



**ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΥΒΡΙΔΙΚΑ ΝΑΝΟΥΛΙΚΑ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ
ΓΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ**

ΦΩΤΕΙΝΗ ΦΡΑΓΚΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2023



**ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΥΒΡΙΔΙΚΑ ΝΑΝΟΥΛΙΚΑ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ
ΓΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ**

ΦΩΤΕΙΝΗ ΦΡΑΓΚΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2023

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2».

Ορισμός Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 1001/21-6-2019

Επιβλέπουσα:

Λουλούδη Μαρία, Καθηγήτρια Τμ. Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη:

Μαλανδρίνος Γεράσιμος, Αν. Καθηγητής Τμ. Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Δελγιαννάκης Ιωάννης, Καθηγητής Τμ. Φυσικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ορισμός Θέματος Διδακτορικής Διατριβής: 1013/14-02-2020

Θέμα Διδακτορικής Διατριβής:

«Υβριδικά νανοϋλικά με αντιοξειδωτικές ιδιότητες για ελεγχόμενη τοξικότητα και ασφάλεια»

Ορισμός επταμελούς εξεταστικής επιτροπής από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 1104/22-11-2023

Λουλούδη Μαρία, Καθηγήτρια Τμ. Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μαλανδρίνος Γεράσιμος, Αν. Καθηγητής Τμ. Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Δελγιαννάκης Ιωάννης, Καθηγητής Τμ. Φυσικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Γαρούφης Αχιλλέας, Καθηγητής Τμ. Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μάνος Εμμανουήλ, Αν. Καθηγητής Τμ. Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Καρακασίδης Μιχαήλ, Καθηγητής Τμ. Μηχανικών Επιστήμης Υλικών Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Δούβαλης Αλέξιος, Καθηγητής Τμ. Φυσικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ευχαριστίες

Τα τελευταία τεσσεράμισι χρόνια, δηλαδή το διάστημα που εκπονώ το διδακτορικό μου στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, είχα την ευκαιρία να γνωριστώ με τον κόσμο της επιστημονικής έρευνας αλλά κυρίως να γνωρίσω το κομμάτι του εαυτού μου που θέλει να υπάρχει μέσα σε αυτόν.

Αυτός είναι ο κύριος λόγος που οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, κα. Μαρία Λουλούδη, Καθηγήτρια του Τμ. Χημείας του ΠΙ. Την ευχαριστώ θερμά για την πολύτιμη βοήθεια και την καθοδήγησή της τόσο σε επιστημονικό αλλά και σε ανθρώπινο επίπεδο. Την ευχαριστώ πολύ, ακόμη, για την ευκαιρία που μου έδωσε μέσω της ανάθεσης αυτού του θέματος, να δουλέψω πάνω σε ένα σύγχρονο, πολυεπίπεδο ερευνητικό αντικείμενο της Χημείας, καθώς μέσω της εργασίας μου αυτής καλλιέργησα έναν αναλυτικό τρόπο σκέψης που πλέον με ακολουθεί πιστά.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω εξίσου θερμά τον κ. Ιωάννη Δεληγιαννάκη, Καθηγητή του Τμ. Φυσικής του ΠΙ, για την εξαιρετική μας συνεργασία και την ουσιαστική συμβολή του στην εκπαίδευσή μου, καθώς και για την καθοδήγηση και την άμεση βοήθεια που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης αυτής της διατριβής.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Γεράσιμο Μαλανδρίνο, Αναπλ. Καθηγητή του Τμ. Χημείας του ΠΙ, για την πολύτιμη βοήθειά του ως μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής. Θέλω, επιπλέον, να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στα υπόλοιπα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής, δηλαδή στον κ. Αχιλλέα Γαρούφη, Καθηγητή Τμ. Χημείας ΠΙ, στον κ. Εμμανουήλ Μάνο, Αναπλ. Καθηγητή Τμ. Χημείας ΠΙ, στον κ. Μιχαήλ Καρακασίδη, Καθηγητή Τμ. Μηχανικών Επιστήμης Υλικών ΠΙ, και στον κ. Αλέξιο Δούβαλη, Καθηγητή Τμ. Φυσικής ΠΙ.

Επιπλέον, ευχαριστώ θερμά τις συναδέλφους Δρ. Παναγιώτα Στάθη, Αρετή Ζήνδρου και Αννίτα Θεοφάνους για την άψογη συνεργασία μας που συνέβαλλε ουσιαστικά στη διαμόρφωση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας. Ένα μεγάλο ευχαριστώ, οφείλω εξίσου στους συναδέλφους που με εκπαίδευσαν σε πειραματικές και φασματοσκοπικές τεχνικές, δηλ. τον Δρ. Γιάννη Γεωργίου και την Δρ. Κατερίνα Γεμεντζή. Ευχαριστώ ακόμη θερμά όλα τα μέλη των δύο εργαστηρίων στα οποία εργάστηκα κατά την εκπόνηση αυτής της διατριβής, δηλαδή του Εργαστηρίου Βιομημική Κατάλυσης & Υβριδικών υλικών στο Τμ. Χημείας, και του Εργαστηρίου Φυσικοχημείας Υλικών και Περιβάλλοντος στο Τμ. Φυσικής του ΠΙ, για την πολύτιμη γνώση και εμπειρία που απέκτησα μέσω της συνεργασίας και της αλληλεπίδρασής μας.

Θα ήθελα να αναφέρω πως μέρος της παρούσας διδακτορικής διατριβής έχει χρηματοδοτηθεί από το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων μέσω του Προγράμματος Υποτροφιών Υποψήφιων Διδασκτόρων και Μεταδιδασκτόρων αλλά και στο πλαίσιο ερευνητικής εργασίας για την L'Oréal S.A. Ακόμη, η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε στο πλαίσιο της Πράξης «Κέντρο Έρευνας, Ποιοτικής Ανάλυσης Υλικών Πολιτισμικής Κληρονομιάς και Επικοινωνίας της Επιστήμης» (MIS 5047233) που εντάσσεται στη Δράση «Ενίσχυση των Υποδομών Έρευνας και Καινοτομίας» και χρηματοδοτείται από το Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία» στο πλαίσιο του ΕΣΠΑ 2014-2020, με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης).

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ πάει για χίλιους λόγους, στους δικούς μου ανθρώπους.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	13
Abstract.....	15
Κεφάλαιο Πρώτο Θεωρητικό Μέρος	19
1. Εισαγωγή.....	21
1.1. Σύντομη ιστορική αναδρομή της εξέλιξης των υλικών	22
1.1.1. Η μετάβαση από τα φυσικά στα τεχνολογικά υλικά	22
1.1.2. Νανοτεχνολογία.....	24
1.1.3. Κατηγορίες Νανοϋλικών	28
1.2. Τοξικότητα νανοϋλικών	35
1.2.1. Νανο-βιο διεπιφάνεια και μηχανισμοί τοξικότητας.....	36
1.2.2. Οξειδωτικά συστήματα και αντισταθμιστικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί	44
1.2.3. Βιολογικοί μηχανισμοί τοξικής δράσης έναντι κυττάρων.	50
1.2.4. Αξιολόγηση τοξικότητας νανοϋλικών.....	51
1.3. Ασφάλεια νανοϋλικών μέσω του σχεδιασμού τους	52
1.3.1. Ανάπτυξη μεθόδων ελεγχόμενης μείωσης τοξικότητας νανοδομών	54
1.3.2. Βιομιμητική Νανομηχανική για αντιοξειδωτική θωράκιση.....	58
1.4. Νανο-υλικά σε επαφή με τον άνθρωπο και το οικοσύστημα	61
1.4.1. Νανοϋλικά ευρείας χρήσης με βάση το πυρίτιο (Si)	61
1.4.2. Αντιοξειδωτικά νανοϋλικά με βάση το δημήτριο (Ce).....	69
1.4.3. Βιομιμητική δράση οξειδίων δημητρίου (CeONPs)	72
1.4.4. Τοξικότητα νανο-οξειδίων δημητρίου (CeONPs).....	83
1.5. Σκοπός εργασίας	85
Κεφάλαιο Δεύτερο Πειραματικό Μέρος	87
2. Πειραματικό Μέρος.....	89
2.1. Μεθοδολογία και αρχές πειραματικών τεχνικών	89
2.1.1. Αντιδραστήρια και Διαλύτες	89
2.1.2. Πυρόλυση Ψεκασμού Φλόγας (ΠΨΦ)	91
2.1.3. Μελέτη κρυσταλλικότητας και μεγέθους νανοδομών μέσω ακτίνων Χ.....	92
2.1.4. Μελέτη μορφολογίας των νανοδομών	94
2.1.5. Μελέτη βαθμού συσσωμάτωσης	94
2.1.6. Μελέτη ειδικής επιφάνειας και πορώδους.....	98
2.1.7. Φασματοσκοπία δάχυτης ανάκλασης υπεριώδους-ορατού	99
2.1.8. Μελέτη μέσω Δονητικής Φασματοσκοπίας	100
2.1.9. Θερμοσταθμική διαφορική θερμική ανάλυση (TG-DTA)	101

2.1.10.	Μελέτη επιφανειακού φορτίου.....	103
2.1.11.	Μέτρηση διαλυμένου οξυγόνου.....	108
2.1.12.	Φασματοσκοπία Ηλεκτρονικού Παραμαγνητικού Συντονισμού	109
2.1.13.	Μελέτη τοξικότητας με τη διάταξη <i>Microtox</i>	112
2.2.	Νανοϋλικά SiO₂	119
2.2.1.	Ανάπτυξη νανοδομών SiO ₂	121
(A)	Σύνθεση νανοϋλικών μέσω Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας (ΠΨΦ).....	121
(B)	Μετα-συνθετική επιφανειακή χημική τροποποίηση.....	122
2.2.2.	Αποτελέσματα.....	124
(i)	Μορφολογία νανοϋλικών	124
(ii)	Βαθμός συσσωμάτωσης: Ανάλυση μέσω Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS)	126
(iii)	Ανάλυση μέσω δονητικής φασματοσκοπίας FT-IR και Raman.	129
(iv)	Επιφανειακό φορτίο νανοϋλικών SiO ₂ : Μελέτη δυναμικού ζ.....	134
(v)	Παραγωγή Ελευθέρων Ριζών	139
(vi)	Μελέτη τοξικότητας.....	143
2.2.3.	Σύνοψη- Μερικά Συμπεράσματα	145
2.3.	Υβριδικά Νανοϋλικά Άνθρακα-SiO₂	149
2.3.1.	Ανάπτυξη υβριδικών νανοδομών C-SiO ₂ μέσω ΠΨΦ	150
2.3.2.	Αποτελέσματα.....	152
(i)	Χαρακτηρισμός δομής και μορφολογίας των υβριδικών νανοϋλικών C-SiO ₂	152
(ii)	Μελέτη του άνθρακα μέσω θερμοσταθμικής διαφορικής θερμικής ανάλυσης (TG-DTA) 157	
(iii)	Τροποποίηση του πυριτικού πλέγματος μέσω της ελεγχόμενης εναπόθεσης άνθρακα. 159	
(iv)	Μελέτη ριζών μέσω φασματοσκοπίας ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού (EPR) 167	
(v)	Συσχέτιση φυσικοχημείας επιφάνειας και τοξικότητας.....	172
(vi)	Πολυπαραμετρική ανάλυση φυσικοχημικών και δομικών χαρακτηριστικών σε σχέση με την τοξικότητα των νανοϋλικών C-SiO ₂	176
2.3.3.	Σύνοψη – Μερικά Συμπεράσματα.....	179
2.4.	Ανάπτυξη αντιοξειδωτικών νανοδομών CeO_{2-x}	183
2.4.1.	Σύνθεση νανοδομών CeO _{2-x}	184
2.4.2.	Αποτελέσματα.....	187
(i)	Χαρακτηρισμός νανοϋλικών CeO _{2-x}	187
(ii)	Επιφανειακές ιδιότητες νανοϋλικών CeO ₂	193
(iii)	Φασματοσκοπική μελέτη των πλεγματικών αλλαγών.....	197

(iv) Αξιολόγηση οξειδοαναγωγικής ικανότητας της επιφάνειας των υλικών μέσω φασματοσκοπίας EPR.....	206
(v) Μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω EPR.....	210
(vi) Αξιολόγηση τοξικότητας.....	213
2.4.1. Σύνοψη - Μερικά Συμπεράσματα	218
Κεφάλαιο Τρίτο Συμπεράσματα.....	221
3. Συμπεράσματα.....	223
Βιβλιογραφία.....	229

Περίληψη

Τα πλεονεκτήματα της Νανοτεχνολογίας είναι αμέτρητα και η σημαντικότητά της αδιαμφισβήτητη. Δυστυχώς όμως, υπάρχει και η άλλη όψη του νομίσματος. Λόγω του μικρού μεγέθους τους, τα νανοσωματίδια είναι πολύ εύκολο να διαπερνούν τις βιολογικές μεμβράνες ή να καταλήγουν στο νερό και να παρουσιάζουν τοξικότητα για τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Επιπλέον, σε πολλές περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσουν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών, είδη ιδιαίτερα επικίνδυνα, καθώς σε υψηλή συγκέντρωση ευθύνονται για βλάβες, οι οποίες σχετίζονται με την οξειδωτική καταπόνηση. Οι έρευνες, προς το παρόν, στρέφονται προς την βελτιστοποίησή τους, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η πιθανή τοξικότητα που εμφανίζουν και να καταστεί η χρήση τους απολύτως ασφαλής στο μέλλον. Η ασφάλεια ήδη από το πρώιμο στάδιο του σχεδιασμού των υλικών (*Safe-by-Design*), προέκυψε ως μια ανάγκη της σύγχρονης εποχής για την επίλυση κυρίως θεμάτων βιωσιμότητας. Αν και η εξασφάλιση της χαμηλής τοξικότητας και άρα ασφαλούς χρήσης των νανοϋλικών αποτελεί, αδιαμφισβήτητα, προτέρημα, η φιλοσοφία έρευνας πίσω από το *Safe-by-Design* κρύβει πολλά περισσότερα πλεονεκτήματα. Η συσσωρευμένη γνώση που συλλέγεται κατά την αποκωδικοποίηση φαινομένων νανοτοξικότητας στη νανο-βιο διεπιφάνεια, φαινομένων που προέρχονται από τα δομικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των νανοϋλικών, αναβαθμίζει τη συνθετική διεργασία και οδηγεί στην ανάπτυξη προηγμένων νανοδομών, αντανακλώντας αποδοτικά σε σύγχρονες εφαρμογές.

Στο πλαίσιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής, μελετάται η σχέση δομής-δραστηριότητας (*Structure-Activity Relationship, SAR*) νανοϋλικών ευρείας χρήσης, με κύριο πυρήνα τη διερεύνηση των παραγόντων που εκκινούν, συνήθως συνεργιστικά, την τοξική δράση τους. Στο πλαίσιο αυτό, ο κυριότερος στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι να προταθούν κατάλληλες μέθοδοι παραγωγής νανοδομών ευρείας κλίμακας που θα εξασφαλίζουν την χαμηλή τοξικότητά τους ακολουθώντας την στρατηγική “*Safe-by-Design*”. Η έρευνα προσανατολίζεται σε τρεις βασικές οικογένειες νανοδομών βιομηχανικού ενδιαφέροντος: (α) των νανοϋλικών πυριτίας (SiO_2), που ως συστατικά πληθώρας εμπορικών προϊόντων αποτελούν ένα από τα πιο ευρέως παραγόμενα νανοϋλικά, (β) υβριδικών δομών άνθρακα-πυριτίας (C-SiO_2) και (γ) των νανοϋλικών δημητρίας (CeO_2), μια ομάδα προηγμένων τεχνολογικών νανοϋλικών με ισχυρή οξειδοαναγωγική ικανότητα. Γίνεται λεπτομερής χαρακτηρισμός και μελετώνται τα δομικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (π.χ., το μέγεθος, ο βαθμός συσσωμάτωσης, η ειδική επιφάνεια, το επιφανειακό φορτίο, το πορώδες, η μορφολογία), αλλά και ειδικότερες ιδιότητες όπως

η ικανότητα παραγωγής ριζών, η δραστηριότητα σταθερών ριζών που φέρει η επιφάνειά τους ($C-SiO_2$) ή στην περίπτωση των υλικών CeO_2 η αντιοξειδωτική τους ικανότητα μέσω φασματοσκοπικών και αναλυτικών μεθόδων. Χρησιμοποιούνται τεχνικές δονητικής φασματοσκοπίας FT-IR και Raman, η φασματοσκοπία ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού (EPR), η δυναμική σκέδαση φωτός (DLS) και όλα τα δεδομένα συσχετίζονται μέσω πολυπαραμετρικών αναλύσεων με την τοξικότητά των υλικών έναντι μη παθογόνων βακτηρίων που ζουν σε υδατικά συστήματα (*Aliivibrio Fischeri*).

Στην περίπτωση της νανοπυριτίας, μελετήθηκε η συσχέτιση μεταξύ της τάσης των δεσμών που συνθέτουν τους σιλοξανικούς δακτυλίους του πυριτικού πλέγματος, με την ικανότητα των υλικών να εκκινούν την παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου σε διάλυμα και αποδείχτηκε πως η παρουσία μεγαλύτερου μεγέθους δακτυλίων μειώνει σημαντικά την παραγωγή τους και, επομένως, την τοξικότητα λόγω ROS. Αποδείχθηκε ακόμη, πως το μέγεθος, η ειδική επιφάνεια και το επιφανειακό φορτίο επηρεάζονται άμεσα από τη θερμοκρασία της σύνθεσης. Στο πλαίσιο αυτό, προτείνονται δύο μεθοδολογίες για τον έλεγχο της δομής και την παραγωγή νανοπυριτίας χαμηλής τοξικότητας. Μελετάται ακόμη, η παρουσία ετεροδομών άνθρακα στο πυριτικό πλέγμα σε σχέση με την τοξικότητα. Συμπεραίνεται, πως οι ομάδες του άνθρακα (sp^3 , sp^2) που ενσωματώνονται στο πυριτικό πλέγμα προκαλούν την παραμόρφωσή του και μεταβάλλουν την τοξικότητα των υβριδικών δομών. Ομοίως, προτείνεται μια μέθοδος για την ελεγχόμενη εισαγωγή sp^2/sp^3 άνθρακα στο πλέγμα της νανοπυριτίας και την παραγωγή υβριδικών νανοϋλικών $C-SiO_2$ με ελεγχόμενη τοξικότητα σε ένα βήμα.

Στην περίπτωση της νανοσίριας (CeO_2), μελετώνται λεπτομερώς οι ιδιότητες των ατελειών (κέντρα Ce^{3+} και κενές θέσεις οξυγόνου) του κρυσταλλικού πλέγματος, και η επίδραση της παρουσίας τους τόσο στην τοξικότητα των υλικών όσο και στην ικανότητά τους να αδρανοποιούν ελεύθερες ρίζες σε υδατικά συστήματα. Συμπεραίνεται, πως η αντιοξειδωτική ικανότητα μειώνεται καθώς αυξάνεται η παρουσία ατελειών. Ακόμη, τονίζεται πως η εισαγωγή ατελειών στο κρυσταλλικό πλέγμα οδηγεί σε δομικές διαφοροποιήσεις (με σημαντικότερη την αύξηση μεγέθους) που μειώνουν τουλάχιστον στο μισό την τοξικότητα των ανοξικών δομών νανοσίριας σε σχέση με τις οξειδωμένες δομές. Επιπλέον, παράγοντες όπως η ικανότητα παραγωγής ριζών και το επιφανειακό φορτίο σε διάλυμα εκκινούν, συνεργιστικά με το μέγεθος του σωματιδίου, την τοξική δράση. Από τα αποτελέσματα της μελέτης, διαχωρίζονται οι παράγοντες που ενεργοποιούν την αντιοξειδωτική δράση και την τοξικότητα και τονίζεται πως οι δυο αυτές ιδιότητες μπορούν να υφίστανται ταυτόχρονα. Προτείνεται, τέλος, μια μεθοδολογία ενός βήματος για την ανάπτυξη υλικών νανοσίριας χαμηλής τοξικότητας που διατηρούν ταυτόχρονα υψηλή αντιοξειδωτική δράση.

Abstract

Nanotechnology has notably improved people's living standards throughout the last decades. In addition to advantages, this outbreak in the wide use of nanomaterials also raised concerns about potential impacts on ecosystems and the biota. Consequently, the surge in their application needs a more detailed comprehension of their bio-activity and the implemented bio-toxicity mechanisms. Moreover, there is an urgent need to clarify specific nanotoxicity mechanisms in the nano-bio-interface and provide critical insight into engineered nanoparticles' structure-activity-relationship (SAR). "Safe-by-Design" has emerged as a new research strategy, following the need to produce sustainable, safe-to-use technologies. The knowledge gained from this research by evaluating nanotoxicity phenomena at the nano-bio interface, initiating from structural and physicochemical characteristics of the nanostructures, can be applied to the detailed control of the synthetic process and facilitate the development of advanced nanostructures, efficiently reflecting on modern applications.

*This doctoral thesis studies the structure-activity relationship (SAR) of widely used nanomaterials, focusing mainly on investigating the factors that initiate their toxicity. In this context, the main objective of the study is to propose methodologies for producing large-scale nanostructures that will ensure their low toxicity by following the "Safe-by-Design" strategy. This research focuses on three prominent categories of industrially produced nanostructures: (a) nanosilica (SiO_2), which, as a component of a multitude of products, is one of the most widely produced and commercially available nanomaterials, (b) hybrid Carbon- SiO_2 nanostructures, and (b) nanoceria (CeO_2), a group of advanced nanomaterials with strong redox ability. Detailed characterization is performed utilizing spectroscopic and analytical methods such as FT-IR, Raman, Electron Paramagnetic Resonance (EPR) spectroscopy, and Dynamic Light Scattering (DLS), and all structural and physicochemical characteristics (size, aggregation degree, specific surface area, surface charge, porosity, morphology) and specific properties such as radical generation capacity, stable surface-radicals activity (C- SiO_2) or antioxidant capacity in the case of CeO_2 materials, are correlated by multi-factor analyses with toxicity towards aquatic suspensions of *Aliivibrio Fischeri* bacteria.*

In the case of nanosilica materials, the relationship between siloxane-ring strains and their surface's ability to initiate the production of reactive oxygen species in solution is studied. It is shown that the presence of larger-sized rings significantly reduces toxicity. It is also shown that the synthesis temperature affects the particle size, the specific surface area, and the surface charge of the nanomaterials. In this context, two methodologies are proposed for the surface passivation and production of safe-by-design nanosilica. In an additional step, the effect of carbon heterostructures in the nanosilica lattice on its toxicity is studied. It is concluded that carbon (sp^3 , sp^2) assimilation induces siloxane matrix distortion. Multiparametric analysis, which correlates structure, activity, and physicochemical characteristics with toxicity, showed that the biocidal effect of C-SiO₂ is not induced by a single factor but is synergistically defined by the amount of embedded carbon, its type, surface charge, and specific surface area. Again, a methodology is proposed for introducing sp^2/sp^3 carbon into the nanosilica lattice and producing hybrid C-SiO₂ nanomaterials with controlled toxicity in one step.

Regarding nanoceria (CeO₂), the properties of lattice defects (Ce³⁺ centers and oxygen vacancies) and the effect of their presence on both the toxicity of the materials and their radical generation capacity in aqueous systems are studied in detail. It is shown that antioxidant capacity decreases as the concentration of defects increases. Introducing defects in the crystal lattice leads to structural differentiation (with the increase in particle size being the most important), significantly reducing toxicity. In addition to small particle size, radical generation capacity and surface charge in solution synergistically enhance toxicity. Antioxidant activity and toxicity mechanisms are clarified, emphasizing that they are not mutually exclusive properties. Finally, in this context, a one-step methodology is proposed for the controlled introduction of different types of defects into the crystal lattice.

Κεφάλαιο Πρώτο | Θεωρητικό Μέρος

1. Εισαγωγή

Η έννοια του «υλικού» μπορεί να αποδοθεί ως «κάθε στερεή ή εύπλαστη δομή» ή πιο απλά ως «καθετί που αποτελείται από ύλη». Κάποιες δεκαετίες πριν, οι λέξεις «υλικό», «επιστήμη» και «τεχνολογία» συνυπήρχαν δύσκολα στην ίδια πρόταση. Σήμερα, η **Επιστήμη και Τεχνολογία των Υλικών**, ως επιστημονικό πεδίο ενσωματώνει τη θεωρητική και πειραματική μελέτη της δομής και των ιδιοτήτων της ύλης στις διάφορες μορφές της. Μελετά, επιπλέον, το σχεδιασμό και τη χημική σύνθεση προηγμένων μορφών ύλης με βελτιστοποιημένες ιδιότητες προσανατολισμένες σε ειδικές εφαρμογές καθώς και την αναζήτηση και σύνθεση νέων μορφών μοριακής οργάνωσης της ύλης.

Η αποδοτική έρευνα και καινοτομία στην ανάπτυξη νέων προηγμένων δομών, ενισχύονται από το διεπιστημονικό χαρακτήρα του πεδίου αυτού, καθώς ενσωματώνει γνώσεις από ένα ευρύ φάσμα επιστημών όπως της **Ανόργανης Χημείας**, Βιολογίας, Φυσικής Στερεάς Κατάστασης, Πληροφορικής, Μηχανικής, ή Ρομποτικής. Ακόμη, τα Μαθηματικά, η Στατιστική και οι θεμελιώδεις έννοιες των Οικονομικών Επιστημών αποτελούν γνωστά εργαλεία ποσοτικής έκφρασης των φυσικών και χημικών νόμων που διέπουν τη συμπεριφορά της ύλης.

Η **Χημεία των Υλικών** - ως μια υποκατηγορία του διεπιστημονικού πεδίου της Επιστήμης και Τεχνολογίας των Υλικών - αποτελεί ένα ραγδαία αναπτυσσόμενο επιστημονικό πεδίο, δίνοντας μια νέα διάσταση στη σύγχρονη εφαρμοσμένη χημεία και αντιπροσωπεύοντας ένα σημαντικό κλάσμα όλων των δημοσιεύσεων που αφορούν τις φυσικές επιστήμες¹.

Ακολουθώντας τις βασικές αρχές της Χημείας, εμβαθύνει [i] στη φύση των χημικών δεσμών μιας δομής, [ii] στις ηλεκτρονιακές αλληλεπιδράσεις και τους μηχανισμούς μεταφοράς των ατόμων που τη συνιστούν, [iii] στις χημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του υλικού και του περιβάλλοντός του, [iv] στις χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην επιφάνεια των υλικών και τη διεπιφάνεια υλικού-υλικού, αλλά και [v] στο σχεδιασμό καινοτόμων χημικών μηχανισμών που στηρίζονται στη συνδυαστική λειτουργία κλασσικών μοριακών χημικών συστημάτων και προηγμένων υλικών².

Μελετά, ακόμη, διεξοδικά μηχανισμούς που στηρίζονται στην **αλληλεπίδραση υλικών και βιολογικών μεμβρανών**, δίνοντας έτσι απάντηση σε ζητήματα **ασφάλειας και ελέγχου τοξικότητας** με σκοπό την εξασφάλιση της **βιωσιμότητας** υλικών σε οικοσυστήματα.

1.1. Σύντομη ιστορική αναδρομή της εξέλιξης των υλικών

1.1.1. Η μετάβαση από τα φυσικά στα τεχνολογικά υλικά

Τα υλικά αποτελούσαν ανέκαθεν ορόσημα της εξέλιξης της ανθρωπότητας καθορίζοντας τη μετάβαση από μια εποχή στην επόμενη. Τα πρώτα υλικά που χρησιμοποίησε ο άνθρωπος προϊστορικά (περίπου το 100.000 π.Χ.), ήταν η πέτρα και το κόκκαλο, και σε συνδυασμό με την κατεργασία του ξύλου χαρακτήρισαν το ξεκίνημα μιας εποχής γνωστής ως *Εποχή των Φυσικών Υλικών*³.

Περίπου το 10.000 π.Χ., οι άνθρωποι άρχισαν να φτιάχνουν συστηματικά αντικείμενα από μέταλλα, όπως ο χρυσός, το ασήμι και ο χαλκός σηματοδοτώντας τη μετάβαση στην *Εποχή του Χαλκού*. Τα μέταλλα αυτά είναι μαλακά και χρησιμοποιήθηκαν κυρίως για κοσμήματα, διακοσμητικά αντικείμενα ή σκεύη μαγειρικής. Γύρω στο 3000 π.Χ., ανακαλύφθηκε ότι η προσθήκη άλλων στοιχείων στον χαλκό, ιδιαίτερα ο κασσίτερος, τον καθιστούσε πολύ σκληρότερο και πιο ανθεκτικό. Η ανακάλυψή αυτού του κράματος χαλκού και κασσίτερου, γνωστό και ως μπρούτζος, επέτρεψε την παραγωγή ισχυρότερων και πιο ανθεκτικών εργαλείων (όπως τα πρώτα ξίφη) από ό,τι ήταν δυνατό πριν, καθώς μπορούσε να χυτευθεί και να δουλευθεί σε διαφορετικά σχήματα πιο εύκολα από την πέτρα. Στην εποχή του Χαλκού ενσωματώνεται ακόμη και, η μεταγενέστερη της κατεργασίας μετάλλων τέχνη της κεραμικής, και μεταξύ των χαρακτηριστικών υλικών της εποχής συμπεριλαμβάνονται το γυαλί, το τσιμέντο (~5.000 π.Χ.) και ο πάπυρος (~3.000 π.Χ.)³.

Κατά την πρώιμη *Εποχή του Σιδήρου* που ακολούθησε, οι άνθρωποι βρέθηκαν να κατασκευάζουν έργα τέχνης από σίδηρο που εντοπίστηκε σε μεταλλεύματα μετεωριτών που είχαν πέσει στη Γη³. Ωστόσο, η συστηματική χρήση του μεταλλικού σιδήρου ήρθε με την ανακάλυψη (γύρω στο 1450 π.Χ.) της χημικής αναγωγής των οξειδίων του σιδήρου, όπως ο αιματίτης (Fe_2O_3) που υπήρχαν σε αφθονία, σε μεταλλικό σίδηρο μέσω καύσης άνθρακα υπό συνθήκες έλλειψης οξυγόνου. Ο καθαρός από άνθρακα Σίδηρος, μετά από θέρμανση στους 1100 °C, μπορούσε να τροποποιηθεί εύκολα στο επιθυμητό για την εκάστοτε εφαρμογή σχήμα του, κάτι που έφερε επανάσταση στη γεωργία αλλά, φυσικά, και στον πόλεμο. Αν και η σημασία του Σιδήρου, είναι αδιαμφισβήτητη καθώς σηματοδότησε και τη μετάβαση στη σύγχρονη τεχνολογία μέσω της χύτευσής του (βλ. παρακάτω), στη μεγάλη διάρκεια της Εποχής του Σιδήρου που ξεκινά περίπου το 1000 π.Χ. και τελειώνει τον 19^ο αιώνα μ.Χ. αναπτύχθηκε εξίσου και η κατεργασία άλλων μορφών ύλης, εκτός του Σιδήρου.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η λάκα (μορφή βερνικιού, ~1.000 π.Χ.), το κεχριμπάρι (~80 π.Χ.), τα κέρατα ζώων (~50 π.Χ.), το χαρτί (~105 μ.Χ.), το καβούκι χελώνας (~400

μ.Χ.), τα βιο-πολυμερή γουταπέρκα (~800 μ.Χ.) και καουτσούκ (~1550 μ.Χ.), αλλά και μεταλλικές δομές όπως η πλατίνα (~1735 μ.Χ.), το κοβάλτιο (~1737 μ.Χ.), ο ψευδάργυρος (~1746 μ.Χ.), το νικέλιο (~1751 μ.Χ.), ο χάλυβας (~1765 μ.Χ.), το βολφράμιο και ζιρκόνιο (~1783 μ.Χ.), το ουράνιο (~1789 μ.Χ.), και τέλος το στρόντιο και το τιτάνιο (~1791 μ.Χ.)³.

Σημείο αναφοράς που άνοιξε το δρόμο για την επιστημονική κατανόηση και τη μετάβαση στη σύγχρονη βιομηχανική παραγωγή υλικών αποτελεί η δυνατότητα χύτευσης του Σιδήρου σε πολύ υψηλή θερμοκρασία (1600 °C)³. Η επίδραση της χρήσης του χυτοσιδήρου αντανακλάται στη ραγδαία μεταμόρφωση (λ.χ., μεγάλα κτίρια, γέφυρες και σιδηροδρομικοί σταθμοί) των αστικών κέντρων μέσω των πολυάριθμων έργων της νέας τεχνολογίας που δημιουργήθηκαν στις αρχές του 19^{ου} αιώνα³. Στα επόμενα χρόνια, με αφετηρία τις ανάγκες της αεροδιαστημικής, που απαιτούσαν μικρό βάρος και αντοχή σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, άρχισε η χρήση κραμάτων αλουμινίου, μαγνησίου και τιτανίου ή κραμάτων σιδήρου και νικελίου. Η χρήση των κραμάτων αυτών επεκτάθηκε και σε άλλους τομείς όπως την ιατρική μέσω των μοσχευμάτων και τεχνητών άκρων, τη μοντέρνα αρχιτεκτονική αλλά και τη μηχανική και πετρελαιομηχανική³. Παράλληλα, ένα εντελώς διαφορετικό είδος βιομηχανικών υλικών, τα πολυμερή, έβρισκε τη θέση του στη σύγχρονη μαζική παραγωγή με αποκορύφωμα τις αρχές του 20^{ου} αιώνα και ορόσημα την ανάπτυξη των βακελίτη το 1909 και συνθετικού βουτυλικού καουτσούκ το 1922³. Τα πολυμερή που χρησιμοποιούμε σήμερα, όπως πολυπροπυλένιο (PP), πολυαιθυλένιο (PE), πολύ (βινυλο-χλωρίδιο) (PVC), πολουρεθάνη αναπτύχθηκαν μεταξύ 1940-1960. Η ανάγκη για βελτιστοποίηση των πολυμερών σε θέματα αντοχής και ευκαμψίας οδήγησε στην ανάπτυξη *σύνθετων υλικών* μέσω της ενίσχυσής τους με κεραμικά, γυαλί ή και ίνες³.

Τα σύνθετα υλικά, ως προηγμένες δομές κατά τα μέσα του 20^{ου} αιώνα, ενσωματώνουν πια βαθιά επιστημονική γνώση και ειδική τεχνογνωσία. Η βιομηχανία των υλικών περνά σε μία νέα εποχή όπου υπάρχει η δυνατότητα να κατασκευαστούν στοχευμένα υλικά προηγμένων ιδιοτήτων για μια πληθώρα εφαρμογών που αντανακλούν στις όλο και αυξανόμενες ανάγκες των σύγχρονων κοινωνιών. Ενέργεια, διατροφή, ιατρική, προϊόντα καθημερινής χρήσης, ένδυση, μεταφορές, τεχνολογία δίνουν ώθηση στην ανάπτυξη όλο και πιο εξελιγμένων μορφών ύλης. Πέρα από την άνθηση των αστικών κέντρων, με τη χρήση του ενισχυμένου με χάλυβα σκυροδέματος σε δομικά έργα, η τεχνολογία των σύνθετων υλικών εφαρμόστηκε κατά κόρον στην ιατρική αλλά και την ενέργεια.

Τα σύνθετα υλικά, επομένως, αποτελούν ένα πολύ σημαντικό κεφάλαιο ενσωμάτωσης της ειδικής επιστημονικής γνώσης στο πεδίο των υλικών διευκολύνοντας έτσι την μετάβαση σε μια εποχή

όπου η Επιστήμη των Υλικών αποκτά μια δική της ανεξάρτητη υπόσταση ως πεδίο επιστημονικής έρευνας. Η συσσωρευμένη γνώση και επιστημονική εξέλιξη του 20^{ου} αιώνα έφεραν ακόμη στην επιφάνεια μία από τις μεγαλύτερες ανακαλύψεις στον τομέα των υλικών: τα υλικά με βάση το πυρίτιο (Si) (βλ. 1.4.1.). Η ανακάλυψη αυτή, συνέπεσε χρονικά με ένα ακόμη ορόσημο στην ιστορία της Επιστήμης, την ανάπτυξη της Νανοτεχνολογίας.

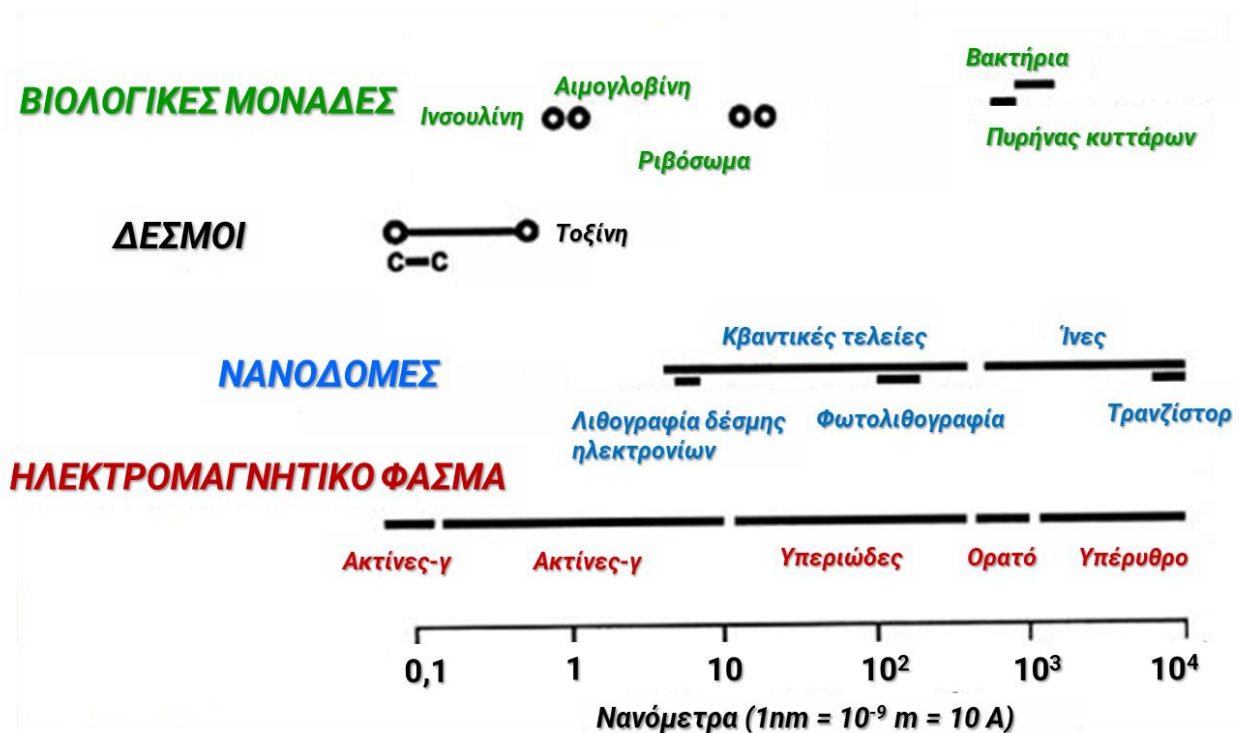
1.1.2. Νανοτεχνολογία

Με τον όρο «νανοϋλικό» περιγράφεται μια δομή με μια τουλάχιστον διάσταση μικρότερη των 100 nm. Τον Ιούνιο του 2022 η Ευρωπαϊκή Επιτροπή στο πλαίσιο του EU Green Deal ανανέωσε τον ορισμό του «νανοϋλικού» το οποίο περιγράφεται πλέον ως «φυσικό, παρεπόμενο ή κατασκευασμένο υλικό που αποτελείται από στερεά σωματίδια, τα οποία είναι αυτούσια είτε παρόντα ως συστατικά συσσωματωμάτων ή συστάδων σωματιδίων όπου το 50% ή περισσότερα από αυτά τα σωματίδια στην αριθμητική κατανομή μεγέθους πληροί τουλάχιστον μία από τις ακόλουθες προϋποθέσεις:

- i. Μία ή περισσότερες εξωτερικές διαστάσεις του σωματιδίου είναι στην περιοχή μεγεθών από 1 nm έως 100 nm.
- ii. Το σωματίδιο έχει ένα επίμηκες σχήμα, όπως ράβδο, ίνα ή σωλήνα, όπου δύο εξωτερικές διαστάσεις είναι μικρότερες από 1 nm και η άλλη διάσταση είναι μεγαλύτερη από 100 nm.
- iii. Το σωματίδιο έχει σχήμα πλάκας, όπου η μία εξωτερική διάσταση είναι μικρότερη από 1 nm και οι άλλες διαστάσεις είναι μεγαλύτερες από 100 nm.

Η αρχή έγινε το 1959 με την διάσημη ομιλία του νομπελίστα φυσικού Richard Feynman με τίτλο “*There’s plenty of Room at the Bottom: An Invitation to Enter a New Field of Physics*”⁴ η οποία άνοιξε το δρόμο για την μελέτη σε μικρότερη κλίμακα και συγκεκριμένα σε ατομικό επίπεδο⁵ (Σχήμα 1-1). Ο Feynman εισήγαγε έναν νέο τρόπο σκέψης, που καθιστούσε δυνατό το χειρισμό της ύλης σε ατομικό επίπεδο, ως μια πιο ισχυρή μορφή συνθετικής χημείας από τις υπόλοιπες εκείνης της εποχής.

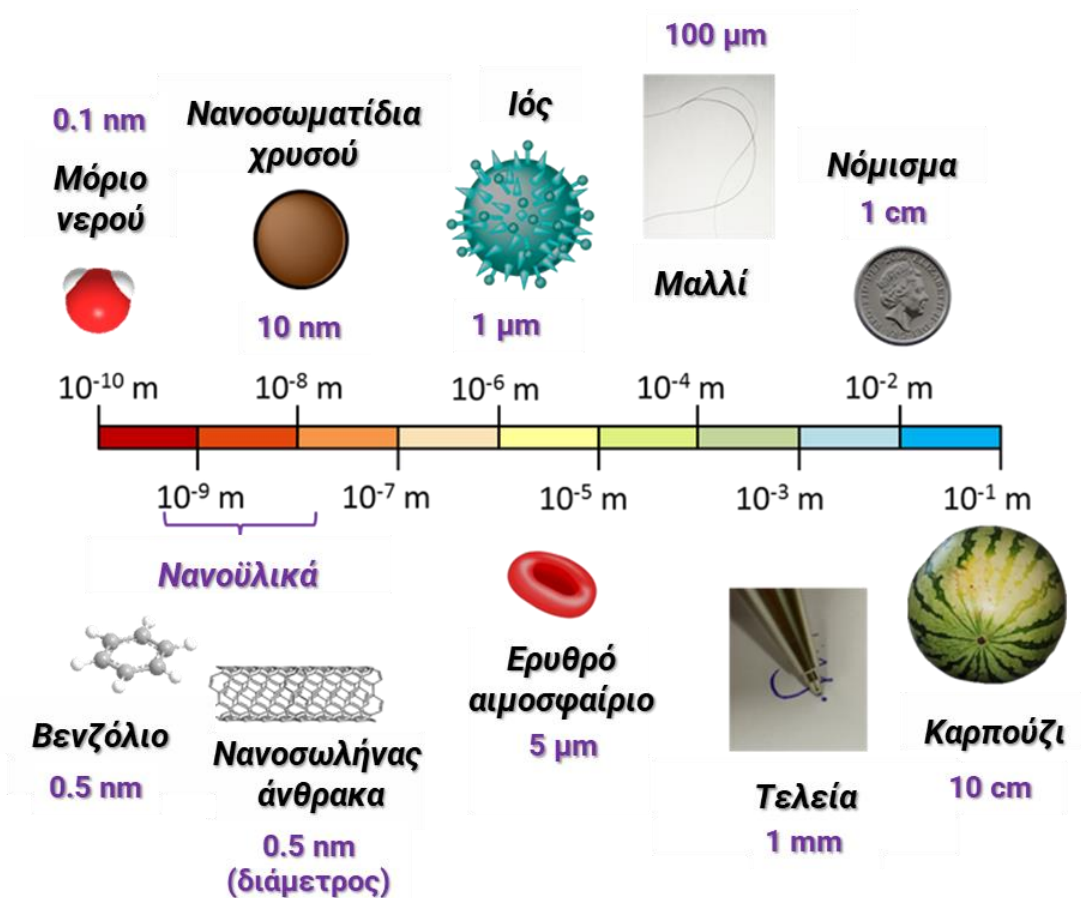
Η προσέγγιση «από κάτω προς τα πάνω» (*bottom-up*) αναφέρεται στο χειρισμό της ύλης από τον «πυθμένα» της, δηλαδή χρησιμοποιώντας το άτομο ως δομική μονάδα: δημιουργία νανο-δομών άτομο προς άτομο ή μόριο προς μόριο μέσω φυσικών και χημικών μεθόδων με ελεγχόμενο χειρισμό αυτοσυναρμολόγησης ατόμων και μορίων. Παρουσίασε τις προηγμένες δυνατότητες αυτής της νέας επιστημονικής προσέγγισης μέσα από τα διάσημα παραδείγματα που ήθελαν ολόκληρη την εγκυκλοπαίδεια *Britannica* να καταγραφεί στην κεφαλή μιας καρφίτσας για να διαβαστεί μέσω ενός μικροσκοπίου που βλέπει μεμονωμένα άτομα⁴. Ακόμη, σε μια εποχή όπου ένας ηλεκτρονικός υπολογιστής είχε τις διαστάσεις ενός ολόκληρου δωματίου, παρουσίασε την προοπτική της δημιουργίας ενός μικροσκοπικού *computer* ή χειρουργικών ρομπότ⁴.



ΣΧΗΜΑ 1-1 Σύγκριση μεγέθους βιολογικών μονάδων (όπως ινσουλίνη, αιμογλοβίνη, βακτήρια κτλ.), μηκών δεσμών, νανοδομών (π.χ. κβαντικές τελείες) και ηλεκτρομαγνητικού φάσματος.

Επίσημα, ο όρος «Νανοτεχνολογία» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Norio Taniguchi το 1974⁵. Το πεδίο της Νανοτεχνολογίας, ξεκίνησε δειλά-δειλά να αναπτύσσεται μετά την ομιλία του Feynman μέχρι που εκτοξεύτηκε τις τελευταίες δεκαετίες μετά την ανάπτυξη των ηλεκτρονικών μικροσκοπίων τα οποία έκαναν δυνατή την απεικόνιση των νανοσωματιδίων. Η σύγχρονη Νανοτεχνολογία εδραιώθηκε μετά και την ανακάλυψη της δυνατότητας του άνθρακα να

σχηματίζει ισχυρότερες δομές (Πίνακας 1, Σχήμα 1-2) όπως τα σφαιρικά μόρια C₆₀, νανοσωλήνες C και το γραφένιο.



ΣΧΗΜΑ 1-2 Σύγκριση του μεγέθους κοινών αντικειμένων, βιομορίων και νανοϋλικών. Ως Νανοτεχνολογία ορίζεται η επιστήμη, η μηχανική και η τεχνολογία που βρίσκει εφαρμογή στην νανοκλίμακα, δηλαδή στην κλίμακα διαστάσεων από 1 έως 100nm. *Εικόνες τροποποιημένη από το διαδίκτυο και *Nanomaterials* 2022, 12, 177.

Οι ιδιότητες των υλικών στην νανοκλίμακα, αλλάζουν ριζικά σε σχέση με αντίστοιχες δομές μεγαλύτερου μεγέθους και στις περισσότερες περιπτώσεις ενισχύονται χαρακτηριστικά⁵. Εκμεταλλευόμενοι τις βελτιστοποιημένες αυτές ιδιότητές τους, μπορούμε να κατασκευάσουμε υλικά με αυξημένη αντοχή, μικρότερο βάρος, ή με πολύ καλύτερη απόδοση. Σήμερα, χρησιμοποιούμε όλοι μας την Νανοτεχνολογία πολύ περισσότερο από όσο νομίζουμε. Μας διευκολύνει ακόμη και στην ψηφιακή ανάγνωση αυτού του κειμένου από τον υπολογιστή μας, καθώς τα περισσότερα ηλεκτρονικά που κατασκευάζονται αποτελούνται από προηγμένα νανοϋλικά.

Σημαντική είναι η συμβολή της και στην Ιατρική, καθώς συναντάται σε φάρμακα και καινοτόμες μεθόδους διάγνωσης. Ακόμη, νανοϋλικά περιέχονται στα περισσότερα προϊόντα καθημερινής χρήσης όπως ρούχα ή φαρμακευτικά και καλλυντικά προϊόντα. Βρίσκουν εφαρμογή σε όλους τους βασικούς τομείς όπως υγεία, διατροφή, ενέργεια, ηλεκτρονική, κίνηση και στέγαση ως συστατικά βιομηχανικών προϊόντων και καταναλωτικών αγαθών. Συναντώνται σε φάρμακα, προϊόντα καθημερινής χρήσης, μπαταρίες, συσκευασίες, έξυπνα τηλέφωνα, δομικά υλικά, προϊόντα καθαρισμού, καλλυντικά, πρόσθετα τροφίμων και πολλά ακόμη. Ένας από τους σημαντικότερους κλάδους εφαρμογής των νανοϋλικών είναι το περιβάλλον, με εφαρμογές όπως οικολογικές κυψελίδες καυσίμου αυτοκινήτων, αφαίρεση ρύπων από το νερό και την ατμόσφαιρα ή χρήση σε Ανανεώσιμες Πηγές Ενέργειας όπως τα φωτοβολταϊκά κελιά. Ακόμη, εκτενής είναι η χρήση της στην κατάλυση, μια βιομηχανικά αναγκαία χημική διεργασία, που αποτελεί βασική αρχή της Πράσινης Χημείας.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 Σημαντικοί σταθμοί στην ιστορία της Νανοτεχνολογίας. * Πρώιμη εποχή

1 ^a	Χρήση νανοϋλικών σε χρωματισμούς γυαλιού από Ρωμαίους (π.χ. Κύπελλο του Λυκούργου που περιέχει Ag/Au)	4 ^{ος} αιώνας μ.Χ.
2 [*]	Χρωματισμοί γυαλιού (π.χ. παράθυρα μεσαιωνικών εκκλησιών)	5 ^{ος} – 15 ^{ος} αιώνας μ.Χ.
3 [*]	Ιταλική αναγεννησιακή κεραμική τέχνη	16 ^{ος} αιώνας μ.Χ.
4 [*]	Δαμασκός (χρήση νανοσωλήνων C, νανοσυρμάτων τσιμεντίτη στην κατασκευή σπαθιών)	13 ^{ος} – 18 ^{ος} αιώνας μ.Χ.
5	Ανάπτυξη κολλοειδούς χρυσού “Ruby” από τον Faraday	1857
6	Ο Röntgen ανακαλύπτει τις ακτίνες X (ακολουθεί η χρήση σε χαρακτηρισμό υλικών, XRD analysis)	1895
7	Ανάπτυξη φασματοσκοπίας Raman	1928
8	Ανάπτυξη Field-emission microscopy (FEM) (Siemens)	1936
9	Ανάπτυξη ανάλυσης SEM	1937
10	Ανάπτυξη ανάλυσης TEM	1938
11	Ιστορική διάλεξη Feynman “ <i>There’s plenty of Room at the Bottom: An Invitation to Enter a New Field of Physics</i> ”	1959
12	Ανάπτυξη XPS	1969
13	Ο Norio Taniguchi εισάγει τον όρο «Νανοτεχνολογία»	1974

14	Ανάπτυξη μικροσκοπίου σάρωσης σήραγγας (Scanning Tunneling Microscope, STM) ⁶	1981
15	Η IBM αναπτύσσει την μικροσκοπία ατομικής δύναμης (Atomic Force Microscopy, AFM) ⁷	1985
16	Ανάπτυξη φουλερενίων (C ₆₀ , C ₇₀)	1985
17	Η IBM κατασκευάζει το λόγκο της με STM	1989
18	Ανάπτυξη νανοσωλήνων άνθρακα (C-nanotube)	1991
19	Ανάπτυξη καταλυτικών υλικών MCM-41, MCM-48 από την Mobil Oil	1992
20	Ανάπτυξη μεθοδολογίας για τη σύνθεση κβαντικών κουκκίδων (quantum dots) από τον Mounji Bawendi στο MIT (Νόμπελ Χημείας 2023)	1993
21	Ανάπτυξη Carbon dots / γραφενίου	2004

1.1.3. Κατηγορίες Νανοϋλικών

Η Νανοεπιστήμη έφερε μια μικρή επανάσταση στον τρόπο που αντιλαμβανόμαστε την ύλη. Άνοιξε ορίζοντες που δεν είχαμε προηγουμένως φανταστεί. Υλικά που μέχρι πρότινος χρησιμοποιούσε ο άνθρωπος στην *μακροσκοπική* (“*bulk*”) μορφή τους, απέκτησαν μια διαφορετική, πιο προηγμένη πτυχή στο νανο-μέγεθός τους καθώς αυτό έγινε συγκρίσιμο με τις κβαντομηχανικές κυματοσυναρτήσεις των ηλεκτρονίων που το απαρτίζουν. Στη νανο-μορφή τους μπορούν να υπάρξουν υλικά πολλών ειδών, όπως μέταλλα, οξειδία μετάλλων, ημιαγωγοί κ. ά. Για ερευνητικούς κυρίως λόγους, τα νανοϋλικά έχουν χωριστεί σε ειδικές κατηγορίες με βάση συγκεκριμένα χαρακτηριστικά τους.

(i) Κατηγοριοποίηση ως προς την πηγή προέλευσής τους

Όσον αφορά τον τρόπο δημιουργίας τους, οι νανο-δομές μπορούν να διακριθούν σε *φυσικές* (natural), *ανθρωπογενείς* (anthropogenic) και *συνθετικές* (man-made, artificial)⁸. Στην κατηγορία των *φυσικών* περιλαμβάνονται τα πρώτα νανοϋλικά με τα οποία ήρθε σε επαφή ο άνθρωπος και το φυσικό περιβάλλον. Παράγονται μέσω φυσικών διεργασιών όπως (βιο)χημική διάβρωση ορυκτών, φωτοχημικές αντιδράσεις, αντιδράσεις οξειδοαναγωγής και καταβύθισης, ατμοσφαιρικές διεργασίες, (βιο)ορυκτοποίηση, ηφαιστειακή δραστηριότητα, πυρκαγιές, κ.ά.⁹, έχοντας ως αποκλειστική πηγή προέλευσής τους τη φύση χωρίς να υπάρχει ανθρώπινη παρέμβαση στη δημιουργία τους (βλ. **Σχήμα**

1-3). Στα φυσικά¹⁰ νανοϋλικά ανήκουν μεταξύ άλλων ανόργανες δομές όπως μέταλλα (Au, Ag, Pt), αμέταλλα (C, S), οξειδία μετάλλων (Fe_3O_4 , MnO_2 , Al_2O_3 , SiO_2 , SiO_4^{4-}), άλατα (CaCO_3 , CaSO_4)¹¹, οργανικά βιο-κολλοειδή¹² αλλά και ορισμένοι μικροοργανισμοί με τουλάχιστον μια διάσταση μικρότερη των 100 nm (π.χ. ιοί με μέγεθος 40-400 nm ή βακτήρια 30 nm-700 μm)¹³.



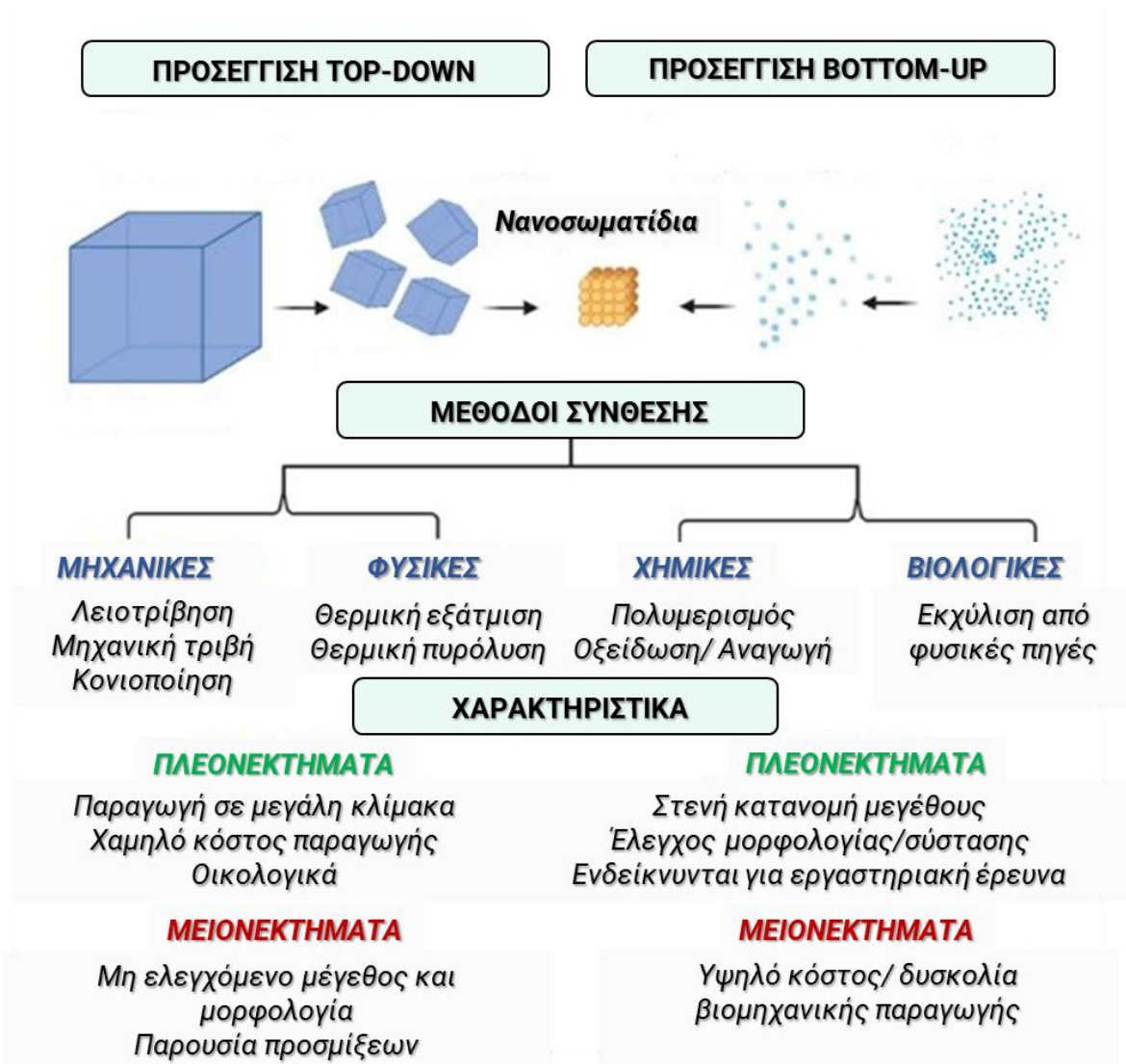
ΣΧΗΜΑ 1-3 Κατηγορίες φυσικών και τεχνητών νανοϋλικών που υπάρχουν στο περιβάλλον.

Μια κατηγορία νανοϋλικών που ήρθε ως αποτέλεσμα της ανθρώπινης δραστηριότητας, είναι τα *ανθρωπογενή* νανοϋλικά με χαρακτηριστικά παραδείγματα να αποτελούν τα απόβλητα βιομηχανικής παραγωγής, οι εκπομπές ρύπων λόγω χρήσης μεταφορικών μέσων, η χρήση ορυκτών καυσίμων ή παρα(προϊόντα) μηχανών εσωτερικής καύσης. Αν και μη-φυσικά, διαχωρίζονται από τα συνθετικά νανοϋλικά καθώς η επίπτωση της (ακούσιας ή από πρόθεση) διοχέτευσή τους στα οικοσυστήματα απειλεί την ισορροπία τους και την ανθρώπινη υγεία και αποτελεί σημαντικό πεδίο έρευνας⁹.

Τα *τεχνητά* νανοϋλικά παράγονται βιομηχανικά για πληθώρα εφαρμογών σε τόνους ετησίως¹⁴. Με σκοπό την εξασφάλιση των βέλτιστων φυσικοχημικών ιδιοτήτων που θα εξυπηρετούν την επιθυμητή δράση τους, επιλέγεται η κατάλληλη μεθοδολογία σύνθεσης. Αυτές περιλαμβάνουν, τόσο προσεγγίσεις «από πάνω προς τα κάτω» (top-bottom)¹⁵, δηλαδή διάσπαση στερεών υλικών σε

μικρότερα τμήματα έως τη νανοκλίμακα όσο και «από κάτω προς τα πάνω» (bottom-up), δηλαδή χειρισμό μεμονωμένων ατόμων ή μορίων για την ανάπτυξη νανοσωματιδίων (βλ. **Σχήμα 1-4**).

Αξίζει να σημειωθεί, τέλος, πως η επιστημονική γνώση για την ανάπτυξη εφαρμογών σε τόσο μικρή κλίμακα, ήρθε ως φυσική εξέλιξη¹⁶⁻¹⁸. Η έμπνευση για την ανάπτυξη συνθετικών νανοϋλικών δεν θα μπορούσε παρά να προέρχεται από την ίδια τη φύση. Εφαρμογές όπως χρώματα επικάλυψης, για παράδειγμα, είναι εμπνευσμένες από το φαινόμενο του λωτού που απομακρύνει το νερό από την επιφάνειά του συμπαρασύροντας τις ακαθαρσίες.



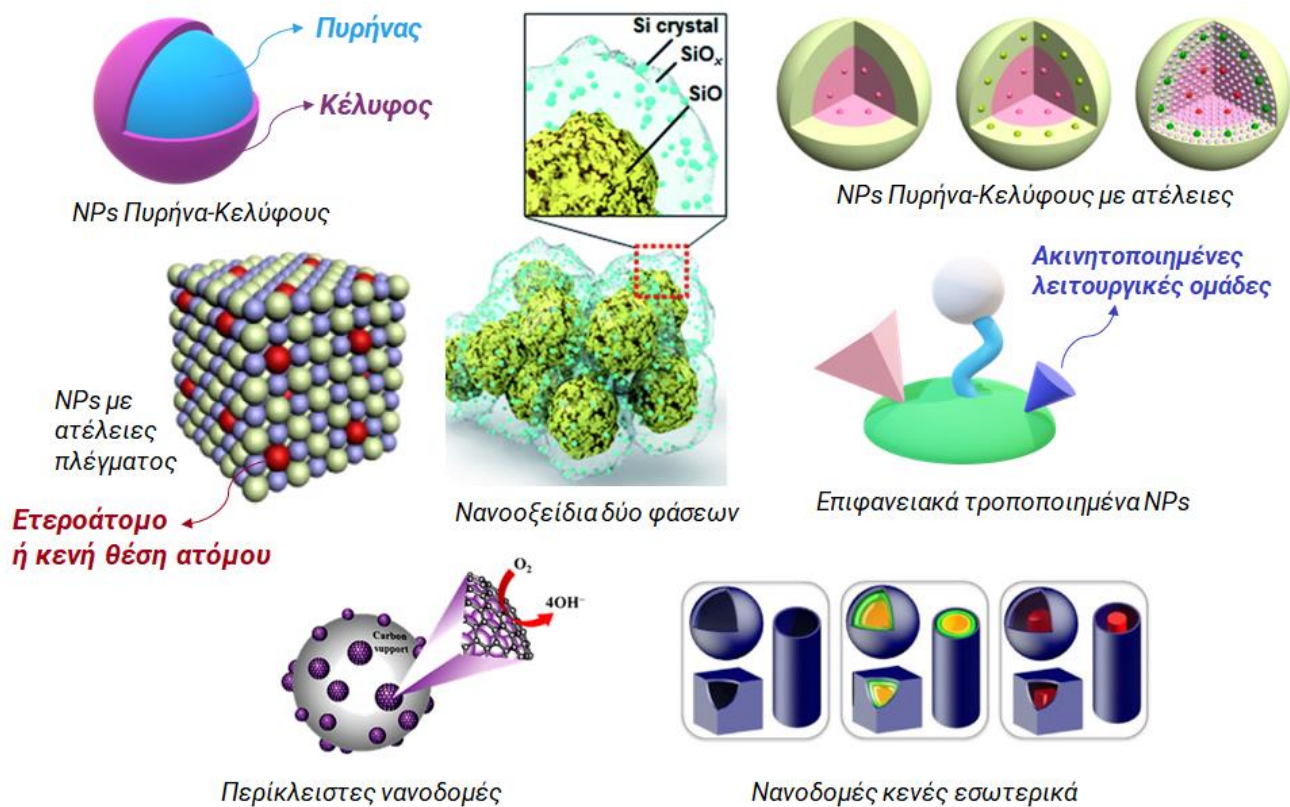
ΣΧΗΜΑ 1-4 Σχηματική απεικόνιση των διαφορετικών τεχνικών σύνθεσης νανοϋλικών καθώς και πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα αυτών. Η συνθετική προσέγγιση «από πάνω προς τα κάτω» (top-bottom) περιλαμβάνει τη διάσπαση στερεών υλικών σε μικρότερα τμήματα έως τη νανοκλίμακα. Αντίστοιχα, η ανάπτυξη νανο-δομών «από κάτω προς τα πάνω» (bottom-up), εμπλέκει το χειρισμό μεμονωμένων ατόμων ή μορίων για την ανάπτυξη νανοσωματιδίων. *Σχήμα τροποποιημένο από *Nanomaterials* 2022, 12, 177.

Αντίστοιχα, αντιοξειδωτικά συστήματα που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία αντλούν έμπνευση ή συχνά μιμούνται απευθείας βιολογικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς. Ακόμη, η τεχνολογία των ΑΠΕ στηρίζεται σε μεγάλο βαθμό σε συστήματα παραγωγής ενέργειας που έχει δημιουργήσει η φύση, με χαρακτηριστικό παράδειγμα τα φωτοβολταϊκά κελιά.

(ii) Κατηγοριοποίηση ως προς τη σύστασή τους

Μια δεύτερη πολύ χρήσιμη κατάταξη των νανο-δομών, είναι αυτή τη φορά ως προς την χημική τους σύσταση (βλ. **Σχήμα 1-5**). Πιο λεπτομερώς, τα νανοϋλικά μπορούν να έχουν μια αποκλειστικά ανόργανη (π.χ. μέταλλα ή οξείδια μετάλλων) ή οργανική σύσταση. Μπορούν επιπλέον να είναι κεραμικά, πολυμερή, ή βιολογικά. Ωστόσο, πέρα από τις καθαρές μορφές νανοϋλικών, υπάρχουν και σύνθετα υλικά που αποτελούνται από συνδυασμούς των παραπάνω χημικών συστάσεων. Υπό αυτό το πρίσμα, τα νανοϋλικά μπορούν να διαχωριστούν επιπλέον σε *υβριδικές* (hybrid) και *μη υβριδικές* (pure) δομές. Χαρακτηριστικά παραδείγματα υβριδικών δομών αποτελούν:

- i. τα νανοσωματίδια *πυρήνα-κελύφους* (core-shell),
- ii. τα *ανόργανα-οργανικά* νανοϋλικά,
- iii. τα νανοϋλικά που περιέχουν περισσότερες από μία φάσεις (π.χ. διαφασικά οξείδια)^{19,20},
- iv. οι σύνθετες δομές που περιέχουν ετεροάτομα (doped)²¹ ή κενές θέσεις ατόμων (π.χ. κενές θέσεις οξυγόνου oxygen vacancies, V_{os}),
- v. νανοσωματίδια η επιφάνεια των οποίων έχει τροποποιηθεί χημικά ή έχει γίνει *ακινητοποίηση* κάποιου μορίου πάνω της (grafting),
- vi. «Κενές» στο εσωτερικό τους (hollow) νανοδομές²²,
- vii. Περίκλειστες (encapsulated) νανοδομές²³.



