS platelet single crystals by the high-temperature solution growth technique,” *Journal of Crystal Growth*, vol. 310, no. 11, pp. 2742–2745, 2008.
- [15] H. T. Evans and J. A. Konnert, “Crystal structure refinement of covellite,” *American Mineralogist*, vol. 61, no. 9-10, pp. 996–997, 1976.
- [16] S. Arora, K. Kabra, K. B. Joshi, B. K. Sharma, and G. Sharma, “Structural, elastic, thermodynamic and electronic properties of covellite, CuS,” *Physica B: Condensed Matter*, vol. 582, no. 1, p. 311142, 2020.
- [17] H. Fjellvåg, F. Grenvold, S. Stølen, A. F. Andresen, R. Müller-Käfer, and A. Simon, “Low-temperature structural distortion in CuS,” *Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Material*, vol. 184, no. 1-2, pp. 111–122, 1988.
- [18] J. Folmer and F. Jelinek, “The valence of copper in sulphides and selenides: An X-ray photoelectron spectroscopy study,” *Journal of The Less-Common Metals*, vol. 76, no. 1-2, pp. 153–162, 1980.
- [19] J. S. Chung and H. J. Sohn, “Electrochemical behaviors of CuS as a cathode material for lithium secondary batteries,” *Journal of Power Sources*, vol. 108, no. 1-2, pp. 226–231, 2002.
- [20] P. Nair, J. Campos, and L. Sansores, “A critical discussion of the very high photoconductivity in chemically deposited cadmium sulfide thin films: Implications for solar cell technology,” *Solar Cells*, vol. 22, no. 3, pp. 211–227, 1987.
- [21] S. Erokhina, V. Erokhin, C. Nicolini, F. Sbrana, D. Ricci, and E. Di Zitti, “Microstructure Origin of the Conductivity Differences in Aggregated CuS Films of Different Thickness,” *Langmuir*, vol. 19, no. 3, pp. 766–771, 2003.
- [22] S. Y. Kuchmii, A. V. Korzhak, A. E. Raevskaya, A. I. Kryukov, and L. V. Pisarzhevskii, “Catalysis of the sodium sulfide reduction of methylviologene by CuS nanoparticles,” *Theoretical and Experimental Chemistry*, vol. 37, no. 1, pp. 31–36, 2001.
- [23] R. Feynman, “Plenty of Room at the Bottom,” in *APS annual meeting*, 1959.

- [24] N. Hulkoti and T. Taranath, "Biosynthesis of nanoparticles using microbes – A review," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 121, no. 1, pp. 474–483, 2014.
- [25] L. Kolahalam, I. Viswanath, B. Diwakar, B. Govindh, V. Reddy, and Y. Murthy, "Review on nanomaterials: Synthesis and applications," *Materials Today: Proceedings*, vol. 18, no. 1, pp. 2182–2190, 2019.
- [26] J. Tiwari, R. Tiwari, and K. Kim, "Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices," *Progress in Materials Science*, vol. 57, no. 4, pp. 724–803, 2012.
- [27] S. Lanone and J. Boczkowski, "Les sources de nanoparticules," *Revue Française d'Allergologie*, vol. 50, no. 3, pp. 211–213, 2010.
- [28] S. N. Yusof, N. A. Sidik, Y. Asako, W. M. Japar, S. B. Mohamed, and N. M. Muhammad, "A comprehensive review of the influences of nanoparticles as a fuel additive in an internal combustion engine (ICE)," *Nanotechnology Reviews*, vol. 9, no. 1, pp. 1326–1349, 2021.
- [29] S. Chupradit, A. T. Jalil, Y. Enina, D. A. Neganov, M. S. Alhassan, S. Aravindhana, and A. Davarpanah, "Use of Organic and Copper-Based Nanoparticles on the Turbulator Installment in a Shell Tube Heat Exchanger: A CFD-Based Simulation Approach by Using Nanofluids," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2021, no. 1, pp. 1–7, 2021.
- [30] K. Virmani, C. Deepak, S. Sharma, U. Chadha, and S. K. Selvaraj, "Nanomaterials for automotive outer panel components: a review," *The European Physical Journal Plus*, vol. 136, no. 9, pp. 1–29, 2021.
- [31] S. Sathiyavimal, S. Vasantharaj, D. Bharathi, M. Saravanan, E. Manikandan, S. S. Kumar, and A. Pugazhendhi, "Biogenesis of copper oxide nanoparticles (CuONPs) using *Sida acuta* and their incorporation over cotton fabrics to prevent the pathogenicity of Gram negative and Gram positive bacteria," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 188, no. 1, pp. 126–134, 2018.