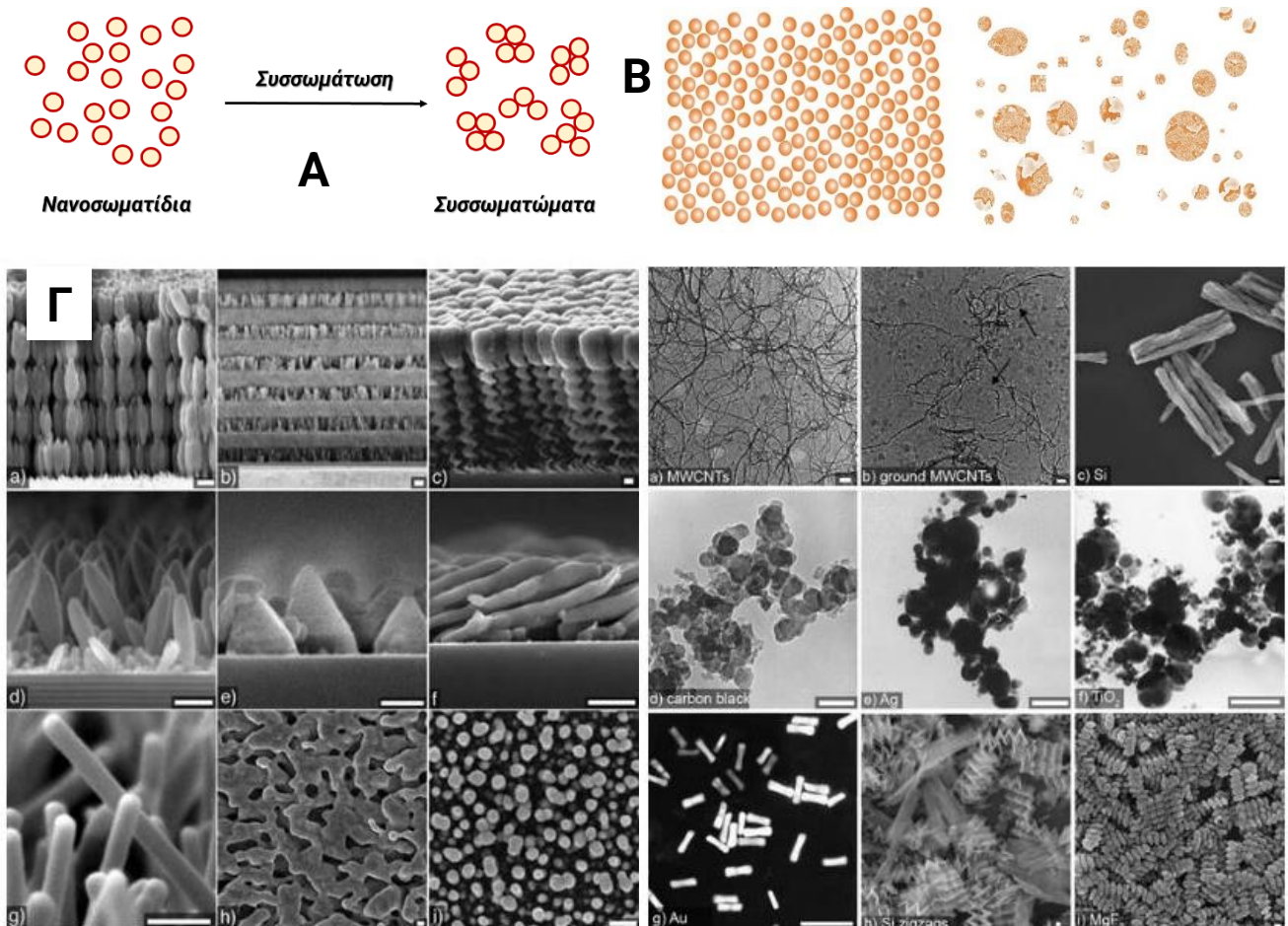
ΣΧΗΜΑ 1-5 Κατάταξη νανοδομών ως προς τη χημική τους σύσταση. Απεικονίζονται νανοδομές πυρήνα-κελύφους, πολλαπλών φάσεων, περικλειστες ή κενές εσωτερικά, χημικά τροποποιημένες στην επιφάνειά τους, ή ακόμη δομές με ατέλειες.

(iii) Κατηγοριοποίηση ως προς τη μορφολογία τους

Ένας πολύ βασικός διαχωρισμός των νανο-δομών είναι ακόμη η διάσταση, η μορφολογία και η διαμόρφωση που καταλαμβάνουν στο χώρο. Οι υπάρχουσες μέθοδοι σύνθεσης επιτρέπουν την παραγωγή νανοσωματιδίων με ποικιλία σχημάτων (σφαίρες, ράβδοι, σωλήνες, βελόνες, κύβοι, οκτάεδρα κ.λπ.) και μεγεθών (βλ. **Σχήμα 1-6**). Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 1-6 τα νανοϋλικά μπορούν να έχουν από μηδενική (π.χ. φουλερένια) έως τρισδιάστατη δομή (π.χ. νανοκρυσταλλικά υλικά).

Σε ένα μέσο διασποράς, τα νανοϋλικά μπορούν να υπάρξουν ως κολλοειδή συστήματα. Από τη σύνθεσή τους, είναι σύνηθες για τις στερεές νανο-δομές να διαμορφώνονται ως *συσσωματώματα* (aggregates) τα οποία συγκρατούνται μεταξύ τους με ασθενείς αλληλεπιδράσεις, σχηματίζοντας *συστάδες* (agglomerates) που εκτείνονται στο χώρο (βλ. Σχήμα 1-6). Σπανιότερα υπάρχουν και ως μεμονωμένα σωματίδια. Τα νανοσωματίδια μπορούν να υπάρξουν ως ομοιογενώς διεσπαρμένα

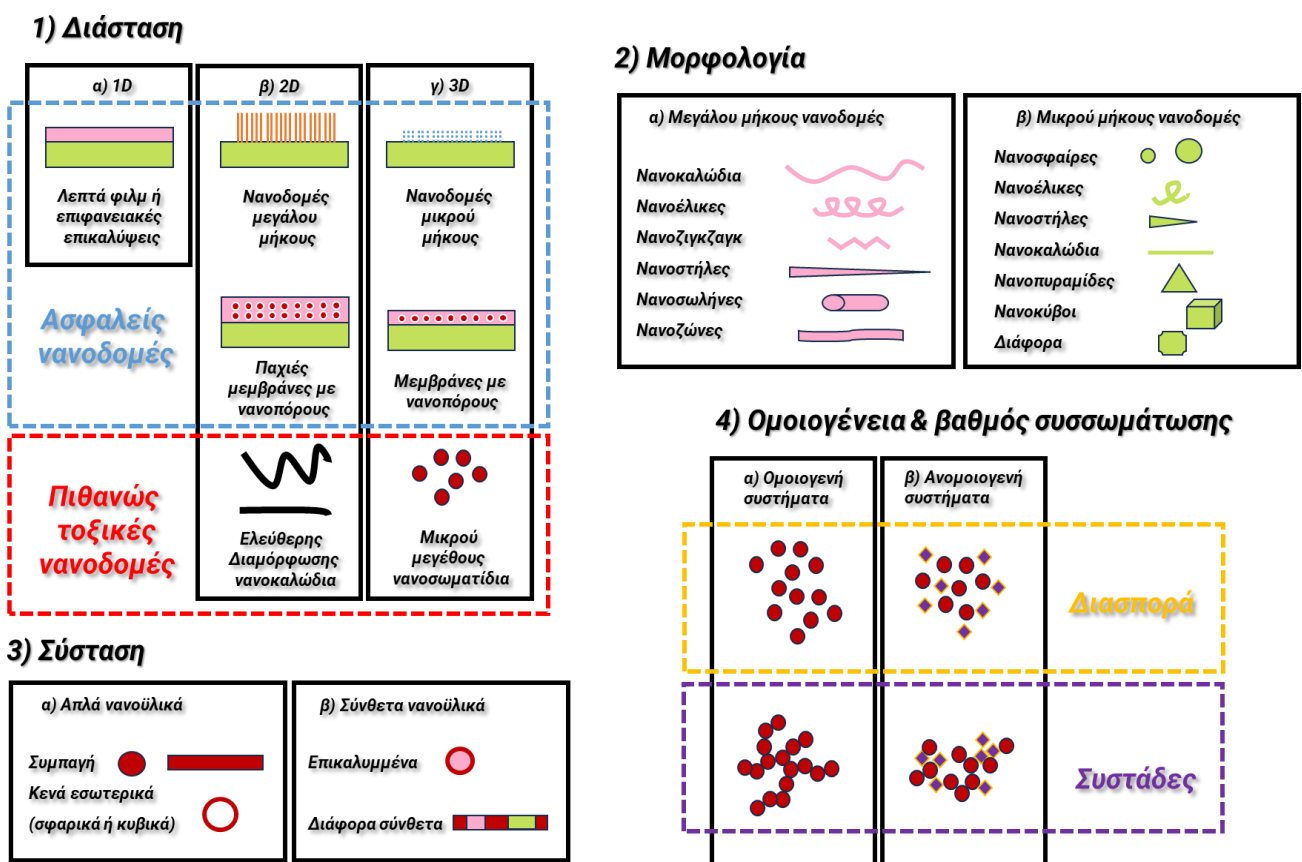
(mono-dispersed), δηλ. ως μονάδες ίδιου μεγέθους ή ως ετερογενώς διεσπαρμένα συστήματα (poly-dispersed)²⁴.



ΣΧΗΜΑ 1-6 (Α) Σε ένα μέσο διασποράς, τα νανοϊλικά μπορούν να υπάρξουν ως κολλοειδή συστήματα. Από τη σύνθεσή τους, είναι σύνηθες για τις στερεές νανο-δομές να διαμορφώνονται ως συσσωματώματα (aggregates) τα οποία συγκρατούνται μεταξύ τους με ασθενείς αλληλεπιδράσεις, σχηματίζοντας συστάδες (agglomerates) που εκτείνονται στο χώρο. **(Β)** Απεικόνιση (ανάλυση 100 nm) διαφορετικών μορφολογικών χαρακτηριστικών των νανοδομημένων υλικών. **Αριστερά:** (α) αυλακωτό φίλτρο Si, (b) Δομή πυριτίου 12 επιπέδων, (c) MgF₂ ελικωτά φύλλα, (d) στήλες χαλκού (Cu pillars), (e) πυραμίδες Cu, (f) πλάγιες στήλες Cu, (g) νανοκαλώδια ZnO, (h) πορώδης Ag, και (i) πορώδες Si. **Δεξιά:** (a) MWCNTs, (b) λειοτριβημένα MWCNTs, (c) ράβδοι πυριτίου, (d) αιθάλη (carbon black), (e) άργυρος, (f) διοξείδιο του τιτανίου, (g) νανοράβδοι χρυσού, (h) ζιγκζακ πυριτίου, και (i) έλικες φθοριούχου μαγνησίου. **(Γ)** Τα νανωσωματίδια μπορούν να υπάρξουν ως ομοιογενώς διεσπαρμένα (mono-dispersed), δηλ. ως μονάδες ίδιου μεγέθους ή ως ετερογενώς διεσπαρμένα συστήματα (poly-dispersed). * Σχήμα τροποποιημένο από *Biointerphases* 2007 Dec;2(4):MR17-71.

(iv) Κατηγοριοποίηση ως προς τις ιδιότητές τους

Με βάση τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους που διαμορφώνονται από τη σύσταση και την μορφολογία τους, τα νανοϋλικά αποκτούν συγκεκριμένες ιδιότητες. Έχουν την ικανότητα, επομένως, να δράσουν ως μαγνητικά, ηλεκτρονικά, πλασμονικά, αγωγιμα/ημιαγωγιμα, φωτονικά, κτλ. Μπορούν ακόμη να αδρανοποιούν οξειδωτικούς παράγοντες δρώντας δηλαδή ως αντιοξειδωτικά ή να προκαλούν οξείδωση (οξειδωτικά υλικά). Μπορούν ακόμη να έχουν τοξική δράση έναντι βιολογικών συστημάτων, μια ιδιότητα που μπορεί να τα κατατάξει ως αντιμικροβιακά, αντιβακτηριδιακά, κτλ. Όλες οι παραπάνω κατηγορίες απεικονίζονται σχηματικά στο **Σχήμα 1-7**.



ΣΧΗΜΑ 1-7 Ταξινόμηση νανοδομών ως προς τις διαστάσεις τους, την μορφολογία, την σύσταση, την ομοιογένεια και τον βαθμό συσσωμάτωσης τους. *Σχήμα τροποποιημένο από *Biointerphases* 2007 Dec;2(4):MR17-71.

(ν) Κατηγοριοποίηση ως προς την εφαρμογή τους

Σε αυτές τις διαστάσεις αναδύονται ασυνήθιστα φυσικά, χημικά και βιολογικά φαινόμενα με αποτέλεσμα οι ιδιότητες των νανοϋλικών να διαφέρουν σημαντικά από τις ιδιότητες των υλικών μεγαλύτερης μάζας²⁵ καθιστώντας τα υλικά αυτά ιδανικά για την χρήση τους σε προηγμένες εφαρμογές. Με βάση τις παραπάνω ιδιότητες, τα νανοϋλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τεχνολογικά (εφαρμογή σε ηλεκτρονικούς υπολογιστές, οθόνες, έξυπνα τηλέφωνα κτλ.), ιατρικά (φάρμακα και υλικά διάγνωσης), καταλυτικά, ενεργειακά, συστατικά τροφίμων, υλικά συσκευασίας, ένδυσης, καθημερινής χρήσης (υλικά καθαριότητας, οικιακά είδη), κοσμητικά, δομικά υλικά κ.ά.

1.2. Τοξικότητα νανοϋλικών

Τα ασυνήθιστα φυσικά, χημικά και βιολογικά φαινόμενα που αναδύονται στη νανοκλίμακα δεν περιορίζονται μόνο στο να προσδίδουν στα νανοϋλικά πλεονεκτήματα²⁶. Αντίθετα, είναι πιθανό να μεγεθυνθούν εξίσου ανεπιθύμητοι μηχανισμοί, όπως η τοξική δράση έναντι βιολογικών συστημάτων^{14,27}. Το φαινόμενο *νανοτοξικότητας* σε συνδυασμό με την εκτεταμένη βιομηχανική παραγωγή και χρήση των νανοϋλικών τα τελευταία χρόνια έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη ενός εξειδικευμένου επιστημονικού κλάδου, αυτόν της *Νανοτοξικολογίας*^{27,28}.

Ένα νανοϋλικό ως τοξική ουσία προκαλεί δηλητηριώδεις επιδράσεις σε έναν οργανισμό εάν χορηγηθεί στην κατάλληλη δόση ή μέσω της κατάλληλης οδού. Η νανοτοξικότητα μελετάται εκτενώς τα τελευταία χρόνια με ιδιαίτερο προσανατολισμό:

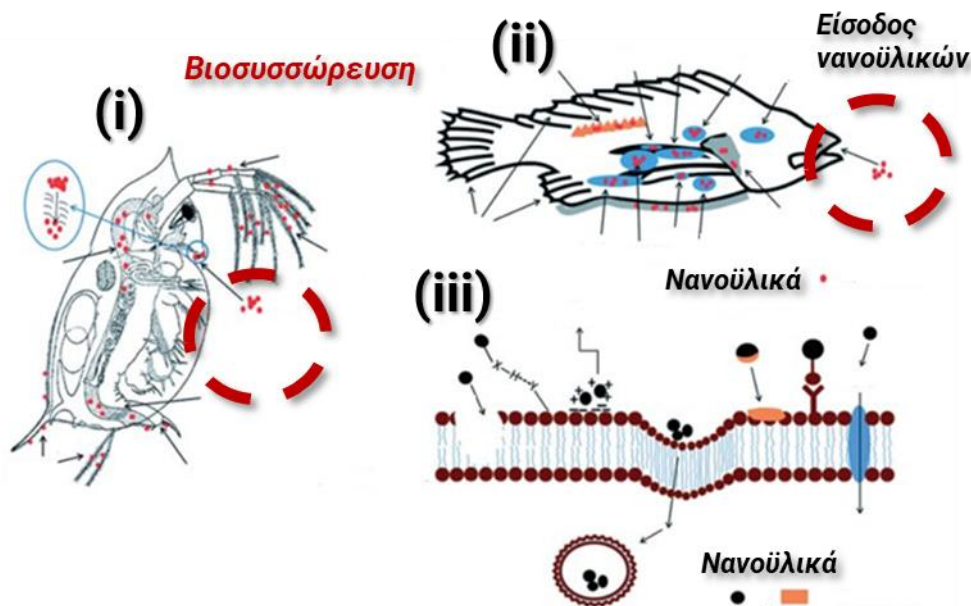
(α) σε υλικά που έρχονται σε άμεση επαφή με τον άνθρωπο, όπως νανοϋλικά προϊόντων προσωπικής φροντίδας και ιατρικών εφαρμογών (καθώς, λόγω των πλεονεκτημάτων τους τα νανοϋλικά χρησιμοποιούνται ευρέως για διάγνωση και θεραπεία), και **(β)** σε υλικά που διοχετεύονται στο περιβάλλον και θέτουν σε κίνδυνο την ισορροπία οικοσυστημάτων, τον καθαρό αέρα, το πόσιμο νερό και την υγεία των εδαφών.

Ένα νανοϋλικό μπορεί να χαρακτηριστεί ως *κυτταροτοξικό* (cytotoxic)^{29,30} όταν παρουσιάζει τοξικότητα για τα κύτταρα, η οποία αναστέλλει την ανάπτυξη ή την αναπαραγωγή τους. Ανάλογα με τον χρόνο επίδρασης η τοξικότητα μπορεί να διακριθεί σε *οξεία*, *υποξεία*, *υποχρόνια* και *χρόνια*.

Η αλληλεπίδραση νανοϋλικών πολύ μικρού μεγέθους, με ιστούς, κύτταρα και κυτταρικό μικροπεριβάλλον (βλ. **Σχήμα 1-8**), μπορεί να έχει επιβλαβείς επιπτώσεις σε βιολογικούς οργανισμούς που δεν μπορούν να προκληθούν από αντίστοιχα χημικά συστήματα μεγαλύτερου μεγέθους³¹.

Χρησιμοποιώντας βιολογικά μοντέλα και βιοδείκτες, μελέτες αποκάλυψαν τις τοξικές επιδράσεις των νανοσωματιδίων (κυρίως αργύρου, νανοσωλήνων άνθρακα και οξειδίων ψευδαργύρου, πυριτίου, και τιτανίου) που περιλαμβάνουν τον κυτταρικό θάνατο, τη βλάβη του DNA, την απόπτωση και την επαγωγή φλεγμονωδών αποκρίσεων και οξειδωτικής καταπόνησης³².

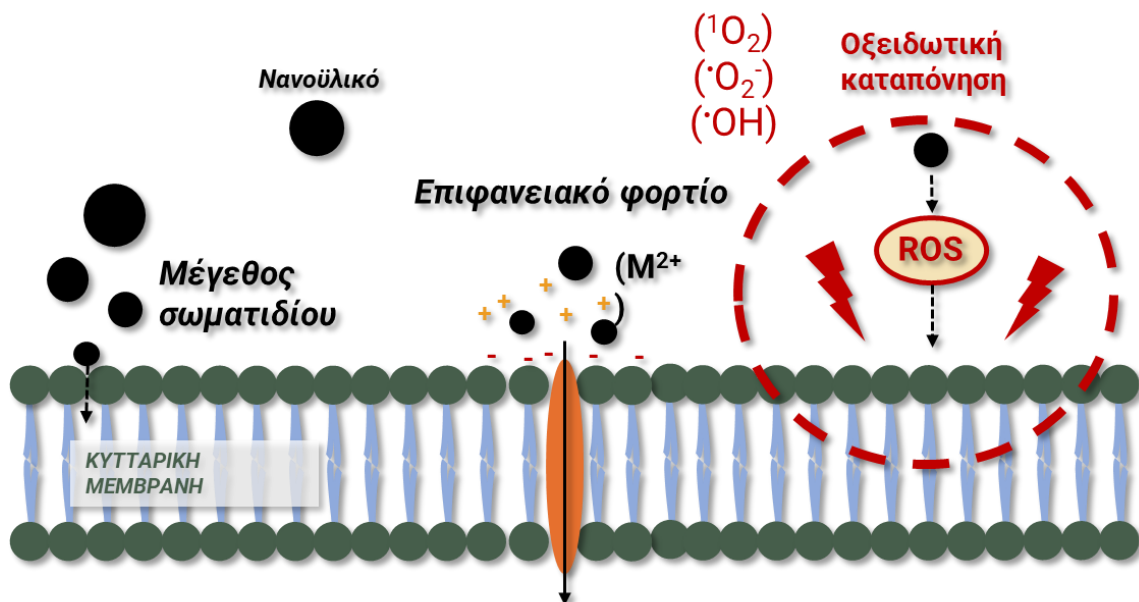
1.2.1. Νανο-βιο διεπιφάνεια και μηχανισμοί τοξικότητας



ΣΧΗΜΑ 1-8 Παραδείγματα αλληλεπίδρασης νανοϋλικών με ζωντανούς οργανισμούς στην νανο-βιο διεπιφάνεια. Η πρόσληψη νανοϋλικών από τα *darhnia* και από ψάρια και η βιοσυσσώρευση απεικονίζονται στα (i) και (ii) ενώ η αλληλεπίδραση με μια κυτταρική μεμβράνη απεικονίζεται στο (iii). Υδροφοβικότητα, ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και δεσμοί υδρογόνου εμπλέκονται συχνά στην ικανότητα πρόσληψης (συνήθως μέσω προσρόφησης) νανοϋλικών από τα βιολογικά συστήματα. *Σχήμα τροποποιημένο από *Environ. Sci.: Nano*, 2015,2, 564-582.

Σημαντική είναι η αξιολόγηση της βλαβερής δράσης και ακολούθως η βελτιστοποίηση, υλικών που προορίζονται για βιοτεχνολογικές και περιβαλλοντικές εφαρμογές αλλά και ως συστατικά τροφίμων ή καλλυντικών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα οξειδία της Δημητριάς CeO_{2-x} (nanoceria), γνωστά για την βιομιμητική-αντιοξειδωτική τους δράση³³, για την χρήση τους ως μοντέλα νανο-ενζύμων³⁴ καθώς και ως φορείς φαρμάκων (drug delivery)³⁵. Ιδιαίτερη σημασία παρουσιάζουν ακόμη τα ευρέως χρησιμοποιούμενα στην βιομηχανία οξειδία του πυριτίου (ή σίλικα SiO_2) και οξειδία του ψευδαργύρου (ZnO)³⁶.

Μετά τη διοχέτευσή τους στο περιβάλλον η αλληλεπίδραση νανο-δομών με στοιχεία που υπάρχουν σε αυτό (χημικές ουσίες, βακτήρια, βιολογικά συστατικά κλπ.) από φυσική και χημική άποψη, μπορεί να μεταβάλει δραστικά τη συμπεριφορά και τη μοίρα τους, οδηγώντας σε απρόβλεπτα αποτελέσματα¹⁴. Το στάδιο αυτό του κύκλου ζωής των νανοϋλικών, δηλαδή η αλληλεπίδραση μεταξύ επιφάνειας νανοσωματιδίων και περιβαλλοντικών υλικών (βιοτικών και αβιοτικών έχει επικρατήσει να αναφέρεται βιβλιογραφικά ως *νανο-βιο-οικο-αλληλεπιδράσεις* (nano-bio-eco-interactions)³⁷. Η διεπαφή *νανο-βιο* αναφέρεται στη φυσική διεπαφή μεταξύ του βιολογικού συστήματος και της νανο-επιφάνειας, λειτουργώντας ως το φράγμα μεταξύ δύο φάσεων όπου συμβαίνουν κρίσιμες αντιδράσεις³⁸. Στη μελέτη της νανοτοξικότητας από αυτή τη σκοπιά λαμβάνεται υπόψιν όχι μόνο η φυσικοχημεία του ίδιου του υλικού αλλά η δυναμική όλου του περιβάλλοντος μέσα στο οποίο βρίσκεται. Συνεπώς, η κατανόηση των συνολικών φαινομένων που λαμβάνουν χώρα σε μια *νανο-βιο* διεπιφάνεια διευκολύνει την ανάπτυξη νανοϋλικών με την ελάχιστη δυνατή τοξικότητα.



ΣΧΗΜΑ 1-9 Ένα νανοϋλικό μπορεί να διαπερνά εύκολα μια βιολογική μεμβράνη λόγω του μικρού του μεγέθους και η διέλευση να διευκολύνεται λόγω ηλεκτροστατικής έλξης. Επιπλέον, μπορεί να προκαλέσει βλάβη λόγω παραγωγής ROS εσωτερικά και εξωτερικά της μεμβράνης.

Η διερεύνηση των παραγόντων που ευθύνονται για την εμφάνιση τοξικότητας των νανοϋλικών (βλ. **Σχήμα 1-9**) αμέσως μετά την διοχέτευσή τους στο περιβάλλον είναι πολύ σημαντική για την ελαχιστοποίηση της βλαβερής τους δράσης. Συγκεντρωτικά, μπορούμε να κατατάξουμε τους παράγοντες που καθιστούν ένα νανοϋλικό τοξικό στις παρακάτω γενικές κατηγορίες:

(i) χημική τοξικότητα (XT) λόγω διαρροής του μεταλλικού ιόντος, (ii) Τοξικότητα λόγω του μεγέθους/μορφολογίας των σωματιδίων (M), (iii) φωτοεπαγόμενη παραγωγή ελευθέρων ριζών (ΦΕΡ) π.χ. για σωματίδια ZnO και CeO₂, (iv) Τοξικότητα λόγω της (μη φωτο-επαγόμενης) παραγωγής Δραστικών Ειδών Οξυγόνου (ROS), και (v) Τοξικότητα λόγω του επιφανειακού φορτίου (ΕΦ).

Φυσικά, η τοξικότητα μπορεί να προέρχεται ταυτόχρονα από συνδυασμό των παραπάνω περιπτώσεων, καθιστώντας την ελαχιστοποίησή της με σκοπό την ασφαλή ανάπτυξη νέων νανοϋλικών μια ιδιαίτερη ερευνητική πρόκληση.

(i) Χημική τοξικότητα (XT) λόγω διαρροής μεταλλικών ιόντων.

Η διαρροή (leaching) είναι ένας πολύπλοκος συνδυασμός μηχανισμών που περιλαμβάνουν τη διάσπαση μικρών θραυσμάτων (μεμονωμένα άτομα ή ατομικές συστάδες) από την επιφάνεια ενός νανοσωματιδίου και τη μεταφορά τους στην υγρή φάση. Σε απλά μοντέλα, η διαρροή μπορεί να θεωρηθεί ταυτόσημη με την διαλυτοποίηση. Πιο ακριβείς μελέτες, ωστόσο, αποκαλύπτουν εκπληκτικά πολύπλοκους μετασχηματισμούς στη διεπαφή νανοσωματιδίων-υγρού. Η ύπαρξη φαινομένων διαρροής έχει πλέον επιβεβαιωθεί για έναν αριθμό διαφορετικών νανοϋλικών, συμπεριλαμβανομένων των νανοσωματιδίων μετάλλων, των υβριδικών οργανικών/ανόργανων νανοϋλικών και βιομοριακών νανοσυστημάτων.

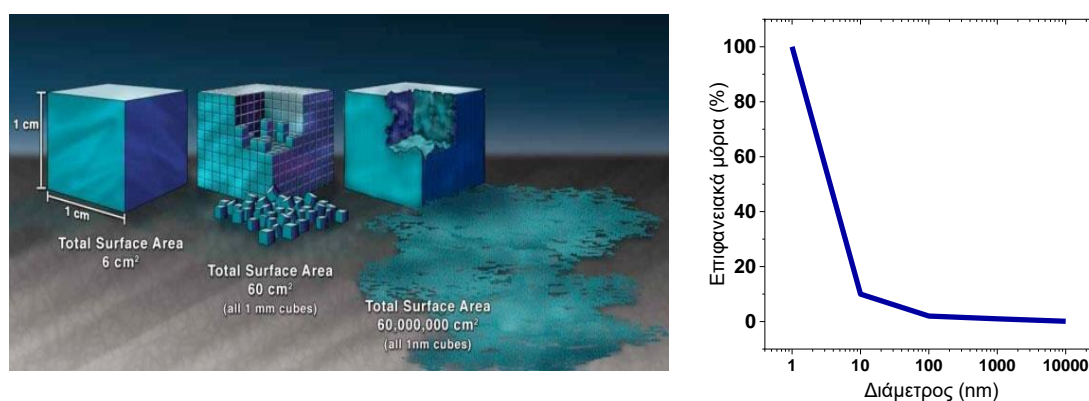
Τα αποτελέσματα που προκαλούνται από φαινόμενα διαρροής μπορούν να είναι πρωταρχικής σημασίας σε εφαρμογές όπως η νανοκατάλυση, όπου ο σχηματισμός ενεργών κέντρων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την αυτά. Η βελτίωση της απόδοσης, της σταθερότητας και της ικανότητας ανακύκλωσης των καταλυτών είναι μια σημαντική πρόκληση που απαιτεί βαθύτερη κατανόηση της μηχανιστικής εικόνας των φαινομένων διαρροής. Ταυτόχρονα, η κατάλυση αποτελεί απλώς ένα παράδειγμα της σημαντικής επίδρασης της διαρροής στην ανάπτυξη των πρακτικών εφαρμογών των νανοσωματιδίων. Σε επίπεδο τοξικότητας, ωστόσο, φαινόμενα leaching³⁹, όπως για παράδειγμα η μεταφορά ελευθέρων μεταλλικών ιόντων από την νανο-επιφάνεια σε ένα διάλυμα μπορεί να προκαλέσει σοβαρή βλάβη σε βιολογικά συστήματα¹.

Η τοξικότητα αυτού του τύπου συναντάται πολύ συχνά σε μεταλλικά νανοϋλικά, υβριδικά και μη ή νανο-οξείδια μετάλλων, που αποτελούν μια από τις μεγαλύτερες οικογένειες νανοϋλικών και βρίσκουν ευρεία χρήση στη βιομηχανία. Πιο συγκεκριμένα, η διαλυτοποίηση των ίδιων των οξειδίων (π.χ. ZnO), μπορεί να οδηγήσει στην απελευθέρωση μεταλλικών ιόντων (leaching)³⁹ απειλώντας τα υγιή κύτταρα¹.

Το μέγεθος και το σχήμα των αρχικών νανοσωματιδίων μπορεί να αλλάξει δραματικά επιδρώντας σημαντικά στη σταθερότητα και τη χημική δράση των νανοϋλικών. Η αλληλεπίδραση των νανοσωματιδίων με κύτταρα μπορεί να περιλαμβάνει συγκεκριμένους χημικούς μετασχηματισμούς που προκαλούνται από τη διαρροή συστατικών των νανοσωματιδίων με προέκταση σε μεγαλύτερα βιολογικά συστήματα όπως υδάτινα περιβάλλοντα.

(ii) Τοξικότητα λόγω μεγέθους, ειδικής επιφάνειας και μορφολογίας.

Το κύριο χαρακτηριστικό των νανοϋλικών είναι το μέγεθός¹ τους, το οποίο εμπίπτει στη μεταβατική ζώνη μεταξύ μεμονωμένων ατόμων ή μορίων και των αντίστοιχων μακροσκοπικών υλικών⁴⁰. Οι δομές στη νανοκλίμακα μπορεί να πλησιάζουν την τάξη μεγέθους όπου μπορούν να λάβουν χώρα ειδικές φυσικές ή χημικές αλληλεπιδράσεις με το περιβάλλον τους στις οποίες είναι αδύνατο να εμπλακούν οι αντίστοιχες μακροσκοπικές δομές τους⁴⁰. Αυτό συμβαίνει καθώς όσο το μέγεθος μειώνεται -αγγίζοντας τη νανοκλίμακα ένα σωματίδιο αποκτά περίπου 10000 φορές μικρότερο μέγεθος από μια τρίχα!- μεγαλώνει σημαντικά η αναλογία της επιφάνειας προς τον όγκο τους (βλ. **Σχήμα 1-10**). Όσο μικραίνει το μέγεθος ενός σωματιδίου, ιδιαίτερα σε μεγέθη μικρότερα των 100 nm ο αριθμός των επιφανειακών (εκτεθειμένων) λειτουργικών μορίων αυξάνεται. Για παράδειγμα, όπως περιγράφεται και στο διάγραμμα στο Σχήμα 1-10, σε ένα νανοσωματίδιο μεγέθους 30 nm περίπου το 10% των συνολικών λειτουργικών μορίων του βρίσκεται στην επιφάνειά του ενώ σε σωματίδια μεγέθους 10 nm ή 3 nm οι επιφάνειά τους θα περιέχει το 20 % και αντίστοιχα 50 % των



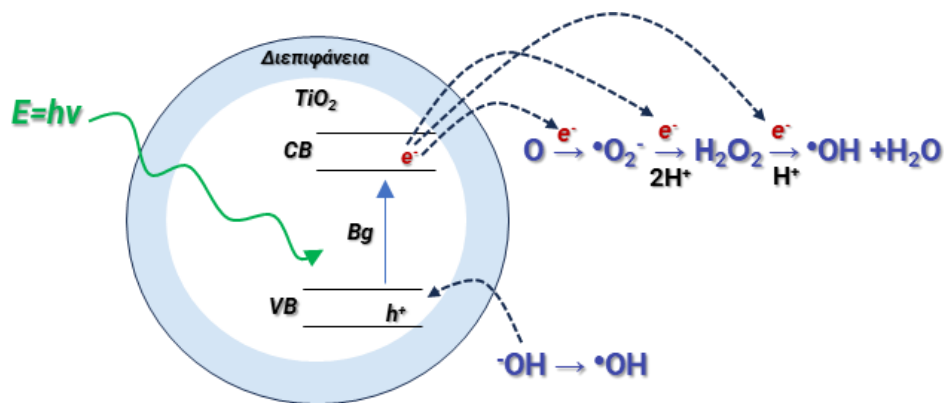
ΣΧΗΜΑ 1-10 (Αριστερά) Όσο το μέγεθος των σωματιδίων μειώνεται μεγαλώνει σημαντικά η αναλογία της επιφάνειας προς τον όγκο τους. **(Δεξιά)** Όσο μικραίνει το μέγεθος ενός σωματιδίου, ιδιαίτερα σε μεγέθη μικρότερα των 100 nm ο αριθμός των επιφανειακών (εκτεθειμένων) λειτουργικών μορίων αυξάνεται. *Σχήματα τροποποιημένα από US NNI και RSC Advances, 2013, 3,18202.

συνολικών λειτουργικών μορίων τους. Στην πλούσια αυτή επιφάνεια, τα νανοϋλικά οφείλουν τις προηγμένες και σημαντικά ενισχυμένες ιδιότητές τους⁴¹.

Όπως είναι απόλυτα λογικό, πέρα από εξαιρετικά υψηλή αγωγιμότητα, δραστικότητα, ή μοναδικές οπτικές ιδιότητες και πολλά ακόμη πλεονεκτήματά τους, η μείωση του μεγέθους ενισχύει και ιδιότητες πιθανά αρνητικές.

(iii) Τοξικότητα λόγω φωτοεπαγόμενης παραγωγής ελευθέρων ριζών (ΦΕΡ).

Η παραγωγή φωτοεπαγόμενων ελευθέρων ριζών (ΦΕΡ)⁴² (βλ. Σχήμα 1-11), όπως συμβαίνει στην περίπτωση των υλικών CeO_2 , ZnO ⁴³, και TiO_2 ⁴⁴ αποτελεί έναν από τους κυριότερους παράγοντες τοξικότητας. Οι οξειδωτικοί παράγοντες που προκαλούν φαινόμενα οξειδωτικής καταπόνησης (oxidative stress) -είτε προέρχονται από φωτοδιέγερση είτε χημικά (βλ. iv) - μελετώνται λεπτομερώς στο κεφάλαιο 1.2.2.



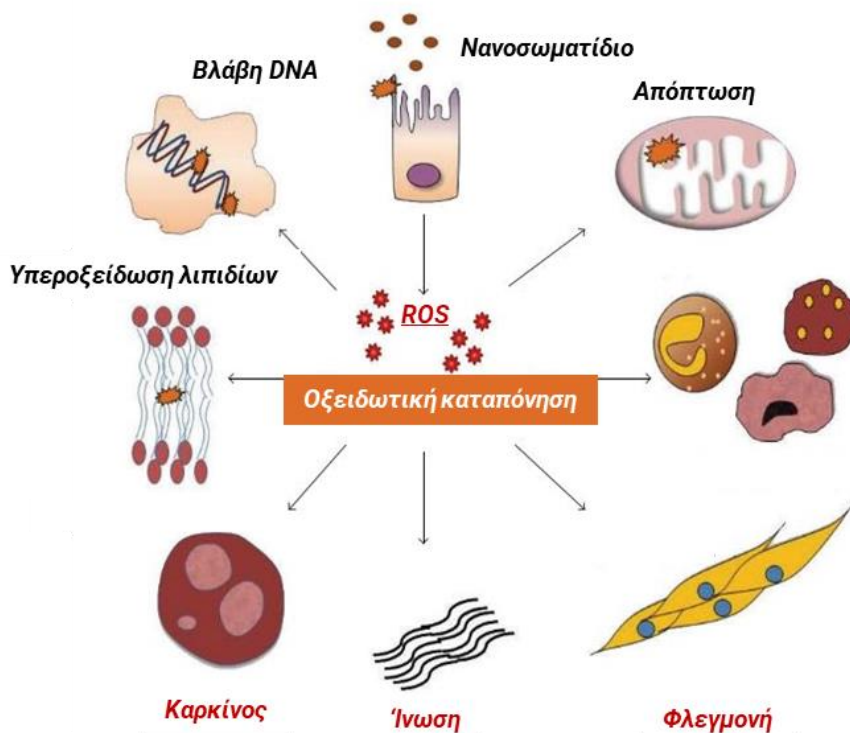
ΣΧΗΜΑ 1-11 Παραγωγή φωτοεπαγόμενων ελευθέρων ριζών σε ημιαγώγιμο νανο-οξείδιο TiO_2 .

(iv) Τοξικότητα λόγω της (μη φωτο-επαγόμενης) παραγωγής Δραστικών Ειδών Οξυγόνου (ROS)

Το κύριο χαρακτηριστικό των νανοϋλικών είναι το μέγεθός τους, το οποίο εμπίπτει στη μεταβατική ζώνη μεταξύ μεμονωμένων ατόμων ή μορίων και των αντίστοιχων μακροσκοπικών υλικών⁴⁰. Η παρουσία μιας δομής αυτού του μεγέθους είναι πιθανόν να εκκινήσει την παραγωγή οξειδωτικών παραγόντων (όπως ROS, RNS ή ελεύθερες ρίζες) μέσω διαφορετικών μηχανισμών ανάλογα με τη φύση της επιφάνειάς⁴⁰. Η υψηλή συγκέντρωση οξειδωτικών παραγόντων που μπορεί να προκληθεί παρουσία μιας νανο-δομής οδηγεί συχνά σε ήπια ή ακραία φαινόμενα τοξικότητας⁴⁰.

Μεταξύ άλλων παθολογικών καταστάσεων, η οξειδωτική καταπόνηση (oxidative stress) φαίνεται να προκαλεί δυσλειτουργία των κυττάρων (κυρίως στα μιτοχόνδρια), απόπτωση, φλεγμονή, καρκίνο ή βλάβη στο DNA^{40,45} (βλ. Σχήμα 1-12).

Υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ ειδικής επιφάνειας, ικανότητας παραγωγής ROS και προφλεγμονωδών φαινομένων⁴⁶⁻⁴⁹. Από μηχανιστικής άποψης ο συσχετισμός αυτός μπορεί να εξηγήσει σε μεγάλο βαθμό την τοξικότητα των εισπνεόμενων νανοσωματιδίων, μια από τις πιο συχνά απαντώμενες οδούς πρόσληψης νανοϋλικών^{50,51}. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα ROS παράγονται με χαμηλό ρυθμό σε ένα μιτοχόνδριο και η επιβλαβής δράση τους μπορεί ελεγχόμενα να αντισταθμιστεί παρουσία της γλουταθειόνης (GSH) και άλλων αντιοξειδωτικών ενζύμων⁴⁰. Σε περιπτώσεις εκτεταμένης παραγωγής τους ωστόσο, όπως συμβαίνει σε επαναλαμβανόμενη εισπνοή μεγάλων ποσοτήτων νανοϋλικών, η βιολογική αντιοξειδωτική άμυνα δεν επαρκεί⁴⁰.



ΣΧΗΜΑ 1-12 Η υψηλή συγκέντρωση οξειδωτικών παραγόντων που μπορεί να προκληθεί παρουσία μιας νανο-δομής μπορεί να οδηγήσει σε ακραία φαινόμενα τοξικότητας. Μεταξύ άλλων παθολογικών καταστάσεων, η οξειδωτική καταπόνηση φαίνεται να προκαλεί δυσλειτουργία των κυττάρων, απόπτωση, φλεγμονή, καρκίνο, ή βλάβη στο DNA^{45,40}.

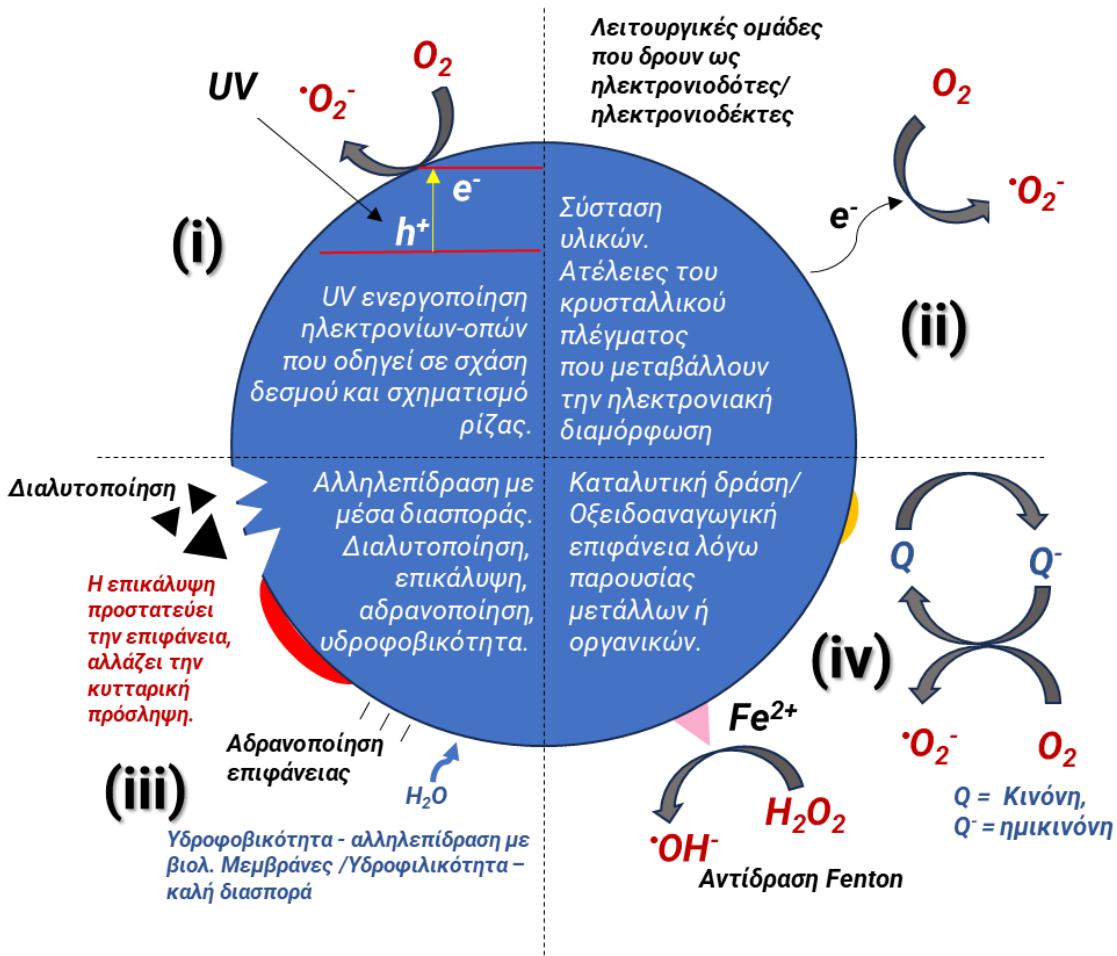
Κατά τον τρόπο αυτό, η οξειδωτική καταπόνηση αντανακλά μια συνθήκη όπου η γλουταθειόνη έχει εξαντληθεί και τη θέση της έχει πάρει η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) η συγκέντρωση της οποίας αυξάνεται ανεξέλεγκτα. Τα κύτταρα ανταποκρίνονται σε αυτή τη μείωση της αναλογίας GSH/GSSG με την ενεργοποίηση προστατευτικών ή και βλαβερών αποκρίσεων. Η οξειδωτική καταπόνηση που προκαλείται από την πραγματική έκθεση σε αιωρούμενα σωματίδια από το περιβάλλον ή τις συνθήκες εργασίας ενός ατόμου, όπως και κατά την ερευνητική εργασία που μπορεί να περιλαμβάνει σωματίδια χαλαζία, αιθάλης, ή διοξείδιο του τιτανίου οδηγεί συχνά σε φλεγμονή των αεραγωγών ή ίνωση.

(v) *Τοξικότητα λόγω του επιφανειακού φορτίου (ΕΦ).*

Η επιφάνεια ενός νανοϋλικού μπορεί να είναι αρνητική, θετική ή ουδέτερη κάτι που εξαρτάται άμεσα από την φύση των λειτουργικών επιφανειακών ομάδων⁵². Το επιφανειακό φορτίο είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που μεταβάλλουν την τοξικότητα ενός νανοϋλικού⁵³. Η επίδραση του επιφανειακού φορτίου δεν είναι οριζόντια, αλλά αντίθετα εξαρτάται άμεσα από τη φύση του βιολογικού συστήματος με το οποίο έρχεται σε επαφή²⁸. Μέσω του επιφανειακού φορτίου καθορίζεται η συγγένεια (affinity) μεταξύ της επιφάνειας του νανοϋλικού και της επιφάνειας ενός βιολογικού συστήματος²⁸. Το φορτίο της επιφάνειας (π.χ. μια κυτταρική μεμβράνη) που εκτίθεται στην τοξική ουσία (νανοϋλικό) διευκολύνει ή αποτρέπει την αλληλεπίδραση τους⁵⁴. Επιπλέον, κυτταρική πρόσληψη φορτισμένων (είτε θετικά είτε αρνητικά) νανοϋλικών είναι εντονότερη σε σχέση με αυτά που παρουσιάζουν ουδέτερο φορτίο²⁸. Χαρακτηριστικές περιπτώσεις κυτταρικών μεμβρανών που έρχονται συνεχώς σε επαφή με νανοϋλικά είναι αυτές των φαγοκυττάρων (phagocytes) και μη. Στην περίπτωση των μη φαγοκυττάρων, η αρνητικά φορτισμένη κυτταρική μεμβράνη, λόγω της παρουσίας ανιονικών φωσφολιπιδικών ομάδων και υδατανθράκων (όπως σιαλικά οξέα), αλληλεπιδρά εύκολα με τις θετικά φορτισμένες νανο-επιφάνειες. Αντίθετα, τα αρνητικά φορτισμένα νανοϋλικά έλκονται από τις φαγοκυτταρικές μεμβράνες. Στην περίπτωση αυτή, η θετικά φορτισμένη κυτταρική μεμβράνη αλληλεπιδρά με τα αρνητικά φορτισμένα σωματίδια, τα οποία τη διαπερνούν⁵⁵.

Το επιφανειακό φορτίο, επιδρά επιπλέον στην σταθερότητα του κολλοειδούς συστήματος, χωρίς ωστόσο μια επιφάνεια μεγάλου φορτίου (σε απόλυτη τιμή) να ευνοεί απαραίτητα την καλή διασπορά των σωματιδίων μέσα σε ένα μέσο⁵⁶. Το επιφανειακό φορτίο θα πρέπει επιπλέον να συνοδεύει την μελέτη του μεγέθους ενός νανοϋλικού. Χαρακτηριστικά αναφέρεται πως η διέλευση της CeO_2 , και επομένως και άλλων νανοσωματιδίων, μέσω της λιπιδικής διπλοστοιβάδας της κυτταρικής μεμβράνης μπορεί να ευνοηθεί περαιτέρω εάν η επιφάνεια του υλικού έχει το κατάλληλο φορτίο (θετικό)⁵⁷.

Στο **Σχήμα 1-13** συνοψίζεται η σχέση μεταξύ δομής, φυσικοχημείας επιφάνειας και τοξικότητας. Παρουσιάζονται πιθανοί μηχανισμοί αλληλεπίδρασης νανοϋλικών με βιολογικά συστήματα που εξαρτώνται άμεσα από την σύσταση, ηλεκτρονιακή διαμόρφωση, φύση επιφάνειας (χημικά τροποποιημένη ή μη), διαλυτότητα, υδροφοβικότητα. Τα εγγενή χαρακτηριστικά των νανοϋλικών διαμορφώνουν το προφίλ τοξικότητάς τους σε συνάρτηση με τις περιβαλλοντικές συνθήκες (π.χ., UV ακτινοβολία).



ΣΧΗΜΑ 1-13 Πιθανοί μηχανισμοί αλληλεπίδρασης νανοϋλικών με βιολογικά συστήματα που εξαρτώνται άμεσα από την σύσταση, ηλεκτρονιακή διαμόρφωση, φύση επιφάνειας (χημικά τροποποιημένη ή μη), διαλυτότητα, υδροφοβικότητα. Τα εγγενή αυτά χαρακτηριστικά των νανοϋλικών διαμορφώνουν το προφίλ τοξικότητάς τους σε συνάρτηση με τις περιβαλλοντικές συνθήκες (π.χ., UV ακτινοβολία). *Σχήμα τροποποιημένο από Science, 311 (5761), 622-627.

Πιο συγκεκριμένα, στο (i) απεικονίζεται η φωτοεπαγόμενη σχάση δεσμών και παραγωγή ριζών, ενώ στο (ii) η αλληλεπίδραση με το περιβάλλον των επιφανειακών λειτουργικών ομάδων που δρουν ως ηλεκτρονιοδότες ή ηλεκτρονιοδέκτες. Η ειδική σύσταση μιας νανοδομής και η ασυνέχεια του κρυσταλλικού πλέγματος λόγω της παρουσίας ατελειών, μπορεί να μεταβάλλει την ηλεκτρονιακή της διαμόρφωση.

Στη συνέχεια, υπενθυμίζεται πως η χημική διαρροή (leaching) μπορεί να ρυθμιστεί μέσω κατάλληλων επικαλύψεων των τοξικών νανοσωματιδίων ή μέσω ειδικής χημικής επιφανειακής τροποποίησης. Η επιφάνεια μπορεί να αδρανοποιηθεί (passivation) (iii) ή να γίνει περισσότερο τοξική μεταβάλλοντας μέσω επικαλύψεων (coatings) φυσικοχημικά χαρακτηριστικά όπως η υδροφοβικότητα, που συσχετίζεται με αυξημένη κυτταρική πρόσληψη νανοσωματιδίων, ή η υδροφιλικότητα που διευκολύνει την διασπορά των υλικών σε υδατικά συστήματα⁴⁰. Τέλος, στο (iv) παρουσιάζεται η οξειδοαναγωγική, καταλυτική δράση νανοδομών μέσω της επικάλυψής τους με μέταλλα όπως ο Fe, ή οργανικά συστήματα όπως οι κινόνες.

1.2.2. Οξειδωτικά συστήματα και αντισταθμιστικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

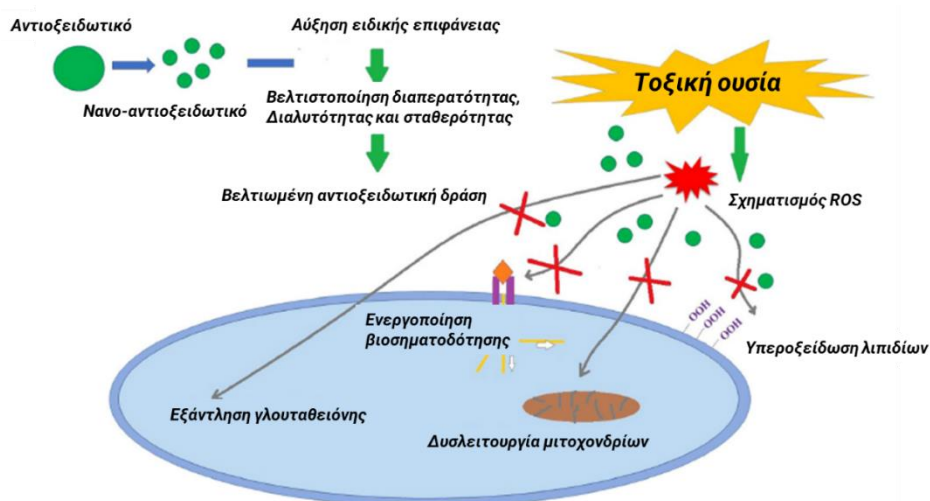
Οι αντιδράσεις οξείδωσης κατέχουν σημαντική θέση μεταξύ των βιοχημικών διεργασιών των ζωντανών οργανισμών συμβάλλοντας στην ομαλή λειτουργία τους^{58,59}. Αποτελούν, ακόμη, μια από τις πιο σημαντικές κατηγορίες χημικών διεργασιών στη βιομηχανία εμπλέκοντας πολλά διαφορετικά οξειδωτικά είδη.

Από την πλευρά της τοξικότητας, είναι σημαντικό να αναφερθεί πως σε αυξημένες συγκεντρώσεις ο λειτουργικός ρόλος των οξειδωτικών ειδών μπορεί εύκολα να αναστραφεί σε ισχυρή τοξική δράση⁶⁰. Τα δισεκατομμύρια που δαπανώνται ετησίως σε αντιοξειδωτικές τεχνολογίες αντικατοπτρίζουν τον τεράστιο οικονομικό αντίκτυπο αυτών των αντιδράσεων⁶¹. Η αυτοοξείδωση είναι, επιπλέον, μια πανταχού παρούσα οργανική αντίδραση που συνοδεύει υποστρώματα με δεσμούς C-H σε ένα περιβάλλον πλούσιο σε οξυγόνο.

Το μοριακό οξυγόνο (O₂) από την πλευρά του μπορεί αυθόρμητα να αλληλεπιδράσει με ένα υπόστρωμα εκκινώντας -μεταξύ άλλων- αλυσιδωτές αντιδράσεις ριζών. Μεταξύ των βλαβερών επιπτώσεων που μπορεί να προκαλέσει η αυξημένη συγκέντρωση οξειδωτικών είναι η *οξειδωτική καταπόνηση* (ή *οξειδωτικό στρες*, oxidative stress) και η *καταπόνηση* (nitrosative stress)⁶² λόγω της παρουσίας δραστικών ειδών αζώτου (reactive nitrogen species, RNS)⁶²⁻⁶⁴.

Με σκοπό την αντιστάθμιση της τοξικότητας των οξειδωτικών ειδών, στη φύση χρησιμοποιούνται αντιοξειδωτικά συστήματα ως μηχανισμοί άμυνας⁶⁵. Όπως περιγράφεται και στο

Σχήμα 1-14 αντίστοιχα με τα μεμονωμένα βιολογικά συστήματα, αντιοξειδωτικά με προηγμένες ιδιότητες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εξασφάλιση της ισορροπίας των οικοσυστημάτων⁵⁹.

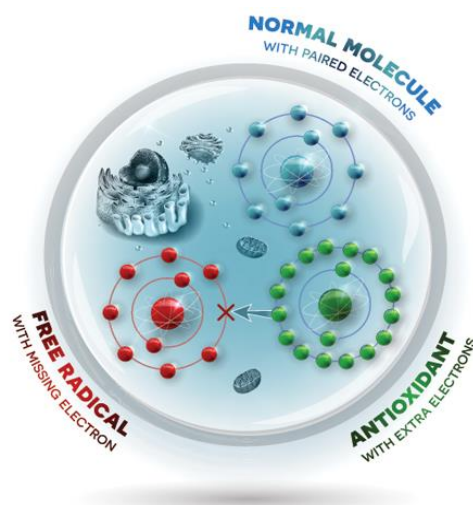


ΣΧΗΜΑ 1-14 Σχηματική απεικόνιση των βλαβερών επιπτώσεων σε ένα οικοσύστημα λόγω αυξημένης συγκέντρωσης οξειδωτικών παραγόντων και η χρήση αντιοξειδωτικών για την αντιστάθμισή τους. *Σχήμα τροποποιημένο από *Biomed Pharmacother.* 2018, 103:1018-1027.

Όπως είναι φυσικό, τα αντιοξειδωτικά έχουν να αντιμετωπίσουν πολλαπλά βλαβερά είδη⁶⁶ όπως δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και αζώτου (RNS), ελεύθερες ρίζες κ.ά., τα οποία για να αδρανοποιηθούν θα πρέπει το μονήρες ηλεκτρόνιό τους να σταθεροποιηθεί μέσω σύζευξης με ένα άλλο ηλεκτρόνιο που ανήκει σε άτομο ή μόριο στο άμεσο περιβάλλον (βλ. Σχήμα 1-15). Όπως αναφέρθηκε ήδη, οι δαπάνες σε παγκόσμιο επίπεδο προς ανάπτυξη αντιοξειδωτικών τεχνολογιών αντικατοπτρίζουν τη σημαντικότητα αυτών των αντιδράσεων⁶¹.

Με τον όρο *δραστικά είδη (ή μορφές) οξυγόνου* (Reactive Oxygen Species, ROS) περιγράφεται μια ομάδα χημικώς δραστικών οξυγονούχων ενώσεων, ιόντων και ελευθέρων ριζών (βλ. παραπάνω). Τυπικά παραδείγματα μη ριζών είναι το σταθερό υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2)⁶⁷, το όζον (O_3)⁶⁷ με χρόνο ημιζωής λίγων δευτερολέπτων, το HOCl και διάφορα οργανικά υπεροξειδία. Ένα πολύ σημαντικό ROS είναι και το μονήρες οξυγόνο (singlet oxygen, 1O_2)^{67,68} με χρόνο ημιζωής 10^{-6} s, το οποίο σχηματίζεται με τη μετακίνηση ενός από τα δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια του μοριακού οξυγόνου (O_2) σε άλλη στοιβάδα με προσφορά ενέργειας. Παράγεται μέσω ακτινοβόλησης του οξυγόνου παρουσία ευαισθητοποιητών ή μέσω ορισμένων χημικών αντιδράσεων (λ.χ., αντίδραση υποχλωριωδών με H_2O_2). Ακόμη μπορεί να παραχθεί μέσω οξείδωσης της βιταμίνης E⁶⁹. Επιπλέον,

στα ROS ανήκουν τα σταθερά οργανικά υπεροξειδία (RCOOH)⁶⁷, και τέλος τα σταθερά (έως και λίγα λεπτά) υποχλωριώδη (HOCl)⁶⁷ και υποβρωμιώδη οξέα (HOBr)⁶⁷.



ΣΧΗΜΑ 1-15 Για να αδρανοποιηθεί μια ελεύθερη ρίζα θα πρέπει το μονήρες ηλεκτρόνιό της να σταθεροποιηθεί μέσω σύζευξης με ένα άλλο ηλεκτρόνιο που ανήκει σε άτομο ή μόριο στο άμεσο περιβάλλον, μια διεργασία που συνήθως πραγματοποιούν τα αντιοξειδωτικά συστήματα. *Σχήμα από βιβλιοθήκη ελεύθερων εικόνων στο διαδίκτυο.

Τα ROS χρησιμεύουν στην επικοινωνία των κυττάρων και τον συντονισμό των δράσεών τους, αλλά είναι και οι κύριοι υπαίτιοι της οξειδωτικής καταπόνησης (oxidative stress) των κυττάρων που ευθύνεται, μεταξύ άλλων και για τη γήρανση των ζώντων οργανισμών. Ωστόσο, μεγάλες συγκεντρώσεις ROS, που προκαλούνται από δυσλειτουργία των κυττάρων ή εξωγενείς παράγοντες, μπορεί να οδηγήσουν σε σημαντική βλάβη⁷⁰.

Ο όρος *δραστικά είδη αζώτου* (reactive nitrogen species, RNS) περιγράφει αζωτούχες ενώσεις με δράση όμοια με εκείνη των ROS. Τυπικές περιπτώσεις RNS περιλαμβάνουν παράγωγα του νιτρικού οξέος, όπως το νιτροξυλικό ανιόν, το νιτροδάνιο (NO^+), νιτροδωθειόλες (RSNOs), δινιτρώδη σύμπλοκα του σιδήρου (εκτός του NO_3^-). Ακόμη, στις δραστικές μορφές αζώτου (όχι ρίζες) ανήκουν υψηλότερης τάξης οξειδία του αζώτου όπως το τριοξειδίο του διαζώτου (N_2O_3), το τετροξειδίο του διαζώτου (N_2O_4), υπονιτρώδες ανιόν (NO_2^-), το νιτρυλοκατιόν (NO_2^+), νιτρωδουπεροξειανθρακικό ανιόν (ONOOCO_2^-), το νιτρώδες οξύ (HNO_2), το υπεροξυνιτρώδες οξύ (ONOOH), τα νιτροξύλια (HNO), νιτρυλοχλωρίδιο (Cl-NO_2), τα αλκυλ-υπεροξυνιτρώδη (ROONO), και υπεροξυνιτρώδη (ONOO^-). Αντίστοιχα των ROS, τα RNS αποτελούν σημαντικούς παράγοντες για την διατήρηση της φυσιολογικής κυτταρικής λειτουργίας, η οποία μπορεί να απειληθεί από την υψηλή τους συγκέντρωση.

Οι ελεύθερες ρίζες είναι ιδιαίτερα δραστικά είδη με χαρακτηριστικό τους το ότι περιέχουν τουλάχιστον ένα μονήρες ηλεκτρόνιο στη δομή τους (βλ. **Σχήμα 1-16**). Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να διαχωριστούν ανάλογα με το άτομο που φέρει το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο και έτσι περιλαμβάνουν είδη με βάση το οξυγόνο (oxygen-based radicals) -*μεταξύ των οποίων και κάποια από τα ROS*- και είδη με βάση κάποιο άλλο άτομο εκτός του οξυγόνου (non-oxygen-based radicals)⁶⁰ όπως άζωτο (nitrogen-centered), άνθρακας (carbon-centered), θείο (sulfur-centered), φωσφόρο (phosphorous-centered), and αλογόνα (halogen-centered). Στις ελεύθερες ρίζες με βάση το άζωτο περιλαμβάνονται και κάποια από τα δραστικά είδη αζώτου (RNS)⁶⁰.

Σε ζωντανούς οργανισμούς, οι ελεύθερες ρίζες παράγονται ως ενδιάμεσα βιοχημικών αντιδράσεων και παίζουν κρίσιμο ρόλο στην φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων. Μπορούν, ωστόσο, να παραχθούν και από εξωγενείς παράγοντες όπως περιβαλλοντική μόλυνση, κάπνισμα, ανθυγιεινή διατροφή, κατανάλωση αλκοόλ, στρες ή έκθεση σε υπεριώδη (UV) ακτινοβολία⁷¹. Επιπλέον, η έκθεση σε μικρού μήκους κύματος ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή ελευθέρων ριζών υδροξυλίου λόγω διάσπασης νερού (water splitting) στο σώμα⁷².

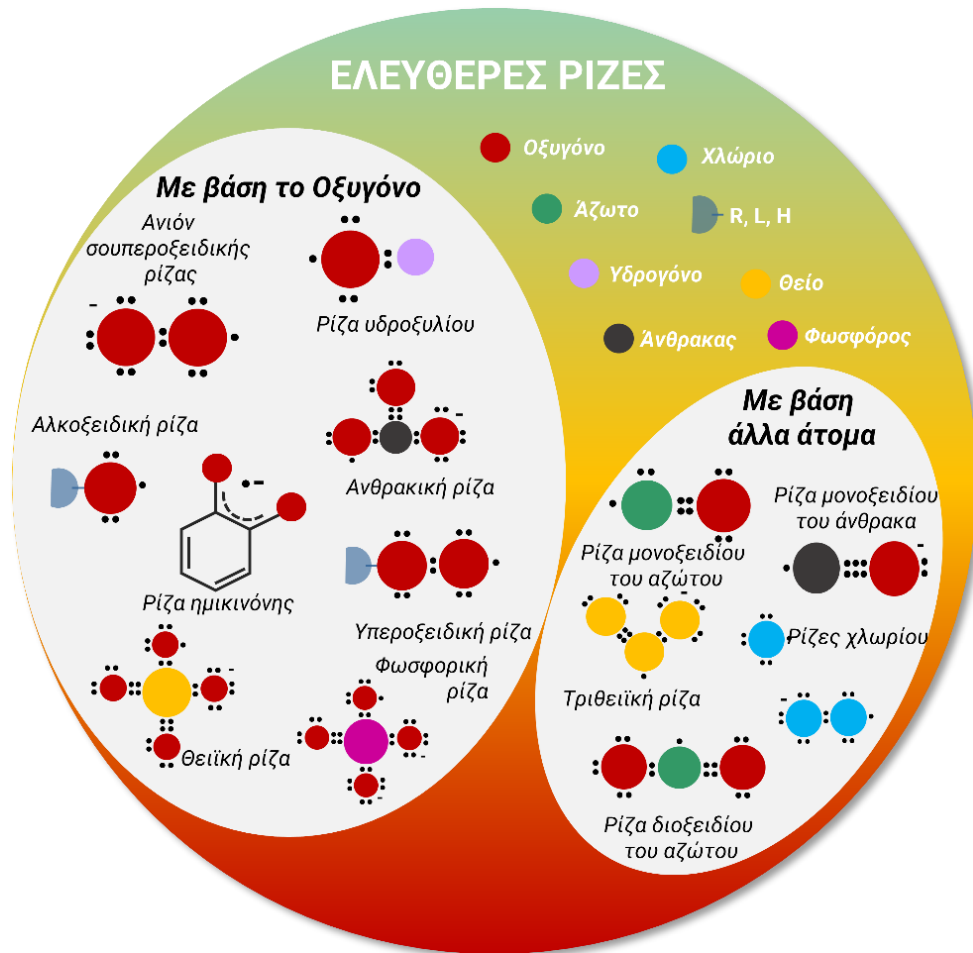
Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να παραχθούν μέσω πολλών διεργασιών όπως ομολυτική και ετερολυτική σχάση μεταξύ μορίων ή οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις⁷³. Μπορούν να έχουν θετικό, αρνητικό ή ουδέτερο φορτίο⁶⁰. Για να σταθεροποιηθούν θα πρέπει το μονήρες ηλεκτρόνιό τους να συζευχθεί με ένα άλλο που ανήκει σε άτομο ή μόριο στο άμεσο περιβάλλον⁷³, μια διεργασία που συνήθως επιτυγχάνεται μέσω της παρουσίας αντιοξειδωτικών συστημάτων. Στα είδη που μπορούν να αδρανοποιηθούν ελεύθερες ρίζες ανήκουν οι φαινόλες και άλλα αντιοξειδωτικά συστήματα⁶⁷.

(i) Ελεύθερες ρίζες με βάση το οξυγόνο (O)

Οι ελεύθερες ρίζες όπου το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο βρίσκεται στο άτομο του οξυγόνου είναι από τις πιο κοινά δραστικά είδη. Ο **Πίνακας 2** αναφέρει τις πιο γνωστές ρίζες με βάση το οξυγόνο που είναι οι ρίζες υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$)⁶⁷ με χρόνο ημιζωής περίπου 10^{-10} s, οι οποίες κατέχουν το υψηλότερο δυναμικό οξειδοαναγωγής ενός ηλεκτρονίου σε σύγκριση με όλα τα υπόλοιπα δραστικά είδη οξυγόνου. Το γεγονός αυτό, καθιστά τις $\cdot\text{OH}$ ⁷⁴ εξαιρετικά επικίνδυνα είδη για την φυσιολογική λειτουργία των κυτταρικών διεργασιών^{57,75}.

Αντίστοιχα, οι ρίζες σουπεροξειδικού ανιόντος ($\cdot\text{O}_2^-$)⁶⁷ με χρόνο ημιζωής 1-1000 μs or 10^{-6} s)⁶⁷ μπορούν να αντιδράσουν με H^+ παράγοντας τις περισσότερο δραστικές και επικίνδυνες για τις κυτταρικές μεμβράνες υδροϋπεροξειδικές ρίζες ($\text{HO}_2\cdot$)⁶⁷.

Άλλα είδη ριζών με βάση το οξυγόνο είναι οι (λιπιδικές) υπεροξειδικές ρίζες (ROO^\bullet , LOO^\bullet)⁶⁷, (λιπιδικές) αλκοξειδικές ρίζες (RO^\bullet , LO^\bullet)^{67,76}, ρίζες ημικινόνης (SQ^\bullet)⁷⁷ και οι ανθρακικές ρίζες (CO_3^\bullet)^{78,79}. Οι αλκυλ-υπεροξειδικές ρίζες (ROO^\bullet) εμπλέκονται στην υπεροξειδωση (peroxidation) των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων καθώς και σε αντιδράσεις αυτο-οξειδοαναγωγής οργανικών ενώσεων⁸⁰. Όμοιες των αλκοξειδικών, οι φαινοξυ-ρίζες (π.χ. η ρίζα τυροσίνης, Tyr^\bullet) απαντώνται πολύ συχνά στα βιολογικά συστήματα^{81,82}.



ΣΧΗΜΑ 1-16 Οι ελεύθερες ρίζες είναι ιδιαίτερα δραστικά είδη με χαρακτηριστικό τους το ότι περιέχουν τουλάχιστον ένα μονήρες ηλεκτρόνιο στη δομή τους και μπορούν να διαχωριστούν ανάλογα με το άτομο που φέρει το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. *Σχήμα τροποποιημένο από Fragou et al., *Micromachines* 2023, 14, 383.

Επιπλέον, οι θειϊκές ρίζες (SO_4^\bullet)⁸³ παράγονται μέσω της ενεργοποίησης υπεροξυθειικών ανιόντων (persulfates), όπως υπεροξυδιθειικών (PDS , $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) και υπεροξυμονοθειϊκών (PMS , HSO_5^-), που χαρακτηρίζονται από έναν δεσμό O-O όμοιο του H_2O_2 ⁸⁴. Οι (SO_4^\bullet) έχουν υψηλότερο δυναμικό οξειδοαναγωγής από τις (OH^\bullet)^{84,83}. Τέλος, οι φωσφορικές ρίζες ($\text{PO}_4^{2-\bullet}$)⁷⁶ αποτελούν σημαντικά είδη με οξειδωτική ικανότητα (Πίνακας 2, Σχήμα 1-16).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2 Είδη δραστικών ελευθέρων ριζών με βάση το οξυγόνο και άλλα άτομα.

Ρίζες με βάση το οξυγόνο		Ρίζες με βάση άλλα άτομα	
Ρίζα υδροξυλίου	$\cdot\text{OH}$	Ρίζα μονοξειδίου του αζώτου ⁶⁴	$\cdot\text{NO}$
Ρίζα υπεροξειδικού ανιόντος	$\cdot\text{O}_2^-$	Ρίζα διοξειδίου του αζώτου ⁶⁴	$\cdot\text{NO}_2$
Ρίζα υπεροξειδίου ⁶⁷	$\text{HO}_2\cdot, \text{ROO}\cdot, \text{LOO}\cdot$	Ρίζα μονοξειδίου του άνθρακα ⁸⁵	$\text{CO}\cdot$
Άλκοξυ-ρίζα	$\text{RO}\cdot, \text{LO}\cdot, \text{Tyr}\cdot$ ⁷⁶	Ρίζα τριατομικού θείου ⁸⁶	S_3^-
Ρίζα ημικινόνης ⁷⁷	$\text{SQ}\cdot$	Ρίζες χλωρίου ⁸⁷	$\text{Cl}\cdot, \text{Cl}_2^-$
Ανθρακική ρίζα	CO_3^-		
Θειϊκή ⁸³ / Φωσφορική ρίζα	$\text{SO}_4^-, \text{PO}_4^{2-}$		

(ii) Ελεύθερες ρίζες με βάση το άζωτο (N)

Χαρακτηριστικές ελεύθερες ρίζες με βάση το άζωτο αποτελούν η ρίζα μονοξειδίου του αζώτου ($\cdot\text{NO}$)⁶⁴ και η ρίζα διοξειδίου του αζώτου ($\cdot\text{NO}_2$)⁶⁷ (Πίνακας 2, Σχήμα 1-16). Η αντίδραση μεταξύ ριζών μονοξειδίου του αζώτου ($\cdot\text{NO}$) και σουπεροξειδικού ανιόντος ($\cdot\text{O}_2^-$) οδηγεί στην παραγωγή υπεροξνιτρώδους ανιόντος (ONOO^-)^{64,83} (Πίνακας 2, Σχήμα 1-16).

(iii) Ελεύθερες ρίζες με βάση τον άνθρακα (C)

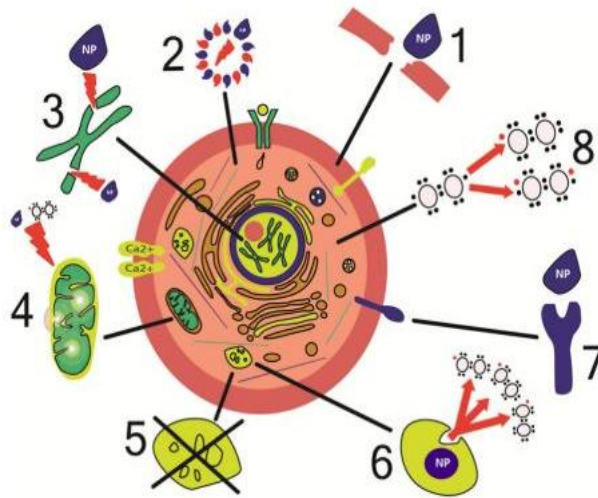
Οι ελεύθερες ρίζες όπου το μονήρες ηλεκτρόνιο βρίσκεται στο άτομο του άνθρακα είναι ακόμη ένα από τα πιο κοινά είδη ελευθέρων ριζών. Μπορούν να δημιουργηθούν μέσω της αντίδρασης αλειφατικών ενώσεων με ελεύθερες ρίζες με βάση το οξυγόνο⁸⁸. Μια γενικότερη κατηγοριοποίησή τους μπορεί να είναι σε αρωματικές ή αλειφατικές ρίζες με βάση τον C, αλλά και ρίζες με γειτονικό άτομο οξυγόνου⁸⁸. Επιπλέον, όταν το μονοξείδιο του άνθρακα (CO) αποκτήσει ένα ηλεκτρόνιο, σχηματίζεται η ανιονική ρίζα του ($\text{CO}^{\bullet-}$), η οποία μπορεί να αλληλεπιδράσει περαιτέρω με $\text{CO}^{\bullet-}$ ή CO σχηματίζοντας δεσμούς C-C (Πίνακας 2, Σχήμα 1-16).⁸⁵.

(iv) Ελεύθερες ρίζες με βάση το θείο (S), τον φωσφόρο (P), και αλογόνα.

Οι ελεύθερες ρίζες με κέντρο το θείο, τον φωσφόρο ή αλογόνα είναι χαρακτηριστικά είδη η βλαβερή δράση των οποίων καλείται να αντισταθμιστεί. Μεταξύ τους ανήκουν οι δραστικές ρίζες τριατομικού θείου (S_3^-)⁸⁶, οι ρίζες χλωρίου ($\text{Cl}\cdot, \text{Cl}_2^-$)⁸⁷.

1.2.3. Βιολογικοί μηχανισμοί τοξικής δράσης έναντι κυττάρων.

Οι δράσεις που αναλύθηκαν παραπάνω, μέσω των οποίων ένα νανοϋλικό μπορεί να προκαλέσει τοξικότητα σε ένα βιολογικό σύστημα, μπορούν επιπλέον να εκφραστούν σε βιολογικούς όρους. Στο **Σχήμα 1-17** παρουσιάζονται οι πιθανοί μηχανισμοί^{26,89} με τους οποίους μπορεί να εκφραστεί η τοξική δράση νανοδομών έναντι κυττάρων. Εξερευνώντας λίγο περισσότερο την βιολογία της νανοτοξικότητας, μπορούμε να συνοψίσουμε την βλαβερή αλληλεπίδραση νανοδομών και βιολογικών συστημάτων, μεταξύ άλλων, σε:



ΣΧΗΜΑ 1-17 Πιθανοί μηχανισμοί τοξικής δράσης των νανοδομών έναντι κυττάρων: **(1)** Μηχανική βλάβη των βιολογικών μεμβρανών, **(2)** Δομικές διαφοροποιήσεις στα μέρη του κυτταρικού σκελετού, **(3)** Διατάραξη της μεταγραφής και οξειδωτική βλάβη στο DNA, **(4)** Βλάβη μιτοχονδρίων, **(5)** Διατάραξη λειτουργίας λυσοσωματίων, **(6)** Παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), **(7)** Διατάραξη λειτουργίας πρωτεϊνών των βιολογικών μεμβρανών, και **(8)** Πρόκληση φλεγμονής.

- (1) Μηχανική βλάβη των βιολογικών μεμβρανών⁹⁰⁻⁹²,
- (2) Δομικές διαφοροποιήσεις στα μέρη του κυτταρικού σκελετού^{93,94},
- (3) Διατάραξη της μεταγραφής και οξειδωτική βλάβη στο DNA^{95,96},
- (4) Βλάβη μιτοχονδρίων^{97,98},
- (5) Διατάραξη λειτουργίας λυσοσωματίων⁹⁹,
- (6) Παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS)⁹⁶,
- (7) Διατάραξη λειτουργίας πρωτεϊνών των βιολογικών μεμβρανών⁹⁶
- (8) Πρόκληση φλεγμονής^{100,101}.

1.2.4. Αξιολόγηση τοξικότητας νανοϋλικών

Ανάλογα με το είδος της τοξικότητας που επιφέρουν τα διάφορα νανοϋλικά (χρόνια ή οξεία) έχουν αναπτυχθεί διαφορετικές μέθοδοι για την αξιολόγησή της. Ο έλεγχος τοξικότητας μπορεί να πραγματοποιηθεί αξιοποιώντας *in vivo*, *in vitro* και *in silico* μελέτες²⁷. Μια σημαντική αφετηρία για την μελέτη της τοξικότητας νανοσωματιδίων είναι ο προσδιορισμός της ικανότητάς τους να μεταφέρονται και να αλληλεπιδρούν με κυτταρικούς φραγμούς¹⁰². Η διείσδυση νανοσωματιδίων στο εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης που προωθείται από κατιονικά επιφανειακά φορτία και κατάλληλες επικαλύψεις (coatings) ευνοεί την αλληλεπίδραση μεταξύ θεραπευτικών ή τοξικών παραγόντων και ευαίσθητων οργανιδίων και την ενεργό τους μεταφορά στο κυτταρόπλασμα¹⁰³.

Μια σημαντική κατάταξη των *in vitro* μεθόδων αξιολόγησης της νανοτοξικότητας είναι σε **(α)** μελέτες που αποσκοπούν στην απεικόνιση της βιοσυσώρευσης, της θέσης και δράσης των νανοσωματιδίων ενδοκυτταρικά και **(β)** μελέτες που αποσκοπούν στον ποσοτικό προσδιορισμό του συνολικού φαινομένου τοξικότητας. Στην πρώτη περίπτωση, συμβατικές μελέτες περιλαμβάνουν καλλιέργειες κυττάρων οι οποίες επωάζονται με νανοσωματίδια για καθορισμένο χρονικό διάστημα, που ακολουθείται από χρώση τους και μικροσκοπική ανάλυση¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Οι μέθοδοι φθορισμού απαιτούν συνήθως προηγούμενη χημική τροποποίηση¹⁰⁷ ή ανοσοχρώση¹⁰⁷ για τη συσχέτιση δεικτών με την ποσοτική και ποιοτική ταυτοποίηση της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων στο εσωτερικό το κυττάρων μετά την επώαση του δείγματος. Οι δοκιμές αυτές απεικόνισης, αποσκοπούν στη μελέτη πολύ εξειδικευμένων φαινομένων τοξικότητας, καθιστώντας απαραίτητη την χρήση κυτταρικών καλλιιεργειών υψηλού κόστους. Για το λόγο αυτό, συχνά στα πρώτα στάδια αξιολόγησης τοξικότητας προτιμώνται μελέτες της δεύτερης κατηγορίας, δηλαδή εκείνες που προσδιορίζουν ποσοτικά το συνολικό φαινόμενο τοξικότητας.

Ένας αξιόπιστος τρόπος είναι η αξιολόγηση της οξείας (acute) τοξικότητας ενός νανοϋλικού έναντι βιολογικών συστημάτων σε υδατικό περιβάλλον.

Προσομοιάζοντας φυσικά υδατικά περιβάλλοντα (βλ. **Εικόνα 1-1**), αναλύσεις τοξικότητας μπορούν να γίνουν σε φθορίζοντα βακτήρια *Aliivibrio fischeri*^{108,109}. Εργαστηριακά, μια ανάλυση τοξικότητας στα *Aliivibrio fischeri*^{14,102,110-117} είναι γνωστή ως Microtox test^{118,117} και αποτελεί μια από τις πιο διαδεδομένες μεθοδολογίες αξιολόγησης τοξικότητας, καθώς παρέχει γρήγορα αποτελέσματα (< 45 min) σε μικρό όγκο δείγματος (1-2 ml), ακρίβεια, επαναληψιμότητα και έχει πολύ χαμηλό κόστος συγκριτικά με άλλες δοκιμές.



ΕΙΚΟΝΑ 1-1 Φαινόμενα βιοφωταύγειας σε θαλάσσια είδη και περιβάλλοντα λόγω παρουσίας των βακτηρίων *Aliivibrio Fischeri* που χρησιμοποιούνται ευρέως για τον ποσοτικό προσδιορισμό οξύτητας τοξικότητας νανοϋλικών. Η τοξικότητα μελετάται ως συνάρτηση της μείωσης της φωταύγειας των βακτηρίων μετά από επαφή με μια τοξική ουσία. *Εικόνες από την *Modern Water*.

1.3. Ασφάλεια νανοϋλικών μέσω του σχεδιασμού τους

Η ασφάλεια μέσω του σχεδιασμού (Safety by Design, **SbD**)³⁹ των υλικών είναι μια νέα φιλοσοφία που αφορά την έρευνα για ανάπτυξη ασφαλών λειτουργικών υλικών και την ενσωμάτωση της ασφάλειας σε όσο το δυνατόν πιο πρώιμο στάδιο της ανάπτυξης προϊόντων και διαδικασιών. Σχετίζεται με τρεις βασικές κατευθύνσεις: *ασφαλή σχεδιασμό, ασφαλή παραγωγή και ασφαλή χρήση* με σκοπό την πρόληψη των περιβαλλοντικών κινδύνων και την εξασφάλιση ενός καθαρού, υγιεινού και ασφαλούς περιβάλλοντος διαβίωσης. Η ασφαλής χρήση είναι ίσως το σημαντικότερο από τα τρία σημεία, καθώς αφορά την άμεση αλληλεπίδραση των υλικών με τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή «η μετάβαση σε χημικά προϊόντα ασφαλή και βιώσιμα εκ σχεδιασμού δεν αποτελεί μόνο επείγουσα κοινωνική ανάγκη, αλλά και μεγάλη οικονομική ευκαιρία, καθώς και βασική συνιστώσα της ανάκαμψης της ΕΕ από την κρίση COVID-19¹¹⁹».

Η παραπάνω στρατηγική έρευνας μπορεί να εφαρμοστεί στο πεδίο της Νανοτεχνολογίας για την ανάπτυξη νανο-δομών με σκοπό την ελεγχόμενη τοξικότητα και την επακόλουθη βιωσιμότητά τους^{89,120}.

Στο πνεύμα αυτό, η συνθετική διεργασία ενός βιομηχανικά παραγόμενου νανοϋλικού θα πρέπει ταυτόχρονα:

- (α) να προσανατολίζεται στην παραγωγή νανο-δομών με βέλτιστες ιδιότητες ως προς μια συγκεκριμένη εφαρμογή, και
- (β) να εξασφαλίζει την εξάλειψη των πιθανών ανεπιθύμητων ενεργειών που μπορεί να παρουσιάσει.

Λόγω του μικρού μεγέθους τους, τα νανοσωματίδια είναι πολύ εύκολο να διαπερνούν τις βιολογικές μεμβράνες ή να καταλήγουν στο νερό και να παρουσιάζουν τοξικότητα για τον άνθρωπο και το οικοσύστημα. Αν και τα νανοϋλικά χρησιμοποιούνται αρκετά χρόνια, δεν υπάρχει ακόμη σαφές νομικό πλαίσιο για την ανακύκλωση και διαχείριση των υλικών αυτών μετά τη χρήση τους. Οι έρευνες προς το παρόν, στρέφονται προς την βελτιστοποίησή τους, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η πιθανή τοξικότητα που εμφανίζουν και να καταστεί η χρήση τους απολύτως ασφαλής στο μέλλον^{89,120–123}.

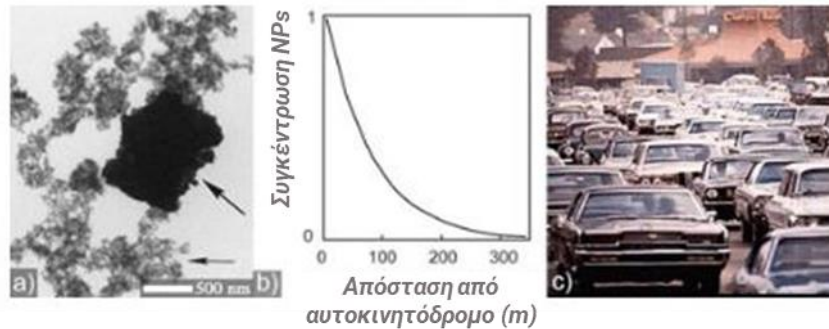
Σήμερα, αν και η εκτενής χρήση των νανοϋλικών καλύπτει πολλά τεχνολογικά πεδία, βασικό εμπόδιο στην εμπορευματοποίησή τους αποτελεί η ελλιπής αξιολόγηση της τοξικότητάς τους^{14,27}. Τελευταία, καθώς υπάρχουν ενδείξεις για άμεση απειλή του περιβάλλοντος και της ανθρώπινης υγείας, έχει αρχίσει να αναθεωρείται το πλαίσιο της ανάπτυξής τους με σκοπό την **παραγωγή ασφαλών για χρήση νανοϋλικών**¹²⁴. Η καθιέρωση αρχών και διαδικασιών ελέγχου για τη διασφάλιση της ασφαλούς κατασκευής και χρήσης των νανοϋλικών στην αγορά είναι επείγουσα ανάγκη και είναι εφικτή μέσω της Νανομηχανικής (βλ. παρακάτω).

Η ασφάλεια ήδη από το σχεδιασμό των υλικών (safe-by-design materials) προέκυψε ως μια ανάγκη της σύγχρονης εποχής για την επίλυση κυρίως θεμάτων βιωσιμότητας. Στην ανάλυση TEM στο **Σχήμα 1-18** απεικονίζονται τοξικά εκπεμπόμενα σωματίδια από εξατμίσεις μηχανών αυτοκινήτων που αποτελούνται από συσσωματώματα άνθρακα (μικρό βέλος) και μεγαλύτερα σωματίδια ορυκτών (μεγάλο βέλος). Η συγκέντρωση των σωματιδίων μειώνεται εκθετικά με την απόσταση από τον αυτοκινητόδρομο, αντανακλώντας την όλο και μεγαλύτερη ανάγκη ανάπτυξης τεχνολογιών για την προστασία του περιβάλλοντος και της ανθρώπινης υγείας.

Αν και η εξασφάλιση της χαμηλής τοξικότητας και άρα ασφαλούς χρήσης των νανοϋλικών αποτελεί αδιαμφισβήτητο προτέρημα, η φιλοσοφία έρευνας πίσω από το Safety-by-Design κρύβει πολλά περισσότερα πλεονεκτήματα. Είναι ο λεπτομερής έλεγχος επί της συνθετικής διεργασίας που μπορεί να αναβαθμίσει την ανάπτυξη προηγμένων νανοδομών, με προσανατολισμό σε σύγχρονες εφαρμογές. Η συσσωρευμένη γνώση που συλλέγεται κατά την μελέτη δομικών χαρακτηριστικών και νανοτοξικότητας μπορεί να εφαρμοστεί εξίσου και για την ελεγχόμενη εφαρμογή των μηχανισμών αυτών σε εντελώς διαφορετικά πεδία. Χαρακτηριστικό παράδειγμα θα μπορούσε να αποτελέσει η στοχευμένη επαγωγή νανοτοξικότητας σε ιατρικές ή περιβαλλοντικές εφαρμογές.

Τέλος, ο σχεδιασμός μεθόδων σύνθεσης που αποβλέπει σε συγκεκριμένα δομικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, μπορεί να εξασφαλίσει και τον κατάλληλο κύκλο ζωής των υλικών

αυτών, επομένως και την ασφάλή τους διάθεση, αλληλεπίδραση με τον άνθρωπο και τα οικοσυστήματα ακόμη και στη περίπτωση που αυτά εμφανίζουν ειδική τοξικότητα.



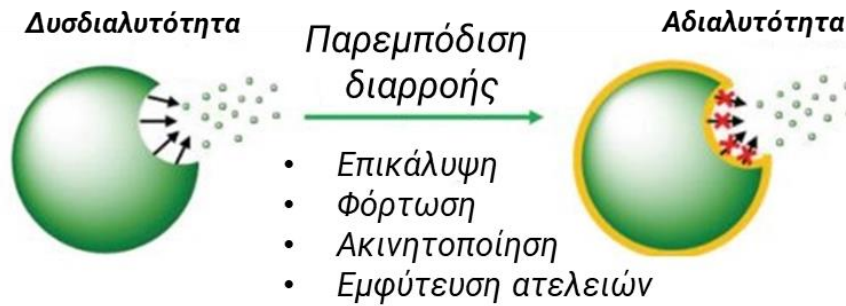
ΣΧΗΜΑ 1-18 Στην ανάλυση TEM απεικονίζονται εκπεμπόμενα σωματίδια από εξατμίσεις μηχανών αυτοκινήτων που αποτελούνται από συσσωματώματα άνθρακα (μικρό βέλος) και μεγαλύτερα σωματίδια ορυκτών (μεγάλο βέλος). Η συγκέντρωση των σωματιδίων μειώνεται εκθετικά με την απόσταση από τον αυτοκινητόδρομο. *Σχήμα τροποποιημένο από *Biointerphases* 2007 Dec;2(4):MR17-71.

1.3.1. Ανάπτυξη μεθόδων ελεγχόμενης μείωσης τοξικότητας νανοδομών

Ανάμεσα στις στρατηγικές που έχουν προταθεί για τον έλεγχο της τοξικότητας των ανόργανων νανοϋλικών περιλαμβάνονται η *επικάλυψη* (coating), *φόρτωση* (loading), *ομοιοπολική ακινητοποίηση* (grafting), καθώς και η *εμφύτευση* (doping) ή *αδρανοποίηση* (passivation) ατελειών του πλέγματος.

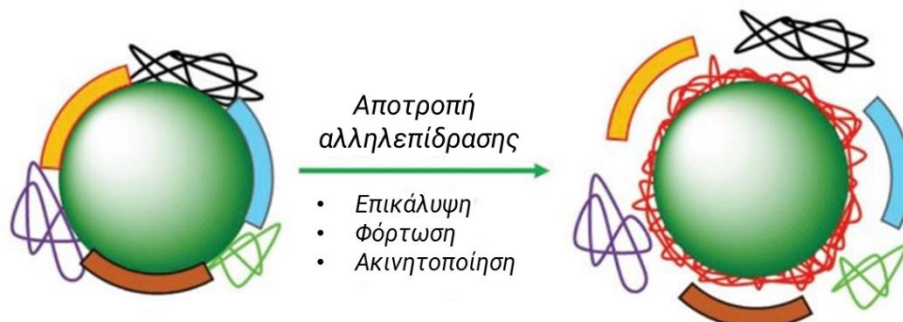
Σε περιπτώσεις τοξικότητας λόγω διαρροής μεταλλικών ιόντων (βλ. **Σχήμα 1-19**), η επικάλυψη, η φόρτωση, η ακινητοποίηση και η εμφύτευση ατελειών χρησιμοποιούνται ως μέθοδοι για την μείωση της διαλυτότητας των ιόντων και την παρεμπόδιση της μετακίνησής τους προς το περιβάλλον.

Η *περίκλειση* τοξικών νανοδομών, ιδίως ανόργανων NPs, με λιπίδια, πολυμερή, πυρίτιο, ZnS ή άλλα πιο βιοσυμβατά υλικά, είναι μία από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την πρόληψη της απελευθέρωσης τοξικών συστατικών από τον πυρήνα και, ως εκ τούτου, για τη μείωση των πιθανών δυσμενών επιπτώσεών τους⁸⁹. Σε σύγκριση με τις μη επικαλυμμένες νανοδομές, νανοϋλικά με κέλυφος είναι συχνά περισσότερο υδατοδιαλυτά και σταθερά κolloειδή και έχουν ασθενέστερες μη ειδικές αλληλεπιδράσεις με βιομόρια^{125,126}.



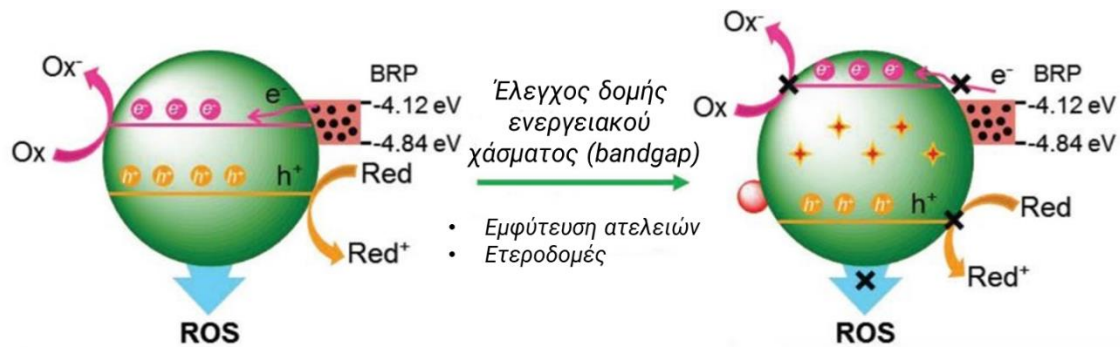
ΣΧΗΜΑ 1-19 Σε περιπτώσεις τοξικότητας λόγω διαρροής μεταλλικών ιόντων, η επικάλυψη, φόρτωση, ακίνητοποίηση και εμφύτευση ατελειών χρησιμοποιούνται ως μέθοδοι για την μείωση της διαλυτότητας των ιόντων και παρεμπόδιση της μετακίνησής τους προς το περιβάλλον. * Σχήμα τροποποιημένο από *Adv. Mater.* 2019, 1805391 1805391.

Η φόρτωση (loading) (βλ. **Σχήμα 1-20**) αναφέρεται σε μια προσέγγιση με την οποία οργανικά μόρια, πολυμερή ή βιομόρια συνδέονται μη ομοιοπολικά στην επιφάνεια των νανοϋλικών μέσω δυνάμεων Van der Waals, υδροφοβικής και ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης, επιστοιβασία π-π (stacking) ή δεσμών υδρογόνου⁸⁹. Σε αντίθεση με τα ισχυρά δεσμευμένα κελύφη που περιγράφονται παραπάνω, τα «φορτωμένα» στρώματα είναι σχετικά χαλαρά και κατάλληλα για περαιτέρω φόρτωση φαρμάκων και διαφόρων βιοδραστικών παραγόντων.



ΣΧΗΜΑ 1-20 Η ομοιοπολική ακίνητοποίηση, η φόρτωση ή η επικάλυψη μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεταξύ άλλων ως τεχνικές επίλυσης προβλημάτων τοξικότητας λόγω μεγέθους, μορφολογίας, επιφανειακού φορτίου ή παραγωγής ελευθέρων ριζών. * Σχήμα τροποποιημένο από *Adv. Mater.* 2019, 1805391 1805391.

Επιπλέον, αυτή η προσέγγιση μπορεί να εισάγει πολυάριθμα υδρόφιλα τμήματα όπως $-NH_2$, $-COOH$ και $-SH$ στην εξωτερική επιφάνεια των νανοϋλικών, στα οποία μπορούν να προσαρτηθούν ομοιοπολικά πολλαπλοί υποκαταστάτες⁸⁹.

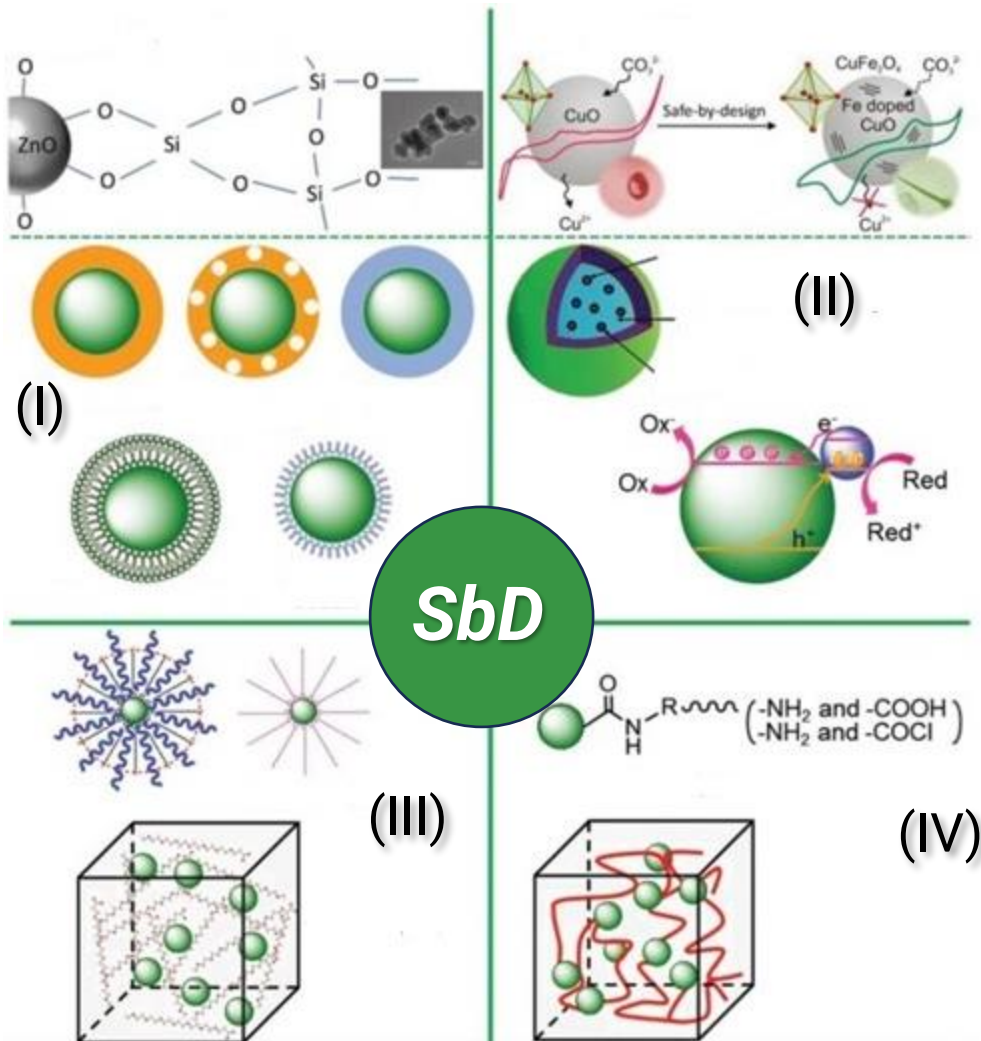


ΣΧΗΜΑ 1-21 Η τεχνική της εμφύτευσης ατελειών του πλέγματος περιλαμβάνει την εισαγωγή ενός μικρού ποσοστού ξένων ατόμων σε ένα κατά τα άλλα καθαρό υλικό για τη ρύθμιση των ηλεκτρικών, οπτικών ή μαγνητικών ιδιοτήτων τους. Μπορεί επομένως να χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος επίλυσης της τοξικότητας λόγω φωτοεπαγόμενης παραγωγής ελευθέρων ριζών.
* Σχήμα τροποποιημένο από *Adv. Mater.* 2019, 1805391 1805391.

Ο όρος *ακινητοποίηση* (grafting), από την άλλη, αναφέρεται σε μια τεχνική με την οποία λειτουργικά τμήματα ή μόρια συνδέονται ομοιοπολικά με λειτουργικές ομάδες (π.χ. $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$) της επιφάνειας νανοϋλικών^{58,127-138}. Οι δύο τεχνικές της φόρτωσης και ακινητοποίησης μπορεί να χρησιμοποιηθούν αποδοτικά για την αποτροπή της αλληλεπίδρασης νανο-επιφάνειας και βιολογικών συστημάτων. Υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι η επιφάνεια μιας νανοδομής είναι συχνά πλούσια σε διάφορους τύπους ατελειών που οδηγεί σε τοπική μεταβολή της ηλεκτρονιακής δομής ευνοώντας τη χημική δραστηριότητα στις συγκεκριμένες θέσεις. Η επιφανειακά καταλυόμενη παραγωγή ROS οφείλεται πολύ συχνά σε ατέλειες της επιφάνειας. Η αδρανοποίηση των θέσεων αυτών μέσω επιφανειακής χημικής τροποποίησης αποτελεί πολύ συχνά μέθοδο για την αντιμετώπιση αυτού του τύπου τοξικότητας.

Αντίστοιχα, η τεχνική της εμφύτευσης ατελειών του πλέγματος περιλαμβάνει την εισαγωγή ενός μικρού ποσοστού ξένων ατόμων σε ένα κατά τα άλλα καθαρό υλικό (π.χ. ανόργανα και νανοϋλικά με βάση τον άνθρακα) για τη ρύθμιση των ηλεκτρικών, οπτικών ή μαγνητικών ιδιοτήτων τους (βλ. **Σχήμα 1-21**). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η εμφύτευση ατελειών σε νανοκρυστάλλους ημιαγωγών θα μπορούσε να μεταβάλει τις ιδιότητες της ενεργειακών ζωνών τους, ρυθμίζοντας έτσι την κινητική μεταφοράς ηλεκτρονίων μεταξύ των νανοκρυστάλλων και των βιολογικών συστημάτων¹³⁹.

Μπορεί επομένως να χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος επίλυσης της τοξικότητας λόγω φωτοεπαγόμενης παραγωγής ελευθέρων ριζών. Στο **Σχήμα 1-22** γίνεται μια συνοπτική απεικόνιση των μεθόδων που περιγράφονται παραπάνω και οδηγούν στην ανάπτυξη ασφαλών από το σχεδιασμό τους νανοδομών.



ΣΧΗΜΑ 1-22 Συνοπτική απεικόνιση διαφόρων Safe-by-Design μεθοδολογιών για την ανάπτυξη ασφαλών νανοδομών: (I) Διεργασία επικάλυψης τοξικών νανοσωματιδίων ZnO με SiO₂, (II) εμφύτευση ατελειών πλέγματος σε νανοδομές CuO, (III) Φόρτωση νανο-επιφανειών με λειτουργικά μόρια, και (IV) Ακινητοποίηση λειτουργικών μορίων στην επιφάνεια νανοδομών μέσω ομοιοπολικών δεσμών. * Σχήμα τροποποιημένο από Adv. Mater. 2019, 1805391 1805391.

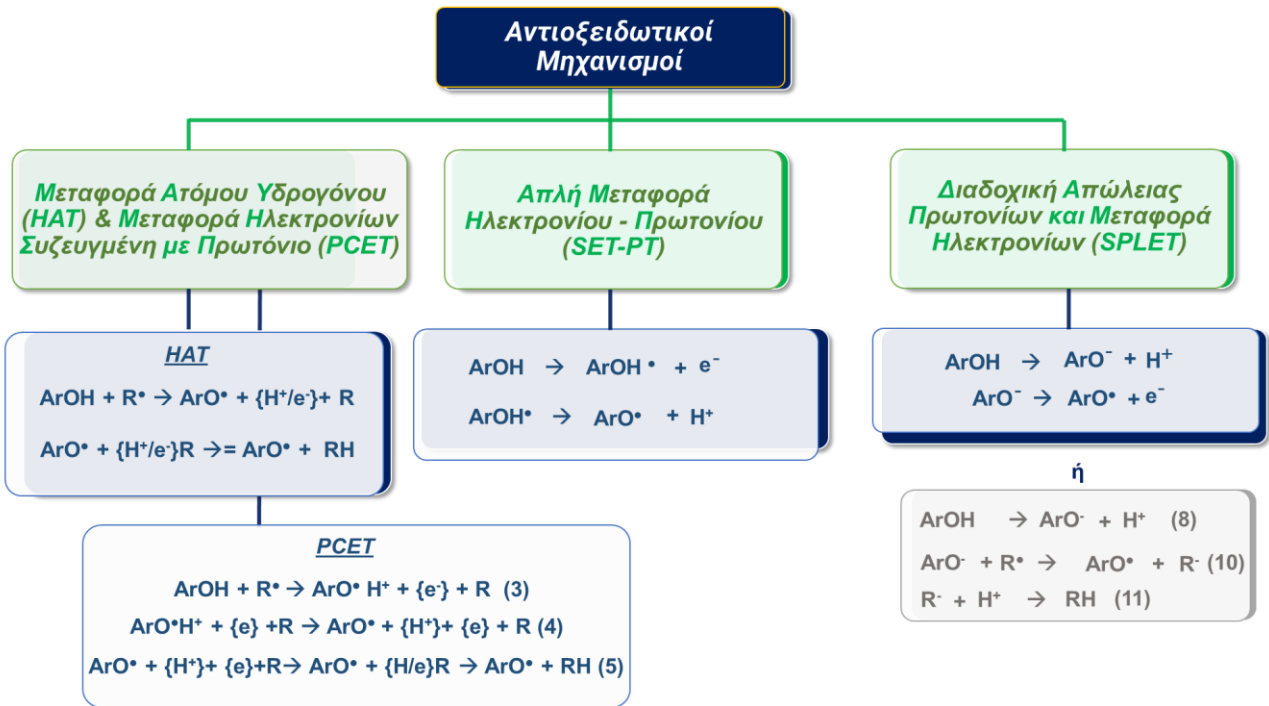
1.3.2. Βιομηχανική Νανομηχανική για αντιοξειδωτική θωράκιση

Οι πολύ δραστικές οξειδωτικές ενώσεις μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στα βιολογικά συστήματα κάτω από συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες⁶⁰. Ένας αποτελεσματικός τρόπος για την αντιστάθμιση των δυσμενών αυτών επιπτώσεων, είναι η χρήση *αντιοξειδωτικών*⁶⁰ συστημάτων. Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται μια ένωση που σε χαμηλές συγκεντρώσεις μπορεί να καθυστερήσει, να ελέγξει ή να αποτρέψει μια οξειδωτική διαδικασία⁶⁰. Αντιοξειδωτικά συστήματα υπάρχουν στα φυτά, στο έδαφος και στα ορυκτά¹⁴⁰⁻¹⁴³. Ως εκ τούτου, η φύση είναι μια πλούσια πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών, όπως οι τοκοφερόλες και οι πολυφαινόλες, όπου τα αντιοξειδωτικά αλληλεπιδρούν σε μια δυναμική σχέση με το βιο-περιβάλλον τους¹⁴⁴⁻¹⁵². Εκτός του βιο-περιβάλλοντός τους -λ.χ. σε *in vitro* συνθήκες- η χρήση των αντιοξειδωτικών παρουσιάζει αρκετά μειονεκτήματα, όπως φαινόμενα αυτο-οξείδωσης, πολυμερισμού ή βιοδιάσπασης.

Η Νανοτεχνολογία έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για να ξεπεραστούν τα εγγενή μειονεκτήματα που συναντώνται στην *in vitro* χρήση των αντιοξειδωτικών και να διευκολυνθεί η παραγωγή και η χρήση τους σε μεγαλύτερη κλίμακα^{149,153-160}. Τα τεχνητά *νανοαντιοξειδωτικά* μπορούν να αναπτυχθούν μέσω κατάλληλης επιφανειακής χημικής τροποποίησης με φυσικές ή συνθετικές αντιοξειδωτικές ενώσεις, μιμούμενο άμεσα ένα φυσικό αντιοξειδωτικό σύστημα¹⁶¹. Η *Νανομηχανική* (nanoengineering) έχει υιοθετηθεί για τη βελτιστοποίηση αντιοξειδωτικών συστημάτων όπως αύξηση της σταθερότητάς τους, ενίσχυση της δράσης¹⁶² τους, την αντιμετώπιση προβλημάτων τοξικότητας και την ενίσχυση της βιοσυμβατότητάς τους^{141,163}.

Η αποτελεσματική δράση των αντιοξειδωτικών μπορεί να επηρεαστεί από πολλούς παράγοντες, όπως τα δομικά τους χαρακτηριστικά, τη συγκέντρωση και τη θερμοκρασία στην οποία δρουν, τον τύπο του υποστρώματος που πρέπει να αντιμετωπίσουν, τη φυσική κατάσταση του συστήματος κ.ά.⁶⁰. Το πρώτο βήμα για την ανάπτυξη και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας ενός αντιοξειδωτικού συστήματος είναι ο εντοπισμός του μηχανισμού δράσης του.

Η αδρανοποίηση ή εξάλειψη της παραγωγής ROS (δηλ. του βασικού στόχου δράσης των αντιοξειδωτικών) μπορεί να επιτευχθεί μέσω τριών κύριων μηχανισμών¹⁶⁴⁻¹⁶⁸: (i) *μεταφορά ατόμων υδρογόνου* (Hydrogen Atom Transfer, HAT), *μεταφορά ηλεκτρονίων συζευγμένη με πρωτόνιο* (Proton Coupled Electron Transfer, PCET), (ii) *απλή μεταφορά ηλεκτρονίου- πρωτονίου* (Single Electron Transfer-Proton Transfer, SET-PT), και (iii) *διαδοχική απώλεια πρωτονίων και μεταφορά ηλεκτρονίων* (Sequential Proton Loss Electron Transfer, SPLET) (βλ. **Σχήμα 1-23**).



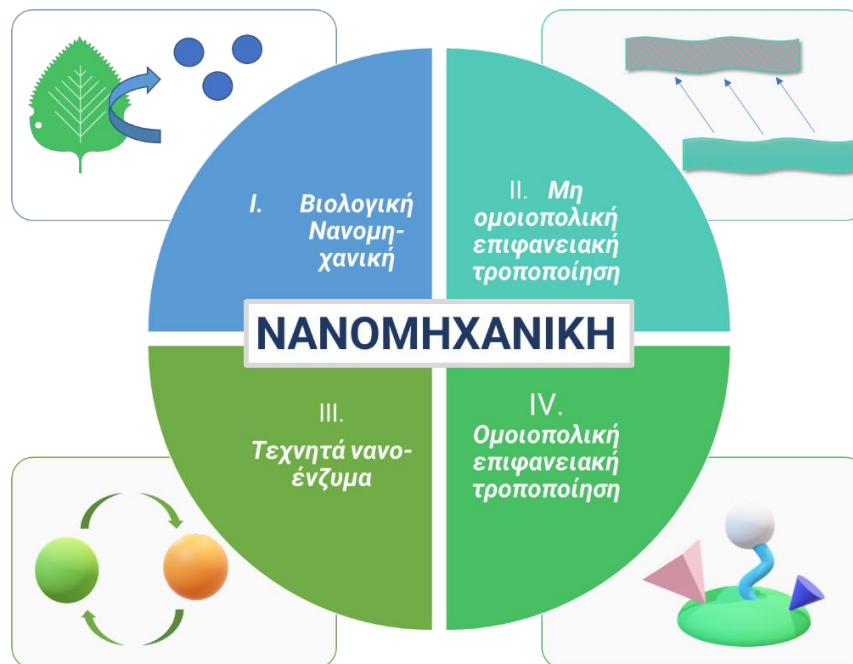
ΣΧΗΜΑ 1-23 Η αδρανοποίηση ή εξάλειψη της παραγωγής ROS (δηλ. του βασικού στόχου δράσης των αντιοξειδωτικών) μπορεί να επιτευχθεί μέσω τριών κύριων μηχανισμών: (i) μεταφορά ατόμων υδρογόνου (Hydrogen Atom Transfer, HAT), μεταφορά ηλεκτρονίων συζευγμένη με πρωτόνιο (Proton Coupled Electron Transfer, PCET), (ii) απλή μεταφορά ηλεκτρονίου- πρωτονίου (Single Electron Transfer-Proton Transfer, SET-PT) και (iii) διαδοχική απώλεια πρωτονίων και μεταφορά ηλεκτρονίων (Sequential Proton Loss Electron Transfer, SPLET). *Σχήμα τροποποιημένο από *Micromachines* 2023, 14, 383.

Η βιομηχανική Νανομηχανική περιλαμβάνει την ανάπτυξη υβριδικών δομών -φυσικών ή συνθετικών αντιοξειδωτικών, και νανοϋλικών (νανοϋλικά που φέρουν αντιοξειδωτικές λειτουργίες) -ή την ανάπτυξη μη υβριδικών αντιοξειδωτικών συστημάτων (νανοϋλικά με εγγενή αντιοξειδωτική δράση)⁶⁰. Τα παραγόμενα μέσω Νανομηχανικής συστήματα προσφέρουν αμέτρητες δυνατότητες αφού μπορούν: **(α)** να εισάγουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες σε ένα αρχικά ανενεργό σύστημα, **(β)** να διευκολύνουν τη συνεργιστική δράση μεταξύ των στοιχείων του υβριδικού συστήματος και **(γ)** να ελέγξουν τις ιδιότητες των υλικών υποστήριξης (π.χ. να ελαχιστοποιήσουν την τοξικότητά τους). Τέλος, κατά το σχεδιασμό νέων αντιοξειδωτικών υλικών, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη η διαλυτότητα, η βιοδιαθεσιμότητα και η ασφάλειά τους⁶⁰.

Όπως περιγράφεται στο **Σχήμα 1-24**, διαφορετικοί τύποι Νανομηχανικής⁶⁰ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή αντιοξειδωτικών νανοδομών,

όπως (I) απευθείας από φυσικές πηγές (π.χ. εξαγωγή νανοσωματιδίων από φυτά)¹⁶³, (II) μη ομοιοπολική επιφανειακή τροποποίηση νανοαντιοξειδωτικών για βελτιστοποίηση, (III) σύνθεση “νανοζύμων” (σύνθετο των λέξεων νανο- και ενζύμου, *nanozymes*)¹⁶⁹⁻¹⁷³, νανοσωματιδίων που μιμούνται τα ένζυμα, με εγγενή αντιοξειδωτική δράση, και (IV) ομοιοπολική τροποποίηση επιφάνειας, συγκεκριμένα ακινητοποίηση ενός λειτουργικού τμήματος σε ένα νανοϋλικό υποστήριξης^{174,134}.

Λαμβάνοντας υπόψη όλες τις παραπάνω τεχνολογίες και εφαρμογές, η συμβολή της Νανοτεχνολογίας στην παραγωγή προηγμένων υλικών είναι αναμφισβήτητη. Ωστόσο, και στην περίπτωση αυτή η ασφάλεια μέσω του σχεδιασμού²⁵ θα πρέπει πάντα να λαμβάνεται υπόψιν καθώς η δυνατότητά τους να χρησιμοποιηθούν σε ποικίλες εφαρμογές μπορεί να προκαλέσει δυσμενείς επιπτώσεις και δυνητικά να απειλήσει το περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία^{14, 25,27}.



Σχήμα 1-24 Διαφορετικοί τύποι Νανομηχανικής μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή αντιοξειδωτικών νανοδομών, όπως (I) απευθείας από φυσικές πηγές (π.χ. εξαγωγή νανοσωματιδίων από φυτά), (II) μη ομοιοπολική επιφανειακή τροποποίηση νανοαντιοξειδωτικών για βελτιστοποίηση, (III) σύνθεση “νανοζύμων” (σύνθετο των λέξεων νανο- και ενζύμου, *nanozymes*), νανοσωματιδίων που μιμούνται τα ένζυμα, με εγγενή αντιοξειδωτική δράση, και (IV) ομοιοπολική τροποποίηση επιφάνειας, συγκεκριμένα ακινητοποίηση ενός λειτουργικού τμήματος σε ένα νανοϋλικό υποστήριξης. *Σχήμα τροποποιημένο από *Micromachines* 2023, 14, 383.

1.4. Νανο-υλικά σε επαφή με τον άνθρωπο και το οικοσύστημα

1.4.1. Νανοϋλικά ευρείας χρήσης με βάση το πυρίτιο (Si)

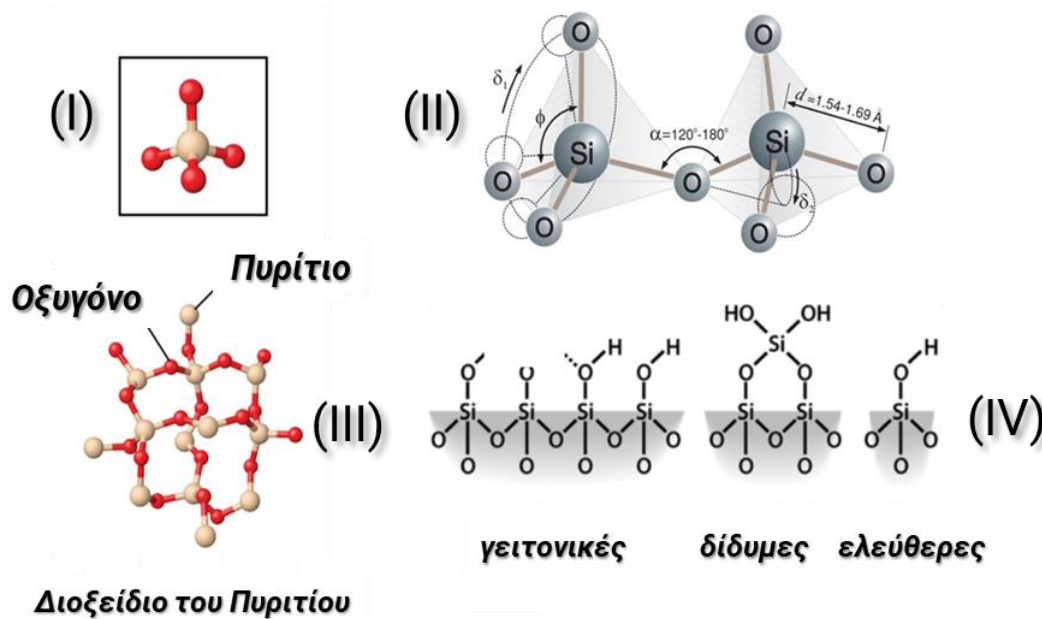
Έχουν αναφερθεί βιβλιογραφικά πολλά υλικά με βάση το πυρίτιο (Si) με το πιο χαρακτηριστικό από αυτά να είναι το διοξείδιο του πυριτίου γνωστό και ως *πυρίτια* ή πιο συχνά *σίλικα* λόγω των πολύ καλών ιδιοτήτων που παρουσιάζει¹⁷⁵. Το διοξείδιο του πυριτίου, είναι μια ανόργανη ένωση με μοριακό τύπο SiO_2 . Ως μια από τις πιο σύνθετες και άφθονες οικογένειες υλικών, υπάρχει ως συστατικό σε φυσικές πηγές (ορυκτά, φυτά, πετρώματα, άμμος, χώμα, ζωντανούς οργανισμούς κτλ.) και συνθετικά προϊόντα (συντηρητικά τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών, δομικά υλικά, υλικά συσκευασιών, ηλεκτρονικά, κ.ά.). Η σίλικα απαντά τόσο σε κρυσταλλική όσο και σε μη κρυσταλλική (άμορφη) δομή. Στη φύση, κυριαρχεί η κρυσταλλική μορφή του χαλαζία (quartz) που αποτελεί μια από τις μεγαλύτερες κατηγορίες υλικών. Κρυσταλλικές μορφές του διοξειδίου του πυριτίου (βλ. **Εικόνα 1-2**) είναι ακόμη οι τριδυμίτης (SiO_2), χριστοβαλίτης (SiO_2), χαλκηδόνιος (SiO_2), αχάτης, και οπάλιος ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$).



ΕΙΚΟΝΑ 1-2 Στη φύση, κυριαρχεί η κρυσταλλική μορφή του χαλαζία (quartz) που αποτελεί μια από τις μεγαλύτερες κατηγορίες υλικών. Η βιομηχανική παραγωγή τους ανέρχεται σε τόνους ετησίως καθώς χρησιμοποιούνται ευρέως ως πληρωτικά υλικά, καταλύτες και ξηραντικές ουσίες σε προϊόντα καθημερινής χρήσης. (i) χαλαζίας, (ii) άμμος, (iii) αχάτης, (iv) τριδυμίτης, (v, vi, vii, viii) nano-SiO_2 ως συστατικό φαρμάκων και ειδών καθημερινής χρήσης, (viii) βιομηχανικά παραγόμενη πυρολυτική nano-SiO_2 . * Εικόνες από το διαδίκτυο.

Οι περισσότερες συνθετικά παραγόμενες δομές σίλικας ωστόσο είναι συνήθως άμορφες, δεν αποτελούνται δηλαδή από πλήρως καθορισμένες ταυτόσημες δομικές μονάδες (μοναδιαίες κυψελίδες) όπως συμβαίνει στα κρυσταλλικά υλικά. Η βιομηχανική παραγωγή τους ανέρχεται σε τόνους ετησίως καθώς χρησιμοποιούνται ευρέως ως πληρωτικά και καταλυτικά^{58,176-178} υλικά αλλά και ως ξηραντικές ουσίες¹⁷⁹.

Τα υλικά *νανοπυριτίας* ή *νανοσίλικας* κατέχουν σημαντική θέση μεταξύ των τεχνητών νανοϋλικών λόγω των εγγενών φυσικοχημικών χαρακτηριστικών τους, όπως το επιφανειακό τους φορτίο και η πληθώρα λειτουργικών επιφανειακών ομάδων^{89,180}. Χαρακτηριστικά παραδείγματα συνθετικών υλικών SiO₂ αποτελούν ο *τετηγμένος χαλαζιάς* (fused quartz), η *καπνοπυριτία* (fumed silica), η *γέλη διοξειδίου του πυριτίου* και τα *αεροπηκτώματα*.



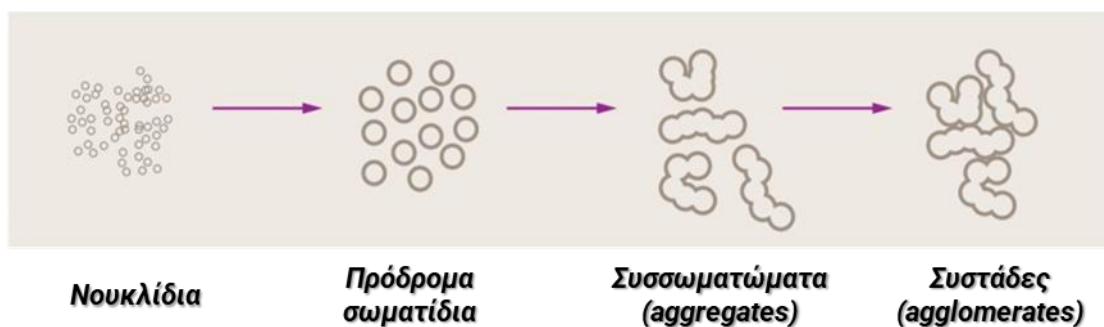
ΣΧΗΜΑ 1-25 (I-III) Το διοξείδιο του πυριτίου είναι ένα στερεό τριών διαστάσεων με βασική δομική μονάδα του μακρομοριακού δικτύου του, το τετράεδρο SiO₄. Το άτομο πυριτίου (Si) παρουσιάζει τετραεδρική ένταξη (coordination), περιβαλλόμενο από τέσσερα άτομα οξυγόνου (O) που το καθένα βρίσκεται και σε μια κορυφή του τετραέδρου γύρω του. (IV) Δομή γειτονικών, δίδυμων και ελεύθερων σιλανολών στην επιφάνεια της νανοσίλικας. *Σχήματα από το διαδίκτυο και J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 15790–15804.

Το διοξείδιο του πυριτίου είναι ένα στερεό τριών διαστάσεων με βασική δομική μονάδα του μακρομοριακού δικτύου του, το τετράεδρο SiO₄. Στη πλειοψηφία τους, στα υλικά διοξειδίου του πυριτίου, το άτομο πυριτίου (Si) παρουσιάζει τετραεδρική ένταξη (coordination), περιβαλλόμενο από τέσσερα άτομα οξυγόνου (O) που το καθένα βρίσκεται και σε μια κορυφή του τετραέδρου γύρω του. Το κάθε άτομο οξυγόνου με τη σειρά του είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένο με δύο άτομα πυριτίου¹⁸¹ σχηματίζοντας το τρισδιάστατο στερεό πυριτικό πλέγμα (βλ. **Σχήμα 1-25**). Ανεξάρτητα από το αν η δομή είναι κρυσταλλική ή μη κρυσταλλική, η γεωμετρία του δεσμού Si-O παραμένει σχεδόν αμετάβλητη.

(i) Τρόποι παραγωγής και διαφορετικά είδη σίλικας

Άμορφα πυρολυτικά νανοσωματίδια SiO_2 (καπνοπυριτία): Η σύνθεση των άμορφων νανοσωματιδίων SiO_2 πραγματοποιείται κυρίως με τους εξής δύο τρόπους: **(α)** με υψηλής θερμοκρασίας πυρόλυση φλόγας (flame pyrolysis), όπου παράγεται η λεγόμενη *πυρολυτική σίλικα* ή *καπνοπυριτία* (fumed silica) ή **(β)** με μοριακή συμπύκνωση των ομάδων σιλανολών ($\equiv\text{Si}-\text{OH} + \text{HO}-\text{Si}\equiv \rightleftharpoons \equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$) σε υδατικό διάλυμα ή υπό υδροθερμικές συνθήκες για την παραγωγή καταβυθισμένης (precipitated), κολλοειδούς (colloidal) ή μεσοπορώδους (mesoporous) σίλικας. Τόσο η πυρολυτική όσο και η κολλοειδής σίλικα παρασκευάζονται βιομηχανικά σε πολύ μεγάλη κλίμακα ετησίως¹⁸² και χρησιμοποιούνται ευρέως ως υλικά υποστήριξης για την ακινητοποίηση μετάλλων, συμπλόκων μετάλλων μετάπτωσης, οργανικών μορίων και βιομορίων στην επιφάνειά τους^{58,128,132,135,183}.

Μια από τις βασικές τεχνικές σύνθεσης καπνοπυριτίας σε βιομηχανική κλίμακα είναι η *Πυρόλυση Ψεκασμού Φλόγας* (Flame Spray Pyrolysis, FSP)¹⁸⁴⁻¹⁹². Η ΠΨΦ είναι μια τεχνολογία παραγωγής νανοσωματιδίων μέσω πυρόλυσης ενός διαλύματος πρόδρομης ένωσης (precursor) στην αέρια φάση με φλόγα υψηλών θερμοκρασιών¹⁹¹. Αποτελεί μια ευέλικτη τεχνολογία παραγωγής νανοϋλικών σε βιομηχανική κλίμακα¹¹ (Degussa, Evonik, Cabot, John Matthey κ.ά.) και ενδείκνυται για την σύνθεση νανοσωματιδίων που προορίζονται για βιοτεχνολογικές εφαρμογές λόγω της απαίτησής τους σε υψηλή καθαρότητα, κρυσταλλικότητα και ειδική σύσταση¹⁸⁹. Ωστόσο, πολλά από τα νανοϋλικά που συντίθενται μέσω φλόγας, παρουσιάζουν αυξημένα ποσοστά τοξικότητας¹⁴.

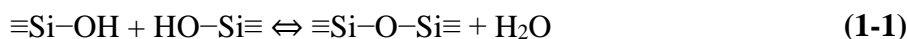


ΣΧΗΜΑ 1-26 Σχηματική απεικόνιση μοντέλου σύνθεσης των νανοσωματιδίων υδρόφιλης πυρολυτικής σίλικας μέσω φλόγας. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, το SiCl_4 μετατρέπεται στην αέρια φάση και στη συνέχεια αντιδρά σε φλόγα O_2 και H_2 με σχηματισμό ενδιάμεσου νερού και τελικώς του επιθυμητού διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2). *Σχήμα από Evonik.

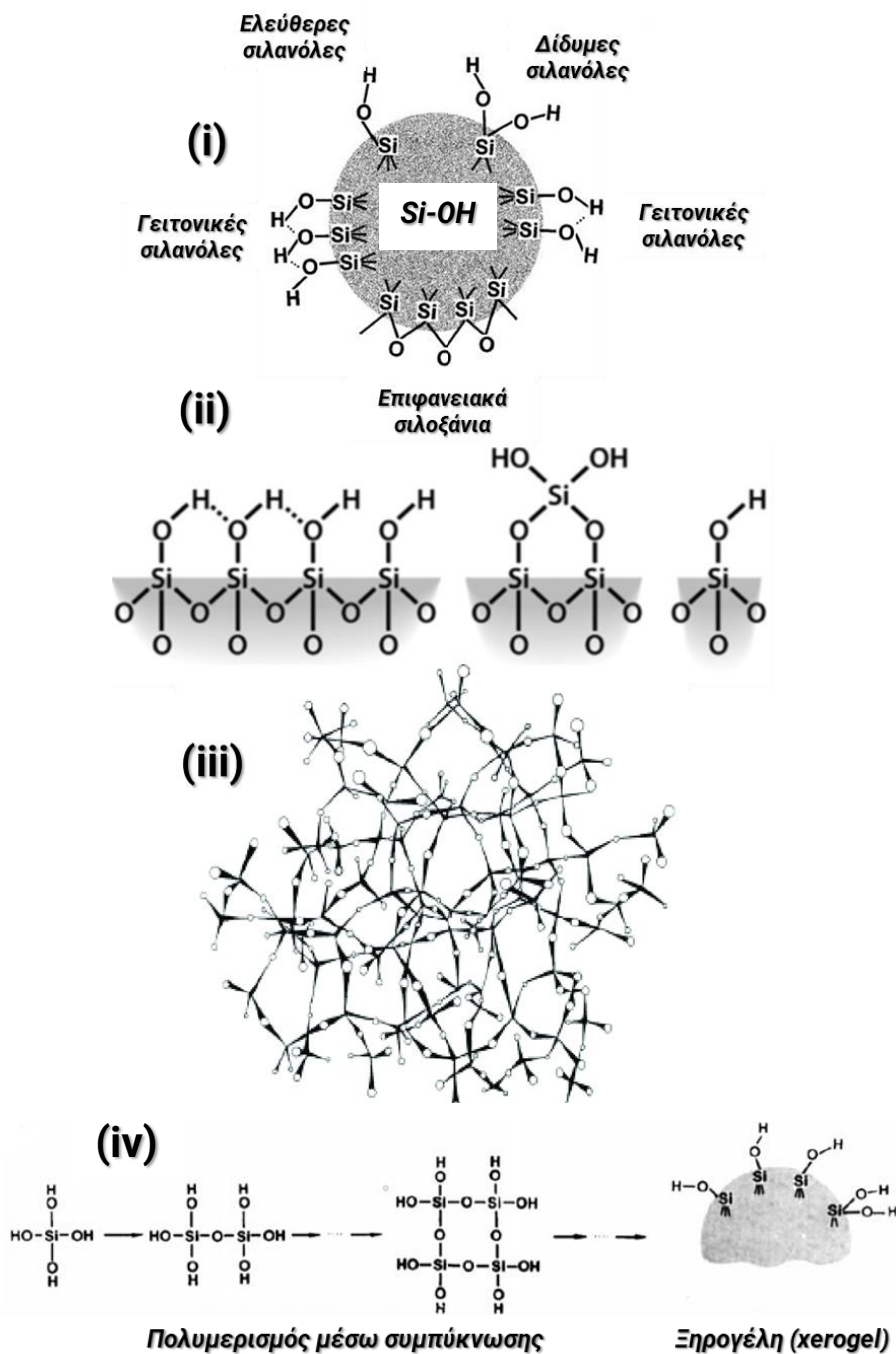
Η οικογένεια των υλικών με εμπορική ονομασία Aerosil® αποτελεί ένα τυπικό παράδειγμα nano-SiO₂ που χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία και την έρευνα. Η διαδικασία που εφαρμόζεται για την σύνθεση των υδρόφιλων πυρολυτικών νανοσωματιδίων σίλικας Aerosil® μπορεί να περιγραφεί ως μια συνεχής υδρόλυση παρουσία φλόγας (continuous flame hydrolysis) μιας πρόδρομης ένωσης τετραχλωριδίου του πυριτίου (SiCl₄) (βλ. Σχήμα 1-26). Τα αντιδρώντα αέρια περνούν μέσα από μια περιοχή της φλόγας που επιφέρει απότομη αύξηση της θερμοκρασίας, ακολουθούμενη από μείωση.

Στην έναρξη της αντίδρασης (στη βάση της φλόγας) σχηματίζονται πολύ μικρά σε μέγεθος σταγονίδια SiO₂, τα νουκλίδια (nuclides). Τα νουκλίδια προσκολλώνται το ένα στο άλλο σχηματίζοντας μεγαλύτερα σε μέγεθος σταγονίδια, τα οποία με τη σειρά τους ενώνονται για να σχηματιστούν ακόμη μεγαλύτερα και ούτω καθεξής. Ο συνολικός αριθμός των σταγονιδίων μειώνεται όσο αυξάνεται το μέγεθός τους. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται για όσο η φλόγα παραμένει σε τόσο υψηλή θερμοκρασία ώστε να κρατά τα σταγονίδια σε υγρή μορφή. Όταν τα σταγονίδια στη συνέχεια εισέλθουν σε μια πιο ψυχρή περιοχή της φλόγας στερεοποιούνται (μερικώς). Στη συνέχεια αντί να σχηματίσουν μια ενιαία μάζα, συνενώνονται τμηματικά σχηματίζοντας συσσωματώματα (aggregates) τα οποία στερεοποιούνται πλήρως στην ψυχρή περιοχή της φλόγας. Αντίθετα, συγκρατούνται μεταξύ τους με ασθενείς αλληλεπιδράσεις, σχηματίζοντας συστάδες (agglomerates) που εκτείνονται στο χώρο. Η παραπάνω διεργασία απεικονίζεται σχηματικά στο Σχήμα 1-26¹⁹³. Τα τετραεδρικά SiO₄ είναι τυχαία διατεταγμένα και εμφανίζουν την δομή¹⁹⁴ που φαίνεται στο Σχήμα 1-27 (iii) και είναι σύμφωνη με το μοντέλο των Evans και King¹⁹⁵.

Κολλοειδή νανοσωματίδια SiO₂: Τα κολλοειδή νανοσωματίδια σίλικας, συμπεριλαμβανομένων και των Stöber, LUDOX και μεσοπορωδών σωματιδίων παράγονται με διαδοχικές αντιδράσεις μοριακής συμπύκνωσης (αντίδραση (1-1)) των διαλυτών σιλανολών σε υδατικό ή υδατικό/αλκοολικό διάλυμα κάτω από βασικές συνθήκες συνήθως σε θερμοκρασίες μικρότερες των 150 °C¹⁷⁹.



Η κολλοειδής σίλικα, εμφανίζει μεγάλη θερμική και χημική σταθερότητα, μεγάλη ειδική επιφάνεια (250-1000 m²/g) και μέγεθος πόρων που κυμαίνεται από μικρο-πόρους μέχρι μεσοπόρους (5-500 Å). Η ακινητοποίηση οργανικών ομάδων στη σίλικα μπορεί να συμβεί είτε μέσω νουκλεόφιλης υποκατάστασης στα σιλοξάνια είτε μέσω αντίδρασης με τα υδροξύλια των σιλανολών¹⁹⁵.



Σχήμα 1-27 (i-ii) Δομή διοξειδίου του πυριτίου και τύποι σιλανολών που μπορούν να υπάρχουν στην επιφάνεια άμορφης síλικας. **(iii)** Σχηματική διάταξη των τετραέδρων SiO₄ σε νανοσωματίδια Aerosil® σύμφωνα με μοντέλο των Evans και King. Οι κύκλοι συμβολίζουν τα άτομα οξυγόνου και στα κέντρα των τετραέδρων βρίσκονται τα άτομα πυριτίου. **(iv)** Σχηματισμός ομάδων σιλανολών στην επιφάνεια síλικας με μηχανισμό πολυμερισμού μέσω συμπύκνωσης.*Σχήματα από Rus. J. Phys. Chem., 2006, Vol. 80, No. 7, pp. 1119–1128., J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 15790–15804. Phys. Proc. 55 (2014) 373 – 382.

(ii) Επιφανειακή χημεία σίλικας

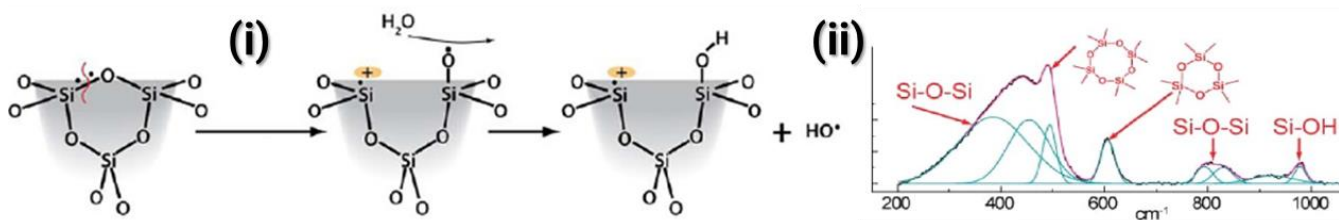
Η σίλικα αποτελείται κυρίως από δύο είδη λειτουργικών ομάδων: **(α)** τις *σιλανόλες* ($\equiv\text{Si}-\text{OH}$, $\equiv\text{Si}(\text{OH})_2$), όπου μια υδροξυλομάδα συνδέεται με ένα άτομο πυριτίου, και **(β)** τα *σιλοξάνια* ($\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$) στα οποία ένα άτομο οξυγόνου λειτουργεί γεφυρωτικά μεταξύ δύο ατόμων πυριτίου.

Οι σιλανόλες διακρίνονται περαιτέρω σε *ελεύθερες* όταν υπάρχει μόνο μία υδροξυλομάδα συνδεδεμένη με το άτομο πυριτίου, *δίδυμες* ή *σιλανοδιόλες* στην περίπτωση που δύο ομάδες υδροξυλίου συνδέονται με το ίδιο άτομο πυριτίου και τέλος σε *γειτονικές σιλανόλες*, όταν δύο υδροξυλομάδες είναι συνδεδεμένες σε γειτονικά άτομα πυριτίου, αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου (βλ. Σχήμα 1-27). Οι σιλανόλες παρουσιάζουν υδρόφιλο χαρακτήρα επιτρέποντας την προσρόφηση μορίων νερού. Η χημική δραστηριότητά τους παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον, καθώς ευθύνονται κυρίως για την όποια αντίδραση πραγματοποιείται στην επιφάνεια των σωματιδίων.

Οι ομάδες σιλοξανίων από την άλλη, δεν είναι τόσο δραστικές. Ακόμη, παρουσιάζουν υδρόφοβο χαρακτήρα ο οποίος όμως δεν επαρκεί ώστε να ξεπεράσει την υδροφιλικότητα των σιλανολών η οποία υπερτερεί σημαντικά καθιστώντας την σίλικα ένα υδρόφιλο υλικό. Είναι λοιπόν λογικό οι λειτουργικές ομάδες αυτές να διαμορφώνουν σε μεγάλο βαθμό την επιφανειακή χημεία της σίλικας^{181,179,195}.

(iii) Πυριτικό πλέγμα σίλικας

Η δομή της νανοπυριτίας (νανο-SiO_2) αποτελείται στο εσωτερικό της από ένα πλέγμα *σιλοξανικών δακτυλίων*, δηλαδή δακτυλίων που αποτελούνται από διαδοχικά άτομα Si και O σχηματίζοντας λειτουργικές ομάδες *σιλοξανίων* ($\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$). Η μικρότερη δυνατή δομή αυτών των χαρακτηριστικών δακτυλίων που συνθέτουν το τρισδιάστατο πυριτικό πλέγμα, μπορεί να είναι αυτή που περιέχει τρία άτομα Si και τρία άτομα O^{196,197}. Οι δακτύλιοι αυτοί, αν και τυπικά εξαμελείς (βλ. **Σχήμα 1-28**), είναι γνωστοί ως τριμελείς δακτύλιοι (three-membered rings, 3MRs) σιλοξανίων, όνομα που αναφέρεται στον αριθμό των ατόμων πυριτίου¹⁷⁵. Βιβλιογραφικά, έχει επικρατήσει η ονοματολογία των σιλοξανικών δακτυλίων να αναλογεί μόνο στον αριθμό των ατόμων πυριτίου, παραλείποντας τον αριθμό ατόμων οξυγόνου. Κατ' αυτόν τον τρόπο, μπορούν να συνθέσουν το πυριτικό πλέγμα τετραμελείς (τέσσερα άτομα Si), πενταμελείς (πέντε άτομα Si), εξαμελείς, κτλ. δακτύλιοι σιλοξανίων¹³.