- [32] M. Radetić and D. Marković, "Nano-finishing of cellulose textile materials with copper and copper oxide nanoparticles," *Cellulose*, vol. 26, no. 17, pp. 8971–8991, 2019.
- [33] R. Huang, S. Zhang, W. Zhang, and X. Yang, "Progress of zinc oxide-based nanocomposites in the textile industry," *IET Collaborative Intelligent Manufacturing*, vol. 3, no. 3, pp. 281–289, 2021.
- [34] V. Subramaniam, S. Prasad, A. Banerjee, M. Gopinath, R. Murugesan, F. Marotta, X. F. Sun, and S. Pathak, "Health hazards of nanoparticles: understanding the toxicity mechanism of nanosized ZnO in cosmetic products," *Drug and Chemical Toxicology*, vol. 42, no. 1, pp. 84–93, 2018.

- [35] K. Khezri, M. Saeedi, and S. Maleki Dizaj, "Application of nanoparticles in percutaneous delivery of active ingredients in cosmetic preparations," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 106, no. 1, pp. 1499–1505, 2018.
- [36] L. Peltonen, "Practical guidelines for the characterization and quality control of pure drug nanoparticles and nano-cocrystals in the pharmaceutical industry," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 131, no. 1, pp. 101–115, 2018.
- [37] L. Padrela, M. A. Rodrigues, A. Duarte, A. M. Dias, M. E. Braga, and H. C. de Sousa, "Supercritical carbon dioxide-based technologies for the production of drug nanoparticles/nanocrystals – A comprehensive review," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 131, no. 1, pp. 22–78, 2018.
- [38] H. Idrees, S. Z. J. Zaidi, A. Sabir, R. U. Khan, X. Zhang, and S. U. Hassan, "A Review of Biodegradable Natural Polymer-Based Nanoparticles for Drug Delivery Applications," *Nanomaterials*, vol. 10, no. 10, p. 1970, 2020.
- [39] M. Mauricio, S. Guerra-Ojeda, P. Marchio, S. L. Valles, M. Aldasoro, I. Escribano-Lopez, J. R. Herance, M. Rocha, J. M. Vila, and V. M. Victor, "Nanoparticles in Medicine: A Focus on Vascular Oxidative Stress," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2018, 2018.
- [40] B. Kłębowski, J. Depciuch, M. Parlińska-Wojtan, and J. Baran, "Applications of Noble Metal-Based Nanoparticles in Medicine," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 12, p. 4031, 2018.
- [41] R. Britto, M. Cortez-Valadez, and M. Flores-Acosta, "Aplicaciones tecnológicas de las nanopartículas en la medicina e industria," *EPISTEMUS*, vol. 16, no. 33, 2022.
- [42] G. Pető, G. L. Molnár, Z. Pászti, O. Geszti, A. Beck, and L. Guzzi, "Electronic structure of gold nanoparticles deposited on SiO<sub>x</sub>/Si(100)," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 19, no. 1-2, pp. 95–99, 2002.
- [43] J. Watson, A. Hunter, A. Brown, and D. Middlemiss, "In vitro characterisation of the muscarinic receptor partial agonist, sabcomeline, in rat cortical and heart membranes," *European Journal of Pharmacology*, vol. 370, no. 1, pp. 69–77, 1999.
- [44] A. Kumar, S. Mandal, P. R. Selvakannan, R. Pasricha, A. B. Mandale, and M. Sastry, "Investigation into the Interaction between Surface-Bound Alkylamines and Gold Nanoparticles," *Langmuir*, vol. 19, no. 15, pp. 6277–6282, 2003.
- [45] A. Królikowska, A. Kudelski, A. Michota, and J. Bukowska, "SERS studies on the structure of thioglycolic acid monolayers on silver and gold," *Surface Science*, vol. 532, no. 1, pp. 227–232, 2003.
- [46] Z. Xiao, "CuS nanoparticles: clinically favorable materials for photothermal applications?," *Nanomedicine*, vol. 9, no. 3, pp. 373–375, 2014.

- [47] R. Gayathri, P. S. Rajalakshmi, A. Thomas, and A. K. Rengan, "Doxorubicin loaded polyvinylpyrrolidone-copper sulfide nanoparticles enabling mucoadhesiveness and chemo-photothermal synergism for effective killing of breast cancer cells," *Materialia*, vol. 19, no. 1, p. 101195, 2021.
- [48] D. K. Singaravelu, S. B. Subramaniam, M. Tharunya, and A. Veerappan, "Antimicrobial lipid capped copper sulfide nanoparticles display enhanced bactericidal effect against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*," *Materials Letters*, vol. 306, no. 1, p. 130985, 2022.