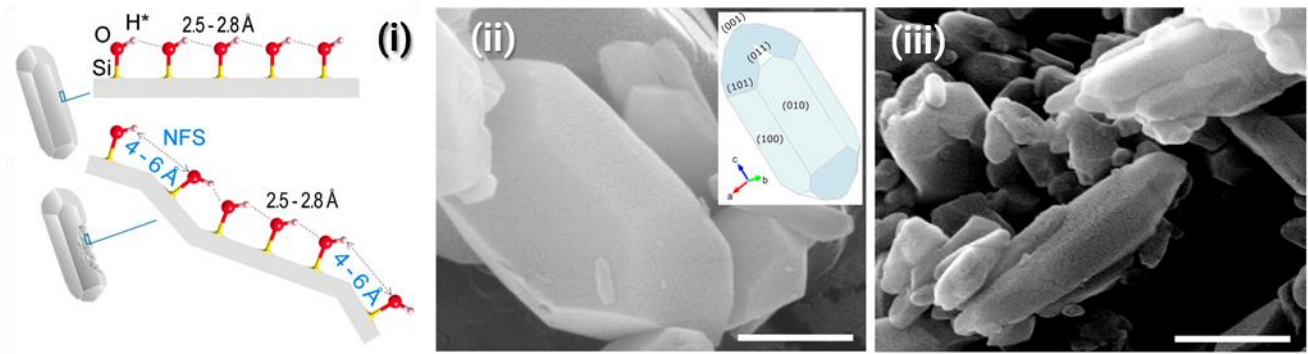
ΣΧΗΜΑ 1-28 Η μικρότερη δυνατή δομή των σιλοξανικών δακτυλίων που συνθέτουν το τρισδιάστατο πυριτικό πλέγμα, μπορεί να είναι αυτή που περιέχει τρία άτομα Si και τρία άτομα O. (i) Δραστηριότητα των τριμελών δακτυλίων, (ii) Χαρακτηριστικά φάσματα Raman των δονήσεων του πυριτικού πλέγματος. *Σχήματα από J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 15790–15804.

(iv) Τοξικότητα σίλικας

Αν και έχει διερευνηθεί διεξοδικά μέσω *in vivo*, *in vitro* και *in silico* μελετών, η τοξικότητα της νανο-SiO₂ παραμένει ένα πολύπλοκο φαινόμενο μέχρι σήμερα^{180,197–199}. Είναι γνωστό ότι οι κρυσταλλικές πυριτικές δομές παρουσιάζουν τοξικότητα: ο χριστοβαλίτης, ο οπάλιος ή ο τριδυμίτης προκαλούν τοξικές παρενέργειες, κυρίως λόγω μορφολογικών χαρακτηριστικών²⁰⁰. Σε πρόσφατη μελέτη που αφορά την κρυσταλλική νανο-SiO₂, παρατηρήθηκε ότι ένα συγκεκριμένο είδος σιλανολών, οι επονομαζόμενες «σχεδόν ελεύθερες σιλανόλες» (nearly-free silanols, βλ. Σχήμα 1-29) μπορούν να βλάψουν τις κυτταρικές μεμβράνες εκκινώντας διεργασίες που οδηγούν σε φλεγμονή¹⁹⁶. Μια επόμενη μελέτη, ωστόσο, επεσήμανε πως μελετώντας την τοξικότητα που προκαλείται από τις σχεδόν ελεύθερες σιλανόλες, θα πρέπει να αξιολογηθεί η συγκέντρωση και η χημική τους προέλευση¹⁹⁸.

Αντίθετα, η τοξικότητα των άμορφων δομών της νανο-SiO₂ είναι ένα πιο πολύπλοκο, συχνά πολυπαραγοντικό φαινόμενο^{75,175,179,196–198,201–203}. Η μέθοδος σύνθεσης έχει συνδεθεί σε μεγάλο βαθμό με την τοξικότητα της άμορφης νανο-SiO₂. Χαρακτηριστική αναφορά στην επίδραση της συνθετικής πορείας στην τοξικότητα της σίλικας, αποτελεί άρθρο που δημοσιεύθηκε το 2012 στο *Journal of the American Chemical Society*¹⁷⁹, όπου αναφέρεται πως η πυρολυτική σίλικα παρουσιάζει αυξημένη τοξικότητα σε σχέση με σίλικα που έχει συντεθεί μέσω υγρής μεθόδου.

Πιο συγκεκριμένα, περιγράφεται πως η ομολυτική σχάση των δεσμών Si-O-Si των μικρότερου μεγέθους δακτυλίων του πυριτικού πλέγματος (τριμελείς ή τετραμελείς) που σχηματίζονται στην επιφάνεια της σίλικας λόγω των υψηλών θερμοκρασιών της φλόγας, οδηγεί στην παραγωγή ελευθέρων ριζών υδροξυλίου (·OH)⁷⁴ (βλ. Σχήμα 1-28), είδη ιδιαίτερα επικίνδυνα για την πρόκληση οξειδωτικής καταπόνησης και τη διατάραξη των βιολογικών διεργασιών σε υγιή κύτταρα⁵⁷.



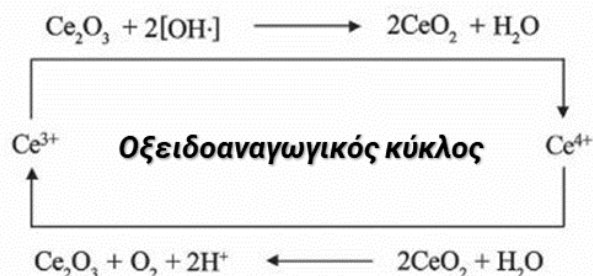
ΣΧΗΜΑ 1-29 Οι «σχεδόν ελεύθερες σιλανόλες» (*nearly-free silanols*) μπορούν να βλάψουν τις κυτταρικές μεμβράνες εκκινώντας διεργασίες που οδηγούν σε φλεγμονή. (i) Απεικόνιση δομής των σχεδόν ελευθέρων σιλανολών σε σύγκριση με τις τυπικές σιλανόλες μιας επιφάνειας. (ii-iii) Εικόνες TEM των κρυσταλλικών υλικών nano-SiO_2 που φέρουν τις σχεδόν ελεύθερες σιλανόλες στην επιφάνειά τους.*Σχήμα τροποποιημένο από PNAS 2020 117 (45) 27836-27846.

Οι μικρές αυτές, δραστικές²⁰⁴ δομές δακτυλίων δεν συναντώνται εύκολα σε υλικά που έχουν συντεθεί μέσω υγρών μεθόδων αλλά αντίθετα ο σχηματισμός τους ευνοείται λόγω της πολύ γρήγορης κινητικής της σύνθεσης μέσω φλόγας¹⁷⁹. Οι επιφανειακές σιλανόλες¹⁸⁰, με τη σειρά τους, καθορίζουν την χημεία της επιφάνειας της νανοπυριτίας²⁰⁵, επηρεάζοντας μεταξύ άλλων και την συνολική ικανότητα παραγωγής ROS. Ακόμη, δομικά χαρακτηριστικά όπως ο βαθμός συσσωμάτωσης, η ειδική επιφάνεια και το επιφανειακό φορτίο μπορούν να ενισχύσουν την παραγωγή ROS παρουσία nano-SiO_2 ^{206,207}.

Αν και υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις στη βιβλιογραφία σχετικά με τη σχέση δομής-δραστικότητας των υλικών nano-SiO_2 ²⁰⁸, η ικανότητα παραγωγής ROS^{25,209} καθορίζει σε πολλές περιπτώσεις το προφίλ τοξικότητας των υλικών αυτών²¹⁰. Σε πρόσφατη έρευνα, συσχετίζονται άμεσα η κυτταροτοξικότητα υλικών nano-SiO_2 με την ικανότητά τους να παράγουν ROS²¹¹. Στο πλαίσιο αυτό, η κατανόηση των μηχανισμών παραγωγής ROS παρουσία νανοπυριτίας, ο έλεγχος και η ελαχιστοποίησή τους αποτελεί βασική ερευνητική πρόκληση. Ιδανικά, ο σχεδιασμός αποτελεσματικών μεθόδων σύνθεσης νανοπυριτίας για την εξάλειψη της παραγωγής ROS είναι μια επιθυμητή στρατηγική, που εντάσσεται στην φιλοσοφία έρευνας *Safe-by-Design*¹⁷⁵. Τέλος, λίγη έρευνα έχει διεξαχθεί για την τοξικότητα πιο προηγμένων υβριδικών πυρτικών δομών, η οποία συνήθως σχετίζεται με μορφολογικά χαρακτηριστικά²¹². Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η περίπτωση $\text{nano-καρβιδίων πυριτίου}$, (nano-SiC) όπου η βιοσυμβατότητα των υλικών μειώνεται σημαντικά όταν η μορφολογία τους αλλάζει σε νανοϊνες²¹².

1.4.2. Αντιοξειδωτικά νανοϋλικά με βάση το δημήτριο (Ce)

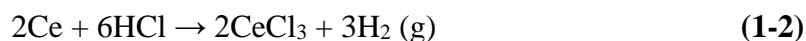
Η χημεία του δημητρίου (Ce) και των οξειδίων του αποτελεί αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης τα τελευταία χρόνια^{173,213}. Το δημήτριο (Ce) ανήκει στις *σπάνιες γαίες* ή «λανθανίδες»²¹ με ηλεκτρονιακή διαμόρφωση [Xe] 4f¹5d¹6s². Οι σπάνιες γαίες είναι μια ομάδα 17 μετάλλων που περιλαμβάνουν, τις 15 λανθανίδες, το ύτριο και το σκάνδιο. Η χημεία των σπάνιων γαιών διαφέρει από τα μέταλλα μετάπτωσης λόγω της φύσης των τροχιακών 4f, τα οποία είναι «κρυμμένα» μέσα στο άτομο και προστατεύονται από το περιβάλλον του ατόμου από τα ηλεκτρόνια 4d και 5p²¹⁴. Αυτά τα τροχιακά δίνουν τις μοναδικές καταλυτικές, μαγνητικές και ηλεκτρονικές ιδιότητες των σπάνιων γαιών²¹⁴. Αυτές οι προηγμένες ιδιότητες μπορούν να αξιοποιηθούν για την επίτευξη νέων τύπων εφαρμογών που δεν είναι δυνατές με μέταλλα μετάπτωσης. Εντοπίζονται πολύ δύσκολα σε ποσότητες ώστε να αποτελούν αξιοποιήσιμα κοιτάσματα, δηλαδή σε κατάλληλες φυσικές συγκεντρώσεις ώστε να υπάρχει οικονομικό όφελος και παράλληλα μειωμένες περιβαλλοντικές επιπτώσεις μέσω της εξόρυξής τους²¹⁴. Για το λόγο αυτό και η ονομασία τους «σπάνιες γαίες» αναφέρεται περισσότερο στην περιορισμένη διάθεση τους στην αγορά, παρά στη διαθεσιμότητα και τα συνολικά αποθέματα του φλοιού της Γης, αντανακλώντας και την μεγάλη γεωπολιτική σημασία τους²¹⁴.



ΣΧΗΜΑ 1-30 Απεικόνιση της οξειδοαναγωγικής δράσης της επιφάνειας των δύο σταθερών νανο-οξειδίων δημητρίου. *Σχήμα από Nanoscale 3, 1411–1420 (2011).

Το άτομο δημητρίου έχει την ικανότητα να προσαρμόζει εύκολα την ηλεκτρονιακή του διαμόρφωση ώστε να ταιριάζει καλύτερα στο άμεσο περιβάλλον του²¹⁵. Σχηματίζονται δύο σειρές οξειδίων τρισθενούς και τετρασθενούς δημητρίου, τα Ce₂O₃ και CeO₂ (βλ. **Σχήμα 1-30**). Σε αντίθεση με άλλα στοιχεία των λανθανίδων²¹⁶, το άτομο Ce εμφανίζει δυο σταθερές οξειδωτικές καταστάσεις, την ανηγμένη Ce³⁺ (με ένα ηλεκτρόνιο να καταλαμβάνει το τροχιακό 4f)²¹⁷ και την οξειδωμένη Ce⁴⁺ (βλ. **Σχήμα 1-31**).

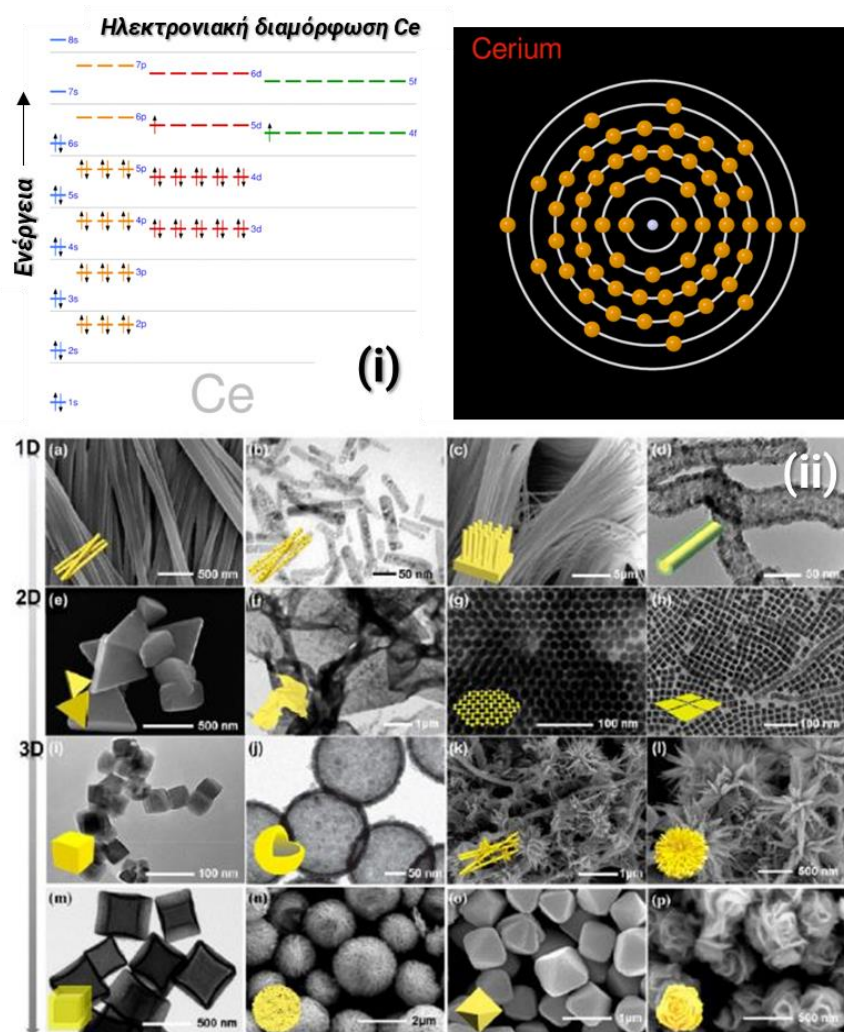
Τα άλατα του τρισθενούς δημητρίου είναι άχρωμα και δεν παρουσιάζουν φάσμα απορρόφησης²¹⁵. Αντίθετα του τετρασθενούς εμφανίζονται ως από κίτρινα, πορτοκαλί έως ερυθρά²¹⁵. Το χλωριούχο δημήτριο ($Ce^{+3}Cl_3$) χρησιμοποιείται ως καταλύτης στις αντιδράσεις καρβονυλικών ενώσεων στην οργανική χημεία. Ως μέταλλο, το δημήτριο αντιδρά απευθείας με τα αλογόνα σχηματίζοντας τα αντίστοιχα άλατα, ενώ αντιδρά, επιπλέον, με διαλύματα οξέων προς έκλυση υδρογόνου (αντίδραση **(1-2)**):



Τα νανο-οξειδία του δημητρίου (CeONPs), γνωστά και ως *νανοσίρια* (nanocerria), χάρη στη δομή και τις ιδιότητές τους εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τις τεχνολογίες κατάλυσης²¹⁸⁻²²² καθώς βρίσκουν χρήση σε κυψέλες καυσίμου, στη διαχείριση εκπομπών καυσαερίων, την φωτοκατάλυση, τη θερμοχημική διάσπαση νερού και σε οργανικές αντιδράσεις²²³. Επιπλέον, αποτελούν κύριο παράγοντα βιοτεχνολογικών εφαρμογών²²⁴⁻²²⁷ κυρίως λόγω της αντιοξειδωτικής και βιοκτόνου δράσης τους^{228,216,229,230,228}.

Η μοναδιαία κυψελίδα μιας καθαρής κρυσταλλικής νανο-δομής CeO_2 αποτελείται από κατιόντα Ce^{4+} -*ευνοείται δηλαδή η ηλεκτρονιακή διαμόρφωση του ζένου (Xe)*- που σχηματίζουν δομή τύπου φθορίτη (fluoride type) σε εδροκεντρωμένο κυβικό πλέγμα (face-centered cubic, FCC)²³¹, με το καθένα να περιστοιχίζεται από οκτώ άτομα οξυγόνου συνθέτοντας έναν κύβο²³² (**Σχήμα 1-32**). Ένα επιπλέον κατιόν Ce^{4+} είναι ενσωματωμένο σε κάθε δεύτερο κύβο οξυγόνου²³¹. Επομένως, το άτομο Ce^{4+} παρουσιάζει οκταεδρική γεωμετρία ενώ το άτομο O τετραεδρική²³¹.

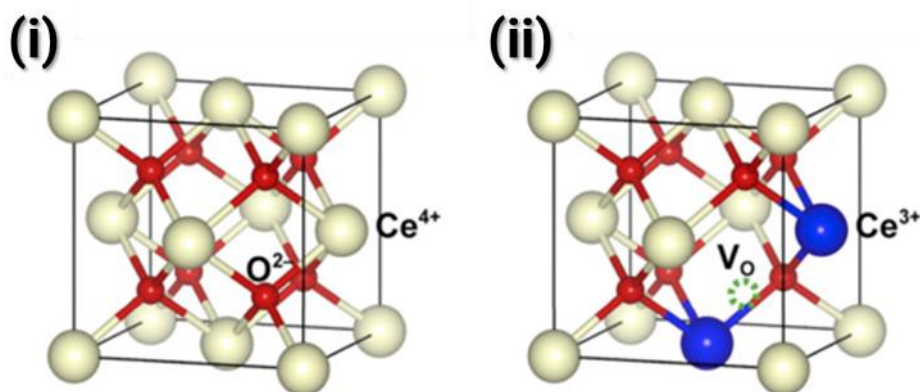
Ωστόσο, μια 100% καθαρή φάση CeO_2 δεν μπορεί να υπάρξει υπό φυσιολογικές συνθήκες περιβάλλοντος σύμφωνα με το διάγραμμα φάσης Ce–O²³³, λαμβάνοντας υπόψη την χαμηλή ενέργεια σχηματισμού μιας κενής θέσης οξυγόνου που είναι μόνο 0.39 eV²³⁴. Τα οξειδία του δημητρίου διαμορφώνονται σε διάφορα σχήματα, με πιο κοινή μορφολογία αυτή των κύβων, όπως φαίνεται στην εικόνα TEM¹⁷³ στο Σχήμα 1-31.



ΣΧΗΜΑ 1-31 (i) Ηλεκτρονική διαμόρφωση ατόμου δημητρίου (Ce) και (ii) εικόνες TEM νανοϋλικών CeO₂ που αναδεικνύουν την διαφορετική μορφολογία που μπορεί να έχουν υλικά αυτού του τύπου. *Σχήματα τροποποιημένα από διαδίκτυο και ACS Appl. Nano Mater. 2022, 5, 14147-14170.

Αντίθετα, συνήθως υπάρχει μια σημαντική συγκέντρωση εγγενών ατελειών (defects) του πλέγματος, με ένα μέρος δημητρίου στην κατάσταση σθένους Ce³⁺ να προσδίδει στο πλέγμα έλλειψη θετικού φορτίου που -τις περισσότερες φορές- αντισταθμίζεται από την ύπαρξη κενών θέσεων οξυγόνου (oxygen vacancies, V_{os})²¹⁵. Η σχετική αναλογία ιόντων δημητρίου στις δυο οξειδωτικές καταστάσεις Ce³⁺ και Ce⁴⁺ είναι συνάρτηση του μεγέθους των σωματιδίων²¹⁵. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση πλεγματικών Ce³⁺ είναι συνήθως ανάλογη της μείωσης του μεγέθους των νανοϋλικών²¹⁵. Έτσι, στη νανομορφή τους τα οξείδια του δημητρίου αποκτούν, την ιδιαίτερα χρήσιμη

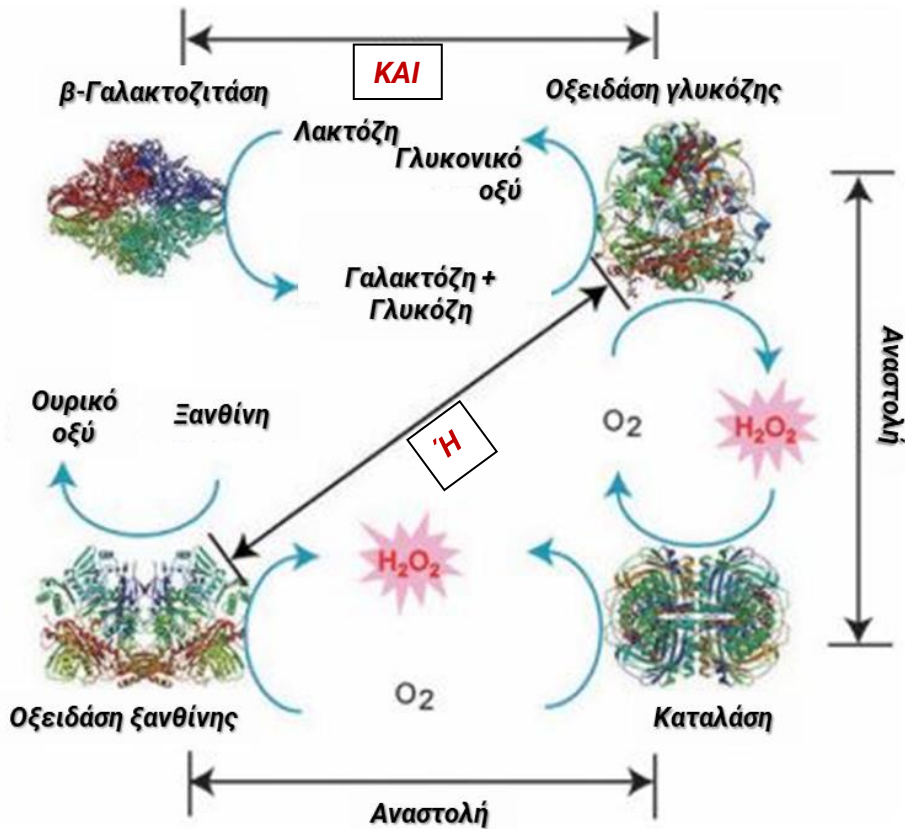
για τη βιομηχανία, ικανότητά τους να προσλαμβάνουν, αποθηκεύουν και απελευθερώνουν μοριακό οξυγόνο (O_2)²²¹ με μεγάλη απόδοση²³⁵.



ΣΧΗΜΑ 1-32 (i) Η μοναδιαία κυψελίδα μιας καθαρής κρυσταλλικής νανο-δομής CeO_2 αποτελείται από κατιόντα Ce^{4+} -ευνοείται δηλαδή η ηλεκτρονιακή διαμόρφωση του ξένου (Xe)- που σχηματίζουν δομή τύπου φθορίτη (fluorite type) σε εδροκεντρωμένο κυβικό πλέγμα (face-centered cubic, FCC) με το καθένα να περιστοιχίζεται από οκτώ άτομα οξυγόνου συνθέτοντας έναν κύβο. (ii) νανο-δομή CeO_2 με ατέλειες πλέγματος. *Σχήμα τροποποιημένο από *Surf. Sci. Rep.* 2018;73(1):1-36.

1.4.3. Βιομιμητική δράση οξειδίων δημητρίου ($CeONPs$)

Η νανοσίρια μπορεί να έχει διπλό ρόλο ως καταλύτης οξείδωσης και καταλύτης αναγωγής, ανάλογα με τις συνθήκες αντίδρασης²¹⁵. Η δράση αυτή προκύπτει ως αποτέλεσμα της δυνατότητας του Ce να εναλλάσσει τις δυο οξειδωτικές του καταστάσεις προκαλώντας αναδιατάξεις του κρυσταλλικού πλέγματος, το οποίο περνά από την οξυγονωμένη (και πλήρως οξειδωμένη) μορφή CeO_2 σε ανηγμένη δομή με έλλειμμα οξυγόνου CeO_{2-x} ²¹⁵. Τα ιόντα Ce^{4+} καθώς και οι χαμηλές ενέργειες σχηματισμού επιφανειακών κενών θέσεων είναι σημαντικές για διεργασίες οξείδωσης²¹⁵. Αντίθετα, η ανακατανομή των ηλεκτρονίων στις εσωτερικές κενές θέσεις του πλέγματος παρουσία Ce^{3+} παρέχουν στο σύστημα αναγωγική ισχύ²¹⁵. Επιπλέον, η προσθήκη ή η αφαίρεση ατόμων οξυγόνου κατά τη διαδικασία οξείδωσης ή αναγωγής περιλαμβάνει μια ελάχιστη αναδιοργάνωση της διάταξης του πλέγματος των ατόμων δημητρίου και τη διατήρηση της δομής του φθορίτη^{215,236}. Αυτή η δομική σταθερότητα διευκολύνει την αναγεννητική ικανότητα των $CeONP$ στην αρχική τους κατάσταση ευνοώντας την καταλυτική τους δράση²¹⁵, η οποία μιμείται οξειδοαναγωγικές βιολογικές δράσεις²³⁷ τόσο ενζυμικών (π.χ. δράση τύπου CAT, SOD, GPx κ.ά. όπως περιγράφονται στο **Σχήμα 1-33**, όσο και μη ενζυμικών συστημάτων (π.χ. αδρανοποίηση ριζών $\bullet OH$)²³⁸.



ΣΧΗΜΑ 1-33 Απεικόνιση δράσης κοινών ενζύμων. *Σχήμα τροποποιημένο από Nanoscale 3, 1411–1420 (2011).

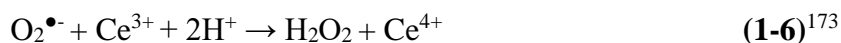
(i) Δράση τύπου υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD-mimetic activity)

Η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) είναι ένα ένζυμο που επιδιορθώνει τα κύτταρα και μειώνει τη ζημιά που προκαλείται σε αυτά από το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂), το πιο κοινό οξειδωτικό που υπάρχει στον ανθρώπινο οργανισμό²³⁹. Καταλύει την αντίδραση αναγωγής και οξείδωσης της υπεροξειδικής ρίζας O₂^{•-} σε H₂O₂ και O₂ σύμφωνα με τις αντιδράσεις (1-3) και (1-4):



Όπου, M=Cu (n=1), Mn (n=2), Fe (n=2) και Ni (n=2).

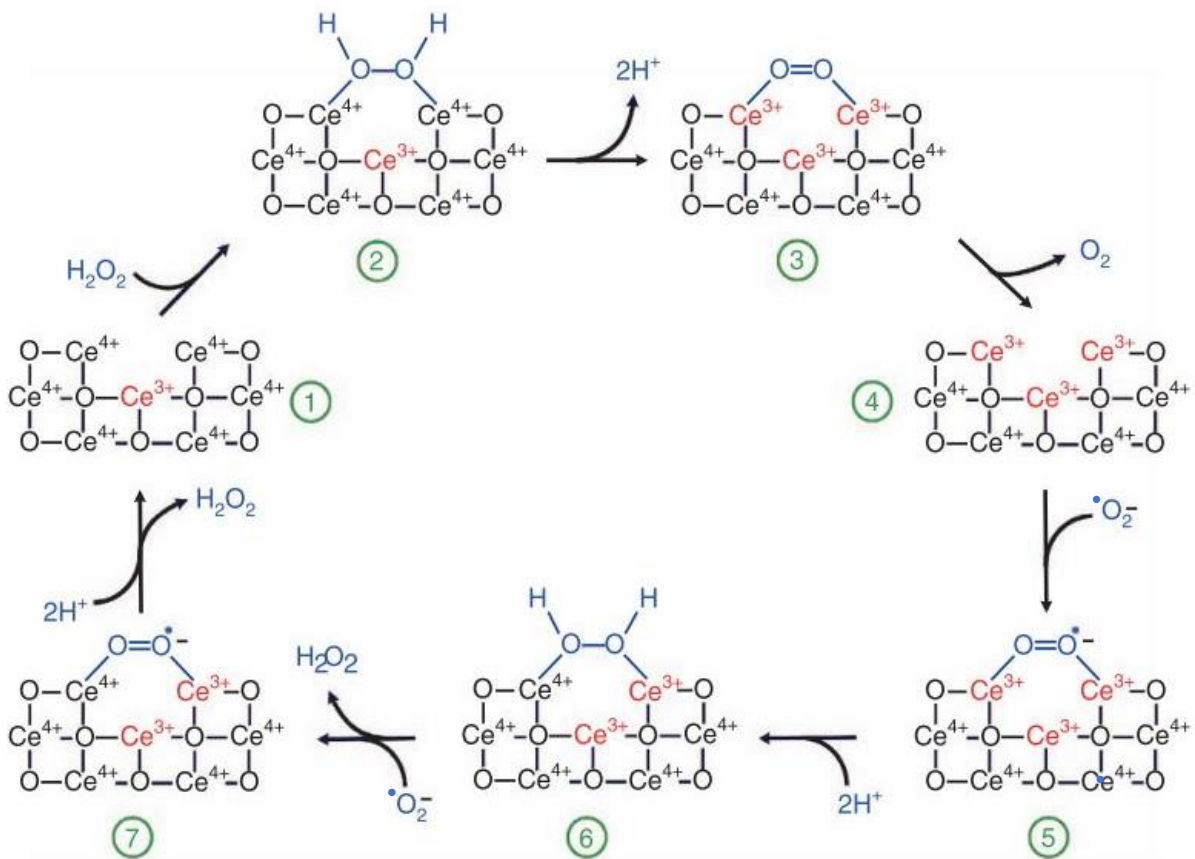
Στην αντίδραση αυτή, η οξειδωτική κατάσταση του μεταλλικού κατιόντος ταλαντεύεται μεταξύ των καταστάσεων n και $n+1$. Στο πλαίσιο αυτό, η ικανότητα εναλλαγής²²⁹ των Ce^{3+}/Ce^{4+} δυνητικά προσδίδει στη νανοσίρια δράση τύπου-SOD. Βιβλιογραφικά, αναφέρονται *in vitro* μελέτες, όπου αποδεικνύεται πως CeONPs με μεγαλύτερη αναλογία Ce^{3+}/Ce^{4+} παρουσιάζουν πιο ισχυρή δράση τύπου-SOD^{240,241,242}. Στις αντιδράσεις **(1-5)** και **(1-6)** παρουσιάζεται ο προτεινόμενος μηχανισμός δράσης τύπου-SOD για τα υλικά νανοσίριας:



Η συνεχής εναλλαγή μεταξύ των δύο οξειδωτικών καταστάσεων διευκολύνεται όταν η αναλογία μεταξύ Ce^{3+}/Ce^{4+} είναι μεγαλύτερη (όταν δηλαδή αυξάνεται η συγκέντρωση των Ce^{3+})²³⁸. Έχει προταθεί ένας περισσότερο λεπτομερής μοριακός μηχανισμός²⁴³ που αφορά την δράση τύπου-SOD της νανοσίριας, όπως περιγράφεται στο **Σχήμα 1-34**.

Σύμφωνα λοιπόν, με το Σχήμα 1-34, εάν το **(4)** θεωρηθεί η αρχική κατάσταση του υλικού, το $O_2^{\bullet-}$ μπορεί να δεσμευθεί σε κενές θέσεις οξυγόνου γύρω από δυο Ce^{3+} **(5)**. Στη συνέχεια, ένα ηλεκτρόνιο μεταφέρεται από ένα Ce^{3+} σε ένα άτομο οξυγόνου. Δυο πρωτόνια του διαλύματος μπορούν επιπλέον να δεσμευθούν στα δύο ηλεκτραρνητικά άτομα O προς σχηματισμό ενός μορίου H_2O_2 , το οποίο απελευθερώνεται **(6)**. Οι εναπομένουσες κενές θέσεις οξυγόνου προσδίδουν θέσεις δέσμησης για ένα δεύτερο μόριο $O_2^{\bullet-}$ **(7)**. Μετά και από αυτήν την αντίδραση, απελευθερώνεται ένα ακόμη μόριο H_2O_2 και τα δύο ανηγμένα ιόντα Ce^{3+} οξειδώνονται προς Ce^{4+} **(1)**. Η αντίδραση όμως δεν σταματά σε αυτό το βήμα. Μια κενή θέση οξυγόνου στην επιφάνεια ισούται με δύο Ce^{4+} , δηλαδή μια θέση δέσμησης ενός μορίου H_2O_2 **(2)**. Με τον τρόπο αυτό, το H_2O_2 αποκτά στο σημείο αυτό χαρακτήρα αναγωγικού παράγοντα. Μετά την απελευθέρωση πρωτονίων, δύο ηλεκτρόνια μεταφέρονται στα δύο άτομα Ce^{4+} με αποτέλεσμα την αναγωγή τους σε Ce^{3+} **(3)**. Στη συνέχεια, απελευθερώνεται οξυγόνο και η ανηγμένη κενή θέση οξυγόνου επιστρέφει στην αρχική της κατάσταση **(4)**²⁴³.

Παρουσία νανο-οξειδίων δημητρίου το H_2O_2 δρα τόσο οξειδωτικά όσο και αναγωγικά. Ωστόσο, τα δομικά χαρακτηριστικά των υλικών νανοσίριας είναι αυτά που τους επιτρέπουν να επανέλθουν στην αρχική τους κατάσταση. Κινητικές μελέτες²⁴⁰, αποδεικνύουν την πολύ καλή δραστηριότητα νανοσίριας μεγέθους 3-5 nm, η καταλυτική απόδοση των οποίων ξεπερνά αυτή του ενζύμου SOD.

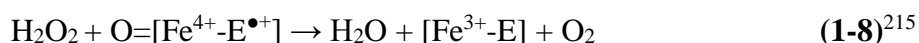
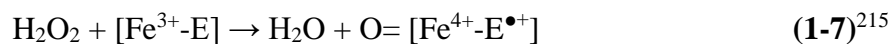


ΣΧΗΜΑ 1-34 ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΟΣ ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΟΥ ΑΦΟΡΑ ΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΤΥΠΟΥ-SOD ΤΗΣ ΝΑΝΟΣΙΡΙΑΣ:

Εάν το **(4)** θωρηθεί η αρχική κατάσταση του υλικού, το O₂^{•-} μπορεί να δεσμευθεί σε κενές θέσεις οξυγόνου γύρω από δυο Ce³⁺ **(5)**. Στη συνέχεια, ένα ηλεκτρόνιο μεταφέρεται από ένα Ce³⁺ σε ένα άτομο οξυγόνου. Δυο πρωτόνια του διαλύματος μπορούν επιπλέον να δεσμευθούν στα δύο ηλεκτραρνητικά άτομα O προς σχηματισμό ενός μορίου H₂O₂ το οποίο απελευθερώνεται **(6)**. Οι εναπομένουσες κενές θέσεις οξυγόνου προσδίδουν θέσεις δέσμευσης για ένα δεύτερο μόριο O₂^{•-} **(7)**. Μετά και από αυτήν την αντίδραση, απελευθερώνεται ένα ακόμη μόριο H₂O₂ και τα δύο ανηγμένα ιόντα Ce³⁺ οξειδώνονται προς Ce⁴⁺ **(1)**. Η αντίδραση όμως δεν σταματά σε αυτό το βήμα. Μια κενή θέση οξυγόνου στην επιφάνεια ισούται με δύο Ce⁴⁺, δηλαδή μια θέση δέσμευσης ενός μορίου H₂O₂ **(2)**. Με τον τρόπο αυτό, το H₂O₂ αποκτά στο σημείο αυτό χαρακτήρα αναγωγικού παράγοντα. Μετά την απελευθέρωση πρωτονίων, δύο ηλεκτρόνια μεταφέρονται στα δύο άτομα Ce⁴⁺ με αποτέλεσμα την αναγωγή τους σε Ce³⁺ **(3)**. Στη συνέχεια, απελευθερώνεται οξυγόνο και η ανηγμένη κενή θέση οξυγόνου επιστρέφει στην αρχική της κατάσταση **(4)**. *Σχήμα τροποποιημένο από Nanoscale 3, 1411–1420 (2011).

(ii) Δράση τύπου καταλάσης (CAT-mimetic activity)

Η καταλάση²⁴⁴ (CAT) είναι ένα προστατευτικό ένζυμο που βρίσκεται σε σχεδόν όλους τους ζωντανούς οργανισμούς που εκτίθενται σε οξυγόνο. Καταλύει την διάσπαση του πολύ δραστικού και δυνητικά επικίνδυνου οξειδωτικού παράγοντα H_2O_2 ²¹⁵. Ο πιο πιθανός μηχανισμός της καταλυτικής δράσης της CAT περιλαμβάνει δύο στάδια και περιγράφεται στις αντιδράσεις (1-7) και (1-8).

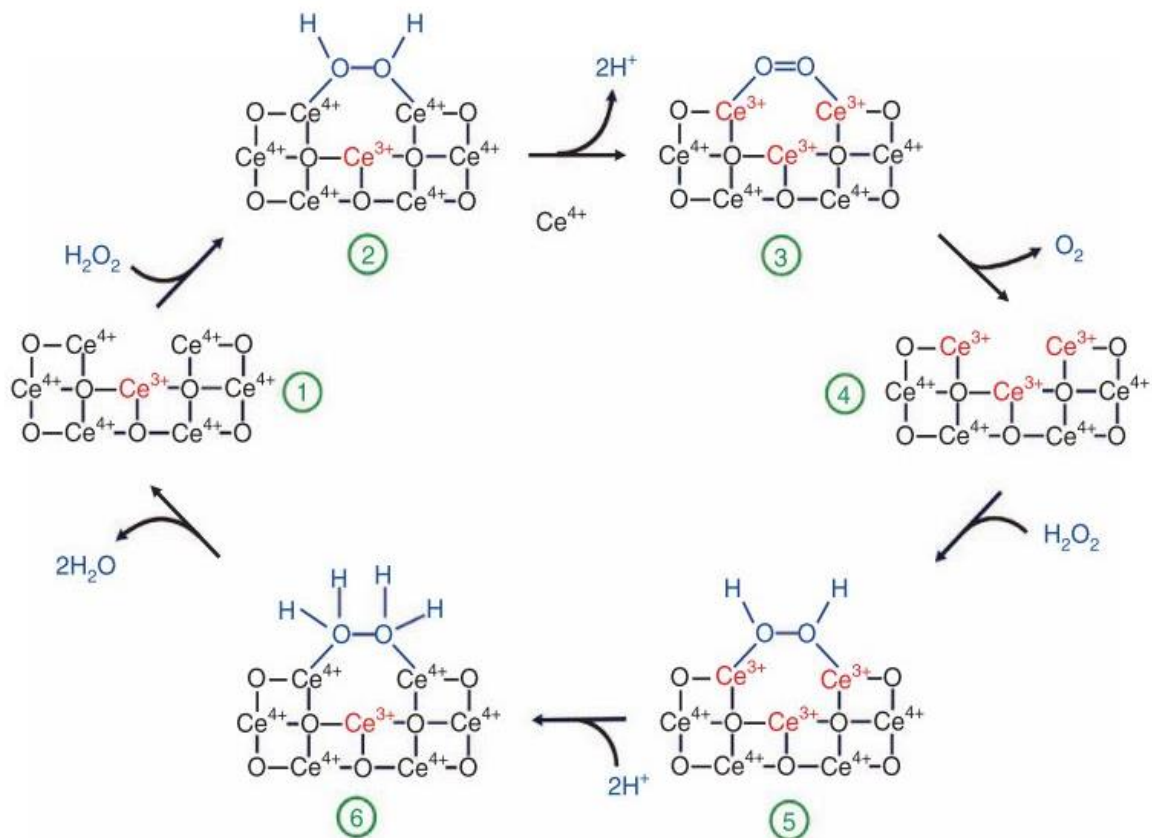


όπου, το $[\text{Fe}^{3+}\text{-E}]$ αντιπροσωπεύει το μεταλλικό κέντρο σιδήρου της αιμικής ομάδας του ενζύμου και $[\text{Fe}^{4+}\text{-E}^{\bullet+}]$ είναι μια μεσομερής μορφή του $\text{Fe}^{3+}\text{-E}$ ²¹⁵.

Σε αντίθεση με την δράση τύπου-SOD, μελέτες αποδεικνύουν πως η δράση τύπου-CAT ευνοείται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις κατιόντων Ce^{4+} σε σχέση με την ανηγμένη οξειδωτική κατάσταση του δημητρίου (Ce^{3+})²¹⁵. Ένας προτεινόμενος μοριακός μηχανισμός δράσης τύπου-CAT των νανο-οξειδίων δημητρίου²⁴³ (βλ. Σχήμα 1-35) περιλαμβάνει δυο ημιαντιδράσεις και απεικονίζεται στο **Σχήμα 1-35**. Η πρώτη ημιαντίδραση περιγράφεται από τα στάδια (1-4). Ένα μόριο H_2O_2 αντιδρά με κατιόντα Ce^{4+} τα οποία ανάγονται σε Ce^{3+} απελευθερώνοντας πρωτόνια και O_2 . Η δεύτερη ημιαντίδραση (αναγωγής) περιγράφεται στα στάδια (4-1). Ένα δεύτερο μόριο H_2O_2 προσδένεται σε μια κενή θέση οξυγόνου (5), οξειδώνει τα κέντρα Ce^{3+} τα οποία επανέρχονται στην αρχική τους οξειδωτική κατάσταση Ce^{4+} απελευθερώνοντας H_2O . Τα δύο αυτά στάδια είναι ανάλογα του μηχανισμού δράσης της CAT²⁴³.

Αξίζει να σημειωθεί, πως το H_2O_2 που παράγεται όταν τα CeONPs έχουν δράση τύπου-SOD (βλ. αντίδραση (1-6)), είναι δυνητικά περισσότερο επικίνδυνο από την παρουσία $\text{O}_2^{\bullet-}$ καθώς η αυξημένη συγκέντρωση H_2O_2 αποτελεί γόνιμο έδαφος για την αντίδραση Fenton μέσω της οποίας παράγονται ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$). Οι ρίζες υδροξυλίου αποτελούν ένα από τα πιο βλαβερά δραστικά είδη οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS). Είναι επομένως εξαιρετικά σημαντικό, το ότι τα νανοϋλικά σίριας παρουσιάζουν ταυτόχρονα δράση τύπου SOD και CAT.

Με τον τρόπο αυτό, τα βλαβερά μόρια H_2O_2 που παράγονται κατά τη δράση τύπου-SOD, μπορούν να εισαχθούν στον κύκλο της δράσης τύπου-CAT και να διασπαστούν σε αβλαβή μόρια H_2O , και O_2 ²¹⁵. Η ταυτόχρονη δράση των δυο αυτών μηχανισμών δίνουν στα νανο-οξείδια δημητρίου την ιδιότητα του πολύ αποδοτικού αντιοξειδωτικού συστήματος²¹⁵.



ΣΧΗΜΑ 1-35 Προτεινόμενος μηχανισμός για την καταλυτική διάσπαση του H₂O₂ (δράση τύπου-CAT) νανο-οξειδίων δημητρίου (CeONPs):

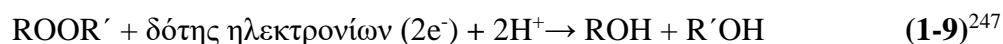
Η πρώτη ημιαντίδραση περιγράφεται από τα στάδια (1-4). Ένα μόριο H₂O₂ αντιδρά με δύο κατιόντα Ce⁴⁺ τα οποία ανάγονται σε Ce³⁺ απελευθερώνοντας πρωτόνια και O₂. Η δεύτερη ημιαντίδραση (αναγωγής) περιγράφεται στα στάδια (4-1). Ένα δεύτερο μόριο H₂O₂ προσδένεται σε μια κενή θέση οξυγόνου (5), οξειδώνει τα δύο Ce³⁺ τα οποία επανέρχονται στην αρχική τους οξειδωτική κατάσταση Ce⁴⁺ απελευθερώνοντας H₂O. Τα δύο αυτά στάδια είναι ανάλογα του μηχανισμού δράσης της CAT. *Σχήμα από Nanoscale 3, 1411–1420 (2011).

Η αντιοξειδωτική δράση των CeONPs εξαρτάται από το είδος της συνεργιστικής δράσης των δυο παραπάνω βιομιμητικών μηχανισμών όπου θα πρέπει να εξασφαλίζεται ότι ο ρυθμός κατανάλωσης H₂O₂ είναι ίσος ή μεγαλύτερος του ρυθμού παραγωγής του. Ωστόσο, πρόσφατες έρευνες αναφέρουν πως πέρα από τα δομικά χαρακτηριστικά (όπως το μέγεθος) που προσδιορίζουν την αναλογία Ce³⁺/Ce⁴⁺, η αντιοξειδωτική δράση επηρεάζεται και από παράγοντες όπως το pH^{52,173,245} ή την παρουσία άλλων χημικών ειδών (και ιδιαίτερα ρυθμιστικών διαλυμάτων, buffers)²⁴⁶.

Είναι χαρακτηριστικό πως παρουσία φωσφορικών ρυθμιστικών διαλυμάτων αναστέλλεται η δράση τύπου-SOD ενώ ενισχύεται η δράση τύπου-CAT. Λαμβάνοντας υπόψιν πως τα φωσφορικά είδη είναι βασικά συστατικά των βιολογικών συστημάτων, η επίδρασή τους στην αντιοξειδωτική ικανότητα των CeONPs θα πρέπει να αποτελεί σημείο προσοχής όταν αυτή μελετάται σε βιολογικά δείγματα (κύτταρα ή ζώα)²¹⁵. Αντίστοιχα, το pH μπορεί να μεταβάλλει δραστικά την αντιοξειδωτική δράση των CeONPs. Η αποδοτική δράση τύπου-CAT²⁴³ σε φυσιολογικές τιμές pH αναστέλλεται κάτω από όξινες συνθήκες. Αντίθετα, η δράση τύπου-SOD δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από μεταβολές του pH. Αυτό σημαίνει πως σε όξινες συνθήκες η νανοσίρια δεν έχει τη δυνατότητα να διασπά το H₂O₂ ενώ ο ρυθμός παραγωγής του δεν μεταβάλλεται. Το γεγονός αυτό καθιστά επικίνδυνη την παρουσία νανοσίριας σε ένα περιβάλλον χαμηλού pH.

(iii) Δράση τύπου υπεροξειδάσης

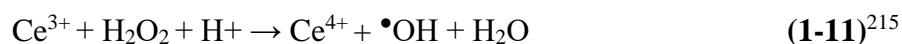
Οι υπεροξειδάσες²⁴⁷ ανήκουν στην κατηγορία των πολύ κοινών σε βιολογικά συστήματα ενζύμων που ονομάζονται οξειδοοδουκτάσες (oxidoreductases). Καταλύουν την αναγωγή υπεροξειδίων και οξειδώνουν διάφορα υποστρώματα όπως περιγράφεται στην αντίδραση (1-9).



Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) συνιστά μια οικογένεια διαφορετικών ενζύμων²⁴⁷ που περιέχουν μια σεληνοκυστεΐνη στο ενεργό τους κέντρο και κύρια λειτουργική αποστολή την προστασία του οργανισμού από το οξειδωτικό στρες καταλύοντας τη διάσπαση του H₂O₂ σε H₂O (αντίδραση (1-10)).



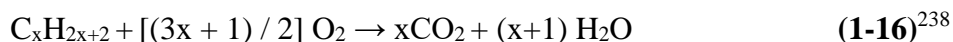
Τελευταία πολλά νανοϋλικά εξετάζονται ως τεχνητές υπεροξειδάσες, καθώς παρουσιάζουν μεγαλύτερη σταθερότητα, χαμηλή τιμή παραγωγής και ευκολία στην παρασκευή τους^{233,248}. Στην περίπτωση των οξειδίων μετάλλων μετάπτωσης, η δράση τύπου-υπεροξειδάσης προκύπτει από την καταλυτική ικανότητα των μεταλλικών ιόντων που μοιάζει με την αντίδραση Fenton παρουσία H₂O₂ (βλ. αντιδράσεις (1-11 - 1-13))²¹⁵.



(iv) Δράση τύπου οξειδάσης

Η οικογένεια των οξειδασών από την άλλη αποτελείται από ένζυμα που καταλύουν οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που περιέχουν μοριακό οξυγόνο (O₂) ως δέκτη ηλεκτρονίων²⁴⁹. Η σημασία τόσο των οξειδασών όσο και των υπεροξειδασών είναι μεγάλη για την ισορροπημένη λειτουργία των βιολογικών συστημάτων. Όπως αναφέρει έρευνα, η συντεθειμένη μέσω υγρής μεθόδου νανοσίρια παρουσιάζει δράση τύπου-οξειδάσης καθώς είναι σε θέση να οξειδώσει διάφορα οργανικά υποστρώματα χωρίς την παρουσία άλλου οξειδωτικού παράγοντα²⁵⁰. Ωστόσο, αντίθετα με την ακατάβλητη δράση των οξειδασών, η δράση των νανοδομών σίριας εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Αναφέρεται χαρακτηριστικά πως σε όξινες συνθήκες είναι άτοπο να θεωρείται πως τα CeONPs παρουσιάζουν δράση τύπου οξειδάσης καθώς διαλυτοποιούνται²⁵¹ και συνεπώς δεν διατηρούν την ικανότητα ανακύκλωσής τους. Μπορούν εντούτοις να θεωρούνται απλοί οξειδωτικοί παράγοντες χωρίς καταλυτική δράση. Το αντίθετο ισχύει σε ουδέτερο και αλκαλικό pH όπου η ικανότητα συνεχούς μεταβολής μεταξύ των δύο οξειδωτικών καταστάσεων ευνοείται προδίδοντας καταλυτική δράση²¹⁵. Επιπλέον, το δυναμικό οξειδοαναγωγής είναι ένας ακόμη παράγοντας που καθορίζει την ειδική δράση των CeONPs²¹⁵.

Η δράση τους που ενίοτε μιμείται πιστά την αντίστοιχη δράση ενζύμων και άλλοτε διαφοροποιείται λόγω της ιδιαιτερότητας της δομής τους, επιτρέπει στα νανο-οξειδία του δημητρίου να βρίσκουν βιομηχανική εφαρμογή ως καταλύτες οξείδωσης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα δράση τύπου-οξειδάσης αποτελεί η μετατροπή υδρογονανθράκων, CO και NO_x όπως περιγράφονται στις αντιδράσεις **(1-14 - 1-16)**.

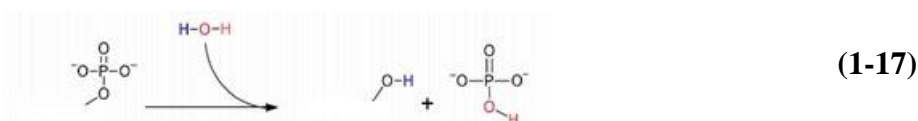


(v) Δράση τύπου φωσφατάσης

Μια ακόμη λειτουργία που μπορεί να μιμηθεί η νανοσίρια λόγω της οξειδοαναγωγικής ικανότητας της επιφάνειάς της είναι αυτή μιας *φωσφατάσης*. Η φωσφατάση²⁵² είναι ένα ένζυμο που καταλύει την απομάκρυνση φωσφορικών ομάδων από ένα υπόστρωμα μέσω της υδρόλυσης μονοεστέρων φωσφορικού οξέος σε φωσφορικά ιόντα (βλ. αντίδραση **(1-17)**). Κάποια μεταλλικά

ίοντα, καθώς και σύμπλοκα αυτών, έχουν χρησιμοποιηθεί ως τεχνητές φωσφοεστεράσες (phosphoesterases) για την αύξηση του ρυθμού υδρόλυσης φωσφορικών εστέρων μέσω διάφορων μηχανισμών (π.χ. ενεργοποίηση οξέων κατά Lewis, πυρηνόφιλων και αποχωρουσών ομάδων).

Ως οξέα κατά Lewis, κάποια ίοντα -και σύμπλοκα- λανθανίδων έχουν αναφερθεί βιβλιογραφικά ως ιδιαίτερα αποδοτικά συστήματα για την υδρόλυση φωσφοεστέρων, με το Ce που οξειδώνεται πολύ εύκολα στην τετρασθενή οξειδωτική του κατάσταση να κατέχει ξεχωριστή θέση ανάμεσά τους^{253,254}.



Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει πως τα υλικά νανοσίριας (CeONPs) μπορούν να υδρολύσουν φωσφορικούς εστερικούς δεσμούς σε μόρια βιολογικού ενδιαφέροντος, εκτός του DNA^{241,255,256,257}. Επιπλέον, μπορούν να ρυθμίσουν την αποφωσφορυλίωση φωσφοπεπτιδίων. Διάφοροι μηχανισμοί, συχνά αντικρουόμενοι, έχουν αναφερθεί για την περιγραφή της δράσης τύπου-φωσφατάσης των CeONPs.

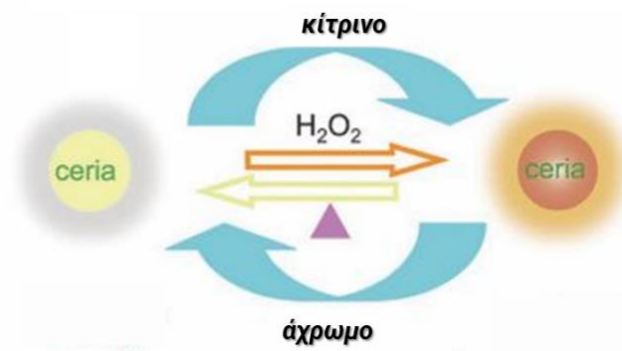
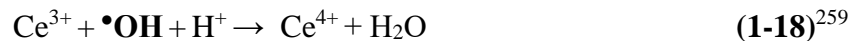
Αρχικά, έχει προταθεί πως ως ισχυρά οξέα κατά Lewis, η ικανότητα αποφωσφορυλίωσης των CeONPs οφείλεται κυρίως στην ένταξη του φωσφορυλ-οξυγόνου στο Ce^{4+} και πυρηνόφιλης ενεργοποίησης λόγω ένταξης του υδροξυλίου με το Ce^{4+} . Με τον τρόπο αυτό, τα CeONPs μπορούν να θεωρηθούν πολυπυρηνικές ενώσεις μετάλλου-οξυγόνου υψηλής καταλυτικής απόδοσης καθώς παρουσιάζουν πολλαπλές συνεργιστικές δράσεις. Ωστόσο, σε επόμενη έρευνα παρατηρήθηκε πως αντίθετα με ό,τι συμβαίνει στην ιοντική μορφή του δημητρίου, η ικανότητα αποφωσφορυλίωσης των οξειδίων του συναρτάται με την παρουσία τρισθενούς δημητρίου (Ce^{3+}) και αναστέλλεται όταν αυτά οξειδώνονται σε Ce^{4+} .

Τα φαινομενικά αντικρουόμενα αυτά φαινόμενα, αφήνουν ανοιχτό το ενδεχόμενο όμοια με τις άλλες βιομιμητικές δράσεις, και η δράση τύπου-φωσφατάσης να είναι ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο που διαμορφώνεται μέσω μιας δυναμικής σχέσης με τις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες²¹⁵ (π.χ., η θερμοκρασία έχει μικρή επίπτωση στην ικανότητα αποφωσφορυλίωσης²¹⁵).

(vi) Αδρανοποίηση ελευθέρων ριζών υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$)

Οι ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$) αποτελούν ένα από τα ισχυρότερα οξειδωτικά συστήματα⁶⁰ και μια από τις πιο δραστικές βιολογικά ενεργές ενώσεις οξυγόνου²⁵⁸. Τα βιολογικά συστήματα προστατεύονται από την βλαβερή δράση των $\bullet\text{OH}$ μέσω δυο μεθόδων: **(α)** ελαχιστοποιώντας την παραγωγή τους μέσω της δράσης κατάλληλων ενζύμων (υπεροξειδική δισμουτάση SOD, υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx), καταλάση (CAT)) και **(β)** αναστέλλοντας τις αλυσιδωτές αντιδράσεις υδροξυλίων με χρήση μη ενζυματικών αντιοξειδωτικών⁶⁰.

Στη βιβλιογραφία^{228,259,260,261} έχουν αναφερθεί έως σήμερα αρκετές έρευνες που συνδέουν τα CeONPs με την άμεση αδρανοποίηση ελευθέρων ριζών υδροξυλίου (βλ. αντίδραση **(1-18)**)²⁵⁹ και όχι μόνο με την έμμεση αντιμετώπισή τους λόγω της αναστολής της παραγωγής τους από οξειδωτικούς παράγοντες (πχ. H_2O_2)²⁶².

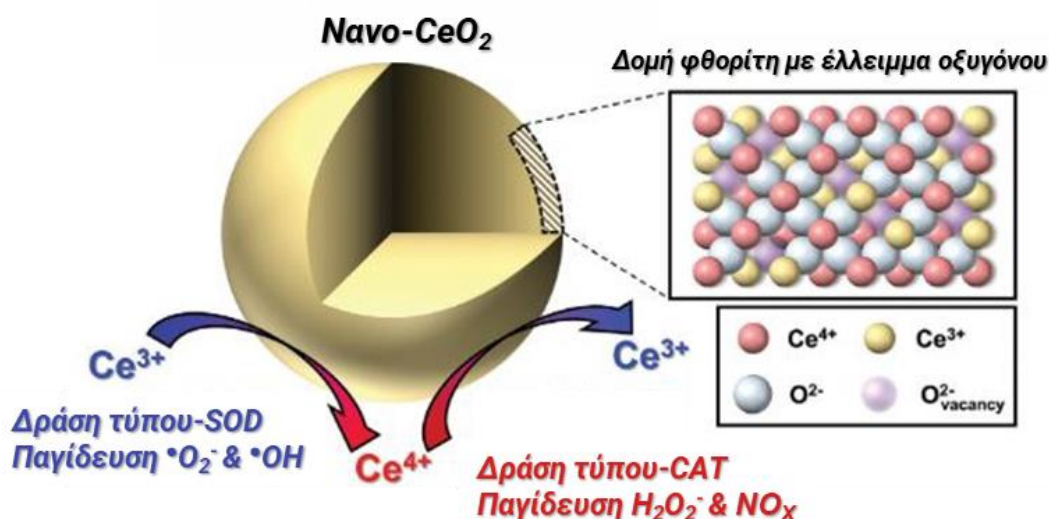


ΣΧΗΜΑ 1-36 Παρουσία H_2O_2 , τα νανο-οξείδια δημητρίου αλλάζουν το χρώμα τους από υποκίτρινο σε βαθύ πορτοκαλί, φαινόμενο που οφείλεται στην οξείδωση των κέντρων Ce^{3+} (άχρωμα) σε Ce^{4+} (πορτοκαλί). *Σχήμα τροποποιημένο από Nanoscale 3, 1411–1420 (2011).

Το φαινόμενο αυτό έχει θεωρηθεί βασικός μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης και έχει συσχετιστεί άμεσα με την προστασία έναντι οξειδωτικού στρες²⁶¹. Παρουσία H_2O_2 , τα νανο-οξείδια δημητρίου αλλάζουν το χρώμα τους από υποκίτρινο σε βαθύ πορτοκαλί (βλ. **Σχήμα 1-36**), φαινόμενο που οφείλεται στην οξείδωση των κέντρων Ce^{3+} (άχρωμα) σε Ce^{4+} (πορτοκαλί)²⁶¹. Έχει παρατηρηθεί,

ωστόσο, πως τα νανο-οξειδία δημητρίου έχουν την ικανότητα να επανέρχονται στην αρχική τους κατάσταση (επαναφορά του χρώματος της διασποράς σε υποκίτρινο) έως και 30 μέρες αργότερα²⁶¹.

Είναι σημαντικό να τονιστεί πως το pH διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αναγεννητική ικανότητα των CeONPs σε εναιώρημα²⁶¹. Μελέτες έχουν δείξει πως η αναγεννητική ικανότητά τους ευνοείται σε φυσιολογικές και αλκαλικές συνθήκες ενώ αναστέλλεται σε όξινο περιβάλλον. Το μέγεθος των νανοσωματιδίων καθορίζει ακόμη σε σημαντικό βαθμό την αντιοξειδωτική τους δράση. Τέλος, αξίζει να τονιστεί πως δεν υπάρχει κανένα βιολογικό ενζυμικό σύστημα με κύρια λειτουργία την άμεση παγίδευση των ελευθέρων ριζών υδροξυλίου²³⁸ όπως περιγράφεται στην αντίδραση (1-18). Το Σχήμα 1-37 απεικονίζει συνοπτικά την βιομιμητική δράση νανοδομών CeO_{2-x} .



Σχήμα 1-37 Σχηματική απεικόνιση της δομής και βιομιμητικής δράσης ενός νανοϋλικού CeO_{2-x} . Ο σχηματισμός μιας κενής θέσης οξυγόνου στο πλέγμα ακολουθείται από την αναγωγή του Ce^{4+} σε Ce^{3+} για την εξισορρόπηση του συνολικού φορτίου. Μικρότερα σε μέγεθος νανοσωματίδια περιέχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση κατιόντων Ce^{3+} και μεγαλύτερη ειδική επιφάνεια. Εύκολη μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ των Ce^{4+} και Ce^{3+} ευνοεί τις αντιδράσεις παγίδευσης ROS και RNS. Τέλος, τα κατιόντα Ce^{3+} σχετίζονται με την δράση τύπου-SOD και την παγίδευση $\cdot\text{OH}$ ενώ τα Ce^{4+} σχετίζονται με την δράση τύπου-CAT και την παγίδευση NO_x . *Σχήμα τροποποιημένο από Nanoscale 3, 1411–1420 (2011).

(vii) Αδρανοποίηση δραστικών ειδών αζώτου (Reactive Nitrogen Species, RNS)

Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως στην οξειδωμένη μορφή της, δηλαδή όταν η συγκέντρωση Ce^{4+} είναι μεγαλύτερη, η νανοσίρια αδρανοποιεί ευκολότερα δραστικά είδη αζώτου

(Reactive Nitrogen Species, RNS)⁶⁴. Όπως περιγράφεται και στην αντίδραση (1-19), τα CeONPs παγιδεύουν την δραστική ρίζα μονοξειδίου του αζώτου^{263,264}, μετατρέποντάς το σε NO⁺ με ταυτόχρονη αναγωγή των ίδιων (σε Ce³⁺)²⁶³.



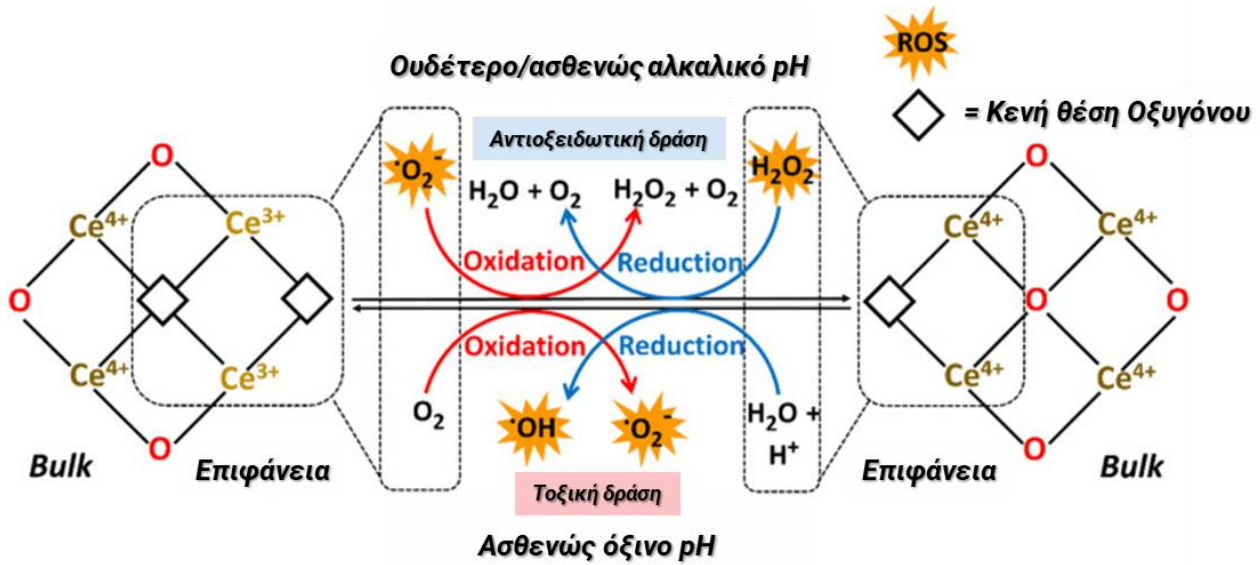
1.4.4. Τοξικότητα νανο-οξειδίων δημητρίου (CeONPs)

Η τοξικότητα των υλικών CeO₂ έχει πολλές εκφάνσεις, αντανακλώντας την πολύπλευρη δράση τους²⁶⁵. Για την τοξικότητά τους μπορεί να ευθύνονται μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως το μέγεθος και η δημιουργία συσσωματωμάτων ή απλά η δοσολογία²²⁹. Υπάρχουν τεράστιες διαφορές στα αποτελέσματα των *in vivo* και *in vitro* μελετών και ακόμη μεγαλύτερη ανάμεσα στα διαφορετικά είδη κυττάρων που χρησιμοποιούνται. Συνδυασμοί ανάμεσα σε δοσολογία, μέγεθος και οδό χορήγησης δίνουν τα πιο αμφιλεγόμενα αποτελέσματα. Σε ερευνητικό επίπεδο τα φαινόμενα τοξικότητας των υλικών CeO₂ δεν έχουν ακόμη αποκρυσταλλωθεί. Αντιθέτως, οι μελέτες που λαμβάνουν χώρα είναι πολύ στοχευμένες ως προς τη φύση των υλικών, τον τρόπο σύνθεσής τους, την επιφανειακή τους χημεία και τα κύτταρα που χρησιμοποιούνται. Παρά τις πολυάριθμες μελέτες, οι ερευνητές δεν είναι ακόμη σε θέση να εξάγουν συνολικά συμπεράσματα.

Σε μηχανιστικό επίπεδο, ο κύριος λόγος που κρύβεται πίσω από αυτή τη θολότητα που επισκιάζει τα φαινόμενα τοξικότητας της CeO₂ είναι το ότι συχνά αυτή φαίνεται να έρχεται σε αντίθεση με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Στην πραγματικότητα, ωστόσο, τα δύο αυτά φαινόμενα δεν είναι αμοιβαία αλληλοαποκλειόμενα καθώς πρόσφατες έρευνες αποδεικνύουν πως η ειδική δράση των νανοσωματιδίων CeO₂ καθορίζεται από μια σχέση μεταξύ των δομικών τους χαρακτηριστικών και των περιβαλλοντικών συνθηκών στο σύστημα που μελετάται^{227,238,266,267}.

Όπως φαίνεται και στο **Σχήμα 1-38**, το pH είναι ένας παράγοντας που ρυθμίζει την ειδική δράση των νανοϋλικών CeO₂ σε μεγάλο βαθμό καθώς σε ασθενώς όξινο περιβάλλον παρουσιάζουν τοξική δράση ενώ σε ουδέτερο ή ασθενώς αλκαλικό δρουν αντιοξειδωτικά.

Το επιφανειακό φορτίο, έχει αποδειχθεί πως επηρεάζει εξίσου την τοξικότητα της νανο-CeO₂ καθώς θετικά ή ουδέτερα φορτισμένα σωματίδια εισέρχονται εύκολα στο εσωτερικό πολλών κυττάρων ενώ αρνητικά φορτισμένα σωματίδια μπορούν να εισέλθουν εκλεκτικά σε καρκινικά κύτταρα (δηλ. όξινα περιβάλλοντα)⁵².



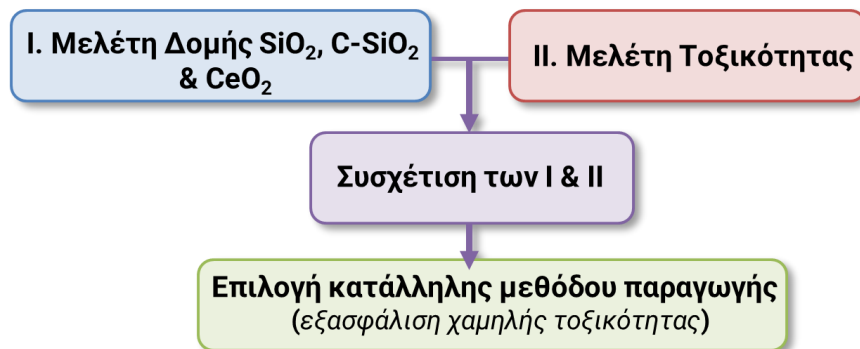
ΣΧΗΜΑ 1-38 Το pH καθώς και η παρουσία ατελειών του πλέγματος όπως κενές θέσεις οξυγόνου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αναγεννητική ικανότητα των CeONPs σε εναιώρημα.

Συνολικά, καθίσταται σαφές πως ο κύριος παράγοντας που καθορίζει την ειδική δράση των νανοϋλικών σίριας είναι η αναλογία $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$. Στο πλαίσιο αυτό, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες συνθετικές μέθοδοι για να επιτευχθεί η επιθυμητή αναλογία των δύο οξειδωτικών καταστάσεων του δημητρίου²³⁸. Μια πρώτη προσέγγιση που περιλαμβάνει την περαιτέρω ενίσχυση της παρουσίας Ce^{3+} είναι η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων²³⁸. Επιπλέον, ως μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί η ένταξη μεταλλικών ετεροατόμων²¹³ ή η δημιουργία κενών θέσεων οξυγόνου που μπορεί να οδηγεί σε χαλάρωση της τάσης του κρυσταλλικού πλέγματος²³⁸. Μελέτες κυτταροτοξικότητας, έχουν δείξει πως ανεξάρτητα του είδους των κυττάρων τα νανοϋλικά CeO_2 δεν παρουσιάζουν οξεία τοξικότητα ενώ, αντίθετα, παρατηρήθηκε χρόνια τοξικότητα σε όλα τα είδη κυττάρων αν και τα νανοϋλικά διατηρούσαν την ικανότητά τους να αδρανοποιούν ROS²⁶⁸. Παρόλα τα αποτελέσματα της χρόνιας τοξικότητας, πρόσφατες έρευνες αποδεικνύουν την βιοσυμβατότητα (δηλ. μη πρόκληση αιμόλυσης) των νανοϋλικών CeO_2 ^{227,265}.

1.5. Σκοπός εργασίας

Με προσανατολισμό την **ανάπτυξη νανοδομών χαμηλής τοξικότητας από το σχεδιασμό τους**, η παρούσα εργασία εστιάζει αρχικά στη μελέτη της **δομής** και των **φυσικοχημικών χαρακτηριστικών**, τριών **σημαντικών κατηγοριών νανοϋλικών βιομηχανικού ενδιαφέροντος**:

- (i) **SiO_2** , ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα νανοϋλικά η τοξικότητα του οποίου αποτελεί ενεργό πεδίο έρευνας τα τελευταία χρόνια.
- (ii) **Υβριδικών νανοδομών C-SiO₂**, με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης του άνθρακα στην δραστικότητα της νανοπυριτίας.
- (iii) **Νανοδομών CeO_{2-x}** με αντιοξειδωτική ικανότητα, που αποτελούν ένα από τα πιο σημαντικά τεχνολογικά νανοϋλικά για εφαρμογές.



Πιο συγκεκριμένα, στόχοι της παρούσας έρευνας είναι:

- (1) Η συνδυαστική μελέτη μεγέθους, βαθμού συσσωμάτωσης, ειδικής επιφάνειας, επιφανειακού φορτίου, πορώδους, μορφολογίας, αλλά και ειδικότερων δράσεων όπως η ικανότητα παραγωγής ριζών, η δραστικότητα σταθερών ριζών που φέρουν, η αντιοξειδωτική τους ικανότητα ώστε **να εντοπιστεί η βέλτιστη σχέση δομής-δραστικότητας των παραπάνω νανοδομών**.
- (2) Η αξιολόγηση της **οξείας τοξικότητάς τους** έναντι μη παθογόνων βακτηρίων που ζουν σε υδατικά συστήματα (*Aliivibrio Fischeri*).
- (3) Η διερεύνηση των παραγόντων που οδηγούν σε τοξική δράση.
- (4) Τελικά, κύριος στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι **να προταθούν κατάλληλες μέθοδοι παραγωγής νανοδομών ευρείας κλίμακας που θα εξασφαλίζουν την χαμηλή τοξικότητά τους** ακολουθώντας την στρατηγική “Safe-by-Design”.

Κεφάλαιο Δεύτερο | Πειραματικό Μέρος

2. Πειραματικό Μέρος

2.1. Μεθοδολογία και αρχές πειραματικών τεχνικών

Στο κεφάλαιο 2.1., παρουσιάζονται λεπτομερώς τα αντιδραστήρια και οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη νανοϋλικών ελεγχόμενης τοξικότητας στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής. Ξεκινώντας από μια συνοπτική περιγραφή των χημικών αντιδραστηρίων και της τεχνικής σύνθεσης Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας, το κεφάλαιο επεκτείνεται στην αναλυτική περιγραφή των μεθόδων χαρακτηρισμού. Ακόμη, αναφέρονται οι αρχές μεθόδου όλων των φασματοσκοπικών και αναλυτικών τεχνικών που χρησιμοποιήθηκαν.

2.1.1. Αντιδραστήρια και Διαλύτες

Υπερκάθαρο νερό προέρχεται από το σύστημα Milli-Q (Millipore). Τα αέρια O₂ (> 99%), N₂ (> 99%), και CH₄ (> 99%), αγοράστηκαν από την εταιρία Linde. Τα ξυλένιο (> 97%), υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂, υδατικό διάλυμα 30%), βρωμιούχο κάλιο (KBr, για φασματοσκοπία), αιθανόλη (αναλυτικής καθαρότητας), N-οξείδιο της 5,5-διμέθυλ-1-πυρρολίνης (DMPO, αναλυτικής καθαρότητας), υδροξείδιο του νατρίου (NaOH, αναλυτικής καθαρότητας), νιτρικό οξύ (HNO₃, αναλυτικής καθαρότητας), επταένυδρος θειικός σίδηρος (II) (FeSO₄*7H₂O), 2-αιθυλ-εξανοϊκό οξύ (≥ 99%) αγοράστηκαν από τις εταιρίες Merck και Aldrich. Οι υγρές πρόδρομες ενώσεις εξαμεθυλ-δισιλοξάνιο (HMDSO > 98 %) και 2-αιθυλ-εξανοϊκό Ce(III) (49 % 2-αιθυλ-εξανοϊκό οξύ) αγοράστηκαν από τις Merck και Strem Chemicals, αντίστοιχα. Το 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλοϋδραζύλιο (DPPH) αγοράστηκε από την εταιρία Sigma-Aldrich και δεν χρησιμοποιήθηκε ξανά μετά από διάστημα ενός μήνα από το άνοιγμά του. Το κιτ οξείας τοξικότητας Microtox που βασίζεται σε λυοφιλοποιημένα στελέχη του βακτηρίου *Aliivibrio Fischeri*, το μέσο καλλιέργειας και το αραιωτικό μέσο αγοράστηκαν από τη Modern Water. Ο Πίνακας 2-1 περιλαμβάνει όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν μαζί με τον βαθμό καθαρότητάς τους.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2-1 Αναλυτική περιγραφή των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση και τον χαρακτηρισμό στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής.

Αριθμός	Όνομα	Καθαρότητα	Εταιρία	CAS
1	Υπερκάθαρο νερό	> 99 %	Σύστημα Milli-Q (Millipore)	
2	HMDSO	> 98%	Merck	107-46-0

3	Ξυλένιο	> 97%	Merck	1330-20-7
4	Αιθανόλη	> 99%	Merck	64-17-5
5	KBr (για φασματοσκοπία)	≥ 99%	Merck	7758-02-3
6	H ₂ O ₂ (30%)	≥ 97%	Sigma Aldrich	7722-84-1
7	DMPO	≥ 97%	Sigma Aldrich	3317-61-1
8	DPPH	≥ 99%	Merck	1898-66-4
9	NaOH	≥ 99%	Merck	1310-73-2
10	HNO ₃	≥ 99%	Merck	7697-37-2
11	HEPES	≥ 97%	Merck	7365-45-9
12	Ένυδρο MES	≥ 97%	Merck	1266615-59-1
13	O ₂	> 99%	Linde	7782-44-7
14	CH ₄	> 99%	Linde	74-82-8
15	N ₂	> 99%	Linde	7727-37-9
16	FeSO ₄ *7H ₂ O	≥ 97%	Merck	7782-63-0
17	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH(C ₂ H ₅)CO ₂ H	≥ 97%	Sigma Aldrich	149-57-5
18	Ce[OOCCH(C ₂ H ₅)C ₄ H ₉] ₃	> 99%	Strem Chemicals	56797-01-4

Μέθοδος Microtox (Μελέτη τοξικότητας)

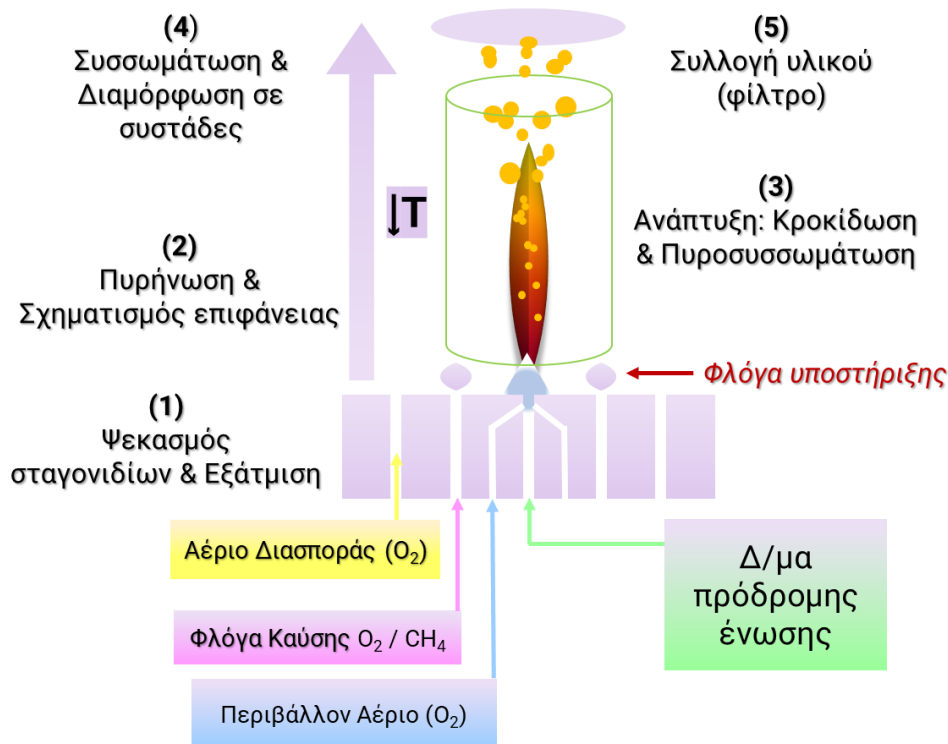
19	<u>Αντιδραστήριο</u> <i>Aliivibrio Fischeri</i> : Λυοφιλοπ. βακτήρια (4 %), NaCl (2 %), μη τοξικοί υδρογονάνθρακες, σταθεροποιητές pH (94 %)	Modern Water	7647-14-5 (NaCl)
20	<u>Μέσο ανασύστασης</u> των <i>Aliivibrio Fischeri</i> NaCl 0.01% σε νερό	Modern Water	7647-14-5 (NaCl)
21	<u>Αραιωτικό μέσο</u> : NaCl 2 % σε νερό	Modern Water	7647-14-5 (NaCl)
22	<u>Μέσο ωσμωτικής ρύθμισης</u> : NaCl 22 % σε νερό	Modern Water	7647-14-5 (NaCl) 7732-18-5 (H ₂ O)

2.1.2. Πυρόλυση Ψεκασμού Φλόγας (ΠΨΦ)

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών η Πυρόλυση Ψεκασμού Φλόγας (Flame Spray Pyrolysis, FSP)^{189,269,270} μετατράπηκε σε μια πολλά υποσχόμενη τεχνολογία για την ταχεία σύνθεση (ενός σταδίου) προηγμένων νανοδομών^{188,190,271–274} σε εργαστηριακή και βιομηχανική κλίμακα^{184,186,191,275,276}. Κύριος λόγος για τη μεγάλη επιτυχία της ΠΨΦ βασίζεται στην απλή παρασκευή και παροχή του εύφλεκτου μείγματος υγρής πρόδρομης ένωσης/διαλύτη, όπου μπορεί να περιλαμβάνονται συνδυασμοί σχεδόν όλων των στοιχείων του Περιοδικού Πίνακα²⁷⁷. Αν και η τροφοδοσία με υγρή πρόδρομη ένωση παρουσιάζει το πλεονέκτημα της ευκολότερης διαχείρισης, η συγκεκριμένη τεχνική σύνθεσης κρύβει πρόσθετες προκλήσεις που αφορούν την κατανόηση των θεμελιωδών μηχανισμών ελέγχου των χαρακτηριστικών των νανοσωματιδίων²⁷⁷. Η χρήση θεωρητικών μελετών και προσομοιώσεων κρίνεται, επομένως, απαραίτητη για τον προσδιορισμό των σταδίων της απελευθέρωσης πρόδρομων ουσιών και του σχηματισμού των σωματιδίων²⁷⁷.

Στην ΠΨΦ (βλ. **Σχήμα 2-1**), η πρόδρομη ένωση μετάλλου διαλύεται σε ένα εύφλεκτο διάλυμα-φορέα που ψεκάζεται και διασπείρεται με οξυγόνο ως ένα σπρίε λεπτών σταγονιδίων²⁷⁷. Η ενθαλπία που απελευθερώνεται από τη φλόγα καύσης (*pilot flame*) επιτρέπει την ανάφλεξη του ψεκαζόμενου μίγματος και στη συνέχεια την εξάτμιση σταγονιδίων και τη μετατροπή της πρόδρομης ένωσης. Τα αντιδρώντα αέρια περνούν μέσα από μια περιοχή της φλόγας που επιφέρει απότομη αύξηση της θερμοκρασίας, ακολουθούμενη από μείωση. Στην έναρξη της αντίδρασης (στη βάση της φλόγας) σχηματίζονται πολύ μικρά σε μέγεθος σταγονίδια SiO₂ τα νουκλίδια (nucleides). Τα νουκλίδια προσκολλώνται το ένα στο άλλο σχηματίζοντας μεγαλύτερα σε μέγεθος σταγονίδια, τα οποία με τη σειρά τους ενώνονται για να σχηματιστούν ακόμη μεγαλύτερα και ούτω καθεξής.

Ο συνολικός αριθμός των σταγονιδίων μειώνεται όσο αυξάνεται το μέγεθός τους. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται για όσο η φλόγα παραμένει σε τόσο υψηλή θερμοκρασία ώστε να κρατά τα σταγονίδια σε υγρή μορφή. Όταν τα σταγονίδια στη συνέχεια εισέλθουν σε μια πιο ψυχρή περιοχή της φλόγας στερεοποιούνται (μερικώς). Στη συνέχεια δε διαμορφώνονται σε μια ενιαία μάζα, αλλά συνενώνονται τμηματικά σχηματίζοντας συσσωματώματα (aggregates) τα οποία στερεοποιούνται πλήρως στην ψυχρή περιοχή της φλόγας. Συγκρατούνται μεταξύ τους με ασθενείς αλληλεπιδράσεις, σχηματίζοντας συστάδες (agglomerates) που εκτείνονται στο χώρο. Τα νανοϋλικά που μελετώνται στην παρούσα διατριβή έχουν αναπτυχθεί στο Εργαστήριο Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας του Τμήματος Φυσικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Οι λεπτομερείς διεργασίες για την ανάπτυξη των υλικών, περιγράφονται στα αντίστοιχες ενότητες (2.2, 2.3, και 2.4).



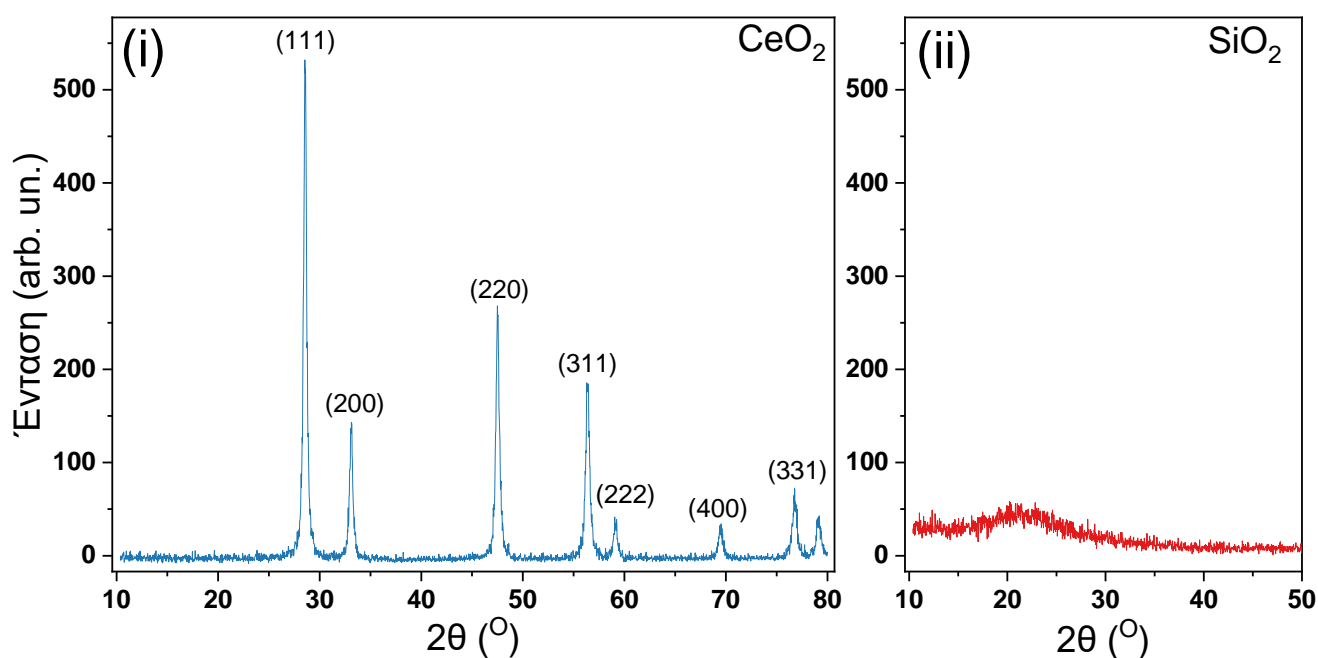
ΣΧΗΜΑ 2-1 Διάταξη Αντιδραστήρα Πυρόλυσης Ψεκασμού φλόγας και περιγραφή των βασικών σταδίων της ανάπτυξης νανοδομών.

2.1.3. Μελέτη κρυσταλλικότητας και μεγέθους νανοδομών μέσω ακτίνων Χ.

Η Περίθλαση Ακτίνων Χ (X-ray Diffraction, XRD) ως αναλυτική τεχνική, χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση της μοριακής δομής ενός κρυστάλλου. Μια δέσμη προσπιπτουσών ακτίνων Χ στο υλικό, περιθλάται σε πολλές ειδικές κατευθύνσεις από τα άτομα του κρυστάλλου. Οι δέσμες ακτίνων Χ επιλέγονται επειδή το μήκος κύματός τους είναι παρόμοιο με την απόσταση μεταξύ των ατόμων στο δείγμα. Επομένως, η γωνία περίθλασης επηρεάζεται από την απόσταση των ατόμων στο μόριο, σε αντίθεση με τη χρήση πολύ μεγαλύτερων μηκών κύματος, τα οποία δε μεταβάλλονται από την απόσταση αυτή.

Μετρώντας τις γωνίες και τις εντάσεις των περιθλώμενων δεσμών, ένας κρυσταλλογράφος μπορεί να παράξει μια τρισδιάστατη εικόνα της πυκνότητας των ηλεκτρονίων στον κρύσταλλο. Από την ηλεκτρονική πυκνότητα, μπορούν να προσδιοριστούν οι μέσες θέσεις των ατόμων στον κρύσταλλο, οι χημικοί δεσμοί τους, ή η αταξία του πλέγματος.

Ο ανιχνευτής σαρώνει γύρω από το δείγμα κατά μήκος ενός νοητού κύκλου, έτσι ώστε να συλλέξει όλες τις σκεδαζόμενες ακτίνες X. Έτσι, καταγράφει τις γωνίες στις οποίες οι «οικογένειες» πλεγματικών επιπέδων σκεδαζουν (ανακλούν) τις ακτίνες X αλλά και τις εντάσεις τους. Η γωνιακή θέση (2θ) και οι εντάσεις των σκεδαζόμενων κορυφών της ακτινοβολίας παράγουν ένα μοτίβο δύο διαστάσεων, χαρακτηριστικό του κάθε κρυσταλλικού υλικού που αναλύεται (βλ. Σχήμα 2-2 (i)). Αντίθετα, στην περίπτωση άμορφων δομών τα αποτελέσματα της ανάλυσης XRD συνιστούν μια πλατιά περιοχή με μη διακριτές κορυφές που να αντιστοιχούν σε κρυσταλλικότητα (βλ. Σχήμα 2-2 (ii)).



ΣΧΗΜΑ 2-2 Περίθλαση ακτινών X (i) ενός κρυσταλλικού νανοϋλικού CeO₂ όπου διακρίνονται χαρακτηριστικές κορυφές που αποδίδονται σε επίπεδα Miller και (ii) ενός άμορφου νανοϋλικού SiO₂ όπου δε διαφαίνονται κορυφές κρυσταλλικότητας.

Στα υλικά που εμφανίζουν κρυσταλλικότητα (όπως η CeO₂), η διάμετρος του σωματιδίου (d_{XRD}) μπορεί να υπολογισθεί χρησιμοποιώντας την εξίσωση Scherrer²⁷⁸ $d = k\lambda/\beta\cos\theta$, όπου d είναι η διάμετρος του σωματιδίου, k είναι μια αδιάστατη σταθερά σχήματος, λ το μήκος κύματος των ακτίνων, β είναι το πλήρες πλάτος της κορυφής στο μισό του μεγίστου της έντασης (full width at half maximum, FWHM) και θ είναι η γωνία Bragg. Επιλέγεται το FWHM που αντιστοιχεί στο επίπεδο Miller (111). Στη παρούσα εργασία, τα δεδομένα περίθλασης ακτίνων X (XRD) συλλέγονται σε θερμοκρασία δωματίου χρησιμοποιώντας περιθλασίμετρο Bruker D8 Advance 2theta με ακτινοβολία χαλκού (CuK α , $\lambda=1,5406$ Å). Ένας δευτερεύων μονοχρωμάτορας λειτουργεί στα 40 kV και 40 mA.

2.1.4. Μελέτη μορφολογίας των νανοδομών

Για τη μελέτη της μορφολογίας των νανοϋλικών αξιοποιείται η τεχνική της υψηλής ανάλυσης μικροσκοπίας με εκπομπή ηλεκτρονίων (High Resolution Transmission Electron Microscopy, HR-TEM)²⁷⁹. Το TEM ή αλλιώς το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μετάδοσης είναι μια κοινή αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται για τη μελέτη πολύ λεπτών δειγμάτων σε ένα επίπεδο δύο διαστάσεων, αντί για την παραγωγή τρισδιάστατων εικόνων όπως στην ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM). Το TEM χρησιμοποιεί παρόμοιες αρχές με τη συμβατική μικροσκοπία φωτός, αλλά τα ηλεκτρόνια είναι αυτά που μεταδίδονται μέσω ενός δείγματος για να παραχθεί μια εικόνα αντί για το φως. Αυτή η τεχνική είναι ένας πολύ αξιόπιστος τρόπος για την παραγωγή εικόνων υψηλής ανάλυσης, οι οποίες βασίζονται στην αλληλεπίδραση των ηλεκτρονίων με τα άτομα του δείγματος.

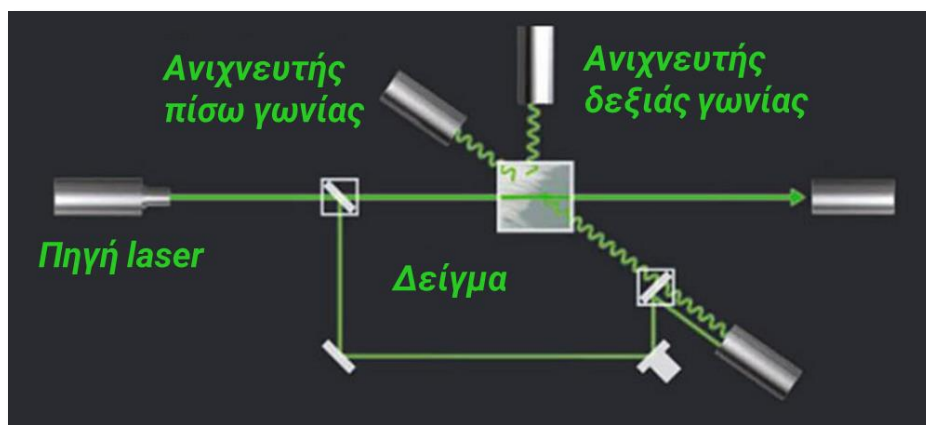
Η υψηλής ανάλυσης μικροσκοπία με εκπομπή ηλεκτρονίων (HR-TEM) μπορεί να χαρακτηρίσει δομικά δείγματα σε ατομικό επίπεδο και αποτελεί, επομένως, μια πολύ χρήσιμη τεχνική στη μελέτη όλων των νανοδομών. Στην περίπτωση των SiO₂, C-SiO₂ και CeO₂ που μελετώνται στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, η ανάλυση HR-TEM προσφέρει μια σαφή εικόνα για το μέγεθος των νανοσωματιδίων (~20-40 nm), τη μορφολογία τους (σφαιρικά ή κυβικά σωματίδια) και τη διαμόρφωσή τους σε συσσωματώματα που σχηματίζουν «αλυσίδες». Χρησιμοποιείται μικροσκόπιο Philips CM 20 που λειτουργεί στα 200 kV και παρέχει ανάλυση 0,25 nm. Πριν από τις μετρήσεις, τα δείγματα λειοτριβούνται σε γουδί και αφήνονται σε μεμβράνη στήριξης (Lacey Carbon, 300 mesh, (Cu)). Οι καταγεγραμμένες εικόνες αναλύονται μέσω του λογισμικού Gatan Digital Micrograph.

2.1.5. Μελέτη βαθμού συσσωμάτωσης

Συμπληρωματική των αναλύσεων XRD (υπολογισμός μεγέθους κρυσταλλικών σωματιδίων) και HR-TEM (υπολογισμός μεγέθους κρυσταλλικών και άμορφων σωματιδίων, ποιοτική- και σε κάποιες περιπτώσεις ποσοτική- ανίχνευση μεγέθους συσσωματωμάτων) είναι η μελέτη του βαθμού συσσωμάτωσης σε ένα υγρό μέσο που πραγματοποιείται λεπτομερώς μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS).

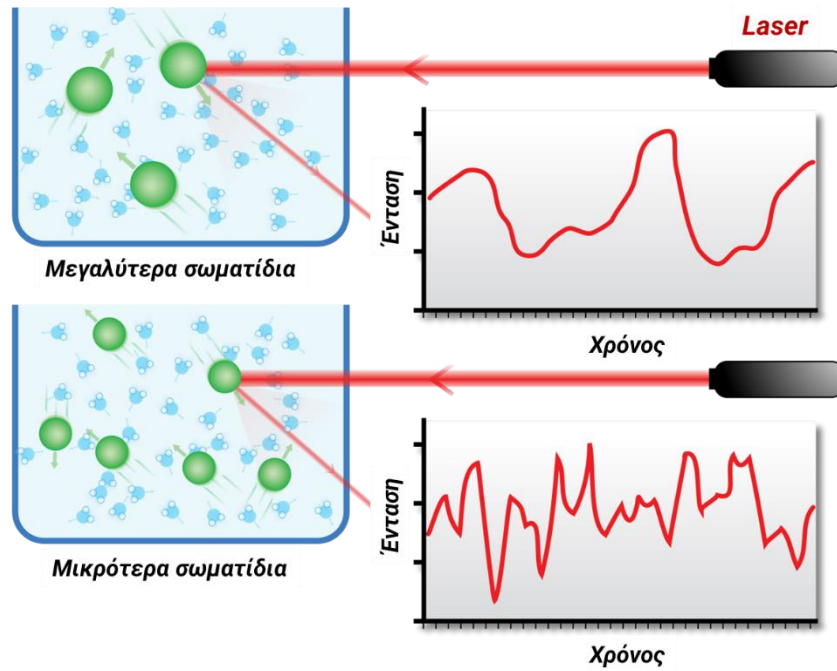
Η ανάλυση DLS στηρίζεται στην τυχαία κίνηση των σωματιδίων που οφείλεται στη σύγκρουσή τους με μόρια διαλυτών (όπως το H₂O), γνωστή ως κίνηση Brown (Brownian motion). Μετρά τις διακυμάνσεις του σκεδαζόμενου από αυτά φωτός με το χρόνο μετά από ακτινοβόλησή τους.

Τα μικρότερου μεγέθους σωματίδια διαχέονται πιο γρήγορα σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα σωματίδια και ο ρυθμός της κίνησης Brown ποσοτικοποιείται μέσω του μεταφορικού συντελεστή διάχυσης (translational diffusion coefficient (D)). Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία γνωστή για να διατηρείται σταθερό το ιξώδες και επιπλέον σταθερή για να αποφευχθεί η διάδοση θερμότητας. Το υλικό ($\sim 1 \text{ mg} / 10 \text{ ml}$) διασπείρεται για λίγα λεπτά (5-15 min) σε λουτρό υπερήχων (20 W), και μεταφέρεται σε κυψελίδα χαλαζία όπου και ακτινοβολείται με laser σταθερής συχνότητας. Στη συνέχεια μετράται η ένταση του συνολικού σκεδαζόμενου φωτός υπό γωνία όπως φαίνεται στη διάταξη στο **Σχήμα 2-3**.



ΣΧΗΜΑ 2-3 Σχηματική απεικόνιση της διάταξης μέτρησης δυναμικής σκέδασης φωτός για τον προσδιορισμό του βαθμού συσσωμάτωσης.

Εάν τα νανοσωματίδια ήταν εντελώς ακίνητα, η ένταση του σκεδαζόμενου φωτός θα ήταν σταθερή. Σε μια διασπορά όμως, η ένταση του σκεδαζόμενου φωτός παρουσιάζει διακυμάνσεις με το χρόνο. Όταν το φως σκεδαζείται από κινούμενο σωματίδιο, λόγω του φαινομένου Doppler, υφίσταται μια μετατόπιση προς ελαφρώς χαμηλότερη ή υψηλότερη συχνότητα ανάλογα με την κατεύθυνση της κίνησής του (από ή προς την πηγή). Λόγω του μεγάλου αριθμού των σωματιδίων με παρόμοιες ταχύτητες αλλά διαφορετικές κατευθύνσεις εξαιτίας της κίνησης Brown, προκύπτει μια διεύρυνση των συχνοτήτων από το φαινόμενο Doppler. Το φάσμα της συχνότητας του συνολικού σκεδαζόμενου φωτός σε σχέση με το χρόνο (δυναμική σκέδαση) είναι χαρακτηριστικό της κίνησης των σωματιδίων (βλ. **Σχήμα 2-4**). Η μεταβολή της συνολικής έντασης του σκεδαζόμενου φωτός με το χρόνο οφείλεται στη συνεχιζόμενη διάχυση που είναι διαφορετική κάθε χρονική στιγμή. Επειδή η διάχυση γίνεται με διαφορετική ταχύτητα ανάλογα με το μέγεθος του σωματιδίου, η μεταβολή της έντασης εξαρτάται από το ρυθμό διάχυσης (βλ. **Σχήμα 2-4**).



ΣΧΗΜΑ 2-4 Η διακύμανση της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας εξαρτάται από το ρυθμό διάχυσης των σωματιδίων. Τα μικρότερα σωματίδια κινούνται πιο γρήγορα με αποτέλεσμα η μεταβολή της έντασης με το χρόνο να παρουσιάζει περισσότερες διακριτές κορυφές. Αντίθετα, λόγω της πιο αργής κίνησης των μεγαλύτερων σε μέγεθος σωματιδίων, η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας μεταβάλλεται πιο ομαλά.

Με σκοπό τον υπολογισμό του συντελεστή διάχυσης (D), δημιουργούνται διαγράμματα μεταβολής της συνολικής έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας μεταξύ δύο διαδοχικών χρονικών στιγμών (άξονας ψ) με το χρόνο (άξονας ψ). Τα διαγράμματα αυτά ονομάζονται διαγράμματα αυτοσυσχέτισης (autocorrelation plots) και η εκθετική μείωση της κλίσης τους συνδέεται με τον συντελεστή διάχυσης (D) μέσω της συνάρτησης αυτοσυσχέτισης (autocorrelation function, C) (2-1):

$$C = \exp(-2\Gamma\tau) \quad (2-1)$$

Όπου, τ είναι ο χρόνος καθυστέρησης και το Γ προέρχεται από πειραματικά δεδομένα με προσομοίωση της καμπύλης (fitting) και συσχετίζεται με τον συντελεστή διάχυσης μέσω της σχέσης $\Gamma = Dq^2$ (q το διάνυσμα της σκέδασης). Πρακτικά, τα διαγράμματα αυτοσυσχέτισης περιγράφουν την απόσβεση μιας αρχικά ισχυρά συσχετιζόμενης κίνησης των σωματιδίων που σταδιακά μετατρέπεται σε μια ασυσχέτιστη κίνηση λόγω της διάχυσής τους.

Σε τελικό στάδιο, ο συντελεστής διάχυσης D συχετίζεται με την υδροδυναμική ακτίνα μέσω της εξίσωσης Stokes-Einstein (2-2).

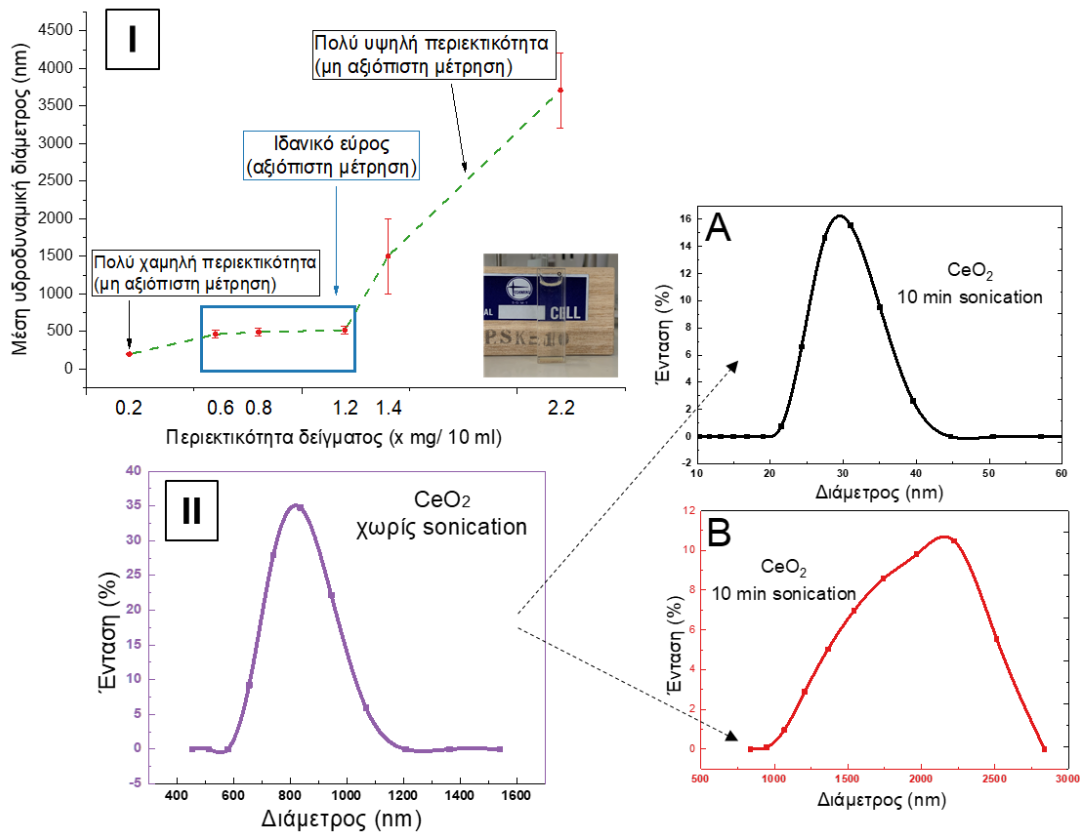
$$d_H = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (2-2)$$

Όπου, d_H η υδροδυναμική ακτίνα, k η σταθερά Boltzman, T η απόλυτη θερμοκρασία, η το ιξώδες και D η σταθερά διάχυσης.

Μέσω πρότυπης καμπύλης της μέσης υδροδυναμικής ακτίνας (nm) συναρτήσει της περιεκτικότητας του μετρούμενου δείγματος (mg του υλικού ανά 10 ml H₂O, φαίνεται από τη σταθερότητα των τιμών στην περιοχή 0.6-1.2, η διασπορά περίπου 1 mg υλικού σε 10 ml νερού φαίνεται να αποτελεί βέλτιστη συγκέντρωση για τη σωστή μέτρηση του βαθμού συσσωμάτωσης (βλ. **Σχήμα 2-5 (I)**). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης DLS παρουσιάζονται συνήθως ως κατανομές της έντασης (%) της ακτινοβολίας ως προς το μέγεθος (nm).

Στο Σχήμα 2-5 (II), απεικονίζονται τα αποτελέσματα μιας προπαρασκευαστικής μελέτης του μεγέθους συσσωμάτωσης νανοϋλικών CeO₂ πριν και μετά από διασπορά με χρήση υπερήχων. Η κάθε κορυφή του διαγράμματος συχνότητας-διαμέτρου σωματιδίου αντιστοιχεί και σε έναν πληθυσμό σωματιδίων τα οποία έχουν ένα συγκεκριμένο μέγεθος. Έτσι, από τον αριθμό των κορυφών που συναντάμε σε κάθε μέτρηση, μπορούμε να διακρίνουμε εύκολα και τον αριθμό των κατανομών μεγεθών που εμφανίζονται στο δείγμα. Το υλικό CeO₂ σχηματίζει συσσωματώματα ενός μέσου μεγέθους ίσα με ~780 nm ενώ τα συσσωματώματα γίνονται δύο μετά από 10 λεπτά διασποράς (~28.6 nm και 2039.8 nm).

Στην πρώτη μέτρηση, στη περίπτωση δηλαδή όπου δεν έχει γίνει μηχανική διασπορά του αιωρήματος, εμφανίζεται μία μόνο κορυφή, άρα και μία μόνο κατανομή μεγέθους σωματιδίων, κοντά στα 779.6 nm. Είναι προφανές πως το μέγεθος αυτό αναφέρεται σε συσσωματώματα των σωματιδίων και όχι μεμονωμένα και διαχωρισμένα από τα γύρω τους σωματίδια. Αντίστοιχα, μετά από μηχανική διασπορά, κάποια σωματίδια διαχωρίζονται με αποτέλεσμα να εμφανίζονται δύο κορυφές που αντιστοιχούν σε μία κατανομή πληθυσμού περίπου ~ 28.6 nm και άλλη μία ~ 2039.8 nm. Το γεγονός αυτό, η εμφάνιση δηλαδή της κατανομής στα ~ 2039.8 nm, που είναι πολύ ψηλότερα από αυτήν της πρώτης μέτρησης, μπορεί να οφείλεται σε κάποια ακόμη μεγαλύτερου μεγέθους κατανομή που φεύγει έξω από τα όρια ανίχνευσης του συστήματος και για το λόγο αυτό δεν φαίνεται άμεσα. Ανιχνεύεται όμως έμμεσα, καθώς η εμφάνιση της κατανομής στα ~ 2039.8 nm μπορεί να οφείλεται στην διάσπαση αυτής της μεγαλύτερης (τρίτης) κατανομής. Σε διαφορετική περίπτωση, μπορεί να αποδίδεται σε αναδιάταξη των σωματιδίων τα οποία σχημάτισαν συσσωματώματα (agglomerates) μεγέθους 2039.8 nm κατά τη συνεχόμενη μηχανική διασπορά.



ΣΧΗΜΑ 2-5 (I) Πρότυπη καμπύλη για τον προσδιορισμό της βέλτιστης συγκέντρωσης για τη μέτρηση μεγέθους μέσω DLS. **(II)** Κατανομή μεγεθών συσσωματωμάτων πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά A, B) από ήπια διασπορά σε λουτρό υπερήχων.

2.1.6. Μελέτη ειδικής επιφάνειας και πορώδους

Η συσσωμάτωση των μεμονωμένων νανοσωματιδίων ευνοεί συχνά τη δημιουργία «καναλιών» και πόρων, προσδίδοντας συνολικά την ιδιότητα του πορώδους στη δομή³. Η θεωρία Brunauer–Emmett–Teller (BET) χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της ειδικής επιφάνειας και της κατανομής μεγέθους των πόρων των στερεών υλικών. Ως ειδική επιφάνεια (Specific Surface Area, SSA) ενός υλικού ορίζεται ο λόγος:

$$SSA = \frac{\text{Συνολική εξωτερική επιφάνεια του Υλικού}}{\text{Μάζα του υλικού}}$$

και έχει μονάδες m^2/g .

Η θεωρία BET^{280} βασίζεται για τον προσδιορισμό της SSA στη φυσική προσρόφηση ενός αδρανούς αερίου, όπως το άζωτο, στη στερεά επιφάνεια του δείγματος. Ως μια επέκταση της θεωρίας Langmuir, περιγράφει τη μοριακή προσρόφηση ενός αερίου κάνοντας τις ακόλουθες παραδοχές:

- (α) Τα μόρια αερίου προσροφώνται φυσικά σε ένα στερεό σε άπειρα στρώματα.
- (β) Τα μόρια αερίου αλληλεπιδρούν μόνο με γειτονικά στρώματα.
- (γ) Η θεωρία Langmuir μπορεί να εφαρμοστεί σε κάθε στρώμα.
- (δ) η ενθαλπία προσρόφησης για την πρώτη στρώση είναι σταθερή και μεγαλύτερη από τη δεύτερη.
- (ε) η ενθαλπία της προσρόφησης για τις υψηλότερες στιβάδες είναι ίδια με την ενθαλπία της υγροποίησης.

Η θεωρία BET μπορεί να συνοψιστεί στην παρακάτω εξίσωση:

$$\frac{P}{n_a(1-P)} = \frac{1}{n_m C} + \frac{C-1}{n_m C} P \quad (2-3)^{281}$$

Όπου, n_a η ποσότητα του προσροφημένου αερίου, P η σχετική πίεση, C η παράμετρος BET, και n_m η ποσότητα η ποσότητα του προσροφημένου αερίου στην μονοστιβάδα, δηλ. ένα απλό και όσο το δυνατόν πυκνότερο στρώμα κανονικά διατεταγμένων ατόμων ή μορίων πάνω σε μια υγρή ή στερεή επιφάνεια²⁸¹.

Στην παρούσα εργασία, οι ισόθερμες προσρόφησης-εκρόφησης N_2 λαμβάνονται στους 77 K σε μια οργανολογία NOVAtouch LX2. Πριν από τις μετρήσεις, τα δείγματα απαερώνονται στους 150 °C για 16 ώρες υπό κενό.

Αντίθετα με την ειδική επιφάνεια που προσδιορίζεται με τη μέθοδο Brunauer-Emmett-Teller (BET)²⁸² χρησιμοποιώντας σημεία δεδομένων προσρόφησης με εύρος σχετικής πίεσης P/P_0 0.1-0.3, η ανάλυση πόρων πραγματοποιείται με το μοντέλο Barrett-Joyner-Halenda (BJH)²⁸³ (P/P_0 0.99)²⁸⁴.

2.1.7. Φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης υπεριώδους-ορατού

Η φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης UV-Vis (Diffuse Reflectance Spectroscopy, DRS-UV/Vis), χρησιμοποιείται για την μελέτη των οπτικών ιδιοτήτων των υλικών²⁸⁵ όπως το χάσμα μεταξύ ενεργειακών ζωνών (bandgap). Η φασματοσκοπία διάχυτης ανάκλασης (DRS) είναι μια τεχνική ανάλυσης επιφανειών που χρησιμοποιεί υπεριώδες (UV), ορατό ή υπέρυθρο (IR) φως ως μέσο ανίχνευσης²⁸⁵. Η αλληλεπίδραση του φωτός με «ισχυρά απορροφητικά υλικά», όπως μέταλλα, κράματα, ή ημιαγωγούς συμβαίνει στα πρώτα 10–20 nm²⁸⁵.

Μέσω της ανάλυσης Kubelka-Mulc²⁸⁶ και Tauc, μπορούν να προσδιοριστούν οι τιμές E_g σύμφωνα με τις εξισώσεις (2-4) και (2-5):

$$F(R_{\infty}) = \frac{K}{S} = \frac{(1-R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} \quad (2-4)$$

$$(F((R_{\infty}) * hv)^{1/\gamma} = B(hv - E_g) \quad (2-5)$$

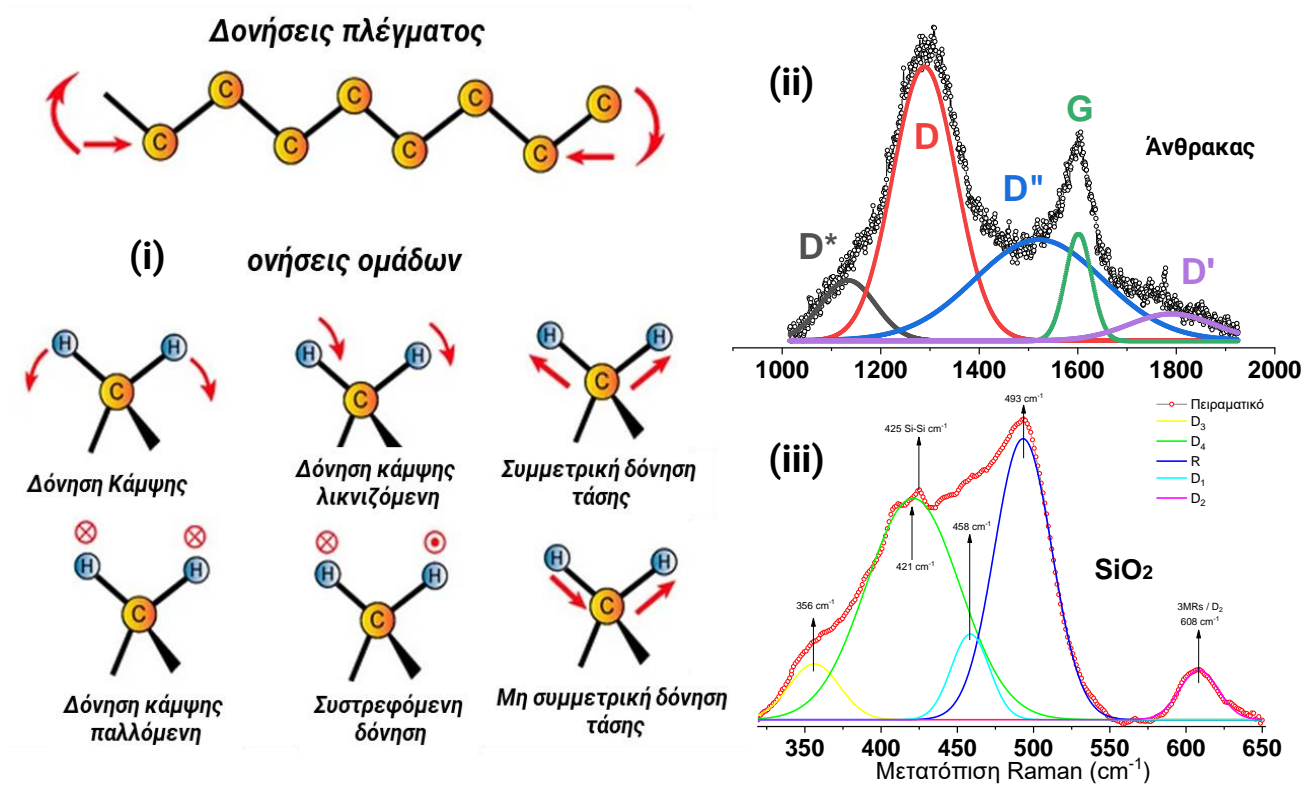
Όπου, $R_{\infty} = \frac{R_{Sample}}{R_{Standart}}$ ενώ K και S είναι οι συντελεστές απορρόφησης και σκέδασης, αντίστοιχα²⁸⁷, E_g η ενέργεια χάσματος, h η σταθερά του Planck, ν η συχνότητα φωτονίου και B είναι μια σταθερά.

2.1.8. Μελέτη μέσω Δονητικής Φασματοσκοπίας

Οι φασματοσκοπίες Raman, υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR) και φασματοσκοπίας υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier με αποσβένουσα ολική ανάκλαση (Attenuated Total Reflectance Fourier-Transform Infrared Spectroscopy, ATR-FTIR), αποτελούν ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους για τη διερεύνηση της μοριακής δομής και χαρακτηρισμού των επιφανειακά σχηματιζόμενων ομάδων των υλικών²⁸⁸. Τα είδη των δονήσεων πλέγματος και χαρακτηριστικών δομικών μονάδων των υλικών που ανιχνεύονται μέσω Raman και FT-IR απεικονίζονται στο **Σχήμα 2-6 (i)**. Μεταξύ άλλων, μελετώνται δονήσεις κάμψης, τάσης ή στρέψης των δεσμών ατόμων που συνιστούν τη μελετώμενη δομή²⁸⁸

Τα φάσματα υπερύθρου καταγράφονται σε φασματόμετρο Thermo Scientific Nicolet iS5 FTIR σε εύρος $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ χρησιμοποιώντας παστίλιες των στερεών υλικών αραιωμένων με KBr ενώ οι μετρήσεις μέσω ATR πραγματοποιούνται *in situ* (χρήση σε υγρό δείγμα) σε φασματόμετρο Agilent που περιέχει εξάρτημα ZnSe. Τα φάσματα Raman αντίστοιχα λαμβάνονται σε όργανο HORIBA-Xplora Plus σε συνδυασμό με μικροσκόπιο Olympus BX41 εξοπλισμένο με λέιζερ 785 nm ως πηγή διέγερσης. Στην παρούσα εργασία, σημεία ενδιαφέροντος των αναλύσεων Raman και FT-IR που χρησιμοποιούνται συνδυαστικά, είναι η μελέτη του πυριτικού πλέγματος υλικών νανοσίλικας και του πλέγματος της CeO_2 ²³¹ και οι δονήσεις των δεσμών άνθρακα.

Στην περίπτωση των υλικών SiO_2 , ιδιαίτερα σημαντική είναι η αριθμητική προσομοίωση των πειραματικών σημάτων τόσο στην περιοχή του άνθρακα (βλ. Σχήμα 2-6 (ii)) όσο και στην περιοχή των δονήσεων του πυριτικού πλέγματος (βλ. Σχήμα 2-6 (iii)). Ανάλυση του φάσματος μέσω του προγράμματος Origin 2018, δείχνει τουλάχιστον πέντε διαφορετικές δονήσεις (D^* , D , D'' , G , D'), σε εύρος $1000-2000 \text{ cm}^{-1}$ που αντιστοιχούν σε sp^2 (G) και sp^3 (D) δομές άνθρακα.



ΣΧΗΜΑ 2-6 (i) Χαρακτηριστικές δονήσεις δεσμών που ανιχνεύονται μέσω φασματοσκοπίας Raman και FT-IR. (ii) Δονήσεις Raman δεσμών άνθρακα στην περιοχή 1000-2000 cm⁻¹ και θεωρητική ανάλυση των κορυφών (iii) Δονήσεις Raman του πυριτικού πλέγματος της SiO₂ στην περιοχή 350-650 cm⁻¹ και θεωρητική ανάλυση των κορυφών.

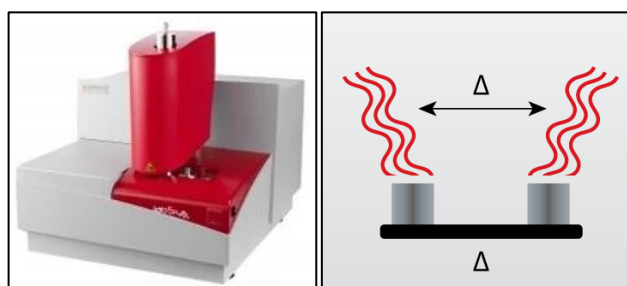
Ακόμη, η σίλικα παρουσιάζει στο Raman τουλάχιστον πέντε διακριτούς τρόπους δόνησης (βλ. Σχήμα 2-6 (iii)) στην περιοχή των σιλοξανικών δακτυλίων, μεταξύ αυτών ανήκουν οι D₁, D₂, D₄, και R-band²⁸⁹ όπως αναφέρονται βιβλιογραφικά²⁸⁹. Ο D₁ αντιστοιχεί στις δονήσεις των τετραμελών δακτυλίων, ενώ ο D₂ στις δονήσεις των τριμελών δακτυλίων²⁸⁹.

2.1.9. Θερμοσταθμική διαφορική θερμική ανάλυση (TG-DTA)

Η θερμοσταθμική διαφορική θερμική ανάλυση (Thermogravimetry Differential Thermal Analysis, TG-DTA) είναι μια θερμική ανάλυση που μπορεί να χαρακτηρίσει πολλαπλές θερμικές ιδιότητες ενός δείγματος σε ένα μόνο πείραμα. Μετρά τη μεταβολή του βάρους ενός δείγματος ως συνάρτηση της θερμοκρασίας σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα υπό ροή αερίου. Εδώ, η θερμοσταθμική διαφορική θερμική ανάλυση (TG-DTA) πραγματοποιείται με όργανο Setaram Labsys™ Evo (βλ.

Σχήμα 2-7) σε ρυθμούς θέρμανσης $2\text{ }^{\circ}\text{C min}$ από $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ έως $750\text{ }^{\circ}\text{C}$, και ρυθμό ροής συνθετικού αέρα και αερίου N_2 $20\text{ cm}^3\text{ min}^{-1}$.

Η συνιστώσα του TG, δηλαδή ο θερμοζυγός, μετρά τις θερμοκρασίες όπου συμβαίνει διάσπαση, αναγωγή ή οξείδωση. Μετρά ταυτόχρονα τις αλλαγές βάρους που σχετίζονται με αυτές ή οποιεσδήποτε άλλες φυσικές ή χημικές αλλαγές που έχουν ως αποτέλεσμα απώλεια ή αύξηση βάρους του δείγματος. Το DTA από την πλευρά του, δείχνει εάν οι διεργασίες που λαμβάνουν χώρα είναι ενδόθερμες ή εξώθερμες. Το DTA μετρά επίσης θερμοκρασίες που αντιστοιχούν σε αλλαγές φάσης όπου δεν υπάρχει απώλεια μάζας, όπως τήξη, κρυστάλλωση ή υαλοποίηση. Κατά τη διαφορική θερμική ανάλυση, υπολογίζεται η διαφορά μεταξύ της θερμοκρασίας του δείγματος (T_s) και της θερμοκρασίας μιας ένωσης αναφοράς (T_r) (βλ. Σχήμα 2-7). Ένα διάγραμμα T_s-T_r σε ένα προγραμματισμένο εύρος θερμοκρασίας θα εμφανίσει μια σειρά από κορυφές ή αλλαγές βημάτων που χαρτογραφούν τις θερμοκρασίες όπου συμβαίνουν θερμικά φαινόμενα.



ΣΧΗΜΑ 2-7 (Αριστερά) Οργανολογία TG-DTA Setaram Labsys™ Evo. (Δεξιά) Κατά τη διαφορική θερμική ανάλυση, μετράται η διαφορά μεταξύ της θερμοκρασίας του δείγματος (T_s) και της θερμοκρασίας μιας ένωσης αναφοράς (T_r).

2.1.10. Μελέτη επιφανειακού φορτίου

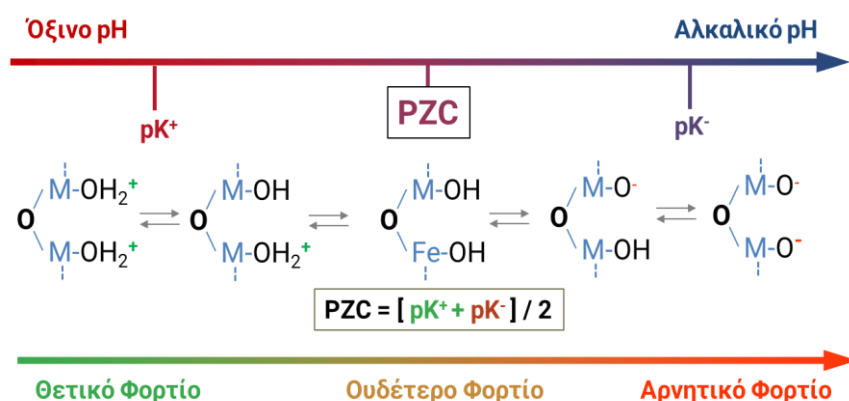
Κάθε νανοδομή φέρει χαρακτηριστικές επιφανειακές ομάδες οι οποίες καθορίζουν τη δραστικότητα και το φορτίο της. Εκτός των υδροξυλομάδων (-OH) που αποτελούν βασικά λειτουργικά μόρια (ιδιαίτερα των νανο-οξειδίων των μετάλλων), μια νανοεπιφάνεια μπορεί να φέρει ακόμη καρβοξυλομάδες (R-COOH), θειϊκές ομάδες (R-SH), αμινομάδες (R-NH₂) κ. ά. Οι λειτουργικές αυτές επιφανειακές ομάδες περιέχουν άτομα-δότες που συναντώνται και στους υποκαταστάτες (ligands) των μεταλλικών συμπλόκων. Σε πολλές περιπτώσεις οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενός μεταλλικού κέντρου με μια λειτουργική επιφανειακή ομάδα μιας νανοδομής συγγενεύουν με τις αλληλεπιδράσεις που εμπλέκονται στο σχηματισμό συμπλόκων ενώσεων. Για παράδειγμα, μια επιφανειακή ομάδα ≡S-OH (όπου ≡S συμβολίζεται η επιφάνεια του νανοϋλικού) μπορεί να αντιδράσει με ένα κέντρο Cu²⁺ δρώντας ως βάση κατά Lewis, όμοια με μια ομάδα RCOOH, σύμφωνα με τις αντιδράσεις (2-1) και (2-2)³.



Οι παραπάνω αλληλεπιδράσεις στην διεπιφάνεια στερεού-υγρού -δηλ. μεταξύ των επιφανειακών χαρακτηριστικών ομάδων (≡S) που φέρουν οι νανοδομές και μορίων που υπάρχουν στον περιβάλλοντα χώρο του υγρού μέσου διασποράς- οδήγησαν στην ανάπτυξη μοντέλων γνωστών ως «σύμπλοκα επιφάνειας» (Surface Complexation, SC)²⁹⁰. Η θεωρία της «συμπλοκοποίησης επιφάνειας» περιλαμβάνει την ανάλυση όλων των διεπιφανειακών αλληλεπιδράσεων που αφορούν μια νανο-επιφάνεια, όπως δέσμευση πρωτονίων (H⁺), υδροξυλίων (OH⁻), ή μεταλλικών ιόντων.

Η περίπτωση του επιφανειακού φορτίου των νανοοξειδίων μετάλλων όταν αυτά βρεθούν σε ένα μέσο διασποράς μελετάται σε πρώτη φάση μέσω της προσέγγισης της SC²⁹⁰. Όταν δυο φάσεις διαφορετικής χημικής σύστασης (π.χ. μια στερεή νανοεπιφάνεια και ένα υγρό μέσο) έρθουν σε επαφή, αναπτύσσεται διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού στη διεπιφάνειά τους. Η επιφανειακή φόρτιση μπορεί, επομένως, να περιγραφεί ως αποτέλεσμα των αντιδράσεων πρωτονίωσης και αποπρωτονίωσης λειτουργικών ομάδων (κυρίως ομάδων -OH) της επιφάνειας του μεταλλικού οξειδίου. Το επιφανειακό φορτίο, αναλύεται παράλληλα μέσω (α) αντιδράσεων σταθερών ισορροπίας και (β) του κατάλληλου μοντέλου σχηματισμού ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας^{3,291,292}.

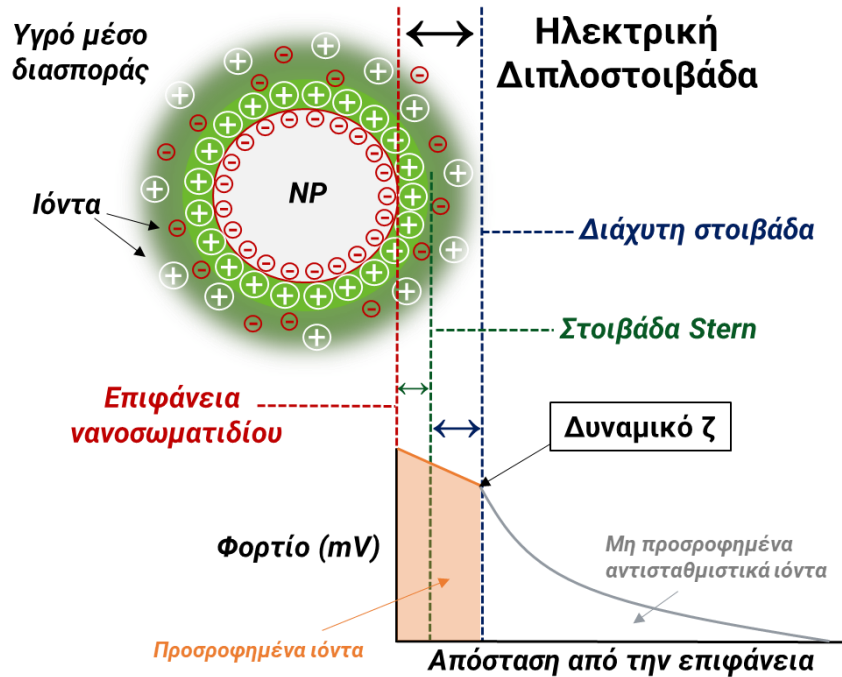
Η αμφοτερικότητα της επιφάνειας των νανο-οξειδίων εξαρτάται κυρίως από το pH του μέσου διασποράς, καθώς στηρίζεται στις αντιδράσεις πρωτονίωσης / αποπρωτονίωσης των επιφανειακών αμφοτερικών θέσεων (κυρίως των ομάδων υδροξυλίου) ανάλογα με τη διαθεσιμότητα H^+ ή OH^- στο διάλυμα³. Τα περισσότερα οξείδια των μετάλλων, έχουν την ικανότητα να αναπτύσσουν *θετικό, ουδέτερο ή αρνητικό* φορτίο όταν διασπείρονται σε πρωτικούς διαλύτες (κυρίως H_2O).



ΣΧΗΜΑ 2-8 Οι επιφανειακές υδροξυλομάδες (-OH) των νανοοξειδίων καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό την αμφοτερικότητα της νανο-επιφάνειάς τους, μεταβάλλοντας το φορτίο συναρτήσει του pH του μέσου διασποράς. *Σχήμα τροποποιημένο από «Υλικά και Περιβάλλον», Ι. Δεληγιαννάκης, Εκδ. Τζιόλα (2022).

Το pH όπου το ολικό φορτίο της επιφάνειας είναι ίσο με το μηδέν, ορίζεται ως Ισοηλεκτρικό Σημείο (Isoelectric Point, IEP), το οποίο συνήθως ταυτίζεται με το Σημείο Μηδενικού Φορτίου (Point of Zero Charge, PZC), τιμές χαρακτηριστικές της κάθε νανοδομής. Το **Σχήμα 2-8** απεικονίζει την αμφοτερικότητα μιας τυπικής επιφάνειας νανοοξειδίου μετάλλου (M) που μεταβάλλει το φορτίο της σε συνάρτηση με το pH.

Στην παρούσα διατριβή, τα φορτία νανο-επιφανειών αξιολογούνται πειραματικά μέσω της μέτρησης του «**δυναμικού ζ**» (**zeta potential**) που στηρίζεται στο μοντέλο Gouy-Charman-Stern το οποίο περιγράφει ποσοτικά την εξάρτηση του επιφανειακού φορτίου από το pH. Το δυναμικό ζ είναι ένας επιστημονικός όρος που περιγράφει το ηλεκτροκινητικό δυναμικό σε κολλοειδή συστήματα. Είναι το δυναμικό που αναπτύσσεται στη διάχυτη στοιβάδα (slipping plane) (βλ. **Σχήμα 2-9**) σε σχέση με ένα σημείο του διαλύματος μακριά από την διεπιφάνεια στερεού-υγρού. Πιο απλά, το *δυναμικό ζ* είναι η *διαφορά δυναμικού μεταξύ του υγρού μέσου διασποράς και του στατικού στρώματος υγρού (layer) που βρίσκεται «προσκολλημένο» στη νανοεπιφάνεια.*



ΣΧΗΜΑ 2-9 Το δυναμικό ζ είναι η διαφορά δυναμικού μεταξύ του υγρού μέσου διασποράς και του στατικού στρώματος υγρού που βρίσκεται «προσκολλημένο» στη νανοεπιφάνεια. *Σχήμα τροποποιημένο από «Υλικά και Περιβάλλον», Ι. Δεληγιαννάκης, Εκδ. Τζιόλα (2022) και www.horiba.com.

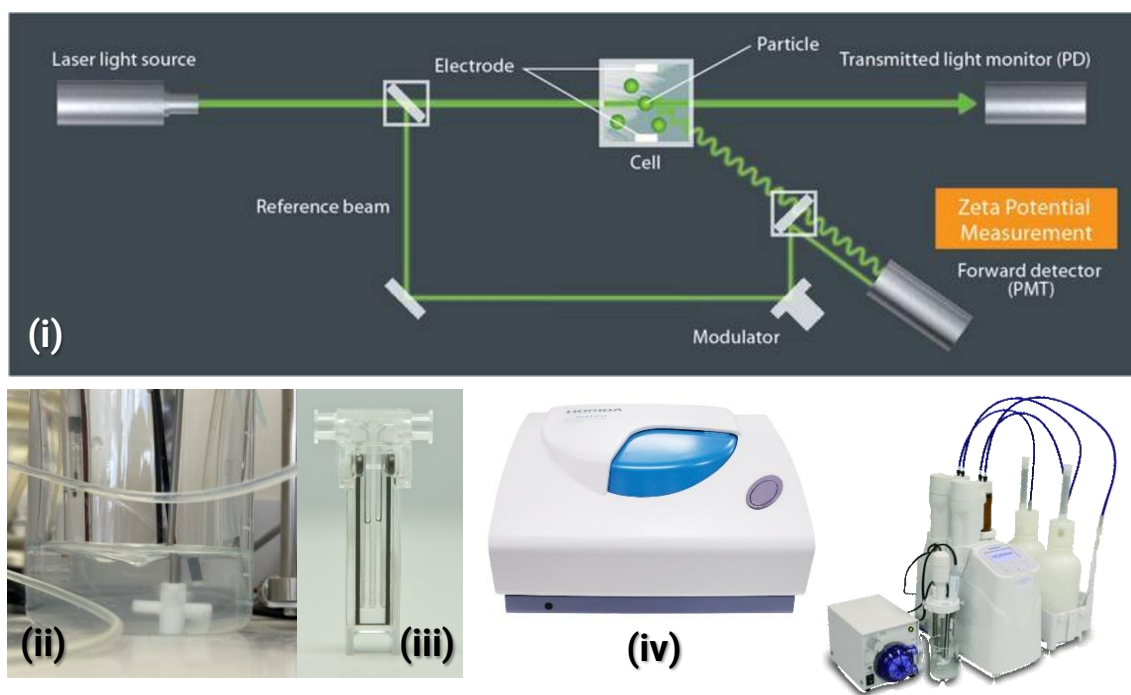
Το δυναμικό ζ μπορεί να μετρηθεί μέσω ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός (electrophoretic light scattering, ELS) εφαρμόζοντας ηλεκτρικό πεδίο σε εναιώρημα σωματιδίων, μετρώντας την κίνηση των σωματιδίων και προσδιορίζοντας την κινητικότητα (μ), όπως περιγράφεται στην εξίσωση (2-6).

$$\mu = \frac{\Delta\omega\lambda_0}{4\pi nE \sin\frac{\theta}{2} \sin(\frac{\theta}{2} + \xi)} \tag{2-6}$$

Η κίνηση των σωματιδίων προσδιορίζεται μετρώντας μια μετατόπιση συχνότητας λόγω της κίνησης που δημιουργείται από το επαγόμενο ηλεκτρικό πεδίο. Η ηλεκτροφορητική κινητικότητα (electrophoretic mobility) μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια για τον υπολογισμό του δυναμικού ζ (βλ. Εξίσωση (2-7)).

$$\mu = \frac{2\zeta\epsilon}{3\eta_0} f(\kappa r) \tag{2-7}$$

Η **Εικόνα 2-1**, παρουσιάζει την εσωτερική διάταξη μέτρησης δυναμικού ζ του οργάνου Horiba nanoPartica SZ-100V2 που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία. Το δείγμα (διασπορά νανοσωματιδίων σε H₂O) τοποθετείται σε κυψελίδα ηλεκτροδίων άνθρακα (Εικόνα 2-1 (iii)), όπου του ασκείται σταθερή τάση προκαλώντας την κίνηση των σωματιδίων. Ταυτόχρονα, το δείγμα ακτινοβολείται με laser πράσινης ακτινοβολίας προκαλώντας τη σκέδαση φωτός από τα σωματίδια. Μια δεύτερη πηγή ακτινοβολίας (δέσμη αναφοράς) αναμιγνύεται με τη σκεδαζόμενη δέσμη προκειμένου να ανιχνευθεί με ακρίβεια η μετατόπιση συχνότητας του σκεδαζόμενου φωτός. Το μετρούμενο μέγεθος της μετατόπισης συχνότητας χρησιμοποιείται στη συνέχεια για τον προσδιορισμό της ταχύτητας των σωματιδίων καθώς η συχνότητά του είναι συνάρτηση της ταχύτητας λόγω της μετατόπισης Doppler (Doppler Shift). Επειδή το pH καθορίζει σημαντικά το επιφανειακό φορτίο, το δυναμικό ζ μπορεί να μελετηθεί συναρτήσει του pH.