- [49] S. Roy and J. W. Rhim, "Gelatin-Based Film Integrated with Copper Sulfide Nanoparticles for Active Packaging Applications," *Applied Sciences*, vol. 11, no. 14, p. 6307, 2021.
- [50] N. Mbewana-Ntshanka, M. Moloto, and P. Mubiayi, "Antimicrobial Activity of the Synthesized of Copper Chalcogenide Nanoparticles," *Journal of Nanotechnology*, vol. 2021, no. 1, pp. 1–14, 2021.
- [51] S. Kershaw, A. Susha, and A. Rogach, "Narrow bandgap colloidal metal chalcogenide quantum dots: synthetic methods, heterostructures, assemblies, electronic and infrared optical properties," *Chemical Society Reviews*, vol. 42, no. 7, pp. 3033–3087, 2013.
- [52] R. Córdova-Castro, M. Casavola, M. Van Schilfgaarde, A. V. Krasavin, M. A. Green, D. Richards, and A. V. Zayats, "Anisotropic Plasmonic CuS Nanocrystals as a Natural Electronic Material with Hyperbolic Optical Dispersion," *ACS Nano*, vol. 13, no. 6, p. 6560, 2019.
- [53] S. Conejeros, I. D. P. Moreira, P. Alemany, and E. Canadell, "Nature of holes, oxidation states, and hypervalency in covellite (CuS)," *Inorganic Chemistry*, vol. 53, no. 23, pp. 12402–12406, 2014.
- [54] S. W. Hsu, K. On, and A. R. Tao, "Localized surface plasmon resonances of anisotropic semiconductor nanocrystals," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, no. 47, pp. 19072–19075, 2011.
- [55] I. Ijaz, E. Gilani, A. Nazir, and A. Bukhari, "Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles," *Green Chemistry Letters and Reviews*, vol. 13, no. 3, pp. 223–245, 2020.
- [56] N. Ul Ain, J. A. Nasir, Z. Khan, I. S. Butler, and Z. Rehman, "Copper sulfide nanostructures: synthesis and biological applications," *RSC Advances*, vol. 12, no. 12, pp. 7550–7567, 2022.
- [57] K. Byrappa and M. Yoshimura, *Handbook of Hydrothermal Technology*. New York: William Andrew, Norwich, second ed., 2012.
- [58] K. Sue, M. Suzuki, K. Arai, T. Ohashi, H. Ura, K. Matsui, Y. Hakuta, H. Hayashi, M. Watanabe, and T. Hiaki, "Size-controlled synthesis of metal

- oxide nanoparticles with a flow-through supercritical water method,” *Green Chemistry*, vol. 8, no. 7, pp. 634–638, 2006.
- [59] T. Andelman, M. C. Tan, and R. E. Riman, “Thermochemical engineering of hydrothermal crystallisation processes,” *Materials Research Innovations*, vol. 14, no. 1, pp. 9–15, 2013.
- [60] D. Turnbull and J. C. Fisher, “Rate of Nucleation in Condensed Systems,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 17, no. 1, pp. 71–73, 1949.
- [61] B. Kafle, “Introduction to nanomaterials and application of UV–Visible spectroscopy for their characterization,” in *Chemical Analysis and Material Characterization by Spectrophotometry*, vol. 6, pp. 147–198, Elsevier, 2020.
- [62] H. Kung and E. Ko, “Preparation of oxide catalysts and catalyst supports — a review of recent advances,” *The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal*, vol. 64, no. 2, pp. 203–214, 1996.
- [63] T. Kyprianidou-Leodidou, W. Caseri, and U. Suter, “Size Variation of PbS Particles in High-Refractive-Index Nanocomposites,” *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 98, no. 36, pp. 8992–8997, 1994.
- [64] C. Wang, Z. Zhang, and J. Ying, “Photocatalytic decomposition of halogenated organics over nanocrystalline titania,” *Nanostructured Materials*, vol. 9, no. 1-8, pp. 583–586, 1997.
- [65] T. Gacoin, L. Malier, and J.-P. Boilot, “New transparent chalcogenide materials using a sol gel process,” *Chemistry of materials*, vol. 9, no. 7, pp. 1502–1504, 1997.
- [66] V. Sankaran, J. Yue, R. E. Cohen, R. R. Schrock, and R. J. Silbey, “Synthesis of Zinc Sulfide Clusters and Zinc Particles within Microphase-Separated Domains of Organometallic Block Copolymers,” *Chemistry of materials*, vol. 5, no. 8, pp. 1133–1142, 1993.