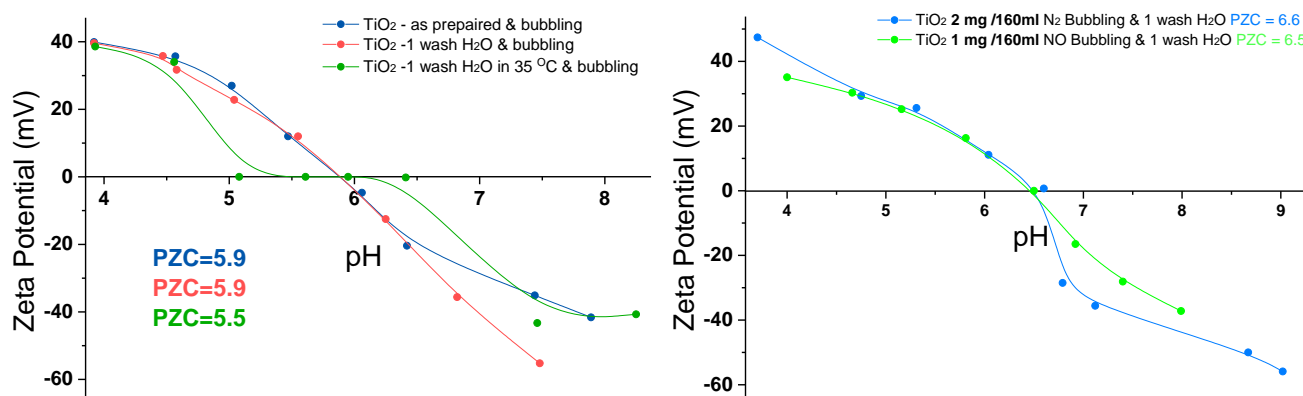


ΕΙΚΟΝΑ 2-1 (i) Εσωτερική διάταξη μέτρησης δυναμικού ζ μέσω ακτινοβολήσης με πράσινο φως, επαγωγής σταθερής τάσης για την κίνηση των σωματιδίων και ανίχνευση του σκεδαζόμενου φωτός. **(ii)** Δείγμα τιτλοδότησης για μέτρηση δυναμικού ζ (διασπορά 2-4 mg νανοϋλικού σε 150 ml υπερκάθαρο H₂O), **(iii)** κυψελίδα άνθρακα για τη μέτρηση του δυναμικού ζ, και **(iv)** Horiba nanoPartica SZ-100V2 και αυτόματος τιτλοδότης (LY-711).

Με τη χρήση αυτόματου τιτλοδότη, το pH του δείγματος μπορεί να ρυθμιστεί στην κατάλληλη τιμή πριν τη μέτρηση του δυναμικού ζ. Με τον τρόπο αυτό, αποκτάται μια λεπτομερής καμπύλη τιτλοδότησης του δυναμικού ζ συναρτήσει του pH.

Προσδιορισμός επιφανειακού φορτίου νανοσωματιδίων TiO_2 : Για τη δημιουργία κατάλληλου πειραματικού πρωτοκόλλου για το βέλτιστο προσδιορισμό του επιφανειακού φορτίου των νανοσωματιδίων, έγιναν δοκιμές που περιλαμβάνουν τη χρήση εμπορικά διαθέσιμων νανοσωματιδίων TiO_2 (P25, Degussa (Evonik)), SiO_2 (Aerosil, Degussa (Evonik)) καθώς και νανοσωματιδίων CeO_2 που έχουν συντεθεί μέσω Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας (FSP). Μελετήθηκε η επίδραση της διαφορετικής περιεκτικότητας του δείγματος στο μετρούμενο επιφανειακό δυναμικό ζ. Τέλος, μελετήθηκε η αλλαγή του επιφανειακού φορτίου μετά από (α) πλύσεις των νανοϋλικών με πρωτικούς διαλύτες (H_2O , EtOH), (β) έψηση σε διαφορετικές θερμοκρασίες και (γ) ύπαρξη διαφορετικών ιόντων που μεταβάλλουν την ιοντική ισχύ του μέσου διασποράς. Ενδεικτικά, παρακάτω φαίνονται κάποια από τα αποτελέσματα.

Στο **Σχήμα 2-10** παρουσιάζεται η τιτλοδότηση νανοσωματιδίων TiO_2 (κόκκινο) με HNO_3 1M, όπου έχει γίνει: μία πλύση με H_2O (κόκκινο) και μία πλύση με H_2O σε θερμοκρασία $35^\circ C$ (πράσινο). Δεξιά, φαίνονται οι καμπύλες δυναμικού ζ των ίδιων υλικών TiO_2 με HNO_3 1M (από $pH=9$ έως $pH=3$), όπου το (μπλε) έχει διπλάσια συγκέντρωση από το (πράσινο).



ΣΧΗΜΑ 2-10 Μελέτη του επιφανειακού φορτίου που εμφανίζουν τα νανοσωματίδια TiO_2 (αριστερά) μετά από πλύσεις με υπερκάρθαρο H_2O και (δεξιά) αλλάζοντας τη συγκέντρωση του δείγματος.

Σε όλα τα δείγματα έχει προηγηθεί απαέρωση (bubbling) με αέριο N_2 για ~ 15 min υπό ανάδευση πριν την τιτλοδότησή τους. Συμπεραίνεται πως η καλύτερη σιγμοειδής καμπύλη δημιουργείται στην περίπτωση όπου προηγείται της τιτλοδότησης μία πλύση με H_2O στους $35^\circ C$ (πράσινο χρώμα). Επιπλέον, η σιγμοειδής καμπύλη γίνεται πιο λεπτομερής παρουσία μεγαλύτερης συγκέντρωσης σωματιδίων (έως 2 mg / 160 ml). Συμπερασματικά, από μια κατάλληλη κατεργασία

του δείγματος όσο και από την κατάλληλη συγκέντρωση και βαθμό διασποράς του δείγματος, προκύπτουν συχνά βελτιστοποιημένες οι σιγμοειδείς καμπύλες τιτλοδότησης.

2.1.11. Μέτρηση διαλυμένου οξυγόνου.

Το οξυγόνο διαλύεται ελάχιστα στο νερό (περίπου 9 ppm στους 20 °C σε 1 atm). Η διαλυτότητα του, όμοια με άλλα αέρια, (i) μειώνεται, όταν αυξάνεται η θερμοκρασία και (ii) αυξάνεται, όταν αυξάνεται η πίεση. Η μέτρηση του διαλυμένου οξυγόνου, DO (Dissolved Oxygen) είναι συχνά σημαντική παράμετρος για το χαρακτηρισμό της ικανότητας μιας νανοδομής να αλληλεπιδρά με μόρια οξυγόνου, συγκρατώντας τα στην επιφάνεια ή απελευθερώνοντάς τα στο περιβάλλον διάλυμα. Στην παρούσα μελέτη, η ικανότητα μιας νανοδομής να προσροφά μόρια οξυγόνου στην επιφάνειά της μελετάται με τη χρήση οξυγονομέτρου SD 400 Oxi L οπτικής τεχνολογίας της εταιρίας Lovibond (βλ. **Εικόνα 2-2**). 20 mL υπερκάθαρου νερού προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη και μετρούνται τα επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου.



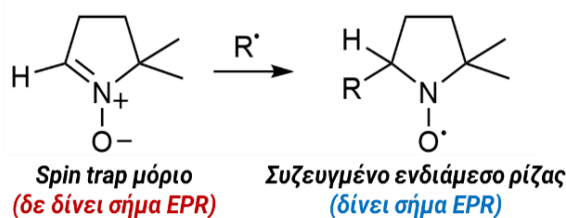
ΕΙΚΟΝΑ 2-2 Lovibond SD 400 Oxi L.

Εάν τα επίπεδα του οξυγόνου είναι λιγότερα από 12 ppm σε θερμοκρασία δωματίου, προστίθεται αέριο οξυγόνο. Καθ' όλη τη διάρκεια της μέτρησης, η φιάλη παραμένει όσο το δυνατόν καλύτερα σφραγισμένη (με χρήση πωμάτων). Σταθερή μάζα (5 mg) του μελετώμενου νανοϋλικού προστίθεται διαδοχικά στο διάλυμα, και αναδεύεται. Με κλειστή την ανάδευση, μετράται η τιμή του διαλυμένου οξυγόνου μετά από κάθε προσθήκη.

2.1.12. Φασματοσκοπία Ηλεκτρονικού Παραμαγνητικού Συντονισμού

Η φασματοσκοπία Ηλεκτρονικού Παραμαγνητικού Συντονισμού (Electron Paramagnetic Resonance (EPR) Spectroscopy)²⁹³ αξιοποιείται για την ποσοτική μελέτη της ηλεκτρονιακής δομής των υλικών καθώς και για την διερεύνηση και την ποσοτικοποίηση της παραγωγής ελευθέρων ριζών.

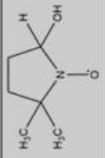
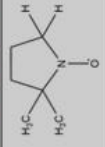
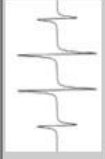

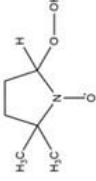
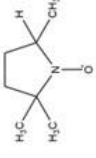


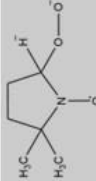
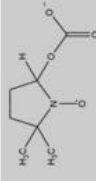


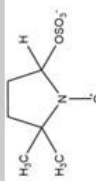
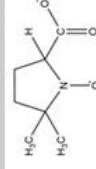

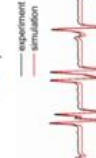
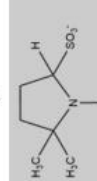
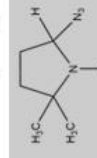

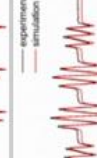
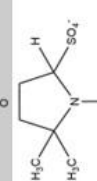
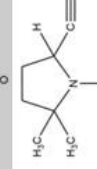


Ανίχνευση, ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση ROS μέσω φασματοσκοπίας Ηλεκτρονικού Παραμαγνητικού Συντονισμού (EPR) με spin trapping: Η πιο άμεση μέθοδος για τη μέτρηση και το χαρακτηρισμό ελευθέρων ριζών στην χημεία, βιολογία και ιατρική, είναι η ανίχνευσή τους μέσω φασματοσκοπίας EPR²⁹⁴. Ωστόσο, λόγω της υψηλής τους δραστηριότητας και το σύντομο χρόνο ημιζωής, η απευθείας μέτρηση σε θερμοκρασία δωματίου πολλών ελευθέρων ριζών (όπως $\cdot\text{OH}$) είναι πρακτικά αδύνατη. Το *spin trapping* είναι μια τεχνική που αναπτύχθηκε στα τέλη του 1960 όπου ενώσεις αζώτου αλληλεπιδρούν με μια ελεύθερη ρίζα-στόχο για να σχηματίσουν με τη σειρά τους μια σταθερή και ανιχνεύσιμη μέσω EPR ελεύθερη ρίζα. Η τεχνική *spin trapping* περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση της δραστηρικής ελεύθερης ρίζας με τον διπλό δεσμό ενός διαμαγνητικού “spin trap” («παγίδας σπιν») μορίου ώστε να σχηματιστεί μια πολύ πιο σταθερή ελεύθερη ρίζα ή πιο σωστά ένα «συζευγμένο ενδιάμεσο ελεύθερης ρίζας» (radical adduct), που να είναι δυνατή η ανίχνευσή του μέσω της φασματοσκοπίας EPR²⁹⁵.



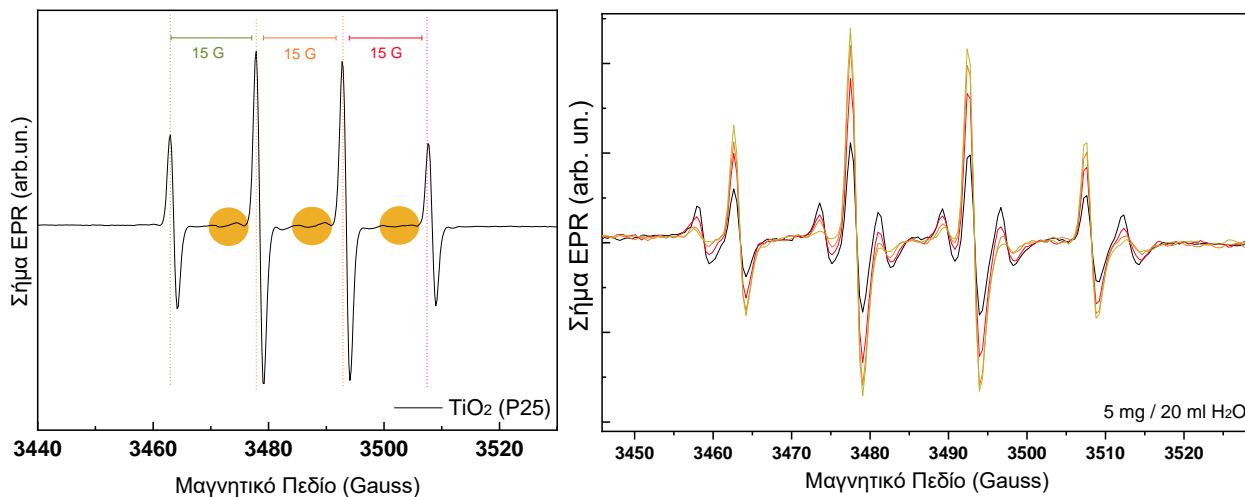
ΣΧΗΜΑ 2-11 Αλληλεπίδραση της δραστηρικής ελεύθερης ρίζας $\cdot\text{R}$ με τον διπλό δεσμό ενός *spin trap* μορίου ώστε να σχηματιστεί ένα σταθερό ενδιάμεσο, ανιχνεύσιμο μέσω φασματοσκοπίας EPR.

Ένα από τα πιο δημοφιλή μόρια παγίδευσης σπιν (*spin trap*) είναι το N-οξειδίο της 5,5 διμεθυλο-πυρρολίνης (5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide, DMPO). Το DMPO σχηματίζει σταθερά ενδιάμεσα με τις ρίζες των ατόμων O-, C-, N-, S-, όπου η κάθε μία παρουσιάζει χαρακτηριστικό σήμα στο EPR. Το γεγονός αυτό καθιστά πολύ εύκολο τον ποιοτικό χαρακτηρισμό, δηλαδή την ανίχνευση του είδους της ελεύθερης ρίζας που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Αυτό δεν συμβαίνει στην περίπτωση άλλων μορίων παγίδευσης όπου μπορεί τα σήματα που προκύπτουν από το κάθε ενδιάμεσο να είναι αρκετά όμοια μεταξύ τους, ανεξάρτητα από το είδος της σχηματιζόμενης ρίζας. Ο **Πίνακας 2-2** παρουσιάζει σήματα κάποιων χαρακτηριστικών συζευγμένων ενδιάμεσων του DMPO με γνωστές ρίζες, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία²⁹⁶⁻²⁹⁸.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2-2 Σήματα κάποιων χαρακτηριστικών συζευγμένων ενδιάμεσων του DMPO με γνωστές ρίζες.
 *Δεδομένα από J. Org. Chem. 2005, 70, 1198-120, J Am Soc Mass Spectrom. 2003 Aug;14(8):862-71.

Ελεύθερη ρίζα	Σχηματιζόμενο ενδιάμεσο	Ελεύθερη ρίζα	Σχηματιζόμενο ενδιάμεσο	Σήμα EPR	Σήμα EPR
$\cdot\text{OH}$		$\cdot\text{H}$			
$\cdot\text{OOH}$		$\cdot\text{CH}_3$			
$\cdot\text{OO}\cdot$		$\cdot\text{CO}_3\cdot$			
$\cdot\text{OSO}_3$		$\cdot\text{OSO}_3$			
$\cdot\text{SO}_3$		$\cdot\text{N}_3$			
$\cdot\text{SO}_4$		$\cdot\text{CN}$			

Στο **Σχήμα 2-12** παρουσιάζονται ενδεικτικά οι παραγόμενες μετά από φωτισμό ελεύθερες ρίζες $\cdot\text{OH}$ παρουσία νανοϋλικών TiO_2 , CeO_2 και spin-trap μορίου DMPO. Στην περίπτωση των υλικών CeO_2 οι ρίζες που σχηματίζονται είναι δύο ειδών $\cdot\text{OH}$ και $\cdot\text{OOH}$. Οι συνολικές ελεύθερες ρίζες που παράγονται, που ποσοτικοποιούνται μετά από διπλή ολοκλήρωση του πειραματικού φάσματος και συγκρίνονται με εκείνο της πρότυπης σταθερής ρίζας DPPH, είναι ίσες με ~ 110 $\mu\text{mol}/\text{gr}$ υλικού.



ΣΧΗΜΑ 2-12 Φάσμα EPR (αριστερά) του νανοϋλικού TiO_2 και (δεξιά) του νανοϋλικού CeO_2 σε συνάρτηση με το χρόνο (σήματα χαρακτηριστικά των $\text{DMPO}\cdot\text{OH}$ & $\text{DMPO}\cdot\text{OOH}$).

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής η φασματοσκοπία EPR χρησιμοποιείται για:

(α) Τη μελέτη ατελειών πλέγματος Ce^{3+} , V_{os} , ROS, και ριζών C: Ανιχνεύονται ποσοτικά μέσω EPR^{293} χημικά είδη που φέρουν μονήρη ηλεκτρόνια όπως οι κενές θέσεις οξυγόνου (V_{os}), παραμαγνητικά κέντρα όπως τα Ce^{3+} ή ρίζες $\text{O}\cdot\text{O}$ ακινητοποιημένες στην επιφάνεια των υλικών. Χρησιμοποιείται φασματόμετρο Bruker ER200D (X-band) εξοπλισμένο με συχνόμετρο Agilent 5310A που λειτουργεί σε συχνότητα of 9.3 GHz για την ανίχνευση:

- (i) Των ατελειών του πλέγματος της CeO_2 , δηλ. των κέντρων Ce^{3+} και των κενών θέσεων οξυγόνου (V_{os}) που σχηματίζονται στα στερεά αυτά υλικά. Για τη συγκεκριμένη ανάλυση τα στερεά υλικά απαερώνονται κάτω από κενό (Kern, 10^{-4} bar), και στη συνέχεια τα φάσματα EPR λαμβάνονται σε θερμοκρασία 77 K που ρυθμίζεται με υγρό άζωτο. Παράμετροι μέτρησης EPR: διαμόρφωση πλάτους (modulation amplitude) 10 G_{pp} , διαμόρφωση συχνότητας (modulation frequency) 100 kHz, επαρκές σήμα προς θόρυβο λήφθηκε μετά από τουλάχιστον 40 σαρώσεις, οι τιμές g υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας DPPH για τη βαθμονόμηση του μαγνητικού πεδίου²⁹³.
- (ii) Δραστικών ειδών οξυγόνου^{27,28} που παράγονται στη διεπιφάνεια στερεού υλικού και υγρού μέσου διασποράς. Η ανίχνευσή τους γίνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με χρήση spin-

trap²⁹⁸ μορίου (DMPO) σε υδατικά εναιωρήματα των σωματιδίων. Ποσοτικοποίηση των σπιν πραγματοποιείται με χρήση DPPH ως πρότυπη σταθερή ρίζα²⁸. Παράμετροι μέτρησης EPR: διαμόρφωση πλάτους (modulation amplitude) 4 G_{pp}, διαμόρφωση συχνότητας (modulation frequency) 100 kHz.

- (iii) Σταθερές ρίζες με βάση τον άνθρακα ενσωματωμένες στη δομή των υλικών. Για την ανίχνευσή τους, τα στερεά υλικά απαερώνονται κάτω από κενό (Kern, 10⁻⁴ bar), και στη συνέχεια τα φάσματα EPR λαμβάνονται σε θερμοκρασία 77 K που ρυθμίζεται με υγρό άζωτο.

(β) Τη μελέτη ικανότητας αδρανοποίησης ROS (αντιοξειδωτική δράση)

Ο επταένυδρος θειικός σίδηρος χρησιμοποιείται ως αντιδραστήριο Fe²⁺ για την παραγωγή δύο ριζών ROS (α) υδροξυλίου (•OH) και (β) υπεροξειδίου (HOO•) μέσω του μηχανισμού Fenton όπως περιγράφεται στις αντιδράσεις (2-3) και (2-4)²⁹⁹.



Η ικανότητα αδρανοποίησης ριζών (Radical Scavenging Capacity, RSC) των •OH και HOO• μελετάται προσθέτοντας τα νανοσωματίδια στο σύστημα προσχηματισμένων ριζών (μέσω μηχανισμού Fenton) και παρακολουθώντας τη μείωση της παραγωγής ριζών με φασματοσκοπία EPR.

Η μάζα των νανοϋλικών που χρησιμοποιείται είναι ελάχιστη σε σύγκριση με το σύστημα παραγωγής ριζών για την εξάλειψη σφαλμάτων λόγω φαινομένων επιφανειακής προσρόφησης ([mg NPs: mg Fe(II)]=[1:560]). Η ανάλυση πραγματοποιείται σε pH=5.

2.1.13. Μελέτη τοξικότητας με τη διάταξη Microtox

Η μελέτη της τοξικότητας με τη μέθοδο Microtox έχει σχεδιαστεί για τον προσδιορισμό βραχυπρόθεσμων (short-term) επιδράσεων μετά από έκθεση σε χημικές ενώσεις. Η μέθοδος παρουσιάζει πλεονεκτήματα όπως ταχύτητα, απλότητα, επαναληψιμότητα, ακρίβεια, ευαισθησία, χαμηλό κόστος, και ευχρηστία. Η δοκιμασία Microtox χρησιμοποιεί συγκεκριμένο είδος φθοριζόντων βακτηρίων, τα οποία αρχικά βρίσκονται σε λυοφιλοποιημένη μορφή. Η μελέτη Microtox είναι μια πρότυπη δοκιμασία τοξικότητας που μπορεί να εφαρμοστεί εναλλακτικά αντί των παραδοσιακών, συχνά πολύπλοκων και πολύ πιο δαπανηρών δοκιμασιών που χρησιμοποιούν ασπόνδυλα και ψάρια.



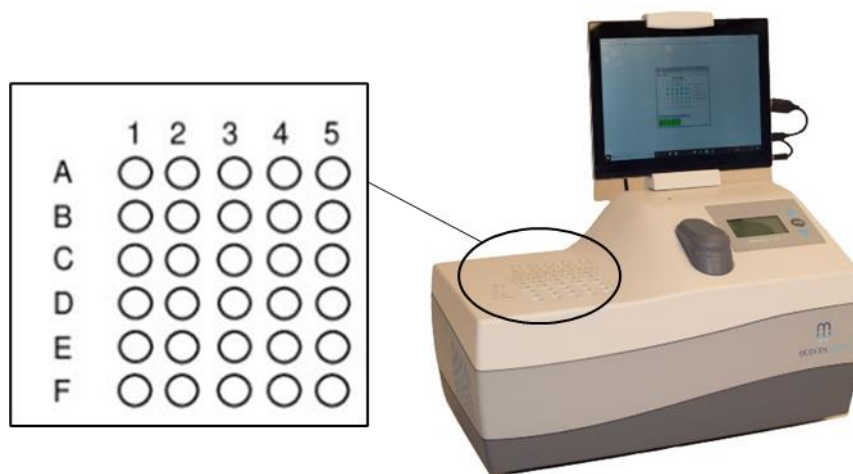
ΣΧΗΜΑ 2-13 Σχηματική απεικόνιση του βακτηρίου *Aliivibrio fischeri*.

Στηρίζεται στη χρήση φθορίζοντων βακτηρίων *Aliivibrio Fischeri* (βλ. **Σχήμα 2-13**), τα οποία προέρχονται από καλλιέργειες που ελαχιστοποιούν τις πιθανές γενετικές διαφοροποιήσεις και διασφαλίζουν τη μεγαλύτερη ακρίβεια και ευαισθησία της μεθόδου. Τα βακτήρια αποθηκεύονται σε ξηρή μορφή υπό κενό και όταν αναπτύσσονται παράγουν φως ως παραπροϊόν της κυτταρικής τους αναπνοής. Η έκθεση των βακτηρίων σε δείγμα που περιέχει τοξικούς παράγοντες οδηγεί στην αναστολή της διαδικασίας της αναπνοής με αποτέλεσμα να παρατηρείται μείωση του φθορίζοντος φωτός. Κατ' αυτόν τον τρόπο, όσο μεγαλύτερη είναι η τοξικότητα του δείγματος τόσο μεγαλύτερη είναι και η εκατοστιαία μείωση του φωτός.

Προετοιμασία δείγματος: Το δείγμα που εξετάζεται πρέπει να είναι σε υγρή μορφή, διαλυμένο είτε σε νερό είτε σε οργανικό διαλύτη. Ωστόσο, η συμβατότητα του οργανικού διαλύτη με τη δοκιμασία Microtox πρέπει να ελέγχεται.

Εξοπλισμός: Απαιτείται μια συσκευή Microtox, η οποία διαθέτει έναν θάλαμο επώασης και ένα φθορισμόμετρο. Η οργανολογία που χρησιμοποιείται στην παρούσα εργασία είναι η Microtox LX της Modern Water (βλ. **Σχήμα 2-14**). Στο πάνω τμήμα της συσκευής υπάρχουν 30 υποδοχές ελεγχόμενης θερμοκρασίας (15 °C), που διαμορφώνονται σε οριζόντιες γραμμές (A-F) και στήλες (1-5). Επιπλέον, υπάρχει μια υποδοχή για την καλλιέργεια βακτηρίων (Reagent) που διατηρείται σε θερμοκρασία 5 °C.

Στη θέση A1 τοποθετείται το τυφλό δείγμα και στις θέσεις από A2 έως A5 τέσσερα δείγματα διαφορετικής συγκέντρωσης.



ΣΧΗΜΑ 2-14 Microtox LX.

Προετοιμασία βακτηρίων: Τα λυοφιλοποιημένα βακτήρια ενυδατώνονται με ειδικό διάλυμα (reconstitution solution) το οποίο τα ενεργοποιεί. Προστίθενται 2 ml αραιωτικού μέσου (diluent) στην κυψελίδα A5, 1 ml αραιωτικού μέσου σε κάθε μια από τις τέσσερις κυψελίδες της σειράς A και 0.5 ml αραιωτικού μέσου στις κυψελίδες της σειράς B. Στη συνέχεια, προστίθεται το εξεταζόμενο δείγμα στην κυψελίδα A5. Ακολουθεί ανάδευση με την πιπέτα και στη συνέχεια λαμβάνεται 1 ml από την κυψελίδα A5 και μεταφέρεται στην κυψελίδα A4. Ακολουθεί ανάδευση και ακολούθως 1ml μεταφέρεται από την κυψελίδα A4 στην A3. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται όμοια και για την κυψελίδα A2. Μετά την ανάδευση της κυψελίδας A2 απομακρύνεται 1 ml δείγματος ώστε ο τελικός όγκος αυτού στην κυψελίδα να είναι 1 ml.

Η κυψελίδα A1 περιέχει το δείγμα αναφοράς (τυφλό). Στη συνέχεια σε κάθε μία από τις κυψελίδες της σειράς B μεταφέρονται 10 µl του διαλύματος των ενυδατωμένων βακτηρίων και ακολουθεί ανάδευση ώστε να διαχυθούν. Στη συνέχεια αφού εισαχθούν οι κατάλληλες παράμετροι στη συσκευή Microtox ξεκινάνε οι μετρήσεις των δειγμάτων. Φέρονται 0.5 ml δείγματος από την κυψελίδα A5 στην B5. Τα δείγματα αφήνονται σε ηρεμία για ορισμένο, σύντομο χρονικό διάστημα 5 ή 15 min σε 15 °C και στη συνέχεια ακολουθεί η μέτρηση. Στη συνέχεια, μεταφέρονται 0.5 ml δείγματος από την κυψελίδα A4 στη B4 και μετά από 5 ή 15 min ακολουθεί η μέτρηση.

Η τιμή της αποτελεσματικής συγκέντρωσης 50 % (EC₅₀) προκύπτει από τη γραφική παράσταση της έντασης της μετρούμενης ακτινοβολίας γ συναρτήσεως της συγκέντρωσης του δείγματος σε λογαριθμική κλίμακα. Απαιτούνται τουλάχιστον 3 σημεία δεδομένων για να χαραχτεί η

γραμμική τάσης. Αξίζει να σημειωθεί ότι επειδή η παραγωγή φωτός από τα βακτήρια με το πέρασμα του χρόνου φθίνει, θα πρέπει αυτή να ελέγχεται. Σε περίπτωση που το τυφλό δείγμα παρουσιάσει εκπομπή φωτός μικρότερη του 90%, οι καλλιέργεια των βακτηρίων θα πρέπει να αντικατασταθεί. Συνήθως, κάθε καλλιέργεια βακτηρίων έχει περίπου 2-4 h φυσιολογική δραστηριότητα. Η ένταση της ακτινοβολίας γ προκύπτει από τη σχέση (2-8):

$$\Gamma = \frac{I_0}{I_t - 1} \quad (2-8)$$

Όπου, I_0 αρχική ακτινοβολία εκπομπής των βακτηρίων, και I_t η τελική τιμή εκπεμπόμενης ακτινοβολίας μετά την έκθεση των βακτηρίων στον τοξικό παράγοντα.

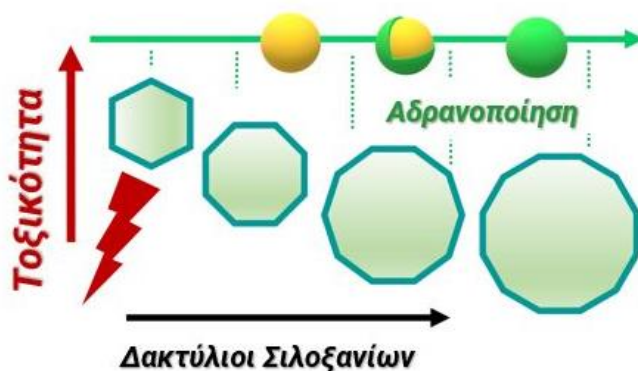
Υλικά SiO_2 και $C-SiO_2$: Οι καλλιέργειες των βακτηρίων εκτίθενται για 15 λεπτά σε διαφορετικής συγκέντρωσης εναιωρήματα των νανοϋλικών (αρχική συγκέντρωση 7920 mg/L και διασπορά για 15 λεπτά σε λουτρό υπερήχων). Η ένταση της φωταυγάζουσας ακτινοβολίας μετράται πριν και μετά την έκθεση των βακτηρίων στον τοξικό παράγοντα. Ποσοτικοποίηση της τοξικότητας πραγματοποιείται στη συνέχεια μαθηματικά με γραμμική παλινδρόμηση (linear regression) των σημείων που μελετώνται και εκφράζεται σε αποτελεσματική συγκέντρωση 50 % (EC_{50}).

Υλικά CeO_2 : Ομοίως, οι καλλιέργειες των βακτηρίων εκτίθενται για 15 λεπτά σε εναιωρήματα των εξεταζόμενων νανοϋλικών με διαφορετικές συγκεντρώσεις (αρχική συγκέντρωση 4945 mg/L και διασπορά για 15 λεπτά σε λουτρό υπερήχων). Η ένταση της φωταυγάζουσας ακτινοβολίας μετράται πριν και μετά την έκθεση των βακτηρίων στον τοξικό παράγοντα. Ποσοτικοποίηση της τοξικότητας πραγματοποιείται στη συνέχεια μαθηματικά με γραμμική παλινδρόμηση (linear regression) των σημείων που μελετώνται και εκφράζεται σε αποτελεσματική συγκέντρωση 20 % (EC_{20}).

Μέρος Πρώτο Νανοϋλικά SiO₂

2.2. Νανοϋλικά SiO₂

Η παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) αποτελεί έναν από τους κυριότερους παράγοντες που καθορίζουν την τοξικότητα των νανοϋλικών πυριτίας (SiO₂). Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, αναπτύχθηκε μια μέθοδος για τη σύνθεση νανοπυριτίας χαμηλής τοξικότητας μέσω του ελέγχου της ικανότητάς της να παράγει ROS. Πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζεται μια συνθετική μέθοδος ενός σταδίου μέσω Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας (ΠΨΦ) για τον έλεγχο των δομικών παραγόντων που ευνοούν την επιφανειακή παραγωγή ROS, δηλ. των μικρού μεγέθους τριμελών σιλοξανικών δακτυλίων. Αποδεικνύεται πως η θερμοκρασία της σύνθεσης (δηλ. η θερμοκρασία της φλόγας) κατά τον σχηματισμό των νανοδομών καθορίζει τον βαθμό ανάπτυξης του σιλοξανικού πλέγματος, με την υψηλής θερμοκρασίας φλόγα να ευνοεί το σχηματισμό μικρών, δραστικών δακτυλίων (3MRs). Αντίθετα, η σύνθεση μέσω διάταξης χαμηλότερης θερμοκρασίας ευνοεί την ομαλή ανάπτυξη ενός περισσότερο ώριμου, αδρανούς πυριτικού πλέγματος που περιέχει μεγαλύτερου μεγέθους σιλοξανικούς δακτυλίους όπως πενταμελείς (5MRs), εξαμελείς (6MRs), κ.ο.κ. (βλ. Σχήμα 2-15).



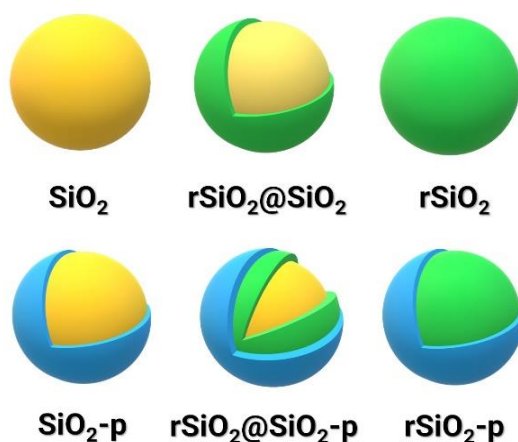
ΣΧΗΜΑ 2-15 Η φλόγα υψηλής θερμοκρασίας κατά τη σύνθεση ευνοεί το σχηματισμό μικρών, δραστικών δακτυλίων (3MRs) που ευθύνονται για την παραγωγή ROS. Αντίθετα, η σύνθεση σε χαμηλότερη θερμοκρασία ευνοεί την ομαλή ανάπτυξη ενός περισσότερο αδρανούς, μη τοξικού πυριτικού πλέγματος που περιέχει μεγαλύτερου μεγέθους σιλοξανικούς δακτυλίους. *Το σχήμα παρατίθεται τροποποιημένο από Fragou et al., ACS Appl. Nano Mater. 2022, 5, 6, 8184–8195.

Στο πλαίσιο αυτό, και μέσω της τεχνικής ΠΨΦ σχεδιάστηκαν *in situ* τρεις τύποι νανο-πυριτίας που συντέθηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασίες:

- (i) μια τυπική καπνοπυριτία παραγόμενη μέσω φλόγας υψηλής θερμοκρασίας (SiO₂),

- (ii) μια νανοσίλικα που προήλθε μέσα από μια διάταξη χαμηλής θερμοκρασίας, $rSiO_2$, όπου το πρόθεμα **r**- συμβολίζει την διάταξη του μεταλλικού δακτυλίου (ring) που τοποθετήθηκε στο επάνω μέρος του αντιδραστήρα ΠΨΦ (εξηγείται παρακάτω), και, τέλος,
- (iii) αναπτύχθηκε ένα υβριδικό υλικό τύπου πυρήνα-κελύφους ($rSiO_2@SiO_2$), με πυρήνα την υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 και κέλυφος την χαμηλής θερμοκρασίας $rSiO_2$.

Για λόγους σύγκρισης, οι παραπάνω δομές στη συνέχεια τροποποιήθηκαν χημικά μέσω αλκαλικής κατεργασίας για την παραγωγή τριών νέων, ακόμη περισσότερο αδρανών νανοδομών που συμβολίζονται με το γράμμα **p**- από τη λέξη **p**assivation (βλ. **Σχήμα 2-16**):



ΣΧΗΜΑ 2-16 (Κίτρινο, SiO_2) καπνοπυριτία υψηλής θερμοκρασίας, (πράσινο, $rSiO_2$) καπνοπυριτία χαμηλής θερμοκρασίας και (πράσινο-κίτρινο, $rSiO_2@SiO_2$) υβριδικό υλικό των δύο δομών τύπου πυρήνα-κελύφους. Όλα τα υλικά τροποποιήθηκαν χημικά μετά τη σύνθεση (μπλε, SiO_2-p , $rSiO_2@SiO_2-p$, $rSiO_2-p$).

Για τη μελέτη της συσχέτισης μεταξύ ικανότητας παραγωγής ROS και δομής πυριτικού πλέγματος, με έμφαση στους δακτυλίους σιλοξανίων, αξιοποιήθηκαν οι φασματοσκοπικές τεχνικές Ηλεκτρονικού Παραμαγνητικού Συντονισμού (EPR) και Raman. Παράλληλα, μελετήθηκε η οξεία τοξικότητα όλων των υλικών έναντι του βακτηρίου *Aliivibrio Fischeri* με τη μέθοδο Microtox.

Τα αποτελέσματα της παραπάνω μελέτης δείχνουν πως υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ παραγωγής ROS και οξείας τοξικότητας η οποία ακολουθεί τη σειρά:

Περισσότερο τοξικό $SiO_2 \gg rSiO_2@SiO_2 \gg rSiO_2$ *Λιγότερο τοξικό*

και πως η σχέση αυτή καθορίζεται από τη θερμοκρασία της σύνθεσης των υλικών.

Συζητείται ένας ολοκληρωμένος φυσικοχημικός μηχανισμός, ο οποίος συνδέει τη δομή των σιλοξανικών δακτυλίων με την ικανότητα παραγωγής ROS και την οξεία τοξικότητα. Τέλος, η προτεινόμενη μεθοδολογία παρέχει μια εύκολα εφαρμόσιμη διεργασία για την ασφαλή παραγωγή οξειδίων μετάλλων καθώς και για το σχεδιασμό υλικών λαμβάνοντας υπόψιν ζητήματα που σχετίζονται με την τοξικότητά τους.

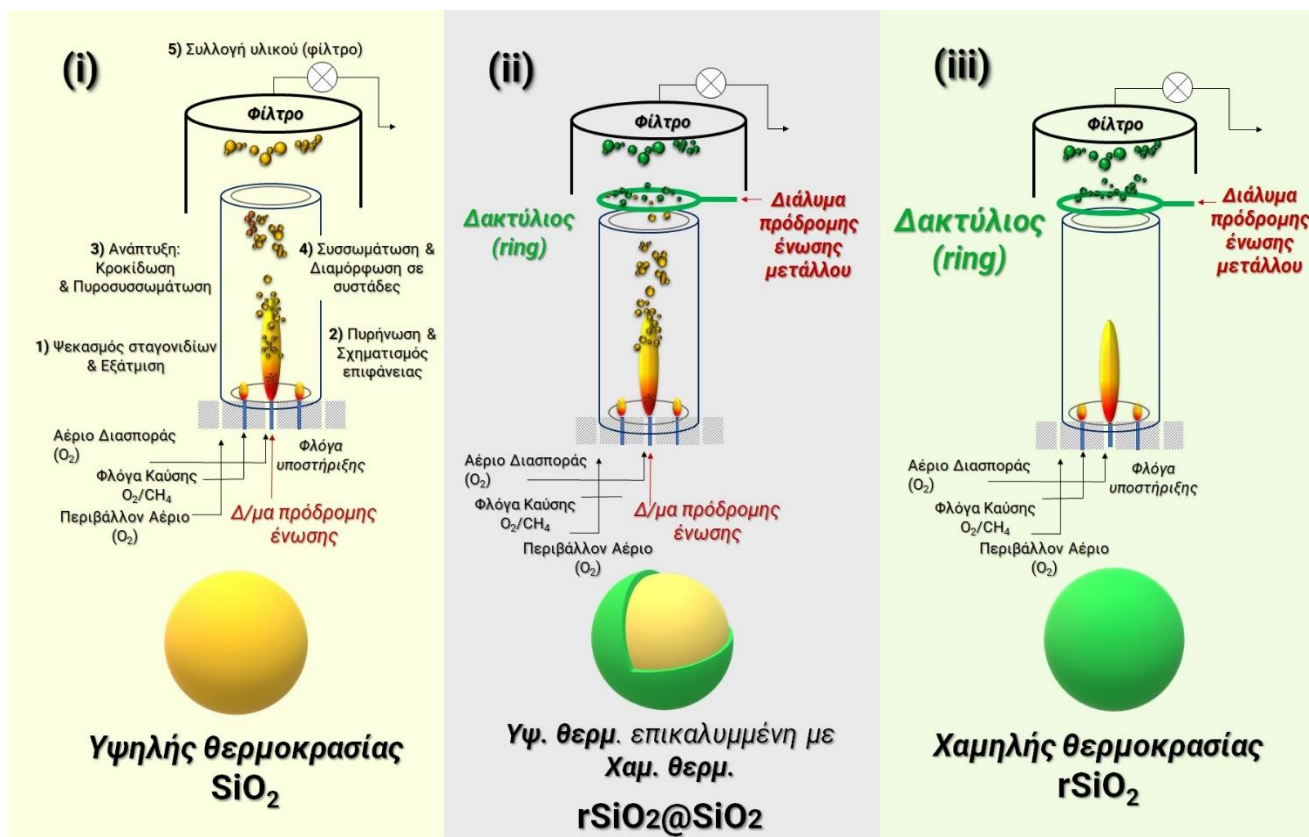
2.2.1. Ανάπτυξη νανοδομών SiO_2 .

(A) Σύνθεση νανοϋλικών μέσω Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας (ΠΨΦ).

Οι τρεις νανοδομές πυριτίας SiO_2 , $\text{rSiO}_2@/\text{SiO}_2$, και rSiO_2 , παράχθηκαν μέσω τριών διαφορετικών διατάξεων, όπως απεικονίζεται στο **Σχήμα 2-17**. Ακολουθώντας την ευρέως χρησιμοποιούμενη διάταξη μονής κεφαλής (single nozzle³⁰⁰) του αντιδραστήρα, παράγεται η SiO_2 από φλόγα υψηλής θερμοκρασίας μέσα από την καύση της υγρής πρόδρομης ένωσης εξαμεθυλοδισιλοξάνιο (HMDSO) (Σχήμα 2-17 (i)).

Η χαμηλής θερμοκρασίας rSiO_2 παράγεται με εισαγωγή της υγρής πρόδρομης ένωσης HMDSO μέσω ενός μεταλλικού δακτυλίου που τοποθετείται σε μια απόσταση πάνω από τη φλόγα (Σχήμα 2-17 (iii)). Η τοποθέτηση του δακτυλίου στην κορυφή της φλόγας είναι μια γνωστή μέθοδος^{301,302} για την επικάλυψη νανοσωματιδίων με κάποιο κέλυφος, π.χ. επικάλυψη TiO_2 με SiO_2 . Στη διάταξη του δακτυλίου ΠΨΦ (Σχήμα 2-17 (iii)), η φλόγα δημιουργείται με καύση διαλύτη υψηλής ενθαλπίας (ξυλένιο) χωρίς την παρουσία πρόδρομης ένωσης μετάλλου. Με τον τρόπο αυτό, η φλόγα καύσης παρέχει μόνο ένα θερμικό πεδίο που κατευθύνεται προς τα πάνω. Ταυτόχρονα, η πρόδρομη ένωση του Si (HMDSO) εισάγεται («ψεκάζεται») μέσω του δακτυλίου σε ύψος πάνω από τη φλόγα, όπου η θερμοκρασία ήταν σημαντικά χαμηλότερη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την καύση του HMDSO σε χαμηλή θερμοκρασία (< 600 °C) η οποία παρέχει το rSiO_2 που συλλέγεται στο φίλτρο ινών υάλου στην κορυφή του αντιδραστήρα.

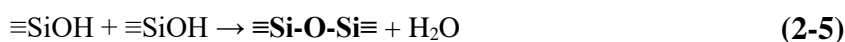
Τέλος, παρασκευάστηκε μια μικτή, υβριδική δομή νανοπυριτίου τύπου πυρήνα-κελύφους με συνδυασμό των διαδικασιών i) και iii), δηλαδή εισαγωγή του HMDSO μέσω του δακτυλίου στη ροή σωματιδίων SiO_2 που παράγονται από την υψηλής θερμοκρασίας φλόγα. Η παραγωγή του $\text{rSiO}_2@/\text{SiO}_2$ απεικονίζεται στο **Σχήμα 2-17 (ii)**.



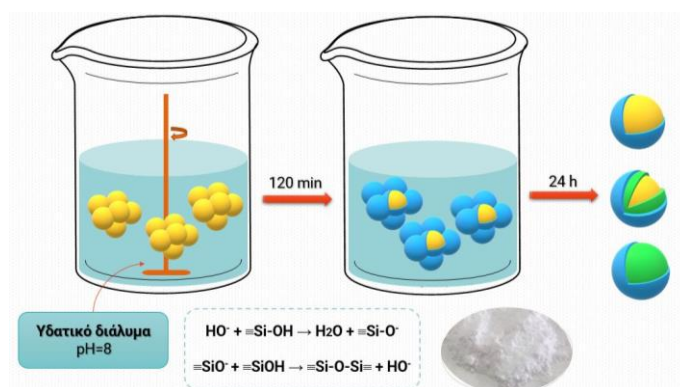
ΣΧΗΜΑ 2-17 Πειραματικές διατάξεις Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας για την παραγωγή των τριών υλικών (i) Υψηλής θερμοκρασίας νανοπυριτίας SiO_2 , (ii) υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 επικαλυμμένη με χαμηλής θερμοκρασίας $r\text{SiO}_2$ ($r\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$), και (iii) χαμηλής θερμοκρασίας νανοπυριτία $r\text{SiO}_2$.

(B) Μετα-συνθετική επιφανειακή χημική τροποποίηση.

Για την περαιτέρω διερεύνηση των ιδιοτήτων της επιφάνειας και τον ρόλο των σιλοξανικών δακτυλίων στη δημιουργία ROS, αναπτύχθηκε ένα πρωτόκολλο επιφανειακής χημικής τροποποίησης που έπεται της σύνθεσης μέσω ΠΨΦ, και έχει σκοπό την επακόλουθη αδρανοποίηση της επιφάνειας της νανοπυριτίας. Πιο συγκεκριμένα, η υπόθεση στηρίζεται στην περαιτέρω αδρανοποίηση (passivation) της επιφάνειας χρησιμοποιώντας μια χημική επεξεργασία τύπου sol-gel³⁰³ για να προωθήσουμε τη συμπύκνωση των επιφανειακών σιλανολών σύμφωνα με τις θεμελιώδεις αντιδράσεις συμπύκνωσης (2-5) και (2-6)³⁰⁴.



Με αυτόν τον τρόπο, οι δακτύλιοι των σιλοξανίων που περιέχει εγγενώς το κάθε υλικό, ανεξαρτήτως του αρχικού μεγέθους τους, μπορούν να επεκταθούν οδηγώντας σε μια πιο «χαλαρή» και, επομένως, λιγότερο δραστική επιφάνεια νανοπυριτίας. Στο **Σχήμα 2-18** απεικονίζεται η διαδικασία της μετα-συνθετικής επιφανειακής χημικής τροποποίησης: Τα νανοϋλικά (2.0 g/L) διασπείρονται σε υδατικό διάλυμα με pH=8 (με χρήση μίγματος ρυθμιστικών διαλυμάτων MES (10 mM) - HEPES (10 mM)). Αναδεύονται για 120 λεπτά και στη συνέχεια απομονώνονται μέσω φυγοκέντρησης, πλένονται πλήρως με υπερκάθαρο νερό (pH=7) και αφήνονται να στεγνώσουν για μια μέρα μέσω λυοφιλοποίησης (freeze-drying). Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι νέες νανοδομές συμβολίζονται με το γράμμα **p**- από τη λέξη **p**assivation (αδρανοποίηση) και ονοματίζονται SiO₂-p, rSiO₂@SiO₂-p και rSiO₂-p.

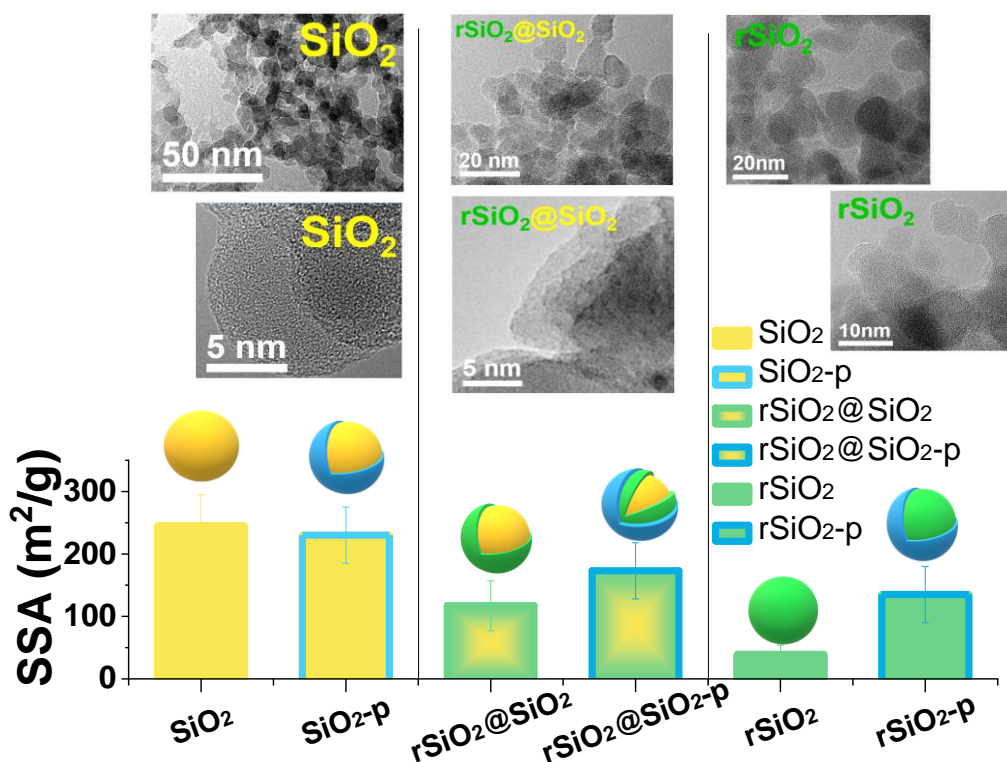


ΣΧΗΜΑ 2-18 Σχηματική απεικόνιση της μετα-συνθετικής αλκαλικής επιφανειακής χημικής τροποποίησης των υλικών που αναπτύχθηκαν μέσω Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας.

2.2.2. Αποτελέσματα

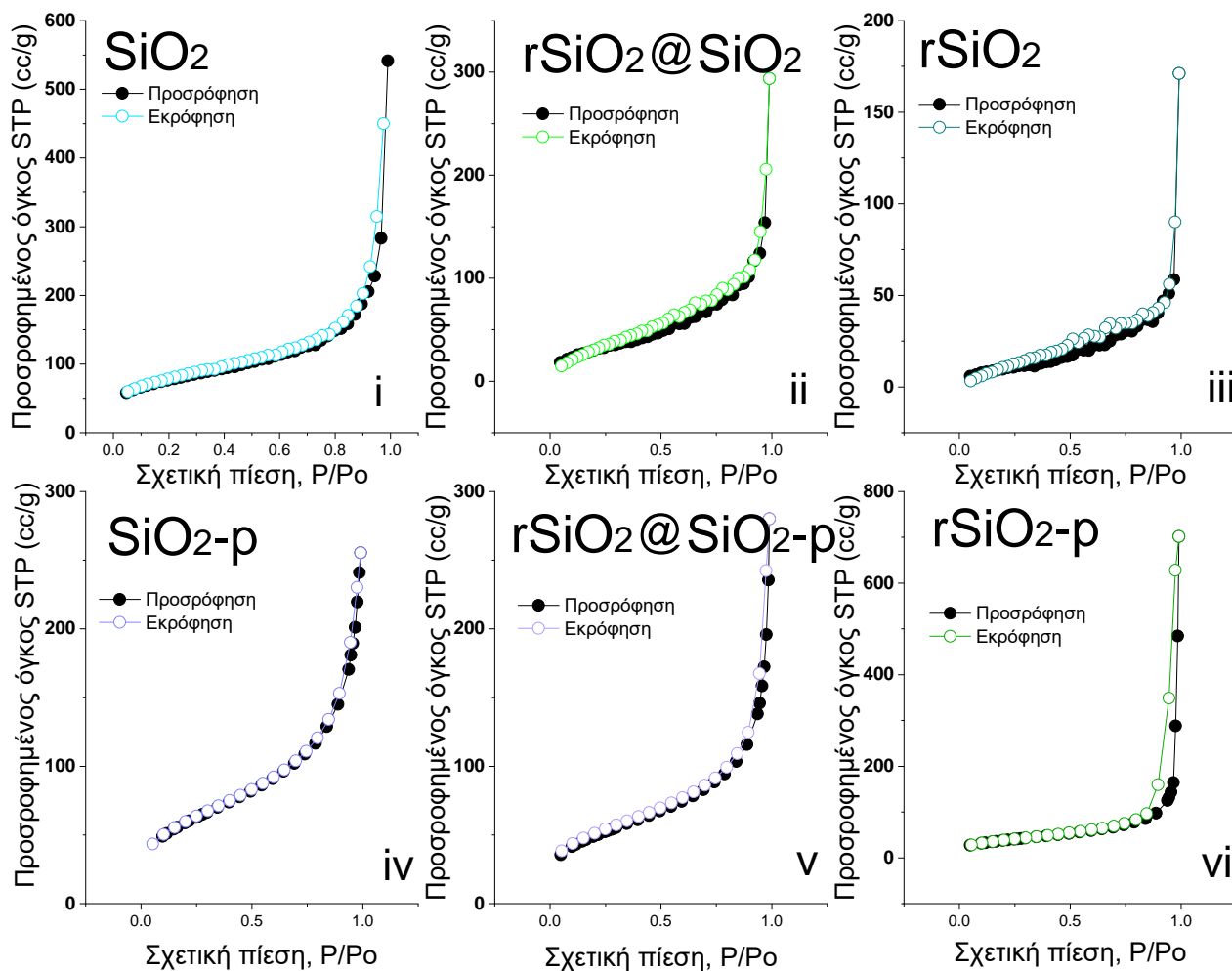
(i) Μορφολογία νανοϋλικών

Για τη μελέτη της μορφολογίας των υλικών αξιοποιήθηκε η τεχνική μικροσκοπίας με εκπομπή ηλεκτρονίων (Transmission electron microscopy, TEM), όπως παρουσιάζεται στο **Σχήμα 2-19** (επάνω). Η νανοπυριτία υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 (Σχήμα 2-19, πάνω αριστερά) σχηματίζει σχεδόν σφαιρικά μεμονωμένα σωματίδια τα οποία διαμορφώνονται σε συσσωματώματα που μοιάζουν με αλυσίδα, μια διαμόρφωση τυπική της καπνοπυριτίας¹⁷⁹. Η χαμηλής θερμοκρασίας rSiO_2 (Σχήμα 2-19, επάνω δεξιά) φαίνεται να παρουσιάζει μια πιο διάχυτη δομή, αποτελούμενη από ήπια συγκρατημένα μεταξύ τους συσσωματώματα. Σύμφωνα με την ανάλυση TEM, τέλος, τα σωματίδια $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$ (Σχήμα 2-19, επάνω κέντρο) έχουν δομή τύπου πυρήνα-κελύφους, με συμπαγή, σφαιρικό πυρήνα SiO_2 και σχετικά παραμορφωμένο, λιγότερο συμπαγές κέλυφος τύπου rSiO_2 .



ΣΧΗΜΑ 2-19 (Επάνω) Εικόνες TEM των SiO_2 , $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$ και rSiO_2 που συντέθηκαν μέσω ΠΨΦ. (Κάτω) Ειδική επιφάνεια (m^2/g) υπολογισμένη με τη μέθοδο BET όλων των υλικών.

Η αξιολόγηση της ειδικής επιφάνειας των νανοϋλικών (SSA , m^2/g) παρέχει με τη σειρά της πολύτιμες πληροφορίες για την επιφανειακή χημεία των υλικών και την επίδραση της μετα-συνθετικής αλκαλικής κατεργασίας στις αρχικές δομές.

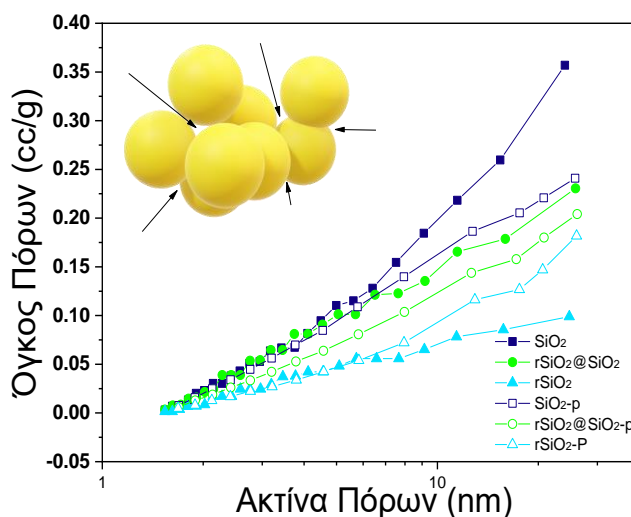


ΣΧΗΜΑ 2-20 Ισόθερμες προσρόφησης / εκρόφησης αερίου αζώτου για τον υπολογισμό της ειδικής επιφάνειας και του πορώδους.

Οι τιμές SSA παρουσιάζονται στο μαρόγραμμα στο Σχήμα 2-19 (κάτω), οι ισόθερμες προσρόφησης / εκρόφησης αερίου αζώτου παρατίθενται στο **Σχήμα 2-20** και η ανάλυση πορώδους απεικονίζεται στο **Σχήμα 2-21**. Όλες οι ισόθερμες ανήκουν στον Τύπο IV, όπως αναμένεται για τα υλικά αυτά. Στην περίπτωση της υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 , η ειδική επιφάνεια είναι ίση με $260 \text{ m}^2/\text{g}$, συμφωνώντας με την διαμόρφωση των σφαιρικών σωματιδίων των εικόνων TEM.

Αντίθετα, στην περίπτωση της rSiO_2 η ειδική επιφάνεια μειώνεται κατά σχεδόν έξι φορές σε σχέση με την υψηλής θερμοκρασίας νανοπυριτία, καθώς έχει τιμή $39 \text{ m}^2/\text{g}$. Φαίνεται, επομένως, πως η μείωση της θερμοκρασίας κατά τη σύνθεση ΠΨΦ οδηγεί σε πιο διάχυτες διαμορφώσεις συσσωματωμάτων μικρότερης συνολικής ειδικής επιφάνειας. Το μίκτο υλικό $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$ παρουσιάζει, όπως είναι αναμενόμενο, ενδιάμεση τιμή ειδικής επιφάνειας ίση με $117 \text{ m}^2/\text{g}$.

Η μετα-συνθετική αλκαλική κατεργασία, επηρεάζει σημαντικά την ειδική επιφάνεια των νανοϋλικών. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση των σωματιδίων $\text{SiO}_2\text{-p}$ η ειδική επιφάνεια γίνεται ίση με $209 \text{ m}^2/\text{g}$, δηλαδή μειώνεται σε σύγκριση με το αρχικό υλικό SiO_2 . Η ανάλυση των πόρων, δείχνει επιπλέον πως τα σωματίδια αποκτούν μια πιο διάχυτη, λιγότερο πορώδη δομή. Αντίθετα, τόσο στην περίπτωση του μικτού $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2\text{-p}$ όσο και στην περίπτωση του $\text{rSiO}_2\text{-p}$ η ειδική επιφάνεια αυξάνεται μετά την αλκαλική επιφανειακή χημική τροποποίηση, με τις τιμές τους να γίνονται ίσες με $173 \text{ m}^2/\text{g}$ και $135 \text{ m}^2/\text{g}$, αντίστοιχα. Η ειδική επιφάνεια της σίλικας χαμηλής θερμοκρασίας, αυξάνεται δηλαδή επιπλέον τρεις φορές. Τα δεδομένα κατανομής μεγέθους πόρων αποδεικνύουν ότι η κατεργασία μετά την ΠΨΦ, προκαλεί σε όλες τις περιπτώσεις συρρίκνωση του μεγέθους των πόρων (βλ. Σχήμα 2-21), που αποδίδεται στη συμπίκνωση των σιλανολών κατά την υγρή αλκαλική επεξεργασία. Τέλος, οι τιμές των ακτίνων πόρων ($< 2,00 \text{ nm}$) αντανακλούν τον μικροπορώδη χαρακτήρα των υλικών³.



ΣΧΗΜΑ 2-21 Ανάλυση πόρων (όγκος) νανοϋλικών πυριτίας.

(ii) Βαθμός συσσωμάτωσης: Ανάλυση μέσω Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS)

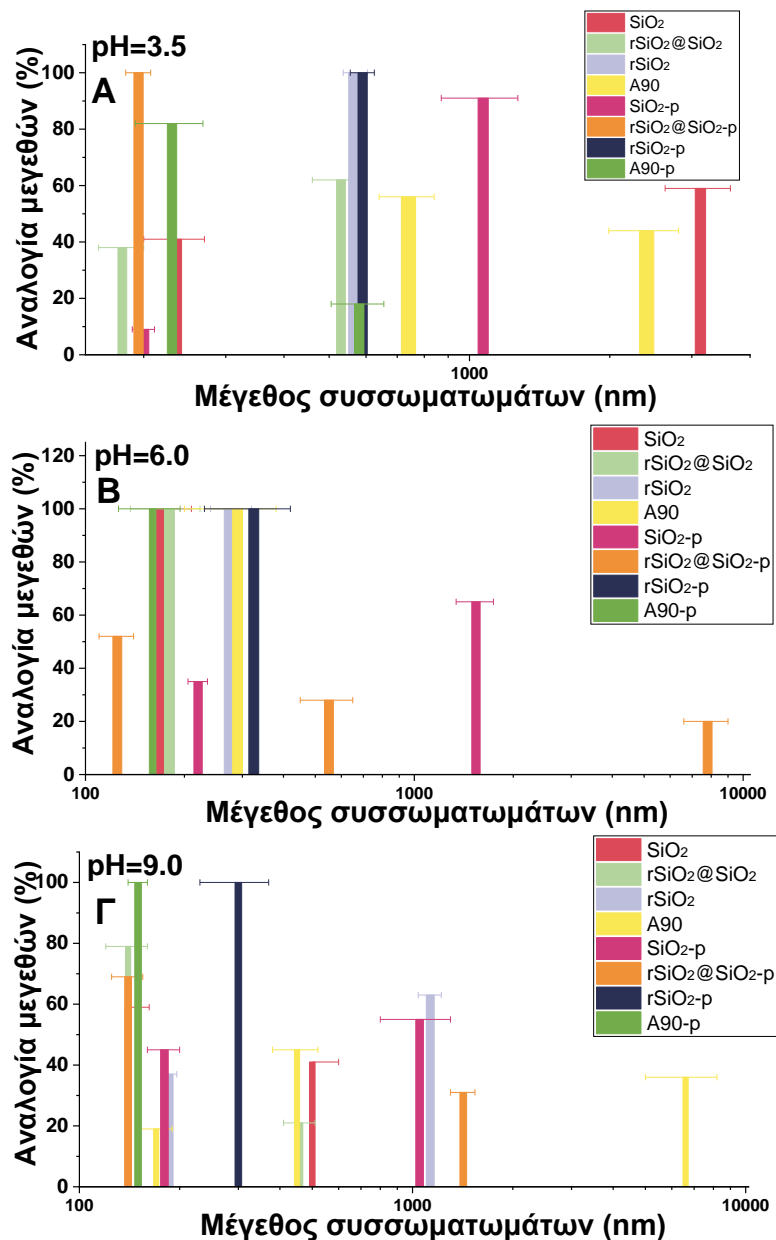
Τα συνθετιμένα σωματίδια σχηματίζουν συσσωματώματα, τα οποία καθορίζουν το υδροδυναμικό τους μέγεθος σε ένα μέσο διασποράς. Στην παρούσα έρευνα, τα υδροδυναμικά μεγέθη των συσσωματωμάτων μελετώνται σε υδατικά εναιωρήματά τους σε τρεις χαρακτηριστικές τιμές pH (όξινο ~ 3.50 , ασθενώς όξινο ~ 6.00 και αλκαλικό ~ 9.00). Στο Σχήμα 2-22 παρουσιάζονται όλα τα μεγέθη συσσωματωμάτων που σχηματίζουν τα έξι μελετώμενα υλικά σε δεδομένη τιμή pH και οι μεταξύ τους αναλογίες σε απόλυτο αριθμό.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 2-22 Α, η υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 σχηματίζει συσσωματώματα δύο μεγεθών σε όξινο pH, με μέσα μεγέθη 235 nm (41%) και 3130 nm (59%), αντίστοιχα. Σε pH=6 (Σχήμα 2-22 Β) η SiO_2 παρουσιάζει μόνο ένα μέσο μέγεθος συσσωματώματος ίσο με 170 nm. Αντίστοιχα, σε αλκαλικές τιμές pH (Σχήμα 2-22 Γ), η SiO_2 διαμορφώνεται ξανά σε δύο είδη συσσωματωμάτων μέσου μεγέθους 140 nm (59 %) και 500 nm (41%).

Η μικτή δομή $r\text{SiO}_2@r\text{SiO}_2$ σχηματίζει σε όξινο pH (Σχήμα 2-22 Α) δύο συσσωματώματα με μέσα μεγέθη 180 nm (38%) και 530 nm (62 %), αντίστοιχα. Το ίδιο υλικό σε pH=6 (Σχήμα 2-22 Β), διαμορφώνεται σε ένα μόνο συσσωμάτωμα μεγέθους 180 nm, αντίστοιχα της νανοπυριτίας υψηλής θερμοκρασίας. Σε αλκαλικό περιβάλλον (Σχήμα 2-22 Γ), η υβριδική δομή $r\text{SiO}_2@r\text{SiO}_2$ σχηματίζει συσσωματώματα δύο μεγεθών, 140 nm (79 %) και 460 nm (21%). Σε αντίθεση με τα προηγούμενα δύο υλικά, η σίλικα χαμηλής θερμοκρασίας $r\text{SiO}_2$ διατηρεί ένα μόνο μέγεθος συσσωματωμάτων τόσο σε pH=3.5 όσο και σε pH=6 (Σχήμα 2-22 Α, Β), μέσου μεγέθους 570 nm και 280 nm, αντίστοιχα. Ωστόσο, σε αλκαλικό περιβάλλον διαμορφώνεται αντίστοιχα των άλλων δύο υλικών σε συσσωματώματα μεγεθών 186 nm (37%) και 1130 (63%) (Σχήμα 2-22 Γ).

Για λόγους σύγκρισης, παρατίθεται στο ίδιο διάγραμμα και τα μεγέθη συσσωματωμάτων που σχηματίζει μια εμπορικά διαθέσιμη καπνοπυριτία, η Aerosil A90. Η A90 σχηματίζει σε όξινο pH δύο συσσωματώματα μέσου μεγέθους 740 nm (56 %) and 2400 nm (44 %), αντίστοιχα. Ακολούθως, σε pH=6 υπάρχει μόνο ενός μεγέθους συσσωμάτωμα ίσο με 290 nm, ενώ σε pH=9 η A90 διαμορφώνεται σε τρία διαφορετικά συσσωματώματα με μεγέθη 170 nm (18%), 450 nm (45%), και 6600 nm (36%). Μπορούμε εύκολα να παρατηρήσουμε πως στα εναιωρήματα όλων των υλικών (και της εμπορικά διαθέσιμης σίλικας) σε σχεδόν ουδέτερο pH=6, ευνοείται ο σχηματισμός συσσωματωμάτων ενός μόνο μεγέθους.

Η μετα-συνθετική αλκαλική κατεργασία της επιφάνειας των νανοϋλικών επιφέρει σχετικά μέτριες αλλαγές στην διαμόρφωση των συσσωματωμάτων τους. Πιο συγκεκριμένα, η SiO_2 -p σχηματίζει σε όξινο περιβάλλον ένα κύριο μέγεθος συσσωματώματος ίσο με 1070 nm (91%) και ένα δευτερεύον ίσο με 200 nm (9%). Σε pH=6 η υψηλής θερμοκρασίας τροποποιημένη σίλικα SiO_2 -p σχηματίζει δύο συσσωματώματα με μέσα μεγέθη 220 nm (35%) και 1540 (65%), ενώ σε αλκαλικό pH, τα δύο μεγέθη



ΣΧΗΜΑ 2-22 Μεγέθη συσσωματωμάτων που σχηματίζουν τα έξι μελετώμενα υλικά σε δεδομένη τιμή pH και οι μεταξύ τους αναλογίες σε απόλυτο αριθμό σε τρεις χαρακτηριστικές τιμές pH (A) pH=3.5, (B) pH=6, και (Γ) pH=9.

αλλάζουν σε 180 nm (45 %) και 1050 nm (55%). Η μικτή τροποποιημένη δομή rSiO₂@SiO₂-p σχηματίζει ένα συσσωμάτωμα μεγέθους 195 ± 15 nm σε όξινο περιβάλλον, τρία μεγέθη συσσωματωμάτων σε pH=6 ίσα με 125 ± 15 nm (52%), 550 ± 100 nm (28%), και 7800 ± 1200 nm (20%), και δύο συσσωματώματα με μέσα μεγέθη 140 ± 15 nm (69%), και 1420 ± 120 nm (31%) σε pH=9.

Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω αποτελέσματα συνολικά, είναι εμφανές πως (i) το κυρίαρχο μέγεθος συσσωματώματος της υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 και της αντίστοιχης αλκαλικά κατεργασμένης $\text{SiO}_2\text{-p}$, κυμαίνεται στα 190 ± 50 nm, (ii) οι μικτές δομές $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$ και $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2\text{-p}$ διαμορφώνονται σε σταθερά συσσωματώματα μεγέθους 160 ± 50 nm, και, τέλος, (iii) η χαμηλής θερμοκρασίας rSiO_2 και η αντίστοιχη της $\text{rSiO}_2\text{-p}$ λαμβάνουν τη διαμόρφωση ενός συσσωματώματος μέσου μεγέθους 590 ± 35 nm (pH=3.5), 325 ± 95 nm (pH=6), και 300 ± 70 nm (pH=9).

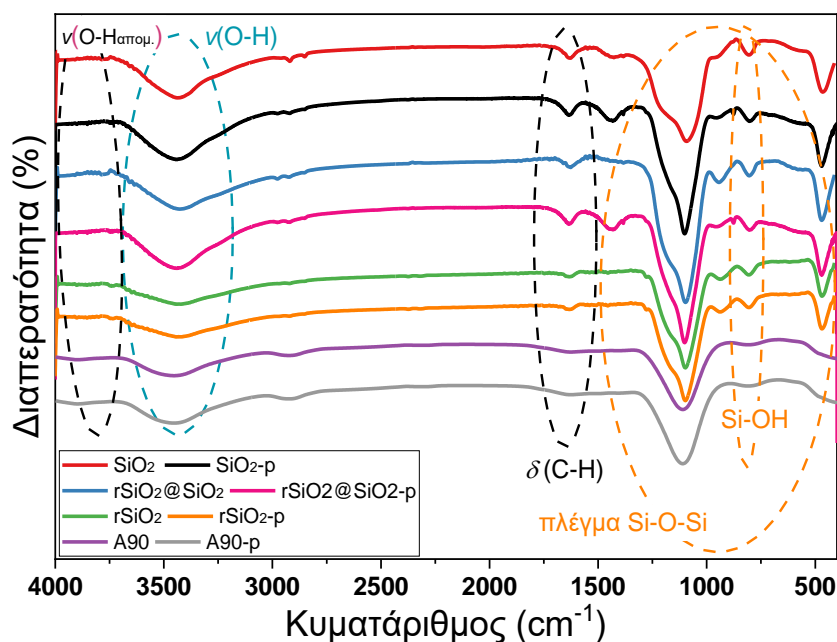
(iii) Ανάλυση μέσω δονητικής φασματοσκοπίας FT-IR και Raman.

Μελετήθηκε η δομή του πυριτικού πλέγματος καθώς και των λειτουργικών επιφανειακών ομάδων των νανοϋλικών μέσω φασματοσκοπιών υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (Fourier-transform infrared spectroscopy, FT-IR) και Raman. Στο **Σχήμα 2-23** παρουσιάζονται τα φάσματα FT-IR όλων των υλικών σε εύρος $4000 - 400$ cm^{-1} , όπου διακρίνονται κορυφές χαρακτηριστικών δονήσεων του πυριτικού πλέγματος (Si-O-Si σε $\sim 1400 - 400$ cm^{-1}) και της επιφάνειας (χαρακτηριστικές δονήσεις $\nu(\text{O-H})$ σε ~ 3400 cm^{-1} ή **Si-OH** σε ~ 800 cm^{-1})²⁸⁸.

Πιο αναλυτικά, όλα τα υλικά νανοςίλικας παρουσιάζουν κορυφές FT-IR που αποδίδονται στις δονήσεις του πυριτικού πλέγματος, και των επιφανειακών ομάδων οξυγόνου: οι κορυφές στα ~ 1090 cm^{-1} , ~ 800 cm^{-1} , και ~ 490 cm^{-1} αποδίδονται στις δονήσεις αναπνοής (breathing modes) των σιλοξανικών δακτυλίων ενώ η κορυφή στα ~ 945 cm^{-1} οφείλεται στην δόνηση τάσης του δεσμού Si-OH³⁰⁵. Η δόνηση τάσης του χαρακτηριστικού δεσμού O-H παρουσιάζεται ως μια φαρδιά κορυφή³⁰⁶ τοποθετημένη στην περιοχή των ~ 3430 cm^{-1} . Οι εντάσεις των κορυφών στην περιοχή των ~ 3700 cm^{-1} λόγω των δονήσεων O-H των απομονωμένων σιλανολών της επιφάνειας (πιθανώς τοξικές¹⁹⁶), είναι αμελητέες.

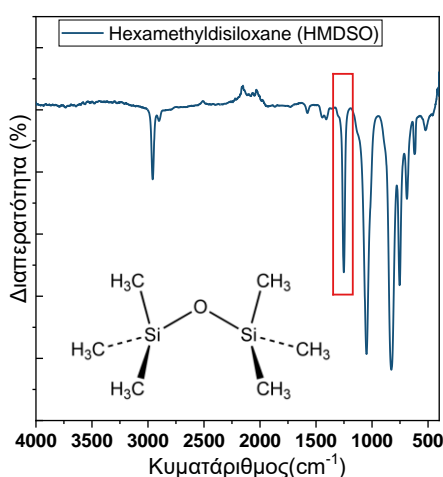
Ανιχνεύονται ακόμη, κορυφές που αντιστοιχούν σε ίχνη υπολειμμάτων άνθρακα που σχηματίζονται κατά την καύση της συνθετικής πορείας στην περιοχή ~ 2918 , ~ 2948 cm^{-1} και αποδίδονται σε $\nu(\text{C-H})$ ενώ η κορυφή στα ~ 1627 cm^{-1} προέρχεται από τη δόνηση κάμψης του $\delta(\text{O-H})$ ⁵⁸.

Η μείωση της έντασης της κορυφής της δόνησης τάσης $\nu(\text{C-H})$ γίνεται αναλογικά με την μείωση της θερμοκρασίας, δηλαδή είναι μειωμένη στο $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$ και ελάχιστη στο υλικό rSiO_2 σε σχέση με το SiO_2 , γεγονός που αποδεικνύει την επιτυχία της αδρανοποίησης της επιφάνειας των υλικών χαμηλής θερμοκρασίας.

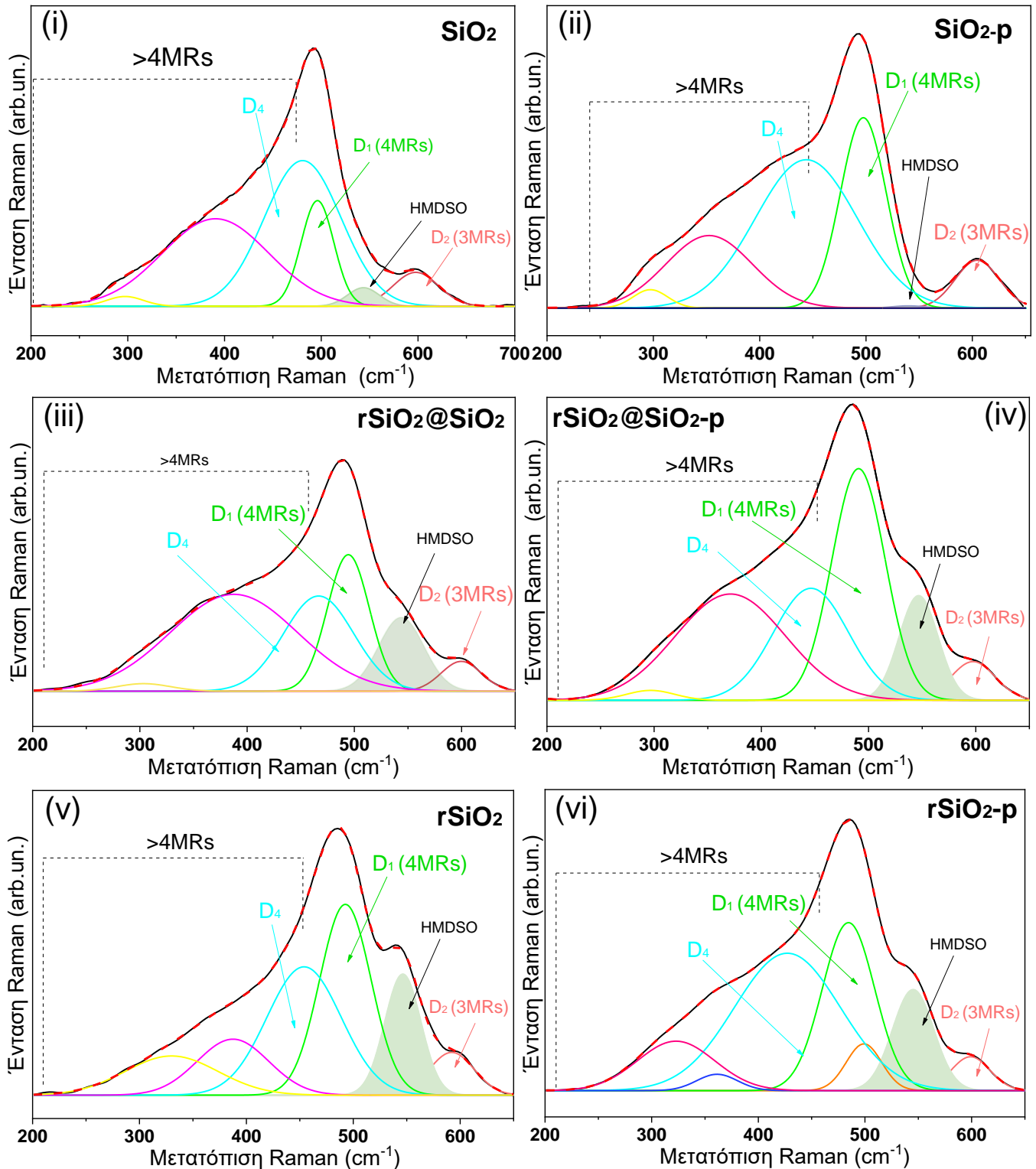


ΣΧΗΜΑ 2-23 Μελέτη FT-IR σε εύρος $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ των νανοϋλικών SiO_2 (κόκκινο), $\text{SiO}_2\text{-p}$ (μαύρο), $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$ (μπλε), $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2\text{-p}$ (ροζ), rSiO_2 (πράσινο), $\text{rSiO}_2\text{-p}$ (πορτοκαλί), A90 (μωβ) και A90-p (γκρι).

Τέλος, μελετήθηκε ξεχωριστά μέσω φασματοσκοπίας υπερόθρου μετασχηματισμού Fourier με αποσβένουσα ολική ανάκλαση (attenuated total reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy, ATR-FTIR), η υγρή πρόδρομη ένωση HMDSO (βλ. **Σχήμα 2-24**). Από το φάσμα στο Σχήμα 2-24 γίνεται σαφές πως η κορυφή στα 1270 cm^{-1} (κόκκινο πλαίσιο) προέρχεται από τις δονήσεις των ομάδων Si-CH_3 της πρόδρομης ένωσης.



ΣΧΗΜΑ 2-24 Φάσμα ATR-FTIR της υγρής πρόδρομης ένωσης εξαμεθυλ-δισιλοξάνιο (HMDSO).



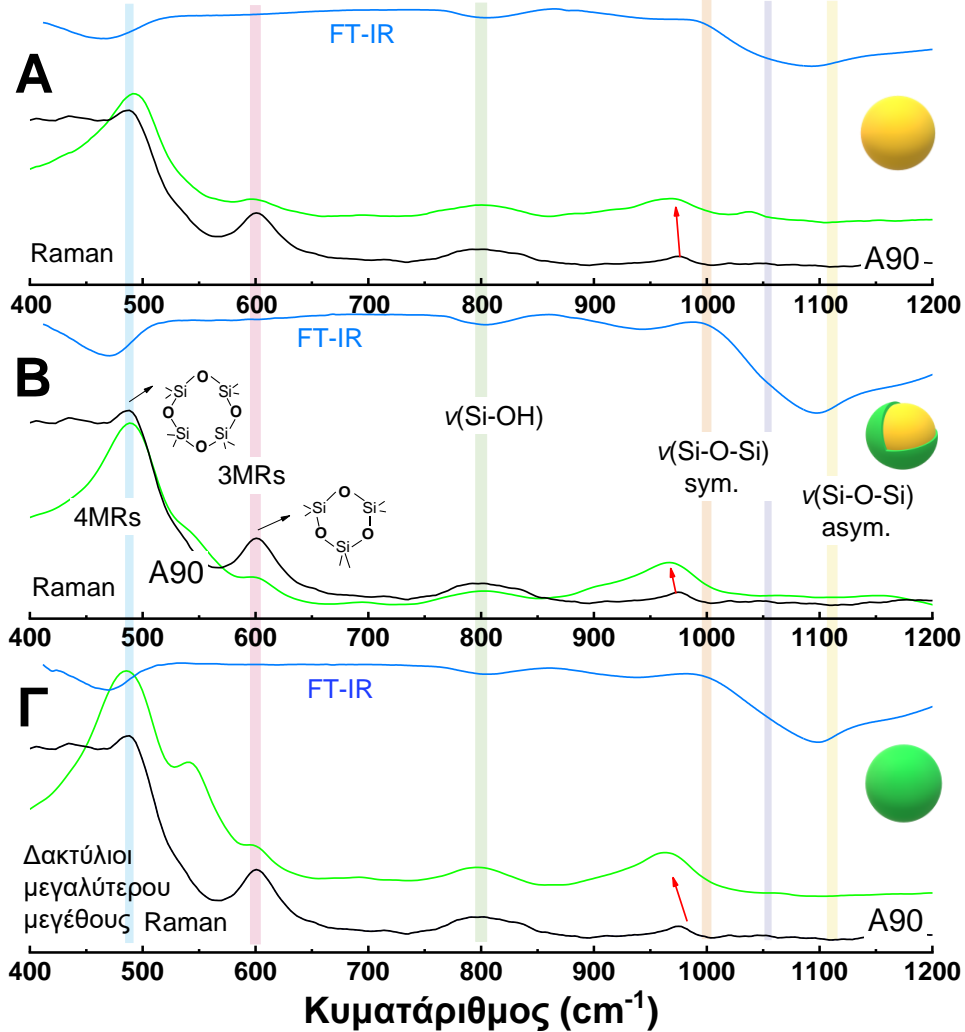
ΣΧΗΜΑ 2-25 Φάσματα Raman (και θεωρητική ανάλυση) όλων των υλικών νανοσίλικας στην περιοχή των δονήσεων του πυριτικού πλέγματος. (i) SiO_2 , (ii) $\text{SiO}_2\text{-p}$, (iii) $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$, (iv) $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2\text{-p}$, (v) rSiO_2 , και (vi) $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2\text{-p}$.

Συμπληρωματικά της φασματοσκοπίας υπερύθρου FT-IR, η φασματοσκοπία Raman αποτελεί ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο για τη μελέτη της δομής του πυριτικού πλέγματος καθώς οι δακτύλιοι των σιλοξανίων παρουσιάζουν διακριτές δονήσεις¹⁷⁹, κυρίως στην περιοχή 300 - 600 cm⁻¹. Στο **Σχήμα 2-25** αναλύεται η περιοχή των δονήσεων αναπνοής των πυριτικών δακτυλίων όλων των υλικών, όπου φαίνεται πως τόσο η μείωση της θερμοκρασίας σύνθεσης όσο και η μετα-συνθετική αλκαλική κατεργασία επηρεάζουν σημαντικά τη δομή. Και στις δύο περιπτώσεις, εμφανίζονται νέες κορυφές σε κυματάριθμους μικρότερους των 400 cm⁻¹ που αποδίδονται σε δονήσεις αναπνοής δακτυλίων μεγαλύτερης έκτασης (όπως πενταμελείς, εξαμελείς κτλ.)¹⁷⁹. Η ωρίμανση του πυριτικού πλέγματος που υποδηλώνεται μέσω του σχηματισμού σιλοξανικών δακτυλίων μεγαλύτερης έκτασης, οδηγεί σε λιγότερο δραστικές νανοδομές (δεσμοί μικρότερης τάσης) με πιο χαλαρές διαμορφώσεις.

Ιδιαίτερα στην περίπτωση των υλικών SiO₂ και SiO₂-p, η αλκαλική κατεργασία φαίνεται να μετασχηματίζει σημαντικά το πυριτικό πλέγμα (βλ. Σχήμα 2-25 (i), (ii)). Ομοίως, ο βαθμός ωρίμανσης του πλέγματος είναι μεγαλύτερος και στα υλικά χαμηλότερης θερμοκρασίας rSiO₂@SiO₂ και rSiO₂. Ωστόσο, η ωρίμανση αυτή συμβαίνει ήδη σε μεγάλο βαθμό κατά τη σύνθεση των νανοϋλικών μέσω της ΠΨΦ, και δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από το επιπλέον στάδιο της μετα-συνθετικής διεργασίας.

Στο **Σχήμα 2-26** απεικονίζονται συγκριτικά τα φάσματα Raman και FT-IR των τριών υλικών νανοπυριτίας που συντέθηκαν μέσω ΠΨΦ, καθώς και το φάσμα Raman της εμπορικά διαθέσιμης Aerosil A90, σε εύρος 400-1200 cm⁻¹. Παρατηρούνται, πολλαπλές μετατοπίσεις (κόκκινα βέλη) ενδεικτικές της αδρανοποίησης της επιφάνειας των υλικών. Πιο συγκεκριμένα, η κορυφή που εντοπίζεται στα ~974 cm⁻¹ στο φάσμα Raman της εμπορικής νανοσίλικας A90, μετατοπίζεται προς χαμηλότερες τιμές στην χαμηλής θερμοκρασίας rSiO₂ (~965 cm⁻¹). Ομοίως, η κορυφή των ~837 cm⁻¹ μετατοπίζεται στα ~797 cm⁻¹ και η κορυφή των 600 cm⁻¹ ανιχνεύεται στην περιοχή των ~542 cm⁻¹.

Σημαντικό σημείο αποτελεί η κορυφή στα ~547 cm⁻¹ που αποδίδεται σε άκαυστα μόρια Si-CH₃ της πρόδρομης ένωσης εξαμεθυλ-δισιλοξάνιο (HMDSO), και εντοπίζεται μόνο στα υλικά χαμηλής θερμοκρασίας rSiO₂, rSiO₂-p, rSiO₂@SiO₂ και rSiO₂@SiO₂-p. Η απουσία της κορυφής αυτής στην υψηλής θερμοκρασίας SiO₂ αλλά και στη μετα-συνθετικά τροποποιημένη SiO₂-p αποδεικνύει πως η κύρια πλεγματική αναδιοργάνωση προκαλείται κατά τη σύνθεση χαμηλής θερμοκρασίας μέσω της Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας και όχι κατά τη μετα-συνθετική κατεργασία. Ο **Πίνακας 3** περιλαμβάνει τις αποδόσεις των χαρακτηριστικών κορυφών των φασμάτων FT-IR και Raman.



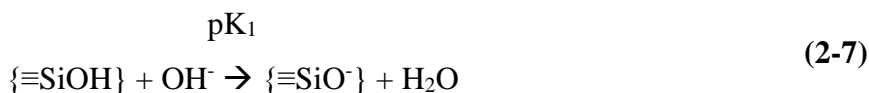
Σχήμα 2-26 Συγκριτικά τα φάσματα Raman και FT-IR των τριών υλικών νανοपुरιτίας που συντέθηκαν μέσω ΠΨΦ, καθώς και το φάσμα Raman της εμπορικά διαθέσιμης Aerosil A90, σε εύρος 400-1200 cm^{-1} . (A) Υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 , (B) Μικτή σίλικά $r\text{SiO}_2@r\text{SiO}_2$ και (Γ) Χαμηλής θερμοκρασίας $r\text{SiO}_2$.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3 Χαρακτηριστικές δονήσεις FT-IR και Raman πυριτικού πλέγματος.

IR (cm^{-1})	Raman (cm^{-1})	Απόδοση κορυφών	Βιβλιογρ.
~1090	~1090	$\nu(\text{Si-O-Si})$ asym. Μη γεφ. άτομα οξυγόνου	307, 308
~950	~974	$\nu(\text{Si-O(H)})$	307, 179, 309
~800	~800	$\nu(\text{Si-O-Si})$ sym.	307, 179
~600	~604	3MR $\delta(\text{Si-O-Si})$ Δονήσεις αναπνοής δακτυλίων	179
494 - 423	~494	$\delta(\text{Si-O-Si})$ asym. 4MR, 5MR, και 6MR Δονήσεις αναπνοής δακτυλίων	308, 179

(iv) *Επιφανειακό φορτίο νανοϋλικών SiO₂: Μελέτη δυναμικού ζ.*

Στα υλικά νανοσίλικας, οι επιφανειακές σιλανόλες ορίζουν τις σταθερές pK των επιφανειακών αντιδράσεων³¹⁰. Σε μια διασπορά σε υδατικό μέσο, οι επιφανειακές σιλανόλες ($\equiv\text{Si-OH}$) μεταβάλλουν το επιφανειακό φορτίο των νανοϋλικών μέσω αντιδράσεων πρωτονίωσης / αποπρωτονίωσης όπως περιγράφονται στις (2-7) και (2-8).



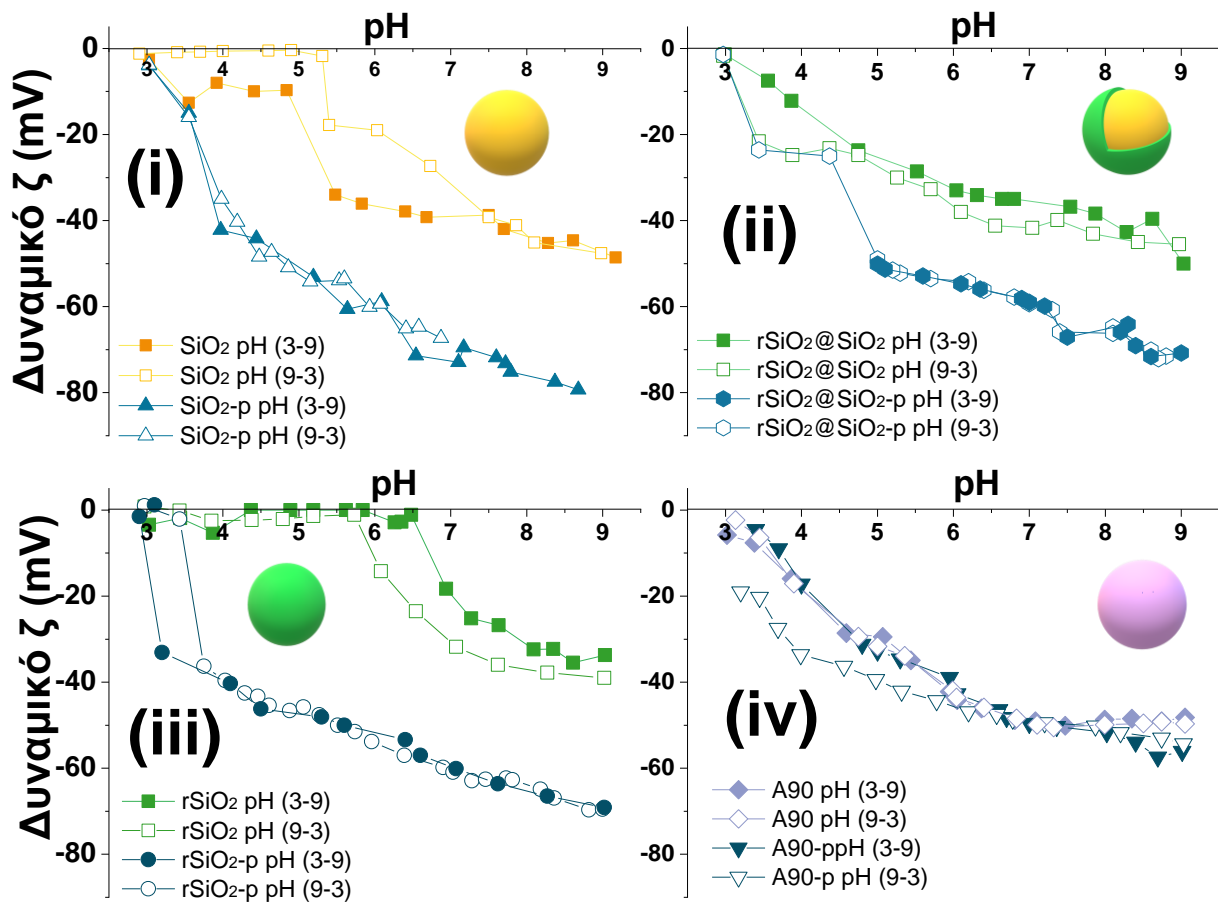
Όπου το σύμβολο $\{\equiv\}$ δηλώνει πως τα χημικά είδη σχηματίζονται στην διεπιφάνεια της síλικας με τα H^+ και OH^- του υγρού μέσου διασποράς.

Στο πλαίσιο αυτό, η συγκέντρωση των H^+ και OH^- εξαρτάται από το pH του υγρού μέσου ενώ η ισορροπία των αντιδράσεων (2-7) και (2-8) καθορίζεται από τις σταθερές pK₁ και pK₂. Η τιμή της σταθεράς pK₂ είναι περίπου ίση με ~ 2.0 ³¹¹.

Για το λόγο αυτό, η αντίδραση (2-8) συνεισφέρει ελάχιστα στο επιφανειακό φορτίο στο τυπικό εύρος 3.0 – 9.0 καθώς σε τιμές pH > 2.0 η επιφάνεια της νανοσίλικας είναι μόνιμα μη-πρωτονιωμένη. Αντίθετα, η τιμή της σταθεράς pK₁ κυμαίνεται μεταξύ 6.0-7.0, δίνοντας με αυτό το τρόπο τη δυνατότητα στην αντίδραση (2-7) να επικρατεί. Αναμένεται, επομένως, μια τυπική νανοπυριτία να είναι είτε μη φορτισμένη σε $\text{pK}_2 < \text{pH} < \text{pK}_1$ είτε αρνητικά φορτισμένη σε $\text{pH} > \text{pK}_2$.

Ακολουθήθηκαν διαφορετικά πρωτόκολλα τιτλοδότησης για να μελετηθεί το πώς διαδοχικές μεταβολές του pH επηρεάζουν τη διάσταση των επιφανειακών ομάδων. Το **Σχήμα 2-27** παρουσιάζει τις καμπύλες των δυναμικών ζ συναρτήσει του pH των τριών ομάδων υλικών που αναπτύχθηκαν καθώς και του εμπορικού υλικού A90. Όταν το pH μεταβάλλεται από όξινες προς αλκαλικές τιμές το ισοηλεκτρικό σημείο (ΙΣ) των υλικών SiO₂ και rSiO₂@SiO₂ είναι ίσο με $\text{pH}_{\text{IS}}=3.0$, όμοια με το ισοηλεκτρικό σημείο της εμπορικής síλικας A90. Οι τιμές αυτές (ΙΣ $\sim \text{pH}=2.0-3.0$) είναι συνηθισμένες στην περίπτωση των υλικών síλικας που έχουν συντεθεί μέσω φλόγας³¹¹. Μετά το τέλος της τιτλοδότησης, τα σωματίδια επώαστηκαν για 15 λεπτά σε τιμή pH=9.0 και επανατιτλοδοτήθηκαν προς όξινο pH.

Κατά τη διάρκεια της δεύτερης τιτλοδότησης, το ΙΣ του υλικού SiO_2 μετατοπίστηκε από $\text{pH}_{\text{IS}}=3.0$ προς $\text{pH}_{\text{IS}}=4.8$ (βλ. Σχήμα 2-27 (i)), με ταυτόχρονη μείωση του δυναμικού ζ (πιο αρνητικές τιμές). Επακόλουθες τιτλοδοτήσεις από όξινο σε αλκαλικό pH δεν δείχνουν περαιτέρω αλλαγές στο δυναμικό ζ ή το ισοηλεκτρικό σημείο. Όπως περιγράφεται στην αντίδραση (2-7), οι επιφανειακές ομάδες $\equiv\text{Si-OH}$ αποπρωτονιώνονται προς ομάδες $\equiv\text{Si-O}^-$ καθώς το pH αυξάνεται προς αλκαλικές τιμές ενώ πρωτονιώνονται εκ νέου κατά τη διάρκεια της δεύτερης τιτλοδότησης. Στο πλαίσιο αυτό, μετά την έκθεση σε αλκαλικό pH, η σταθερά pK_a των ομάδων $\equiv\text{Si-OH}$ αυξάνεται και το ΙΣ αυξάνεται επίσης από $\text{pH}_{\text{IS}}=3.0$ σε $\text{pH}_{\text{IS}}=4.8$.



ΣΧΗΜΑ 2-27 Δυναμικό ζ (mV) των (i) SiO_2 & $\text{SiO}_2\text{-p}$, (ii) $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$ & $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2\text{-p}$, (iii) rSiO_2 & $\text{rSiO}_2\text{-p}$, και (iv) A90 & A90-p .

Μετά από μια σύντομη επώαση σε αλκαλικό pH, η αποπρωτονίωση των επιφανειακών ομάδων $\equiv\text{Si-OH}$ είναι πιθανώς πιο δύσκολο να συμβεί, δηλαδή, η σύνδεση των επιφανειακών ομάδων $\equiv\text{Si-O}$ με τα διεπιφανειακά H^+ γίνεται ισχυρότερη. Αυτό το φαινόμενο παρατηρείται σε όλα τα σωματίδια που παρασκευάζονται μέσω ΠΨΦ. Τα δεδομένα τιτλοδότησης του $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$ (βλ. Σχήμα 2-27 (ii))

αποκαλύπτουν ότι η κατανομή του επιφανειακού φορτίου μεταβάλλεται ελαφρώς όταν το pH μειώνεται από αλκαλικό σε όξινο, όπως αποδεικνύεται από το πιο αρνητικό δυναμικό ζ. Ωστόσο, το ΙΣ δεν μεταβάλλεται. Στην περίπτωση του υλικού $r\text{SiO}_2$ (βλ. Σχήμα 2-27 (iii)) το δυναμικό ζ γίνεται πιο αρνητικό σε τιμές pH μεγαλύτερες του ΙΣ. Το ΙΣ, τέλος, παραμένει αμετάβλητο σε τιμή 5.8.

Τα έως τώρα δεδομένα μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

- (i) Οι επιφανειακές ομάδες $\equiv\text{Si-OH}$ της νανοσίλικας χαμηλής θερμοκρασίας $r\text{SiO}_2$ παρουσιάζουν σταθερά ισορροπίας pK_1 ίση με 5.8, η οποία δεν μεταβάλλεται μετά την έκθεση σε αλκαλικό περιβάλλον.
- (ii) Η síλικά υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 φέρει επιφανειακές ομάδες $\equiv\text{Si-OH}$ με περισσότερο όξινες σταθερές ισορροπίας pK_1 (~2.3), οι οποίες μετατοπίζονται σημαντικά προς αλκαλικές τιμές μετά την έκθεσή τους σε αλκαλικό pH.

Η ανάλυση του δυναμικού ζ παρέχει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την ποιότητα της επιφάνειας και του είδους των ομάδων που φέρει. Από τα παραπάνω σημεία φαίνεται πως είναι δυνατή η δημιουργία διαφορετικών επιφανειακών ομάδων κατά την ΠΨΦ. Στην περίπτωση της χαμηλής θερμοκρασίας $r\text{SiO}_2$ διευκολύνεται ο σχηματισμός γεφυροποιών ειδών $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$ που δεν επηρεάζονται σημαντικά από μεταβολές του pH και συνυπάρχουν με μόρια σιλανολών στην επιφάνεια των υλικών. Η ύπαρξη κυρίως ομάδων $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$ στην επιφάνεια της $r\text{SiO}_2$ μπορεί επιπλέον να εξηγήσει τις ελάχιστες αλλαγές στο σχήμα της καμπύλης δυναμικού ζ ανάμεσα από διαδοχικές τιτλοδοτήσεις, σε αντίθεση με την SiO_2 . Επιπλέον, η σύνθεση σε χαμηλότερη θερμοκρασία θα μπορούσε να διευκολύνει την παρουσία πρωτονιωμένων σιλανολών ($\equiv\text{Si-OH}$), ενώ η ΠΨΦ υψηλής θερμοκρασίας φαίνεται να ευνοεί κυρίως το σχηματισμό ομάδων Si-O^- .

Βάσει των αποτελεσμάτων, είναι σαφές ότι το SiO_2 σε υψηλή θερμοκρασία έχει μια πιο υδροξυλιωμένη επιφάνεια από την αδρανοποιημένη, χαμηλής θερμοκρασίας νανοσίλικα, όπου (i) επικρατούν οι δομές σιλοξανίων και (ii) η παρουσία αλειφατικών ιχνών άνθρακα ενδέχεται να μεταβάλει το pK_a των ομάδων επιφάνειας προς πιο αλκαλικές τιμές.

Δεδομένου ότι η σύντομη έκθεση των σωματιδίων σε αλκαλικό pH, δηλαδή, κατά τη διάρκεια της τιτλοδότησής τους προς αλκαλικές τιμές, ήταν ικανή να προκαλέσει διαφοροποιήσεις στις επιφανειακές ομάδες των νανοϋλικών síλικας, διερευνήθηκε σε επόμενο στάδιο η επίδραση μιας πιο στοχευμένης υγρής διεργασίας αδρανοποίησης. Στα αλκαλικά τροποποιημένα νανοϋλικά, δηλ. τα "p"-επισημασμένα υλικά, πράγματι φαίνεται να ευνοείται το άνοιγμα των σιλοξανικών δακτυλίων και κατά συνέπεια η συμπύκνωση των επιφανειακών σιλανολών σε σιλοξάνια. Όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 2-27 (μπλε καμπύλες):

- (i) οι αλλαγές στις διαδοχικές τιτλοδοτήσεις οξέος-βάσης όλων των “p” νανοϋλικών είναι αμελητέες αφού τόσο οι καμπύλες των κύριων τιτλοδοτήσεων (όξινα προς αλκαλικά pH) αλλά και οι καμπύλες των οπισθοτιτλοδοτήσεων (αλκαλικά προς όξινα pH) είναι πρακτικά πανομοιότυπες, και
- (ii) το σχηματισμένο εξωτερικό κέλυφος των “p” νανοϋλικών οδηγεί σε συνεπείς τιμές των ισοηλεκτρικών σημείων, ίσες με $pH_{IS} = 3.0$ σε όλες τις περιπτώσεις.

Όπως υποστηρίζεται από την ανάλυση Raman, η διεργασία p προάγει τον σχηματισμό περισσότερο εκτεταμένων σιλοξανικών γεφυρών $\equiv Si-O-Si \equiv$ ^{312,313}. Επιπλέον, όπως φαίνεται στις καμπύλες τιτλοδότησης στο Σχήμα 2-27, το δυναμικό ζ προσεγγίζει σημαντικά πιο αρνητικές τιμές, δηλαδή σε σύγκριση με τα μη-τροποποιημένα νανοϋλικά, υποδεικνύοντας ότι το στρώμα p μπορεί επίσης να αλληλεπιδράσει με μόρια νερού.

Ενδιαφέρον, παρουσιάζει η περίπτωση της εμπορικής σίλικας A90. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 2-27 (iv), το δυναμικό ζ της A90 παραμένει αμετάβλητο ανάμεσα στις δυο διαδοχικές τιτλοδοτήσεις. Τόσο η σύντομη έκθεση σε αλκαλικό περιβάλλον όσο και η αλκαλική τροποποίηση δεν φαίνεται να έχει καμία σημαντική επίδραση στο επιφανειακό φορτίο της A90. Μια πιθανή εξήγηση για το φαινόμενο αυτό, μπορεί να εντοπιστεί στο σχηματισμό σταθερών, ενυδατωμένων δομών στην επιφάνεια του συγκεκριμένου εμπορικού υλικού, καθώς δεν πρόκειται για ένα πρόσφατα παρασκευασμένο υλικό (χρόνος αποθήκευσης > 1 έτος). Η αξιολόγηση αυτή απαιτεί, ωστόσο, περισσότερη έρευνα.

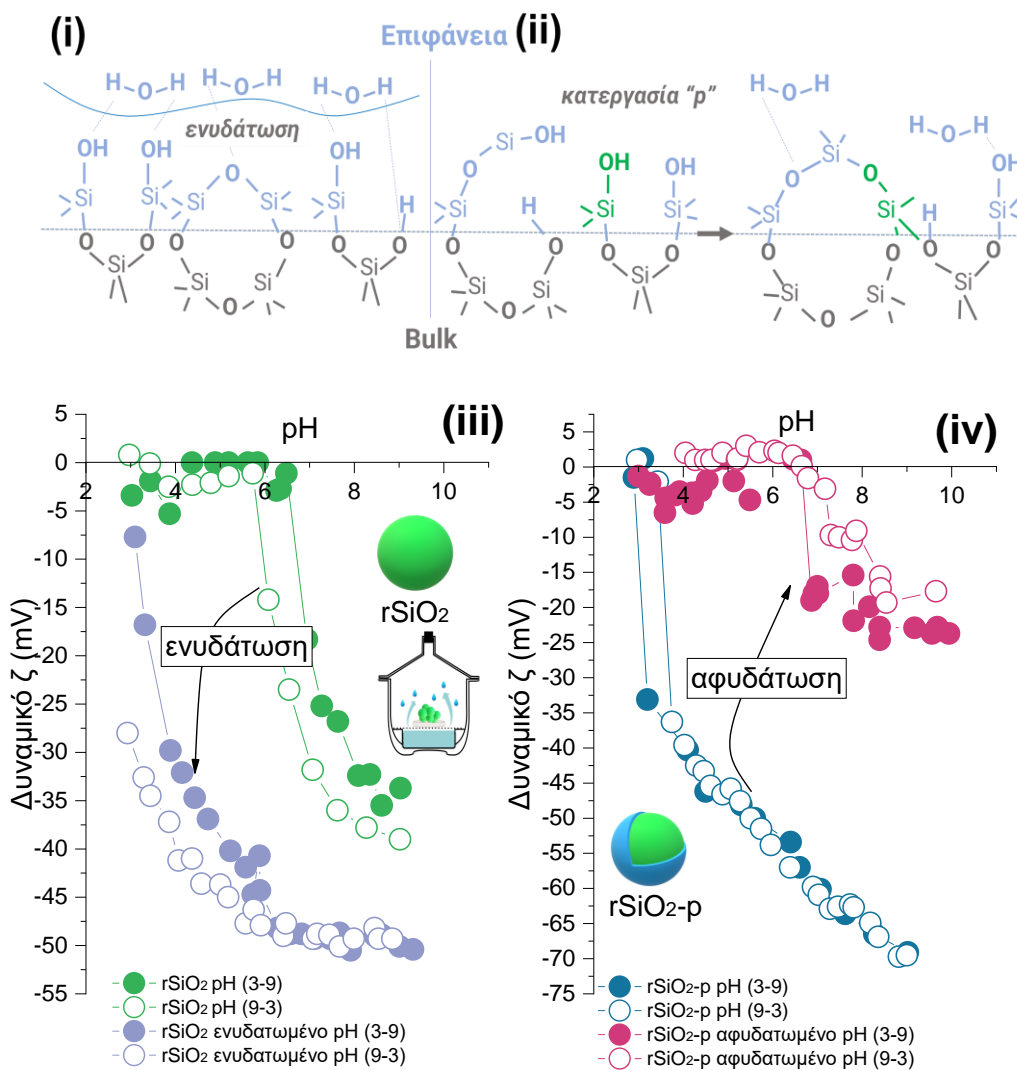
Επίδραση της ενυδάτωσης των νανοϋλικών:

Η επίδραση της ενυδάτωσης στο δυναμικό ζ μελετάται σε ένα τελευταίο βήμα της αξιολόγησης του επιφανειακού φορτίου, ενώ στο **Σχήμα 2-28 (i-ii)** απεικονίζεται σχηματικά η ενυδάτωση σε σχέση με την αλκαλική κατεργασία των επιφανειών. Πραγματοποιείται μια σειρά πειραμάτων που περιλαμβάνει ενυδάτωση του $rSiO_2$ και αφυδάτωση του $rSiO_2$ -p και τα αποτελέσματα συσχετίζονται με την ικανότητα της επιφανειακής προσρόφησης και εκρόφησης νερού να μεταβάλλει το δυναμικό ζ. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 2-28 (iii), ενυδάτωση του υλικού $rSiO_2$ μετά από παραμονή του υλικού σε κορεσμένη με υδρατμούς ατμόσφαιρα (στο εσωτερικό ξηραντήρα υπό κενό) οδηγεί σε φυσική προσρόφηση H_2O και μεταβολή του $I\Sigma$ που γίνεται ίσο με $pH_{IS}=3.0$. Αντίστοιχα, μετά από ήπια θέρμανση του $rSiO_2$ -p στους 40 °C υπό κενό για 24 h, το $I\Sigma$ του αφυδατωμένου υλικού μετατοπίζεται από 3.0 σε 6.7 (βλ. Σχήμα 2-28 (iv)).

Προφανώς, κάτω από ήπια θέρμανση (40 °C) υπό κενό, απομακρύνθηκαν φυσικά προσροφημένα μόρια H₂O από την επιφάνεια.

Συνοψίζοντας, το ισοηλεκτρικό σημείο των υλικών νανοσίλικας βιομηχανικού ενδιαφέροντος φαίνεται να:

- (i) αυξάνεται ανάλογα με τη διάταξη σύνθεσης (αδρανοποίηση μέσω διάταξης χαμηλής θερμοκρασίας δακτυλίου κατά την ΠΨΦ αυξάνει το ΙΣ) και
- (ii) μεταβάλλεται μέσω υγρής αλκαλικής κατεργασίας ή και ενυδάτωσης.



ΣΧΗΜΑ 2-28 (i) Σχηματική απεικόνιση της προσρόφησης νερού κατά την ενυδάτωση της νανοσυριτίας, (ii) Σχηματική απεικόνιση της αποπρωτονίωσης, του ανοίγματος δακτυλίου, συμπύκνωσης και προσρόφησης νερού κατά τη διάρκεια της αλκαλικής μετα-συνθετικής κατεργασίας, (iii) Δυναμικό ζ (mV) του υλικού rSiO₂ πριν και μετά την ενυδάτωση του για 48 h και (iv) Δυναμικό ζ (mV) του υλικού rSiO₂-p πριν και μετά την αφυδάτωση του για 24 h.

(v) Παραγωγή Ελευθέρων Ριζών

Η φασματοσκοπία ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού (EPR) ανιχνεύει τις ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$) που οδηγούν σε οξειδωτικό στρες και βλάβη των κυττάρων. Χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της παραγωγής ριζών υδροξυλίου το N-οξειδίου της 5,5-διμεθυλοπυρρολίνης (DMPO) (5,5-dimethyl-pyrroline N-oxide) ως μόριο spin-trap, δηλαδή μόριο που παγιδεύει την ασταθή ελεύθερη ρίζα σχηματίζοντας σταθερά, ανιχνεύσιμα μέσω EPR ενδιάμεσα. Επιπλέον, η σταθερή ελεύθερη ρίζα 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλοϋδραζύλιο (DPPH) χρησιμοποιείται ως πρότυπο για την ποσοτικοποίηση των παραγόμενων ελευθέρων ριζών^{133,202}.

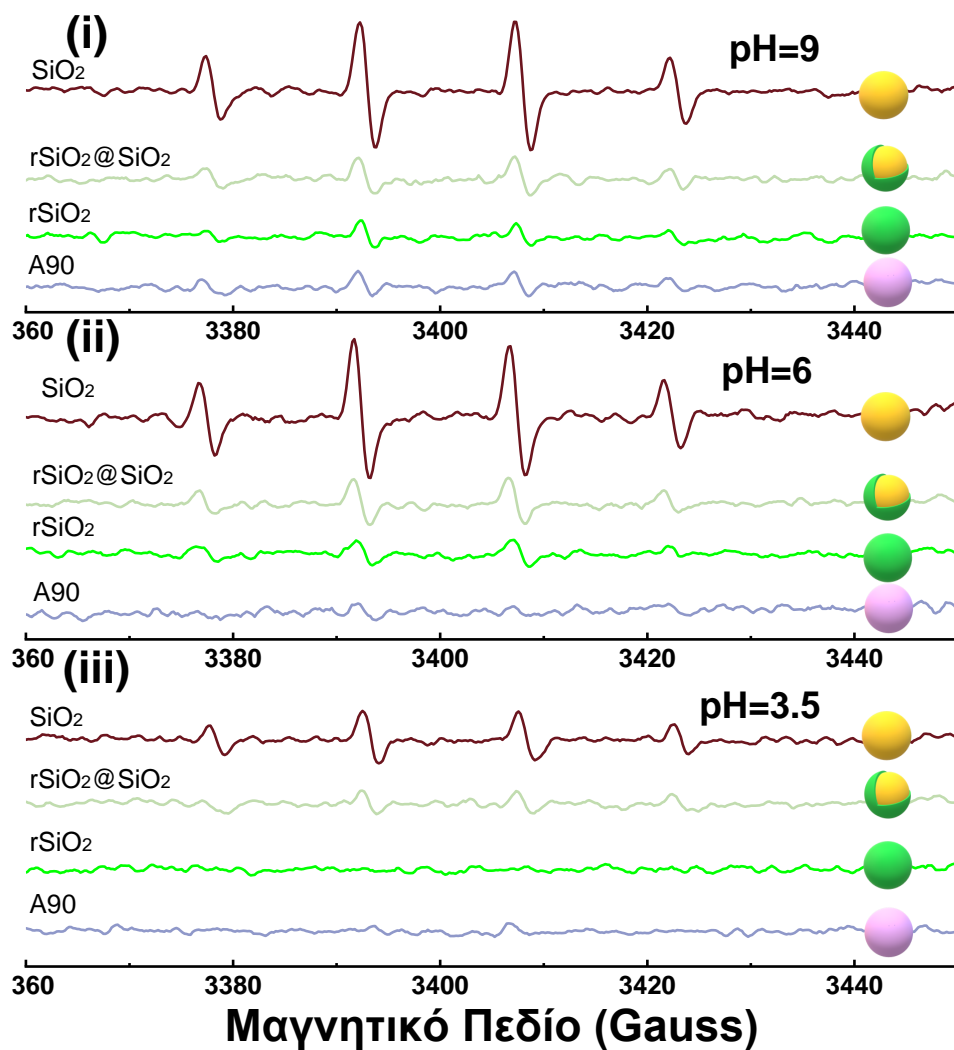
Στο **Σχήμα 2-29** παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά σήματα EPR (τετραπλέτα) των σταθερών ριζών DMPO- $\bullet\text{OH}$. Τα τρία νανοϋλικά SiO_2 , $\text{rSiO}_2@/\text{SiO}_2$, και rSiO_2 παράγουν ρίζες $\bullet\text{OH}$ παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) ενώ δεν σχηματίζονται ρίζες απουσία των νανοϋλικών. Για το λόγο αυτό, συμπεραίνεται πως η παραγωγή ριζών είναι ένα φαινόμενο που προκαλείται από την επιφάνεια των νανοϋλικών.

Αρχικά, παρατηρείται πως η υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 παράγει σημαντικά περισσότερες ρίζες $\bullet\text{OH}$ σε σχέση με τα υλικά χαμηλότερης θερμοκρασίας $\text{rSiO}_2@/\text{SiO}_2$, και rSiO_2 . Η ικανότητα παραγωγής ελευθέρων ριζών του $\text{rSiO}_2@/\text{SiO}_2$ βρίσκεται ανάμεσα από αυτή των δύο ακραίων υλικών υψηλής (SiO_2) και χαμηλής (rSiO_2) θερμοκρασίας. Η χαμηλής θερμοκρασίας rSiO_2 παράγει ελάχιστες ελεύθερες ρίζες. Παρατηρείται επιπλέον, πως η σειρά της ικανότητας παραγωγής ριζών $\bullet\text{OH}$ ($\text{SiO}_2 > \text{rSiO}_2@/\text{SiO}_2 > \text{rSiO}_2$), δεν επηρεάζεται από τη μεταβολή του pH αλλά αντίθετα μπορεί να ακολουθεί τη μείωση της ειδικής επιφάνειας (όπως περιγράφεται παραπάνω στο Σχήμα 2-19). Σε αυτό το πλαίσιο, η μικρή ειδική επιφάνεια του υλικού rSiO_2 οδηγεί σε μειωμένη αλληλεπίδραση με το H_2O_2 και επομένως χαμηλή παραγωγή ελευθέρων ριζών.

Το όξινο pH (3.5) μειώνει την ικανότητα παραγωγής $\bullet\text{OH}$ όλων των υλικών. Αντίθετα, αύξηση του pH ευνοεί την ομολυτική σχάση του H_2O_2 , και ακολούθως την παραγωγή $\bullet\text{OH}$ ⁷⁴. Τα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας EPR επιβεβαιώνουν ότι η παραγωγή ριζών υδροξυλίου αυξήθηκε σε όλες τις περιπτώσεις σε ουδέτερο και αλκαλικό pH (συγκριτικά με την παραγωγή σε όξινο περιβάλλον) στα παρασκευασμένα νανοϋλικά καθώς και στα αντίστοιχα παθητικοποιημένα μετά την ΠΨΦ.

Πιο συγκεκριμένα, σε όξινο pH, η ικανότητα παραγωγής $\bullet\text{OH}$ του μικτού υλικού $\text{rSiO}_2@/\text{SiO}_2$ είναι χαμηλότερη κατά 37 % σε σχέση με την σίλικα υψηλής θερμοκρασίας. Η μείωση (κατά 79 %) είναι ακόμη περισσότερο εμφανής στην περίπτωση της rSiO_2 . Αντίστοιχα, σε pH=6 η μείωση της

ικανότητας παραγωγής ROS είναι ίση με 54.7 % και 83.2 % για τα υλικά $rSiO_2@SiO_2$ και $rSiO_2$, αντίστοιχα σε σχέση με εκείνη της SiO_2 . Τέλος, η παρατηρούμενη μείωση της ικανότητας παραγωγής ριζών σε αλκαλικό περιβάλλον ($pH=9$) είναι 46.3 % για τη μικτή δομή $rSiO_2@SiO_2$ και 83.2 % για τη σίλικα χαμηλής θερμοκρασίας $rSiO_2$ έναντι της SiO_2 .



ΣΧΗΜΑ 2-29 Σήματα EPR (χαρακτηριστικά των σταθερών μορίων $DMPO \cdot OH$) των παραγόμενων ελευθέρων ριζών παρουσία H_2O_2 και των νανοϋλικών σίλικας σε (i) $pH=9.0$, (ii) $pH=6.0$, και (iii) $pH=3.5$.

Όπως φαίνεται και στο **Σχήμα 2-30** που περιλαμβάνει την ποσοτικοποίηση όλων των παραγόμενων ριζών, η υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 παράγει την ίδια ποσότητα ριζών σε σχεδόν ουδέτερο και αλκαλικό pH και λιγότερες σε όξινο.

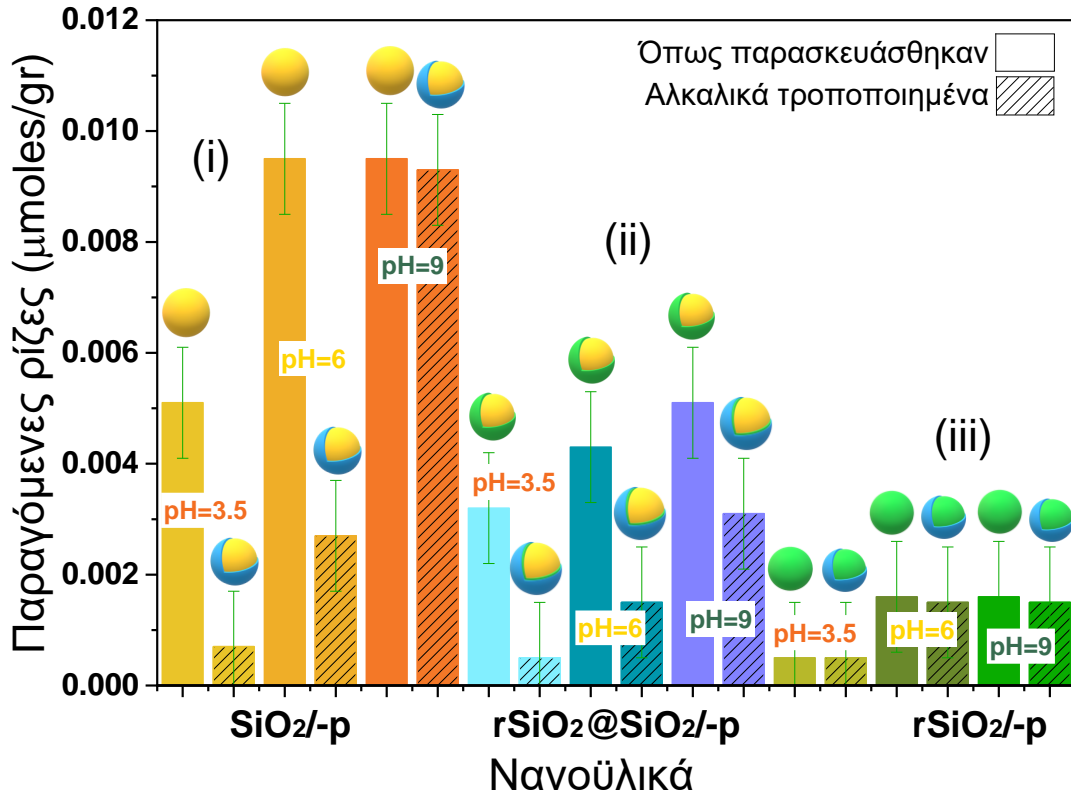
Μετά την αλκαλική κατεργασία η ικανότητα παραγωγής ριζών της SiO_2 μειώνεται σημαντικά σε όξινο περιβάλλον (μείωση κατά 80.4 %) και σε σχεδόν ουδέτερο περιβάλλον (μείωση κατά 17.6 % σε $\text{pH}=6$), ενώ παραμένει σχεδόν αμετάβλητη σε αλκαλικό περιβάλλον (μείωση μόνο κατά 2.1 %). Ομοίως, στην περίπτωση του μικτού υλικού $\text{rSiO}_2@ \text{SiO}_2$ οι παραγόμενες ρίζες μειώνονται σημαντικά μετά την μετα-συνθετική χημική κατεργασία σε όλες τις τιμές pH . Πιο συγκεκριμένα, η ικανότητα παραγωγής ριζών της $\text{rSiO}_2@ \text{SiO}_2$ μειώνεται μετά την αλκαλική κατεργασία κατά 65.6 % σε όξινο pH , 65.1 % σε αλκαλικό pH και 39.3 % σε αλκαλικό περιβάλλον.

Τέλος, η χαμηλής θερμοκρασίας rSiO_2 παράγει την ίδια ποσότητα ριζών $\bullet\text{OH}$ σε σχεδόν ουδέτερο και αλκαλικό περιβάλλον αλλά μικρότερη ποσότητα ριζών σε όξινο pH . Μετά την αλκαλική κατεργασία δεν παρατηρείται σημαντική αλλαγή στην παραγωγή ριζών, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στην αύξηση της ειδικής επιφάνειας του υλικού που γίνεται ίση με $135 \pm 45 \text{ m}^2/\text{g}$ στο rSiO_2 - p αντισταθμίζοντας το πλεονέκτημα της επιπλέον αδρανοποίησης της επιφάνειας. Δεδομένου ότι η διεργασία p μειώνει την ικανότητα παραγωγής ριζών μόνο κατά 6.2 % σε $\text{pH}=6.0$ και $\text{pH}=9.0$, συμπεραίνεται πως η σύνθεση χαμηλής θερμοκρασίας rSiO_2 μέσω ΠΨΦ προσδίδει μια επαρκώς αδρανοποιημένη επιφάνεια, με χαμηλή ικανότητα παραγωγής ριζών που δεν χρειάζεται απαραίτητα το επιπλέον βήμα της αλκαλικής κατεργασίας.

Για σύγκριση, η εμπορική νανοσίλικα A90 παράγει την ίδια ποσότητα ριζών $\bullet\text{OH}$ με την σίλικα χαμηλής θερμοκρασίας. Ήδη από την μέτρηση του δυναμικού ζ (όπως αναφέρεται παραπάνω) υπήρχε η υπόθεση πως η επιφάνειά της A90 έχει μεταβληθεί μετά από την έκθεσή της στην υγρασία του περιβάλλοντος για μεγάλο χρονικό διάστημα. Για να ελεγχθεί η ορθότητα της υπόθεσης αυτής, το υλικό A90 θερμάνθηκε στους $350 \text{ }^\circ\text{C}$ για $t=300 \text{ min}$. Η θέρμανση οδήγησε σε σημαντική αύξηση της ικανότητας παραγωγής ROS. Ο Πίνακας 4 περιλαμβάνει τις τιμές όλων των ριζών που παράγονται.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4 Ποσοτικοποίηση παραγόμενων ριζών υδροξυλίου σε διάφορες τιμές pH .

Νανοϋλικό	$\mu\text{moles}/\text{gr}$ σε $\text{pH}=3.5$	$\mu\text{moles}/\text{gr}$ σε $\text{pH}=6$	$\mu\text{moles}/\text{gr}$ σε $\text{pH}=9$
SiO_2	0.0048	0.0010	0.0101
$\text{rSiO}_2@ \text{SiO}_2$	0.0032	0.0049	0.0051
rSiO_2	< 0.0010	0.0016	0.0016
A90	< 0.0010	< 0.0010	< 0.0010



ΣΧΗΜΑ 2-30 Παραγωγή ελευθέρων ριζών υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$) ανά γραμμάριο νανοϋλικού των υλικών πριν (μη σκιαγραφημένες στήλες) και μετά την αλκαλική κατεργασία (σκιαγραφημένες στήλες) σε διαφορετικές τιμές pH. Η ομάδα (i) περιλαμβάνει τα υλικά υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 , η (ii) τα υλικά της μικτής δομής $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$, και η (iii) τα υλικά χαμηλής θερμοκρασίας rSiO_2 .

Τα έως τώρα δεδομένα των αναλύσεων EPR και Raman μπορούν να συνοψιστούν στα παρακάτω σημεία:

- (i) Η νανοσίλικα που συντέθηκε σε υψηλή θερμοκρασία μέσω ΠΨΦ SiO_2 αποτελείται από ένα τεταμένο πυριτικό πλέγμα με αυξημένη ικανότητα παραγωγής ριζών $\bullet\text{OH}$.
- (ii) Επικάλυψη της SiO_2 με ένα κέλυφος από σίλικα χαμηλής θερμοκρασίας rSiO_2 για τη δημιουργία ενός μικτού υλικού $\text{rSiO}_2@\text{SiO}_2$, οδηγεί σε αδρανοποίηση της επιφάνειας και μείωση της παραγωγής ριζών $\bullet\text{OH}$.
- (iii) Η νανοσίλικα που συντέθηκε σε χαμηλή θερμοκρασία μέσω ΠΨΦ rSiO_2 αποτελείται από ένα αδρανές πυριτικό πλέγμα που δεν παράγει εύκολα ρίζες $\bullet\text{OH}$.

Η εξάλειψη της παραγωγής ριζών $\bullet\text{OH}$ στο rSiO_2 αποδίδεται στο γεγονός ότι στο πυριτικό πλέγμα κυριαρχούν μεγαλύτεροι, λιγότερο δραστικοί δακτύλιοι σιλοξανίων, ζήτημα που είναι ένα κρίσιμο εύρημα της παρούσας μελέτης.

Στη συνέχεια, τα δεδομένα σχετικά με τη παραγωγή ROS συσχετίζονται με την οξεία τοξικότητα των νανοϋλικών.

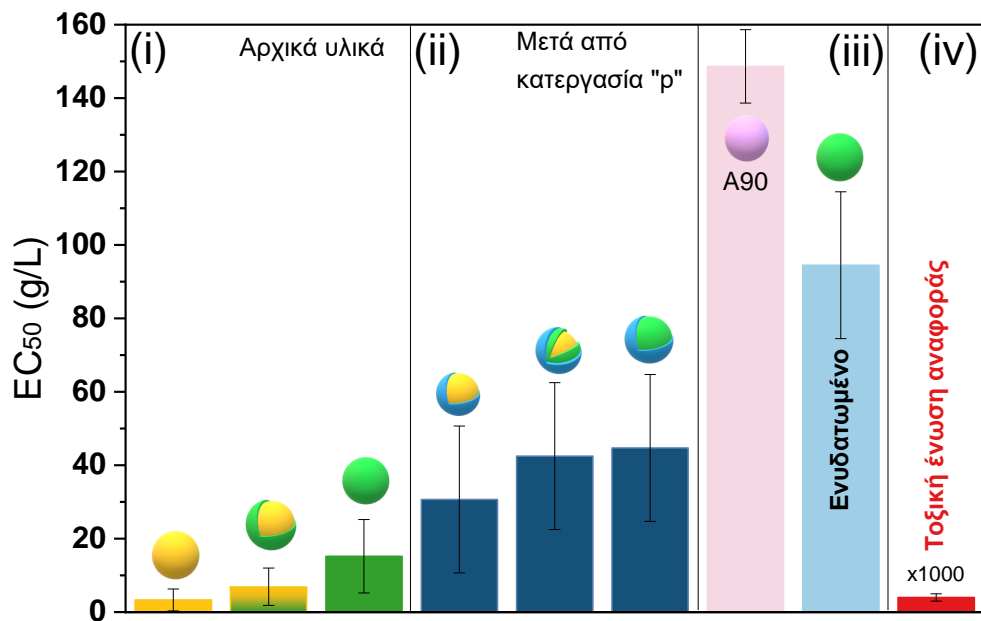
(vi) Μελέτη τοξικότητας

Για την ενίσχυση της συνολικής κατανόησης του φυσικοχημικού προφίλ των νανοϋλικών σίλικας πραγματοποιήθηκε μια σειρά πειραμάτων αξιολόγησης βιοκτόνου δράσης (βλ. Σχήμα 2-31). Για το σκοπό αυτό αξιοποιήθηκε η οργανολογία Microtox LX της Modern Water για τη μελέτη της οξείας τοξικότητας των νανοϋλικών μέσω ποσοτικοποίησης της βιοφωταύγειας του μη παθογόνου, θαλάσσιου βακτηριακού στελέχους *Aliivibrio fischeri*. Η οξεία τοξικότητα μελετάται μετά από σύντομη έκθεση, στην περίπτωση αυτή μετά από 15 λεπτά, για να μελετηθούν οι πιθανές τοξικές επιδράσεις που εμφανίζονται άμεσα μετά την έκθεση. Τα δεδομένα στο Σχήμα 2-31 (i) δείχνουν πως η αποτελεσματική συγκέντρωση (EC_{50}) που μειώνει την ένταση της φωταύγειας κατά 50 % είναι ίση με 3.3 g/L στη σίλικα υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 , 6.8 g/L στη μικτή δομή $rSiO_2@SiO_2$, και 15.2 g/L στη σίλικα χαμηλής θερμοκρασίας $rSiO_2$. Συνεπώς, συμπεραίνουμε ότι η $rSiO_2$ έχει σημαντικά χαμηλότερη ικανότητα βιοκτόνου δράσης σε σχέση με την SiO_2 .

Τα υλικά που υποβλήθηκαν στο επιπλέον στάδιο της αλκαλικής τροποποίησης μετά τη σύνθεσή τους (βλ. Σχήμα 2-31 (ii)), εμφανίζουν σημαντικά μειωμένη τοξικότητα σε σύγκριση με τα αρχικά υλικά καθώς εμφανίζουν τιμές αποτελεσματικής συγκέντρωσης ίσες με 30.7 g/L (SiO_2 -p), 42.5 g/L ($rSiO_2@SiO_2$ -p), and 44.7 g/L ($rSiO_2$ -p). Οι τιμές EC_{50} υποδεικνύουν ότι το SiO_2 υψηλής θερμοκρασίας, προκαλεί σημαντικά εντονότερη οξεία τοξική δράση στα βακτήρια σε σύγκριση με το μετα-συνθετικά τροποποιημένο SiO_2 -p. Η τοξική ένωση αναφοράς θειϊκού ψευδαργύρου ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) έχει τιμή $EC_{50} = 4.26$ mg/L (~0.004 g/L), λόγω διαρροής¹⁴ ιόντων Zn^{2+} (βλ. Σχήμα 2-31 (iv)).

Τέλος, η υπόθεση της ωρίμανσης της επιφάνειας λόγω έκθεσης σε περιβαλλοντική υγρασία για μεγάλο χρονικό διάστημα στην περίπτωση του εμπορικού υλικού A90, αντανakλάται και στην τοξικότητά του καθώς η αποτελεσματική συγκέντρωση του A90 είναι ίση με 148.63 g/L (Σχήμα 2-31 (iii) μωβ στήλη).

Για λόγους σύγκρισης, μελετάται η οξεία τοξικότητα του ενυδατωμένου $rSiO_2$ (Σχήμα 2-31 (iii) γαλάζια στήλη), η οποία έχει τιμή EC_{50} ίση με 94.5g/L. Η ενυδατωμένη δηλαδή μορφή της σίλικας χαμηλής θερμοκρασίας είναι λιγότερο τοξική από την αλκαλικά τροποποιημένη δομή $rSiO_2$ -p. Καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η μακροχρόνια έκθεση στην υγρασία του περιβάλλοντος μπορεί να οδηγήσει σε πιο αδρανείς, λιγότερο τοξικές δομές νανοπυριτίας¹⁷⁵.



ΣΧΗΜΑ 2-31 Τιμές αποτελεσματικής συγκέντρωσης (EC_{50}) **(i)** των υλικών όπως παρασκευάστηκαν μέσω ΠΨΦ, **(ii)** των υλικών μετά την μετα-συνθετική αλκαλική κατεργασία, **(iii)** της εμπορικής νανοσίλικας A90 και της ενυδατωμένης σίλικας χαμηλής θερμοκρασίας $rSiO_2$, και **(iv)** της τοξικής ένωσης αναφοράς $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (τιμή $\times 1000$).

2.2.3. Σύνοψη-Μερικά Συμπεράσματα

Μέχρι στιγμής, αναμένεται ότι πολλοί παράγοντες μπορούν να μεταβάλλουν την τοξικότητα των τεχνητών νανοσωματιδίων ωστόσο, η παραγωγή ROS κατέχει κρίσιμη θέση μεταξύ αυτών, ειδικά στην περίπτωση της νανοπυριτίας⁴⁰. Πρόσφατα, η τοξικότητα της καπνοπυριτίας (δηλ. νανοσίλικας που έχει συντεθεί μέσω φλόγας) συσχετίστηκε άμεσα με την ύπαρξη δραστικών τριμελών σιλοξανικών δακτυλίων στο πυριτικό πλέγμα που εμπλέκονται στην παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου¹⁷⁹. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας επιβεβαιώνουν πως η ύπαρξη δακτυλίων μεγαλύτερης έκτασης (και άρα λιγότερο τεταμένων) μειώνει την παραγωγή ROS και την οξεία τοξικότητα των υλικών. Επιβεβαιώνονται επίσης, δεδομένα της βιβλιογραφίας καθώς συνδέεται άμεσα η θερμοκρασία της φλόγας με το σχηματισμό του πυριτικού πλέγματος και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της επιφάνειας, και αποδεικνύεται η περαιτέρω άμεση συσχέτιση της ικανότητας παραγωγής ROS με την οξεία τοξικότητα. Επιπλέον, τα δεδομένα Raman μας δείχνουν ότι στην χαμηλής θερμοκρασίας rSiO_2 , οι δακτύλιοι σιλοξανίων μετατρέπονται ευκολότερα σε μεγαλύτερους, λιγότερο «στρεσαρισμένους» δακτυλίους, δηλαδή τετραμελείς (4MRs), πενταμελείς (5MRs), εξαμελείς (6MRs) κτλ., ενώ στην υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 , επικρατούν οι δραστικοί μικροί τριμελείς δακτύλιοι (3MRs).

Η προτεινόμενη μέθοδος σύνθεσης χαμηλής θερμοκρασίας για την παραγωγή rSiO_2 οδηγεί στο σχηματισμό μιας νανοδομής που αποτελείται από πιο αδρανείς δακτυλίους σιλοξανίων. Η μείωση της ικανότητας παραγωγής ριζών είναι ανάλογη με:

- (i) Την αύξηση του μεγέθους των σιλοξανικών δακτυλίων (κύριος παράγοντας)
- (ii) Τη μείωση της ειδικής επιφάνειας (SSA) (δευτερεύων παράγοντας).

Επιπλέον, σύμφωνα με τα δεδομένα DLS της παρούσης μελέτης, τα συνολικά μεγέθη των νανοδομών σίλικας φαίνεται να βρίσκονται στο ίδιο εύρος σε ουδέτερες τιμές pH, γεγονός που αποκλείει τον βαθμό συσσωμάτωσης ως κύριο παράγοντα τοξικότητας. Τέλος, με βάση τον βιομηχανικό χαρακτήρα των συνθέσεων ΠΨΦ, θα ήταν χρήσιμο σε μελλοντικές μελέτες να αξιολογηθεί η τοξικότητα των νανοδομών και σε άλλους τύπους κυττάρων, προκειμένου να εξαλειφθεί και η πιθανότητα χρόνιας τοξικότητας³¹⁴.