- [67] Y. Yuan, J. H. Fendler, and I. Cabasso, “Photoelectron Transfer Mediated by Size-Quantized CdS Particles in Polymer-Blend Membranes,” *Chemistry of materials*, vol. 4, no. 2, pp. 312–318, 1992.
- [68] S. Majetich and A. Carter, “Surface Effects on the Optical Properties of Cadmium Selenide Quantum Dots,” *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 97, no. 34, pp. 8727–8731, 1993.
- [69] B. Justus, R. Tonucci, and A. Berry, “Nonlinear optical properties of quantumconfined GaAs nanocrystals in Vycor glass,” *Applied physics letters*, vol. 61, no. 26, pp. 3151–3153, 1992.
- [70] H. Schmidt, “Chemistry of material preparation by the sol-gel process,” *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 100, no. 1-3, pp. 51–64, 1988.
- [71] Y. Konishi, K. Ohno, N. Saitoh, T. Nomura, S. Nagamine, H. Hishida, Y. Takahashi, and T. Uruga, “Bioreductive deposition of platinum

- nanoparticles on the bacterium *Shewanella algae*,” *Journal of Biotechnology*, vol. 128, no. 3, pp. 648–653, 2007.
- [72] I. Willner, R. Baron, and B. Willner, “Growing Metal Nanoparticles by Enzymes,” *Advanced Materials*, vol. 18, no. 9, pp. 1109–1120, 2006.
- [73] N. Vigneshwaran, N. Ashtaputre, P. Varadarajan, R. Nachane, K. Paralikar, and R. Balasubramanya, “Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*,” *Materials Letters*, vol. 61, no. 6, pp. 1413–1418, 2007.
- [74] N. Ahmad, S. Sharma, V. Singh, S. Shamsi, A. Fatma, and B. Mehta, “Biosynthesis of Silver Nanoparticles from *Desmodium triflorum*: A Novel Approach Towards Weed Utilization,” *Biotechnology Research International*, vol. 2011, no. 1, p. 454090, 2011.
- [75] B. Kim, J. Rutka, and W. Chan, “Nanomedicine,” *New England Journal of Medicine*, vol. 363, no. 25, pp. 2434–2443, 2010.
- [76] R. Kumar, “Application of nanotechnology in crop disease management,” *Universe International Journal of Interdisciplinary Research*, vol. 1, no. 2, 2020.
- [77] K. Narayanan and N. Sakthivel, “Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes,” *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 156, no. 1-2, pp. 1–13, 2010.
- [78] S. Shankar, A. Rai, A. Ahmad, and M. Sastry, “Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth,” *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 275, no. 2, pp. 496–502, 2004.
- [79] M. Sastry, A. Ahmad, M. Khan, and R. Kumar, “Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete,” *Current Science*, vol. 85, no. 2, pp. 162–170, 2003.
- [80] E. Ortiz Ortega, H. Hosseinian, M. J. Rosales López, A. Rodríguez Vera, and S. Hosseini, “Characterization Techniques for Chemical and Structural Analyses,” in *Material Characterization Techniques and Applications*, vol. 19, pp. 93–152, Springer Singapore, 2022.
- [81] Z. Chen and T. Jaramillo, “The Use of UV-visible Spectroscopy to Measure the Band Gap of a Semiconductor,” tech. rep., Department of Chemical Engineering, Stanford University, 2017.
- [82] A. T. Dao, D. Mott, and S. Maenosono, “Characterization of Metallic Nanoparticles Based on the Abundant Usages of X-ray Techniques,” in *Handbook of Nanoparticles*, pp. 217–244, Springer International Publishing, 2015.
- [83] S. Falsafi, H. Rostamabadi, and S. Jafari, “X-ray diffraction (XRD) of

- nanoencapsulated food ingredients,” in *Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients*, pp. 271–293, Academic Press, 2020.
- [84] Z. Rafiee, M. Nejatian, S. Bodbodak, and S. Jafari, “Surface composition of nanoencapsulated food ingredients by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS),” in *Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients*, pp. 243–268, Academic Press, 2020.
- [85] H. Kohl and L. Reimer, “Introduction,” in *Transmission Electron Microscopy. Physics of Image Formation*, vol. 36, pp. 1–15, Springer Series in Optical Sciences, 2008.
- [86] V. Klang, C. Valenta, and N. Matsko, “Electron microscopy of pharmaceutical systems,” *Micron*, vol. 44, no. 1, pp. 45–74, 2013.
- [87] S. Ebnesajjad, “Surface and Material Characterization Techniques,” in *Handbook of Adhesives and Surface Preparation*, pp. 31–48, William Andrew Publishing, 2011.
- [88] S. Amelinckx, D. Van Dyck, J. Van Landuyt, and G. Van Tendeloo, “Scanning Beam Methods,” in *Electron Microscopy: Principles and Fundamentals*, pp. 305–497, John Wiley & Sons, 1997.
- [89] M. Faraldos and C. Goberna, “Microscopía Electrónica de Materiales,” in *Técnicas de análisis y caracterización de materiales*, pp. 551–582, CSIC, 2011.
- [90] D. Joy and D. Howitt, “Scanning Electron Microscopy,” in *Encyclopedia of Physical Science and Technology - Measurements, Techniques and Instrumentation*, pp. 457–467, Academic Press, 2003.
- [91] M. Tanveer, C. Cao, I. Aslam, Z. Ali, F. Idrees, M. Tahir, W. S. Khan, F. K. Butt, and A. Mahmood, “Effect of the morphology of CuS upon the photocatalytic degradation of organic dyes,” *RSC Advances*, vol. 4, no. 108, pp. 63447–63456, 2014.
- [92] J. Tirado, C. Roldán-Carmona, F. Muñoz-Guerrero, G. Bonilla-Arboleda, M. Ralaiarisoa, G. Grancini, V. Quelo, N. Koch, M. Nazeeruddin, and F. Jaramillo, “Copper sulfide nanoparticles as hole-transporting-material in a fully-inorganic blocking layers n-i-p perovskite solar cells: Application and working insights,” *Applied Surface Science*, vol. 478, no. 1, pp. 607–614, 2019.
- [93] W. Liang and M. Whangbo, “Conductivity anisotropy and structural phase transition in Covellite CuS,” *Solid State Communications*, vol. 85, no. 5, pp. 405–408, 1993.
- [94] H. Tian, X. L. Zhang, J. Scott, C. Ng, and R. Amal, “TiO<sub>2</sub>-supported copper nanoparticles prepared via ion exchange for photocatalytic hydrogen production,” *Journal of Materials Chemistry A*, vol. 2, no. 18, pp. 6432–6438, 2014.

- [95] M. Tanveer, C. Cao, Z. Ali, I. Aslam, F. Idrees, W. S. Khan, F. K. But, M. Tahir, and N. Mahmood, "Template free synthesis of CuS nanosheet-based hierarchical microspheres: an efficient natural light driven photocatalyst," *CrystEngComm*, vol. 16, no. 24, pp. 5290–5300, 2014.
- [96] Y. Xie, A. Riedinger, M. Prato, A. Casu, A. Genovese, P. Guardia, S. Sottini, C. Sangregorio, K. Miszta, S. Ghosh, T. Pellegrino, and L. Manna, "Copper sulfide nanocrystals with tunable composition by reduction of covellite nanocrystals with Cu<sup>+</sup> ions," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 135, no. 46, pp. 17630–17637, 2013.
- [97] H. Liang, W. Shuang, Y. Zhang, S. Chao, H. Han, X. Wang, H. Zhang, and L. Yang, "Graphene-Like Multilayered CuS Nanosheets Assembled into Flower-Like Microspheres and Their Electrocatalytic Oxygen Evolution Properties," *ChemElectroChem*, vol. 5, no. 3, pp. 494–500, 2018.
- [98] Y. I. Yao, J. M. He, X. Yang, L. Peng, X. D. Zhu, K. S. Li, and M. N. Qu, "Superhydrophilic/underwater superaerophobic self-supporting CuS/Cu foam electrode for efficient oxygen evolution reaction," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 634, no. 1, p. 127934, 2022.
- [99] Y. Mikhlin, A. Romanchenko, and Y. Tomashevich, "Surface and interface analysis of iron sulfides in aqueous media using X-ray photoelectron spectroscopy of fast-frozen dispersions," *Applied Surface Science*, vol. 549, no. 1, p. 149261, 2021.
- [100] S. Adhikari, D. Sarkar, and G. Madras, "Hierarchical Design of CuS Architectures for Visible Light Photocatalysis of 4-Chlorophenol," *ACS Omega*, vol. 2, no. 7, pp. 4009–4021, 2017.
- [101] A. Rabkin, O. Friedman, and Y. Golan, "Surface plasmon resonance in surfactant coated copper sulfide nanoparticles: Role of the structure of the capping agent," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 457, no. 1, pp. 43–51, 2015.
- [102] Y. Zhao, H. Pan, Y. Lou, X. Qiu, J. Zhu, and C. Burda, "Plasmonic Cu<sub>2-x</sub>S nanocrystals: Optical and structural properties of copper-deficient copper(I) sulfides," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, no. 12, pp. 4253–4261, 2009.