Στη παρούσα μελέτη, προτείνονται δύο πιθανές στρατηγικές για την παραγωγή μιας λιγότερο τοξικής νανοσίλικας: μια διαδικασία Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας ενός σταδίου σε χαμηλή θερμοκρασία και μια διαδικασία δύο σταδίων που περιλαμβάνει ένα επιπλέον βήμα υγρής κατεργασίας. Δομικά, και οι δύο μέθοδοι οδηγούν στο ίδιο αποτέλεσμα, το οποίο είναι ο σχηματισμός

μεγαλύτερων δακτυλίων σιλοξανίων, οι οποίοι με τη σειρά τους οδηγούν σε μείωση της παραγωγής ROS και ελαχιστοποίηση της οξείας τοξικότητας των υλικών έναντι βακτηρίων.

Μεταξύ των υλικών νανοπυριτίας που αναπτύχθηκαν, **το χαμηλής θερμοκρασίας rSiO₂ μπορεί να θεωρηθεί ως το βέλτιστο υλικό**, είτε ως έχει είτε μετά από ένα απλό βήμα ενυδάτωσης.

Από τεχνολογικής άποψης, χρησιμοποιώντας την τεχνολογία ΠΨΦ, μπορούμε να κατασκευάσουμε υλικά νανοπυριτίας σε ένα βήμα, ασφαλή από το σχεδιασμό τους, παραλείποντας μετα-συνθετικές υγρές κατεργασίες χρησιμοποιώντας μια απλή, εναλλακτική διαμόρφωση χαμηλής θερμοκρασίας. Επομένως, η παρούσα μελέτη προτείνει μια οικονομικά αποδοτική προσέγγιση, ειδικά κατάλληλη για την παραγωγή νανοπυριτίας χαμηλής τοξικότητας σε βιομηχανική κλίμακα¹⁷⁵.

Μέρος Δεύτερο
Υβριδικά Νανοϋλικά Άνθρακα-SiO₂

2.3. Υβριδικά Νανοϋλικά Άνθρακα-SiO₂

Σε αυτό το τμήμα της παρούσας διδακτορικής διατριβής, η μελέτη της σχέσης δομής-δραστικότητας των νανοδομών SiO₂ περνάει σε ένα επόμενο στάδιο καθώς σε αυτή ενσωματώνονται δομές νανοάνθρακα, μια κατηγορία υλικών πολύ μεγάλης τεχνολογικής σημασίας³¹⁵. Μια σειρά από υβριδικές νανοδομές C-SiO₂ με ελεγχόμενη ποσότητα και ποιότητα (sp³/sp²) άνθρακα αναπτύσσονται μέσω της τεχνικής Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας σε ένα στάδιο. Η σχέση δομής-δραστικότητάς τους αξιολογείται μελετώντας την ικανότητα σταθεροποίησης των ριζών τους, μέσω της φασματοσκοπίας ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού (EPR). Παράλληλα, μελετάται η βιοκτόνος δράση τους έναντι των θαλάσσιων βακτηρίων *Aliivibrio Fischeri*. Οι επιφανειακές ιδιότητες των υβριδικών υλικών C-SiO₂ μελετώνται με φασματοσκοπία Raman και η ανάλυση του επιφανειακού φορτίου πραγματοποιείται με μετρήσεις του δυναμικού ζ.



ΕΙΚΟΝΑ 2-3 Η τοξικότητα της νανοπυριτίας επηρεάζεται από την ύπαρξη δραστικών δακτυλίων στο πυριτικό πλέγμα που οδηγούν σε παραγωγή ROS. Αντίθετα, οι υβριδικές δομές C-SiO₂ παρουσιάζουν τοξικότητα λόγω της ενσωμάτωσης ατόμων C στο πυριτικό πλέγμα. * Σχήμα από Fragou et al., ACS Appl. Nano Mater. 2023, 6, 22, 20841–20854.

Η ανάλυση Raman δείχνει ότι η διαδικασία σύνθεσης ΠΨΦ, όπως έχει σχεδιαστεί και χρησιμοποιηθεί εδώ, επιτρέπει την προοδευτική ενσωμάτωση τμημάτων νανοάνθρακα στην SiO₂, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε παραμόρφωση της δομής του πυριτικού πλέγματος.

Ακόμη, ο ενσωματωμένος άνθρακας φέρει σταθερές ελεύθερες ρίζες η δράση των οποίων αξιολογείται σε σχέση με την τοξικότητα των υλικών. Ταυτόχρονα, το προφίλ του επιφανειακού φορτίου των υβριδικών υλικών C-SiO₂ αποκαλύπτει μια τάση που συσχετίζεται άμεσα με την οξεία τοξικότητά τους προς τα *Aliiv. Fischeri*. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του πληθυσμού σταθερών ριζών των υλικών και της βιοκτόνου δραστηριότητάς τους.

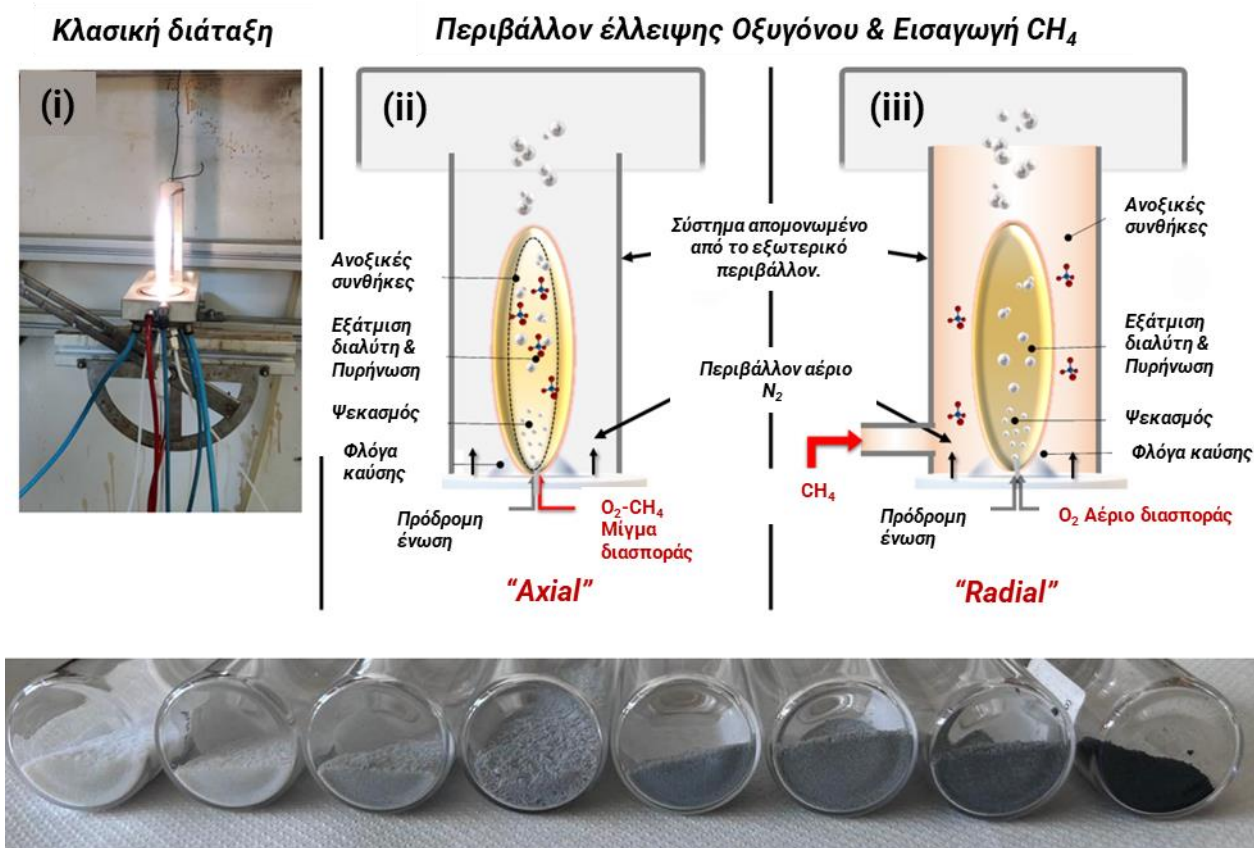
Μέσα σε αυτό το πλαίσιο, αναλύεται ο ρόλος του επιφανειακού φορτίου, των ιδιοτήτων των ριζών και της διατάραξης του πυριτικού πλέγματος από την ενσωμάτωση του άνθρακα, ιδιότητες που ελέγχονται κατά τη σύνθεση μέσω ΠΨΦ. Ως εκ τούτου, η παρούσα μελέτη παρέχει σημαντική γνώση για τη σχέση δομής-τοξικότητας των υβριδικών νανοσωματιδίων C-SiO₂ (βλ. **Εικόνα 2-3**) ενώ προτείνεται μια εύκολα εφαρμόσιμη μέθοδος για τη βιομηχανική ανάπτυξη υβριδικών νανοδομών.

2.3.1. Ανάπτυξη υβριδικών νανοδομών C-SiO₂ μέσω ΠΨΦ

Μια σειρά από επτά υβριδικά νανοϋλικά C-SiO₂ παρασκευάστηκαν μέσω δύο διαφορετικών διατάξεων ΠΨΦ (βλ. **Εικόνα 2-4**) και ονομάστηκαν C₁-SiO₂ έως C₇-SiO₂ ακολουθώντας την αύξηση της συγκέντρωσης του άνθρακα (**Πίνακας 5**). Οι κύριες διαφορές μεταξύ της συμβατικής διάταξης ΠΨΦ (βλ. Εικόνα 2-4 (i)) και της διάταξης που χρησιμοποιείται εδώ, είναι η απομόνωση του αντιδραστήρα μέσω κατάλληλου σωλήνα ώστε να μην επιτρέπει την είσοδο οξυγόνου της ατμόσφαιρας, και η εισαγωγή αερίου μεθανίου (CH₄) στον αντιδραστήρα που γίνεται με δύο τρόπους. Πρώτον, το CH₄ μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αέριο διασποράς αναμειγμένο με το κλασσικό αέριο διασποράς, δηλ. το O₂. Με τον τρόπο αυτό, εισάγεται απευθείας μέσα στη φλόγα, και ως αναγωγικός παράγοντας επηρεάζει άμεσα την ανοξικότητα της καύσης, την παραγωγή άνθρακα και την εναπόθεσή του στο εσωτερικό του πυριτικού πλέγματος κατά το σχηματισμό των σωματιδίων. Για λόγους συντομίας η διάταξη αυτή θα αναφέρεται ως “axial” (= το μεθάνιο εισάγεται αξονικά ως προς την κύρια φλόγα).

Η δεύτερη περίπτωση, θέλει το αέριο CH₄ να εισάγεται υπό γωνία σε σχέση με την κύρια φλόγα μέσω ενός διάτρητου μεταλλικού σωλήνα που περικλείει το χώρο της φλόγας (βλ. Εικόνα 2-4 (iii)). Στην περίπτωση αυτή, το O₂ είναι το μοναδικό αέριο διασποράς. Σε αυτή τη διάταξη, τα σωματίδια SiO₂ παράγονται μέσα στη φλόγα και το CH₄ δρα ως δευτερεύων αναγωγικός παράγοντας, προάγοντας τον σχηματισμό άνθρακα που εναποτίθεται στην επιφάνεια των σχηματιζόμενων σωματιδίων. Η διάταξη αυτή θα αναφέρεται για λόγους συντομίας ως “radial”. Μια νανοσίλικα

αναφοράς, η ref-SiO₂, παρασκευάστηκε μέσω της ερμητικά απομονωμένης από το περιβάλλον axial διαμόρφωσης, χωρίς όμως να εισαχθεί CH₄.



ΕΙΚΟΝΑ 2-4 (Επάνω) Σχηματική απεικόνιση (i) Συμβατική διάταξη αντιδραστήρα ΠΨΦ, (ii) Διάταξη έλλειψης οξυγόνου "axial" εισαγωγής CH₄ (iii) Διάταξη έλλειψης οξυγόνου "radial" εισαγωγής CH₄. (Κάτω) Φωτογραφίες των υλικών C₇-SiO₂ έως C₇-SiO₂ όπου η αυξανόμενη ενσωμάτωση άνθρακα φαίνεται και οπτικά ως αλλαγή χρώματος.

Σε όλες τις περιπτώσεις το διάλυμα της πρόδρομης ένωσης παρασκευάστηκε με διάλυση 0.5 Μ εξαμεθυλο-δισιλοξανίου ($\geq 98\%$) σε αναλογία 2, 2:1 (κατά όγκο) σε μίγμα ξυλενίου και ακετονιτριλίου. Το διάλυμα εισάγεται στον αντιδραστήρα μέσω ενός τριχοειδούς σωλήνα με ρυθμό τροφοδοσίας $P=3 \text{ mL min}^{-1}$ και διασπείρεται με ρυθμό ροής $D_{\text{total}}=3 \text{ L min}^{-1}$ σε μια φλόγα οξυγόνου / μεθανίου ($\text{O}_2: 2 \text{ L min}^{-1}$, $\text{CH}_4: 1 \text{ L min}^{-1}$) για την έναρξη της καύσης. Για την ελεγχόμενη έλλειψη οξυγόνου και τη σύνθεση, το ακροφύσιο ψεκασμού (spray nozzle) αποκλείοντας την επαφή του περιβαλλοντικού οξυγόνου με τη φλόγα.

Επιπλέον, ένα περιβάλλον αέριο (sheath gas) αζώτου (N_2) με ροή 10 L min^{-1} χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή σωματιδίων και η πίεση καθορίστηκε στα 1,5 - 2 bar. Τα νανοσωματίδια εναποτίθενται σε γυάλινο φίλτρο μικροϊών (Hahnemühle GF 6 257) με αντλία κενού (BUSCH V40) και συλλέγονται με απόξεση του στερεού από το φίλτρο.

Τέλος, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2-4, υπάρχει εμφανής αλλαγή χρώματος αναλογικά με την αύξηση της εισαγωγής CH₄. Αυτή η αλλαγή χρώματος, που αρχίζει από το λευκό στο ref-SiO₂ και μετατρέπεται σε γκρίζο και τελικά σχεδόν μαύρο στο πλήρως ανοξικό υβριδικό νανοϋλικό C₇-SiO₂, προκύπτει κυρίως από την εναπόθεση άνθρακα όπως στοιχειοθετείται από την μελέτη χαρακτηρισμού τους που ακολουθεί.

2.3.2. Αποτελέσματα

(i) Χαρακτηρισμός δομής και μορφολογίας των υβριδικών νανοϋλικών C-SiO₂

Όλα τα υβριδικά νανοϋλικά C-SiO₂ έχουν χαρακτηριστεί λεπτομερώς ως προς τη δομή και τις επιφανειακές ιδιότητές τους, με φασματοσκοπικές και αναλυτικές τεχνικές. Ο Πίνακας 5 περιλαμβάνει δομικά χαρακτηριστικά, όπως το μέγεθος των συσσωματωμάτων (d_{DLS} σε nm) που μελετήθηκε με τη Δυναμική Σκέδαση Φωτός (DLS), το εμβαδόν ειδικής επιφάνειας (SSA σε m²/g) που αναλύθηκε με τη μέθοδο BET, τα δεδομένα ανάλυσης πόρων που πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο BJH και το επιφανειακό φορτίο που ελήφθη με μετρήσεις δυναμικού ζ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5 Πειραματικές συνθήκες σύνθεσης και δομικά χαρακτηριστικά των νανοϋλικών C-SiO₂. Βαθμός συσσωμάτωσης (d_{DLS} σε nm) μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS), μέγιστο δυναμικό ζήτα (mV), ειδική επιφάνεια (υπολογισμένη με τη μέθοδο BET) και ανάλυση όγκου πόρων (υπολογισμένη με τη μέθοδο BJH).

Νανοϋλικό	(CH ₄ /O ₂)* Αναλογία διασποράς	Διάταξη ανοξικής ΠΨΦ**	d_{DLS} (nm)	Δυναμικό ζ (mV)	SSA (m ² /g) (BET)	Όγκος Πόρων (cc/g) (BJH)	Ακτίνα Πόρων (nm)
ref-SiO ₂	0	-	229 ± 15	-63.2	203 ± 15	0.303	1.68860 nm
C ₁ -SiO ₂	0.5	Radial	210 ± 15	-43.7	196 ± 15	0.271	1.68826 nm
C ₂ -SiO ₂	1.0	Radial	250 ± 15	-53.7	153 ± 15	0.199	1.68898 nm
C ₃ -SiO ₂	0.09	Axial	234 ± 15	-44.8	209 ± 15	0.308	1.69099 nm
C ₄ -SiO ₂	1.5	Radial	218 ± 15	-55.5	132 ± 15	0.188	1.67625 nm
C ₅ -SiO ₂	0.2	Axial	248 ± 15	-43.7	131 ± 15	0.212	1.68648 nm
C ₆ -SiO ₂	0.5	Axial	280 ± 15	-50.1	107 ± 15	0.120	1.67669 nm
C ₇ -SiO ₂	1.0	Axial	249 ± 15	-73.2	135 ± 15	0.258	1.67773 nm

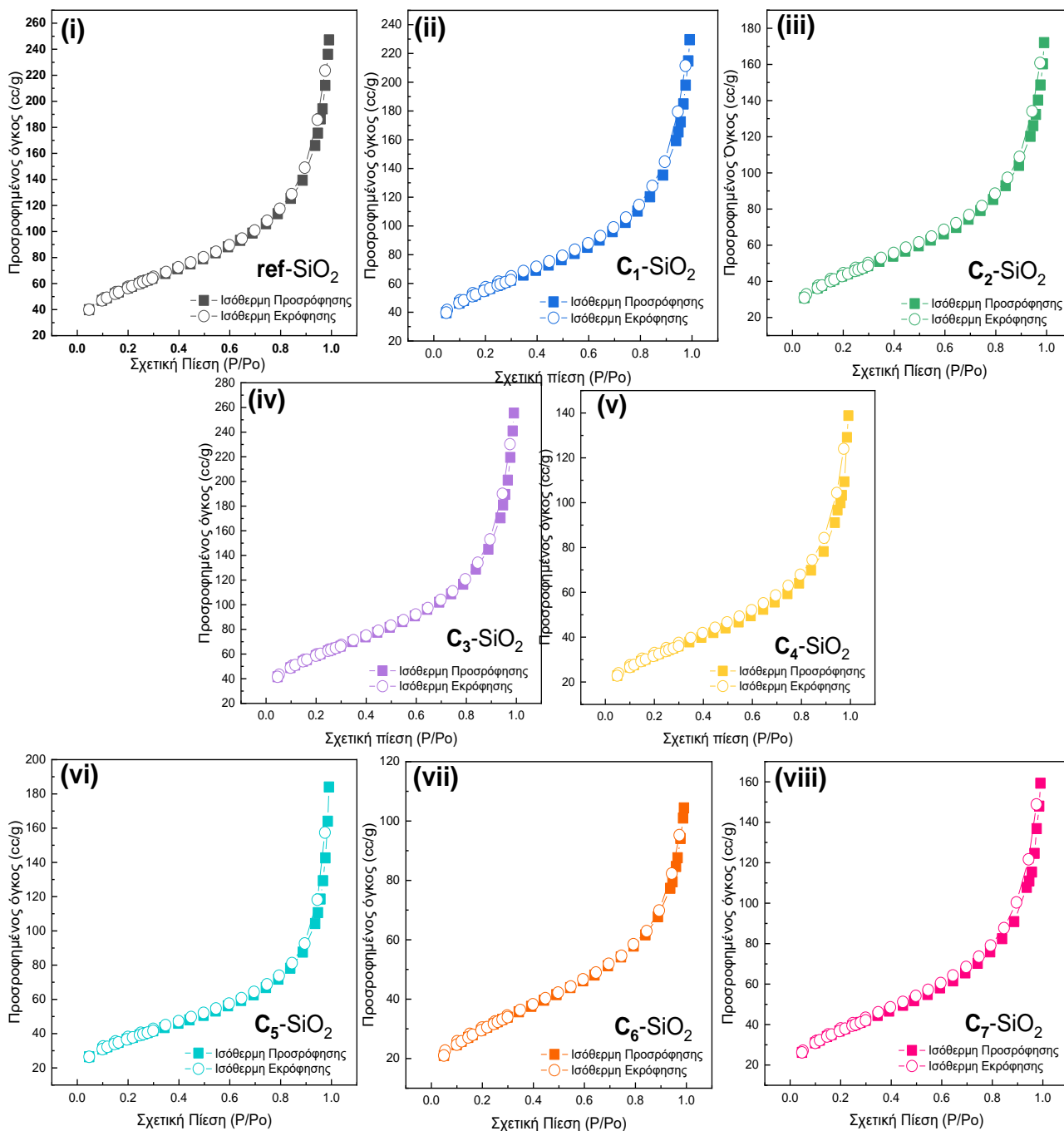
*[CH₄ + O₂] = 3 L/min **βλ. Εικόνα 2-4 για τις διατάξεις "axial/radial" εισαγωγής CH₄

Οι ισόθερμες προσρόφησης/εκρόφησης N_2 (βλ. **Σχήμα 2-32**) ακολουθούν τις ισόθερμες τύπου IV^{316} , ενώ η ακτίνα πόρων (Πίνακας 5) κυμαίνεται σε όλα τα παρασκευασμένα υλικά C-SiO₂ από 1,6-1,69 nm, τιμές τυπικές για μικροπορώδεις δομές³¹⁶. Είναι ενδιαφέρον ότι, ενώ δεν υπάρχει συγκεκριμένη τάση συνάφειας με την συγκέντρωση του C, ο όγκος πόρων και η SSA φαίνεται να μεταβάλλονται αντίστροφα με το d_{DLS} (βαθμός συσσωμάτωσης). Τα δεδομένα (Πίνακας 5) υποδεικνύουν ότι κατά την αύξηση της διασποράς CH₄, οι τιμές της SSA και του όγκου πόρων μπορεί να ποικίλλουν. Δεν παρατηρείται, ωστόσο, συγκεκριμένη τάση.

Συνολικά, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι υπάρχουν τουλάχιστον δύο ανταγωνιστικά φαινόμενα, δηλαδή, ένας μηχανισμός που αυξάνει την ειδική επιφάνεια και ένας που τη μειώνει. Αν και είναι δύσκολο να αποδοθεί λεπτομερώς, μπορεί να θεωρηθεί ότι η υψηλή περιεκτικότητα σε CH₄ (π.χ. στο υλικό C₇-SiO₂) προάγει την πυροσυσσωμάτωση σωματιδίου-σωματιδίου λόγω της υψηλής ενθαλπίας καύσης του CH₄. Οι χαμηλότερες ροές CH₄, από την άλλη πλευρά, μπορεί να ευνοήσουν - σε κάποιο βαθμό- το σχηματισμό πιο συμπαγών σωματιδίων SiO₂ πριν από την ψύξη, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο και την ειδική επιφάνεια.

Η δυναμική σκέδαση φωτός (DLS) χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση των υδροδυναμικών μεγεθών των συσσωματωμάτων που σχηματίζονται κατά τη διασπορά τους σε H₂O. Ο Πίνακας 5 δείχνει ότι όλα τα υβριδικά νανοϋλικά σχηματίζουν σταθερά συσσωματώματα σε ένα εύρος μεγεθών 180-280 nm. Παρόμοια με την κλασική πυρολυτική νανοπυριτία¹⁷⁵ που παρασκευάζεται με την τεχνική της ΠΨΦ, όλα τα παρόντα υλικά σχηματίζουν μόνο ένα μέγεθος συσσωμάτωσης σε σχεδόν ουδέτερο pH. Πιο συγκεκριμένα, ξεκινώντας από το ref-SiO₂ και φτάνοντας στο C₆-SiO₂, το μέγεθος d_{DLS} αυξάνεται από 229 nm σε 280 nm αναλογικά με την αύξηση του ενσωματωμένου άνθρακα.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η περίπτωση του C₇-SiO₂ με την υψηλότερη διασπορά του CH₄, καθώς το μέγεθος των συσσωματωμάτων του d_{DLS} μειώνεται σε 249 nm, αντανakλώντας τα πιο συμπιεσμένα σωματίδια SiO₂ που σχηματίζονται λόγω της υψηλής θερμοκρασίας^{9,10,15} και της υψηλής καύσης του CH₄. Σημαντικό σημείο αποτελεί επίσης το ότι στα υλικά της radial εισαγωγής CH₄, τα μεγέθη d_{DLS} είναι σταθερά χαμηλότερα, 210-250 nm, έναντι των υλικών της axial εισαγωγής CH₄.

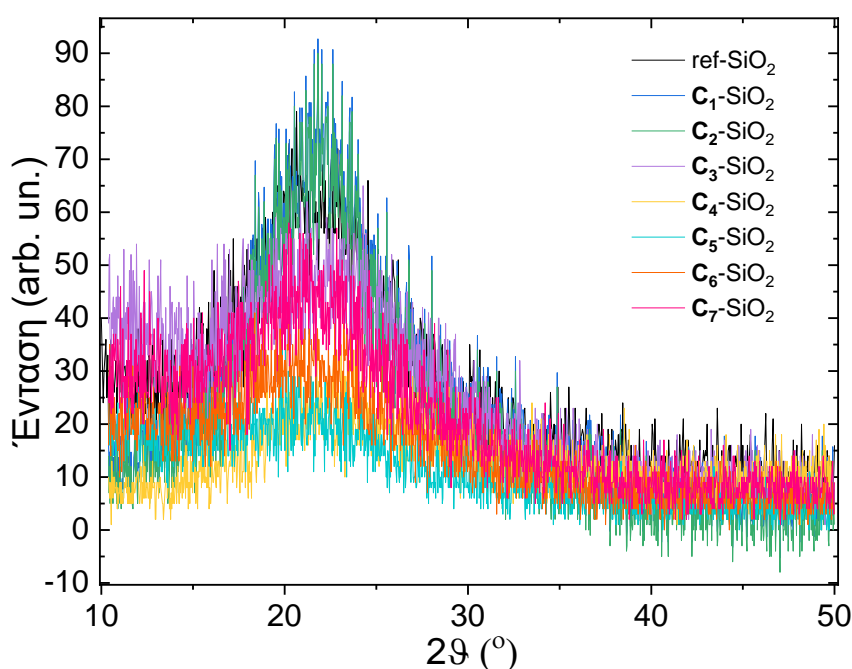


ΣΧΗΜΑ 2-32 Ισόθερμες προσρόφησης/εκρόφησης N_2 για την μελέτη της ειδικής επιφάνειας και των πόρων. (i) $ref-SiO_2$, (ii) C_1-SiO_2 , (iii) C_2-SiO_2 , (iv) C_3-SiO_2 , (v) C_4-SiO_2 , (vi) C_5-SiO_2 , (vii) C_6-SiO_2 , (viii) C_7-SiO_2 .

Συνοψίζοντας, παρόμοια με άλλα υλικά νανοσίλικας που αναπτύσσονται μέσω ΠΨΦ, η παρούσα σύνθεση που πραγματοποιείται σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου με ταυτόχρονη εισαγωγή μεθανίου οδηγεί σε νανοδομές που διατηρούν ένα μοναδικό μέγεθος συσσωμάτωσης με διασπορά τους μεγέθους 220-280 nm. Ο Πίνακας 5 παρουσιάζει τις τιμές υδροδυναμικών μεγεθών (d_{DLS}).

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης μέσω Περίθλασης Ακτίνων Χ (XRD) απεικονίζονται στο **Σχήμα 2-33**. Το ευρύ και διάχυτο σήμα περίθλασης ακτίνων Χ επιβεβαιώνει την άμορφη φύση³¹⁷ όλων των υβριδικών νανοϋλικών, καθώς δεν παρατηρείται καμία κορυφή που να οφείλεται σε κρυσταλλικότητα του πλέγματος. Τα δεδομένα XRD και FT-IR φασματοσκοπίας (αναλύεται στη συνέχεια) υποστηρίζουν και τα δύο την απουσία κρυσταλλικών δομών Si, κάτι που είναι απαραίτητο για τον αποκλεισμό της τοξικής δράσης των δομών αυτών λόγω κρυσταλλικότητας¹⁹⁶.

Αντίθετα με άλλα υλικά με βάση τον άνθρακα, όπως GO³¹⁸ ή γραφίτοποιημένα υλικά πυρολυμένης βιομάζας (biochar)³¹⁹, δεν ανιχνεύεται σήμα σε γωνίες διάθλασης 10-15° ή 25-28° που αποδίδονται σε γραφίτικο (sp²) άνθρακα³¹⁹. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι ακόμη και στην περίπτωση του C₇-SiO₂, το μέγεθος των στρωμάτων άνθρακα είναι πολύ μικρό και η ποσότητά τους είναι πολύ λίγη για να δημιουργηθεί ανιχνεύσιμη περίθλαση στο XRD. Επιπλέον, οι εικόνες HR-TEM που απεικονίζονται στο **Σχήμα 2-34** επιβεβαιώνουν ότι υπο-νανομετρικές κηλίδες άνθρακα εναποτίθενται στη μήτρα Si στο υλικό C₇-SiO₂. Ωστόσο, το μικρό τους μέγεθος αποκλείει το σχηματισμό ανιχνεύσιμων σημάτων XRD.



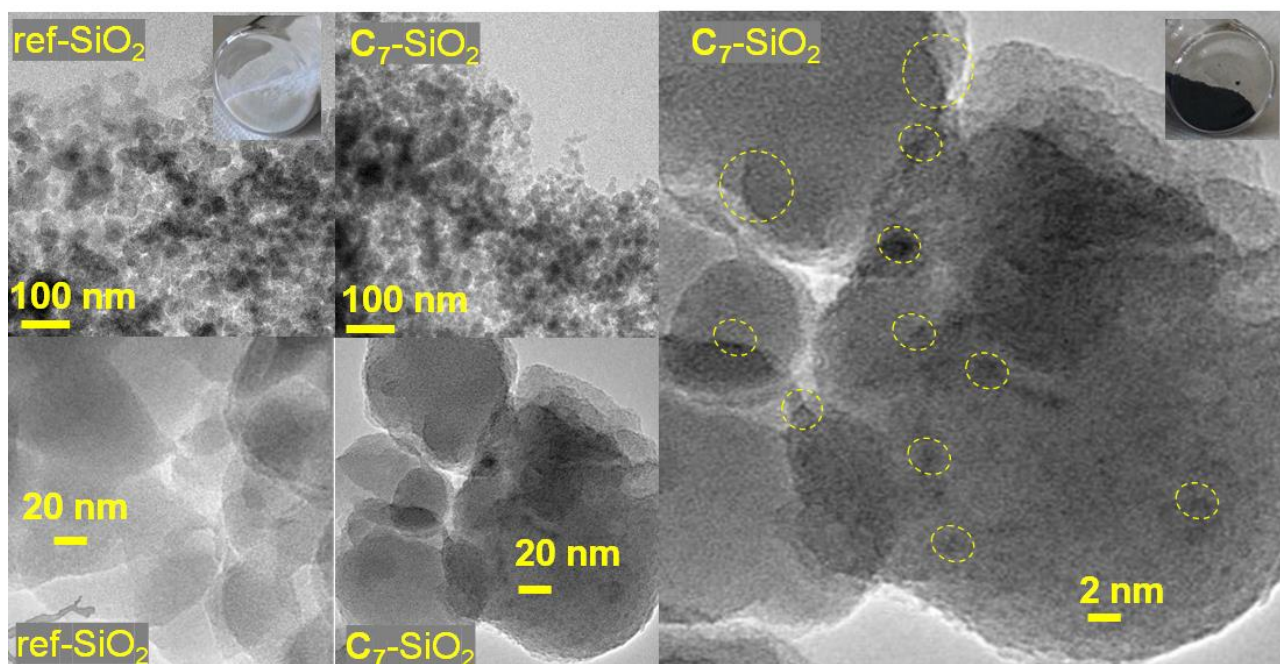
ΣΧΗΜΑ 2-33 Ανάλυση Περίθλασης Ακτίνων Χ (XRD) όλων των υλικών.

Πιο συγκεκριμένα, η ανάλυση HR-TEM των ref-SiO₂ και C₇-SiO₂, που παρουσιάζεται στο **Σχήμα 2-34**, δείχνει ότι τα παρασκευασμένα νανοϋλικά έχουν μια σχεδόν σφαιρική δομή και σχηματίζουν συσσωματώματα που μοιάζουν με αλυσίδες¹⁷⁹, διαμορφώσεις συνηθισμένες για δομές

πυρολυτικής σίλικας¹⁷⁹. Επιπλέον, στη μορφολογία της δομής κυριαρχούν σωματιδιακές αλληλεπικαλύψεις και επομένως η διάκριση των κύριων σωματιδίων είναι χαμηλή. Ακόμη, στην ανάλυση TEM του ref-SiO₂ δεν ανιχνεύονται δομές άνθρακα.

Από την άλλη πλευρά, ίχνη άνθρακα διακρίνονται ως σκοτεινά σημεία (σημειωμένα με κίτρινο) στην περίπτωση του C₇-SiO₂. Συγκεκριμένα, οι εικόνες TEM δείχνουν μια ομοιογενή κατανομή του άνθρακα στη μήτρα Si του C₇-SiO₂.

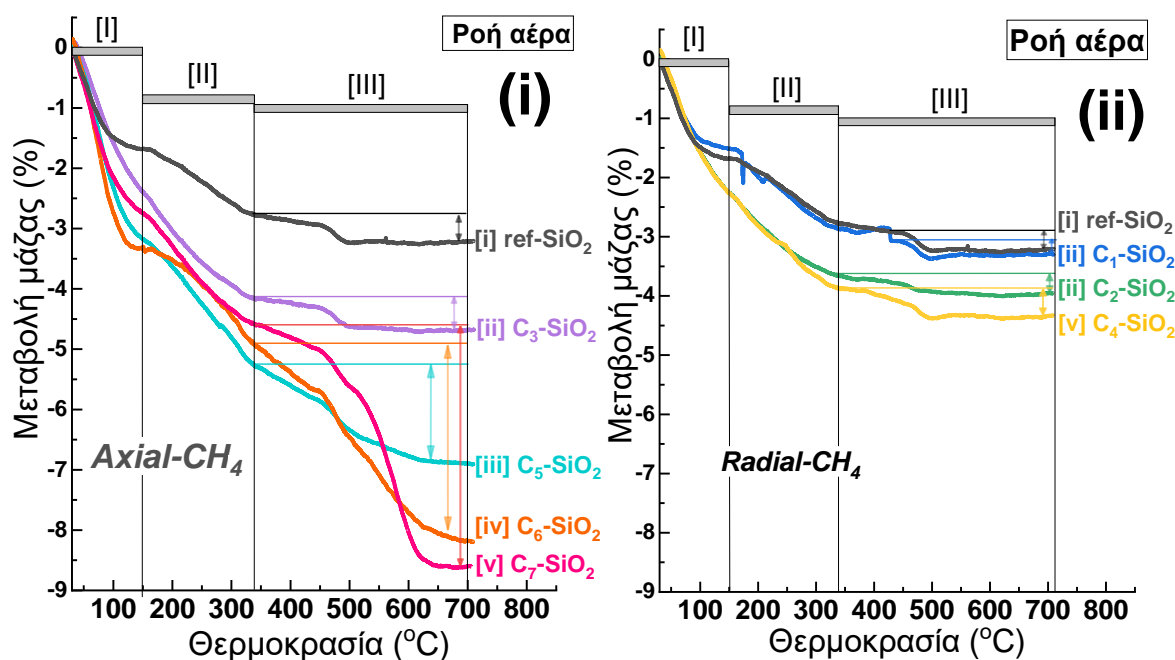
Επομένως, η ανάλυση TEM επιβεβαιώνει τη χαμηλή συγκέντρωση άνθρακα (έως και 4 % της συνολικής μάζας, όπως αξιολογήθηκε και από την ανάλυση TG-DTA που αναφέρεται στη συνέχεια), η οποία εμφανίζεται κυρίως ως αλλαγή χρώματος, δηλαδή, το μαύρο του C₇-SiO₂ έναντι του λευκού ref-SiO₂. Οι εικόνες TEM των άλλων υλικών επέτρεψαν μια λιγότερο σαφή ανάλυση των ανθράκων, συμφωνώντας με τις χαμηλότερες ποσότητες εναποτιθέμενου άνθρακα.



ΣΧΗΜΑ 2-34 Εικόνες υψηλής ευκρίνειας με HRTEM των νανοϋλικών ref-SiO₂ και C₇-SiO₂ που έχουν παρασκευαστεί μέσω ΠΨΦ. Ο άνθρακας μπορεί να διακριθεί ως σκούρες κηλίδες στο C₇-SiO₂ (που σημειώνονται από τους κίτρινους κύκλους). Οι εικόνες TEM δείχνουν μια ομοιογενή κατανομή του άνθρακα στη μήτρα Si στο C₇-SiO₂, η οποία εκδηλώνεται μακροσκοπικά ως αλλαγή χρώματος, δηλαδή, μαύρο C₇-SiO₂ έναντι λευκού ref-SiO₂ (βλ. φωτογραφίες).

(ii) Μελέτη του άνθρακα μέσω θερμοσταθμικής διαφορικής θερμικής ανάλυσης (TG-DTA)

Η θερμική ανάλυση των νανοδομών C-SiO₂ πραγματοποιήθηκε σε εύρος θερμοκρασιών 25-700 °C, υπό (α) ροή αέρα και (β) ροή αζώτου με ρυθμό 2 °C / min. Η επί τοις εκατό μεταβολή μάζας (Δm %) με την αύξηση της θερμοκρασίας υπό ροή αέρα, χωρίζεται σε τρεις διακριτές περιοχές I, II, και III και παρουσιάζεται στο Σχήμα 2-35. Η αριστερή πλευρά (i) στο Σχήμα 2-35 απεικονίζει την (%) μεταβολή της μάζας των υλικών που έχουν παρασκευασθεί με την axial μέθοδο ΠΨΦ, ενώ στα δεξιά φαίνεται η (%) μεταβολή της μάζας των υλικών που έχουν παρασκευασθεί με την radial μέθοδο ΠΨΦ.



ΣΧΗΜΑ 2-35 Ανάλυση TGA για τα νανοϋλικά C-SiO₂ υπό ροή συνθετικού αέρα. (i) υλικά που παρασκευάζονται μέσω της διαδικασίας axial. (ii) υλικά που παρασκευάζονται μέσω της διαδικασίας radial. Οι τομείς [I], [II] και [III] σηματοδοτούν την απώλεια μάζας νερού, μη γραφίτοποιημένου άνθρακα και γραφίτοποιημένου άνθρακα, αντίστοιχα. Τα κάθετα βέλη χρησιμοποιούνται για να επισημάνουν την εκτιμώμενη απώλεια μάζας άνθρακα.

Η πρώτη κοινή περιοχή χαμηλής θερμοκρασίας [I] σε $T < 150$ °C που παρατηρείται στα θερμογραφήματα όλων των υλικών περιλαμβάνει μια σταδιακή ελάττωση της μάζας που οφείλεται στην εξάτμιση των μορίων διαλυτών καθώς και φυσικά προσροφημένων μορίων H₂O που βρίσκονται εγκλωβισμένα μέσα στο πλέγμα του στερεού³²⁰. Η ενδιάμεση περιοχή θερμοκρασιών [II] σε 150 °C $< T < 340$ °C αντιστοιχεί στην απώλεια μάζας λόγω διάσπασης δεσμών C-C, C-O, και C-H³²⁰ μη

γραφιτοποιημένου άνθρακα και υπολειμμάτων διαλυτών³²⁰. Η τρίτη περιοχή μεταβολής μάζας [III] υψηλών θερμοκρασιών $T > 340$ °C αντιστοιχεί στην καύση των ανθρακικών σκελετών που διατηρούν τη σταθερότητά τους και σε υψηλότερες θερμοκρασίες³²⁰.

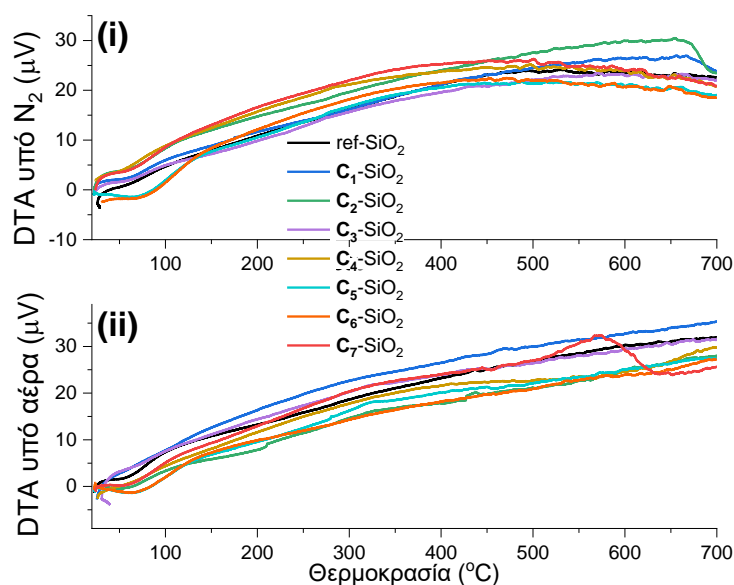
Η απώλεια μάζας στην περιοχή [III] των υλικών που έχουν παρασκευασθεί με την axial μέθοδο ΠΨΦ είναι 0.3 % για το ref-SiO₂, 0.5 % για το C₃-SiO₂, 1.8 % για το C₅-SiO₂, 3.1 % για το C₆-SiO₂, και 4.0 % για το C₇-SiO₂. Αντίστοιχα, η απώλεια μάζας στην περιοχή [III] των υλικών που έχουν παρασκευασθεί με την radial μέθοδο ΠΨΦ είναι 0.4 % για το C₁-SiO₂, 0.6 % για το C₂-SiO₂, και τέλος, 0.4 % για το C₄-SiO₂. Ο Πίνακας 6 περιλαμβάνει τις τιμές Δm (%) στην περιοχή 340-700 °C, οι οποίες αναγράφονται κατά αύξουσα σειρά.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6 Μεταβολή μάζας (Δm %) στην περιοχή θερμοκρασιών 340-700 °C.

Νανοϋλικό	Δm (340-700) %
ref-SiO ₂	0.3 ± 0.01
C ₁ -SiO ₂	0.4 ± 0.01
C ₂ -SiO ₂	0.6 ± 0.01
C ₃ -SiO ₂	0.5 ± 0.01
C ₄ -SiO ₂	0.4 ± 0.01
C ₅ -SiO ₂	1.8 ± 0.01
C ₆ -SiO ₂	3.1 ± 0.01
C ₇ -SiO ₂	4.0 ± 0.01

Παρατηρούμε ότι σταθερά λιγότερο άνθρακας εισάγεται στα υβριδικά νανοϋλικά C-SiO₂ όταν χρησιμοποιείται η radial διάταξη. Το φαινόμενο αυτό συμφωνεί με τις αρχές της τεχνικής ΠΨΦ, καθώς κατά τη διαδικασία axial το μεθάνιο εισάγεται απευθείας στο εσωτερικό της φλόγας και προάγει την ενσωμάτωση άνθρακα κατά τον σχηματισμό των σωματιδίων Si. Αντίθετα, κατά την radial ΠΨΦ, το μεθάνιο εισάγεται ως βοηθητικό αέριο που αλληλεπιδρά με τα ήδη σχηματισμένα σωματίδια Si. Η θερμοσταθμική ανάλυση επιβεβαιώνει πως οι δυο διαφορετικοί τρόποι εισαγωγής του μεθανίου οδηγούν σε δύο διακριτές διαδικασίες για την ελεγχόμενη ενσωμάτωση άνθρακα στο πυριτικό πλέγμα της νανοσίλικας³¹⁵. Τέλος, καμία χαρακτηριστική μεταβολή ενέργειας δεν παρατηρείται στα διαγράμματα διαφορικής θερμικής ανάλυσης (DTA) υπό ροή N₂ (i) και αέρα (ii) ((βλ. Σχήμα 2-36), εκτός από την περίπτωση της καύσης του υλικού C₇-SiO₂ υπό αέρα όπου παρατηρείται μια εξώθερμη μεταβολή σε θερμοκρασία περίπου 550 °C. Σε όλες τις υπόλοιπες περιπτώσεις, παρατηρείται μια

ομαλή αύξηση της ενέργειας που αντιστοιχεί σε διαδοχική απώλεια μάζας όλων των υβριδικών νανοδομών με ελάχιστη 0.3 % και μέγιστη έως 4.0 %.



ΣΧΗΜΑ 2-36 Διαγράμματα διαφορικής θερμικής ανάλυσης (DTA) υπό ροή (i) N_2 και (ii) αέρα των υβριδικών νανοϋλικών C-SiO₂.

(iii) *Τροποποίηση του πυριτικού πλέγματος μέσω της ελεγχόμενης εναπόθεσης άνθρακα.*

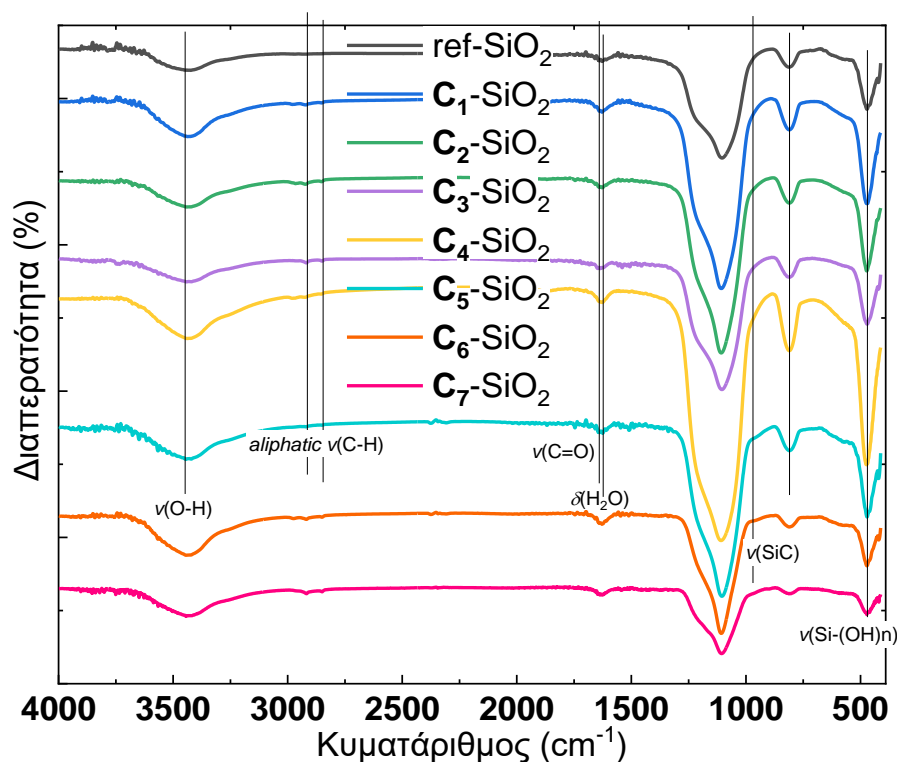
Οι φασματοσκοπίες FT-IR και Raman χρησιμοποιήθηκαν συνδυαστικά για την μελέτη του πυριτικού πλέγματος και της ποιότητας του άνθρακα¹⁷⁹. Στο **Σχήμα 2-37** απεικονίζονται τα φάσματα υπερόθρου (FT-IR) όλων των υλικών σε εύρος 4000 - 400cm⁻¹ όπου διακρίνονται χαρακτηριστικές κορυφές που αποδίδονται κυρίως σε δονήσεις του πυριτικού πλέγματος και των επιφανειακών ομάδων³²¹.

Ανάλυση FT-IR

Πιο αναλυτικά, δονήσεις του πυριτικού πλέγματος και των επιφανειακών σιλανολών ανιχνεύονται ως κορυφές στη περιοχή ~400-1200 cm⁻¹. Όλα τα υβριδικά νανοϋλικά C-SiO₂ παρουσιάζουν κορυφές FT-IR που αποδίδονται στις δονήσεις του πυριτικού πλέγματος, και των επιφανειακών ομάδων οξυγόνου ως εξής: οι κορυφές σε ~1090 cm⁻¹, ~800 cm⁻¹, και ~490 cm⁻¹ αποδίδονται στις δονήσεις αναπνοής (breathing modes) των σιλοξανικών δακτυλίων, ενώ η κορυφή στα ~945 cm⁻¹ οφείλεται

στην δόνηση τάσης του δεσμού Si-OH³⁰⁵. Η φαρδιά κορυφή³⁰⁶ στην περιοχή των $\sim 3430\text{ cm}^{-1}$ αποδίδεται στη δόνηση τάσης του χαρακτηριστικού δεσμού O-H. Επιπλέον, δεν ανιχνεύονται κορυφές στην περιοχή των $\sim 3700\text{ cm}^{-1}$ που προέρχονται από δονήσεις O-H των απομονωμένων, πιθανώς τοξικών, σιλανολών¹⁹⁶ της επιφάνειας.

Η κορυφή που εντοπίζεται στα 970 cm^{-1} , εμφανής κυρίως στο υλικό C₇-SiO₂, αποδίδεται στη δόνηση τάσης του δεσμού SiC³²². Όμοια, η κορυφή των $1630\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ πιο έντονη στο υλικό C₇-SiO₂, αντιστοιχεί σε δόνηση του δεσμού C=O³²². Άλλες κορυφές που αντιστοιχούν σε δεσμούς άνθρακα, εντοπίζονται στα $\sim 2918\text{ cm}^{-1}$, $\sim 2948\text{ cm}^{-1}$, αποδίδονται σε $\nu(\text{C-H})$, και $\sim 1270\text{ cm}^{-1}$ και προέρχονται από δόνηση των ομάδων Si-CH₃ της πρόδρομης ένωσης HMDSO⁵⁸.



ΣΧΗΜΑ 2-37 Φάσματα υπερώθρου FT-IR των υβριδικών νανοδομών C-SiO₂ σε εύρος $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$.

Ανιχνεύεται ακόμη, η κορυφή στα $\sim 1627\text{ cm}^{-1}$ προέρχεται από τη δόνηση κάμψης του $\delta(\text{O-H})$ ⁵⁸. Ο σχηματισμός υπολειμμάτων άνθρακα διευκολύνεται από την έλλειψη οξυγόνου που οδηγεί σε ατελή καύση, στην περίπτωση του ref-SiO₂. Αυτό είναι σύμφωνο και με τις διαφορές που ανιχνεύονται στο εσωτερικό των πυριτικών δακτυλίων, όπως δηλώνεται από την ευρεία κορυφή στα $\sim 900\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ (συμπεριλαμβανομένων των δονήσεων Si-O-C³²²).

Συμπεραίνεται πως οι δομές άνθρακα που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της παρούσας σύνθεσης έχουν περισσότερο ανόργανο, γραφιτικό χαρακτήρα και δεν μοιάζουν με οργανικά υπολείμματα ($C = C$). Μπορεί επιπλέον να υποτεθεί ότι η τρέχουσα συνθετική διαδικασία οδηγεί στην ενσωμάτωση των ετεροατόμων (κυρίως των ατόμων άνθρακα), τόσο στο εσωτερικό του πυριτικού πλέγματος όσο και στην επιφάνεια ως τερματικές ομάδες.

Η φασματοσκοπία Raman, χρησιμοποιείται στην παρούσα εργασία ως εργαλείο-κλειδί για την λεπτομερή μελέτη των δύο διαφορετικών περιοχών των υβριδικών δομών: (i) των δονήσεων του πυριτικού πλέγματος, και (ii) των διαφορετικών δεσμών άνθρακα. Στο **Σχήμα 2-38** απεικονίζονται τα φάσματα Raman όλων των υλικών στην περιοχή $300 - 650 \text{ cm}^{-1}$ (χαρακτηριστική των δονήσεων αναπνοής των δακτυλίων που συνιστούν το πυριτικό πλέγμα) και ως ένθετα υπάρχουν οι αναλύσεις της περιοχής του άνθρακα $1100 - 1600 \text{ cm}^{-1}$. Απεικονίζεται, επίσης, η θεωρητική ανάλυση των φασμάτων, μέσω μαθηματικής διαδικασίας διάκρισης των κορυφών που συνθέτουν μια μικτή κορυφή λόγω μερικής επικάλυψης μέσου του προγράμματος OriginLab 2018. Τα φάσματα Raman συγκρίνονται για λόγους πληρότητας με αυτό μιας κλασικής καπνοπυριτίας (δηλ. ενός υλικού που έχει αναπτυχθεί σε μη αναερόβιες συνθήκες).

Πυριτικό Πλέγμα:

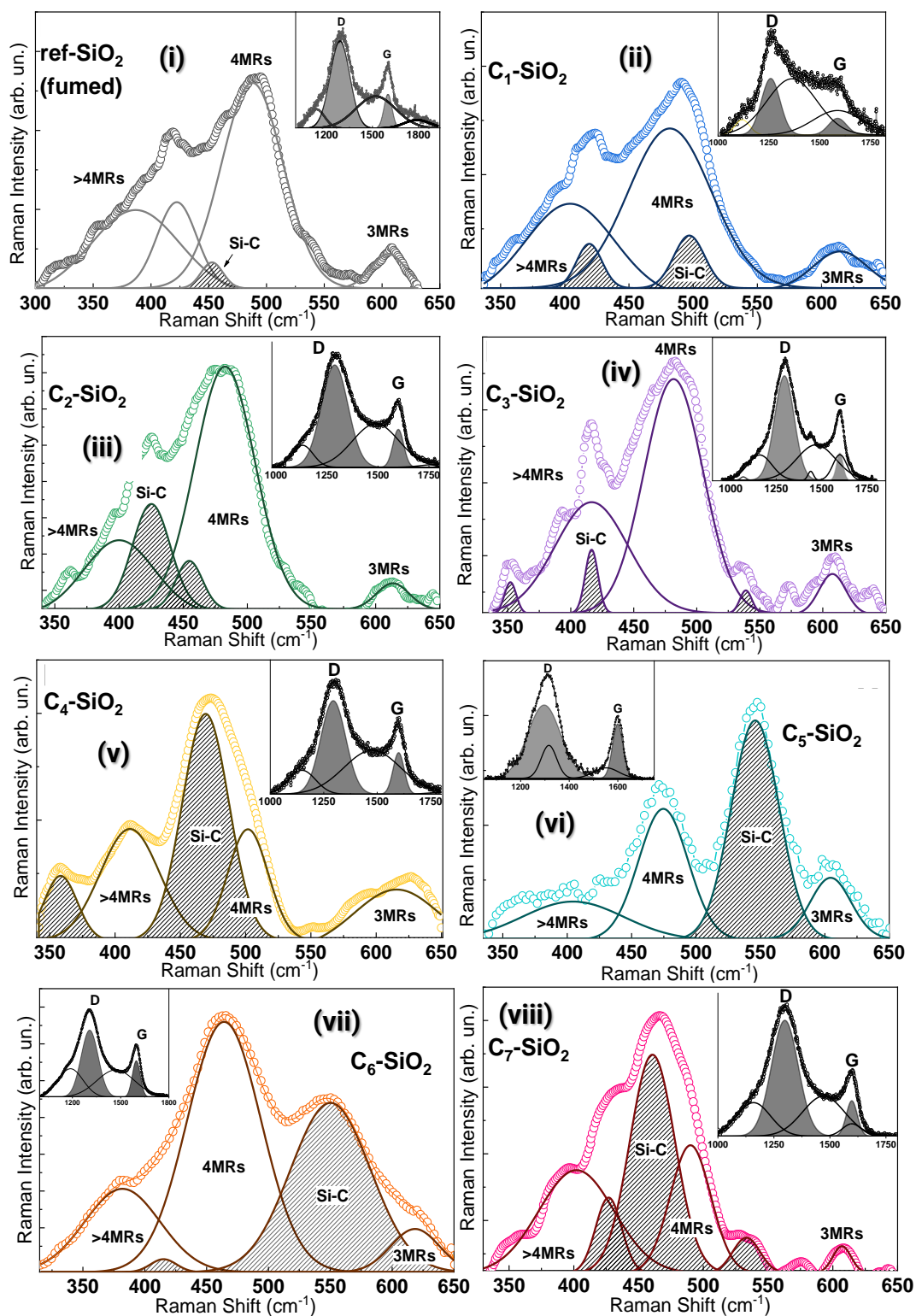
Τα δεδομένα Raman για το Si (βλ. Σχήμα 2-38) δείχνουν μια προοδευτική παραμόρφωση του πυριτικού πλέγματος κατά την αύξηση της συγκέντρωσης του CH_4 , δηλαδή από ref- SiO_2 προς $\text{C}_7\text{-SiO}_2$. Το άμορφο πυριτικό πλέγμα αποτελείται από γέφυρες Si-O-Si που σχηματίζουν μικρότερες (τριμελείς, 3MRs) έως μεγαλύτερες (> εξαμελείς) διαμορφώσεις δακτυλίων. Οι δονήσεις αναπνοής (breathing modes) αυτών των δακτυλίων εμφανίζονται στην περιοχή $300\text{-}650 \text{ cm}^{-1}$.

Χαρακτηριστικές κορυφές αποτελούν αυτή των $\sim 600 \text{ cm}^{-1}$ που αποδίδεται σε τριμελείς δακτυλίους (3MRs) με υψηλή δραστηριότητα¹⁷⁹, και η κορυφή των $\sim 490 \text{ cm}^{-1}$ που προέρχεται από τους αμέσως μεγαλύτερους σε μέγεθος και λιγότερο δραστικούς τετραμελείς δακτυλίους (4MRs)¹⁷⁹. Κάτω των 400 cm^{-1} κυριαρχούν μεγαλύτεροι των τετραμελών σε έκταση δακτύλιοι σιλοξανίων, που όπως αναφέρεται και στο προηγούμενο κεφάλαιο συναντώνται σε αδρανείς δομές νανοσίλικας^{175,179}.

Η θεωρητική ανάλυση (αποσυνέλιξη)²⁸⁹ των κορυφών Raman^{9,10,15} στο Σχήμα 2-38 δείχνει πως όλα τα υβριδικά νανοϋλικά C-SiO₂ παρουσιάζουν τουλάχιστον πέντε διακριτούς τρόπους δόνησης (modes) στην περιοχή των σιλοξανικών δακτυλίων, μεταξύ αυτών ανήκουν οι D₁, D₂, D₄, και R-band²⁸⁹ όπως αναφέρονται βιβλιογραφικά²⁸⁹. Ο D₁ αντιστοιχεί στις δονήσεις των τετραμελών

δακτυλίων, ενώ ο τρόπος D₂ στις δονήσεις των τριμελών δακτυλίων²⁸⁹. Περισσότεροι τρόποι δόνησης στο εύρος 540-580 cm⁻¹ συσχετίζονται με τη σύνθεση σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου που επηρεάζει τη διαμόρφωση του πυριτικού πλέγματος, κυρίως λόγω της ενσωμάτωσης ετεροατόμων C. Συμπληρωματικά των δονήσεων του πυριτικού πλέγματος ανιχνεύονται κορυφές που αποδίδονται σε δεσμούς άνθρακα που προέρχεται από το CH₄ (ή άκαυστων μορίων διαλυτών στη περίπτωση του ref-SiO₂).

Τα φάσματα Raman στο Σχήμα 2-38 (i) δείχνουν ότι το ref-SiO₂ χαρακτηρίζεται από κορυφές που αντιστοιχούν σε τριμελείς σιλοξανικούς δακτυλίους Si-O-Si (3MRs), τετραμελείς σιλοξανικούς δακτυλίους Si-O-Si (4MRs) και μεγαλύτερης έκτασης δακτυλίους Si-O-Si (> 4MR). Περιέχει επίσης μικρές ποσότητες άνθρακα, δηλαδή, όπως φαίνεται στο ένθετο φάσμα του C-Raman πάνω δεξιά, που προέρχεται από τη μερική ανοξικότητα που δημιουργείται από το περιβάλλον αέριο N₂, παρά την απουσία του CH₄ σε αυτό το υλικό. Τα υλικά C₁-SiO₂, C₂-SiO₂ και C₃-SiO₂ (βλ. Σχήμα 2-38 (ii-iv)) παρουσιάζουν μεταβολές στις κορυφές Si-C. Ωστόσο, οι σιλοξανικοί δακτύλιοι Si-O-Si φαίνεται να κυριαρχούν στη δομή των υλικών αυτών. Με περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του CH₄ (βλ. Σχήμα 2-38 (v-viii)) στα υλικά C₄-SiO₂, C₅-SiO₂, C₆-SiO₂ και C₇-SiO₂, οι κορυφές Si-C κυριαρχούν στις νανοδομές, ενώ οι δομές δακτυλίων Si-O-Si είναι σοβαρά παραμορφωμένες ή σχεδόν δεν διακρίνονται. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η περίπτωση του C₅-SiO₂ (βλ. Σχήμα 2-38 (vi)) καθώς παρουσιάζει διαφορετικό πυριτικό πλέγμα αλλά και είδος άνθρακα σε σύγκριση με τα υπόλοιπα υλικά.



ΣΧΗΜΑ 2-38 Φάσματα Raman και θεωρητική ανάλυση κορυφών των υβριδικών νανοδομών C-SiO₂ σε εύρος 300-650 cm⁻¹ και (ως ένθετα) 1100–1600 cm⁻¹. (i) ref-SiO₂, (ii) C₁-SiO₂, (iii) C₂-SiO₂, (iv) C₃-SiO₂, (v) C₄-SiO₂, (vi) C₅-SiO₂, (vii) C₆-SiO₂, και (viii) C₇-SiO₂.

Τέλος, το ref-SiO₂ έχει ένα περισσότερο εκτεταμένο πλέγμα (παρουσία σιλοξανικών δακτυλίων αντίστοιχα με μια κλασική καπνοπυριτία, δηλ. 3MRs, 4MRs, 5MRs κτλ.) αντίθετα με το C₇-SiO₂ όπου εμφανίζονται αρκετές δονήσεις Si-C ενσωματωμένες μέσα στους πυριτικούς δακτυλίους.

Συνοπτικά από την ανάλυση Raman στην περιοχή των δονήσεων του πυριτικού πλέγματος 300-650 cm⁻¹, συμπεραίνεται πως η σύνθεση κάτω από συνθήκες έλλειψης οξυγόνου με σταδιακή αύξηση του ρυθμού εισαγωγής μεθανίου, οδηγεί στην ενσωμάτωση άνθρακα στο εσωτερικό του πυριτικού πλέγματος (δημιουργία δεσμών Si-O-C).

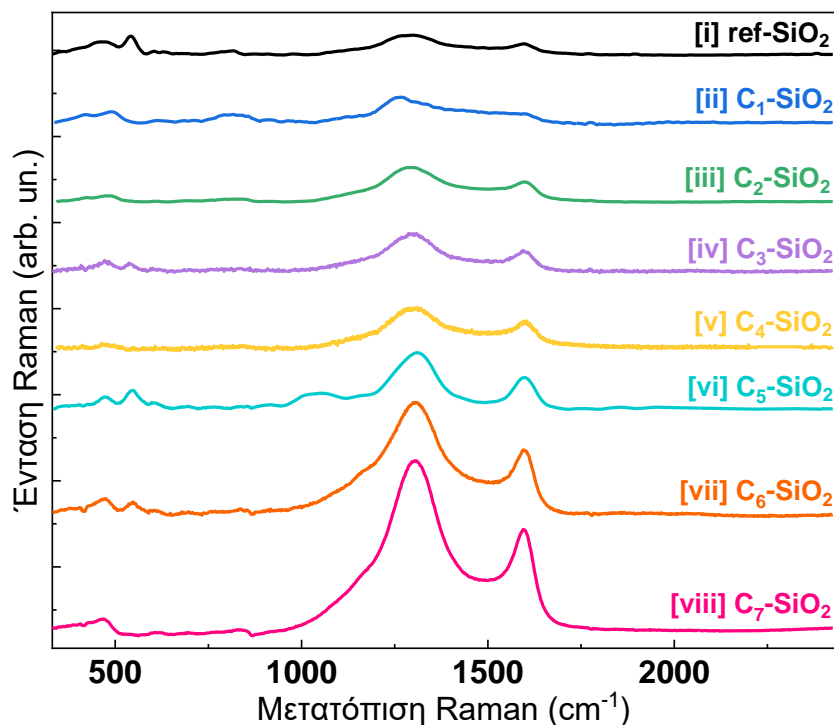
Δομές του άνθρακα:

Τα δεδομένα της ανάλυσης Raman στην περιοχή του άνθρακα (1100-1600 cm⁻¹), που φαίνονται ως ένθετα στην κορυφή του κάθε φάσματος στο Σχήμα 2-38, δείχνουν πως όλα τα υβριδικά νανοϋλικά παρουσιάζουν κορυφές που αποδίδονται σε μη γραφίτοποιημένο άνθρακα sp³ (ζώνη D στα ~1290 cm⁻¹), αλλά και γραφίτοποιημένο άνθρακα sp² (ζώνη G στα ~1600 cm⁻¹)³²³. Η ζώνη G υποδεικνύει το συνολικό σχηματισμό γραφίτοποιημένων δομών sp². Η D-ζώνη ανιχνεύεται σταθερά σε γραφίτοποιημένους άνθρακες, εκτός από το εξαιρετικά καθαρό γραφένιο³²³. Έτσι, συνήθως, ο λόγος των εντάσεων των κορυφών D/G μπορεί να χρησιμεύσει ως δείκτης του βαθμού γραφίτοποίησης μιας δομής³²³.

Ακόμη, η ποιοτική ανάλυση των κορυφών D και G παρέχει χρήσιμη πληροφορία για τη δομή του υλικού. Οι πιο έντονες κορυφές G συνήθως υποδεικνύουν καλά σχηματισμένες περιοχές με μεγαλύτερο βαθμό γραφίτοποίησης, ενώ οι ευρύτερες και πιο διάχυτες ζώνες D και G υποδηλώνουν ετερογένεια στην τοπική ατομική διαμόρφωση του άνθρακα³²³.

Τα φάσματα στο Σχήμα 2-38, είναι κανονικοποιημένα ως προς την πιο έντονη κορυφή τους για λόγους σύγκρισης. Για παράδειγμα, στο φάσμα του ref-SiO₂ οι εντάσεις της περιοχής του άνθρακα έχουν μεγεθυνθεί σημαντικά σε σχέση με την πραγματική χαμηλή τους ένταση. Οι πραγματικές εντάσεις μεταξύ των υλικών απεικονίζονται στο **Σχήμα 2-39** που περιέχει τα φάσματα Raman σε ολόκληρο το εύρος ανάλυσης (100-2200 cm⁻¹).

Τα δεδομένα της ανάλυσης Raman επιβεβαιώνουν την ενσωμάτωση γραφίτοποιημένων μονάδων άνθρακα στη δομή των υβριδικών νανοϋλικών. Αύξηση στη ροή διασποράς αερίου CH₄ από το C₁-SiO₂ προς το C₇-SiO₂ προωθεί την ποσότητα του εναποτιθέμενου άνθρακα (βλ. επίσης προηγούμενη ανάλυση TGA).



ΣΧΗΜΑ 2-39 Φάσματα Raman των υβριδικών νανοδομών C-SiO₂ σε ολόκληρο το εύρος ανάλυσης (100-2200 cm⁻¹). (i) ref-SiO₂, (ii) C₁-SiO₂, (iii) C₂-SiO₂, (iv) C₃-SiO₂, (v) C₄-SiO₂, (vi) C₅-SiO₂, (vii) C₆-SiO₂, και (viii) C₇-SiO₂.

Παρά το γεγονός ότι η ακριβής διαμόρφωσή των D και G περιοχών παρουσιάζει διακυμάνσεις ανάμεσα στα υλικά, αντικατοπτρίζει, ωστόσο, τη συνθετότητα της διαδικασίας σχηματισμού άνθρακα, της γραφίτιοποίησης και της έντονης αλληλεπίδρασης με τη μήτρα Si (εμφάνιση των δεσμών Si-C στα ~425 cm⁻¹ ή 550 cm⁻¹)³²³. Τέλος, η ανάλυση Raman, συμφωνεί με την ανάλυση HR-TEM, η οποία δείχνει πως ο βαθμός γραφίτιοποίησης είναι μερικός και δεν υπάρχουν εκτεταμένες γραφίτικές δομές. Αντίθετα, οι κορυφές Raman στα ~1500 cm⁻¹ υποδεικνύουν το σχηματισμό μικρών γραφίτικών δομών δακτυλίων³¹⁹. Ακόμη και στην περίπτωση του C₅-SiO₂, όπου οι κορυφές D και G είναι καλά σχηματισμένες (έντονες μη αλληλεπικαλυπτόμενες κορυφές) δεν ανιχνεύεται κορυφή γραφίτικού άνθρακα στην ανάλυση XRD λόγω της πολύ μικρής τους συγκέντρωσης.

Η παραπάνω διαδικασία αποτελεί ένα από τα κύρια ευρήματα της παρούσας μελέτης, που με την ανάλυση Raman μπορούν να συνοψιστούν στα παρακάτω σημεία:

- (i) Η παρούσα συνθετική προσέγγιση (ΠΥΦ σε περιβάλλον έλλειψης οξυγόνου και ελεγχόμενης εισαγωγής μεθανίου) ευνοεί την εναπόθεση άνθρακα στο πυριτικό πλέγμα, όχι μόνο με τη

μορφή μερικώς γραφίτοποιημένου sp^2/sp^3 άνθρακα, αλλά και μέσω άμεσου δεσμού ατόμων C με άτομα Si.

- (ii) Το πυριτικό πλέγμα επηρεάζεται διπλά από την εισαγωγή του μεθανίου, αρχικά λόγω της αύξησης θερμοκρασίας που προκαλεί η εισαγωγή του στη φλόγα (υψηλή θερμοκρασία σύνθεσης προκαλεί τεταμένη διαμόρφωση όπως περιγράφεται στο προηγούμενο κεφάλαιο) και επιπλέον λόγω των ισχυρών δεσμών Si-C που οδηγούν σε συνολική παραμόρφωση των σιλοξανικών δακτυλίων.

Ο Πίνακας 7 περιλαμβάνει τις αποδόσεις όλων των χαρακτηριστικών κορυφών FT-IR και Raman.

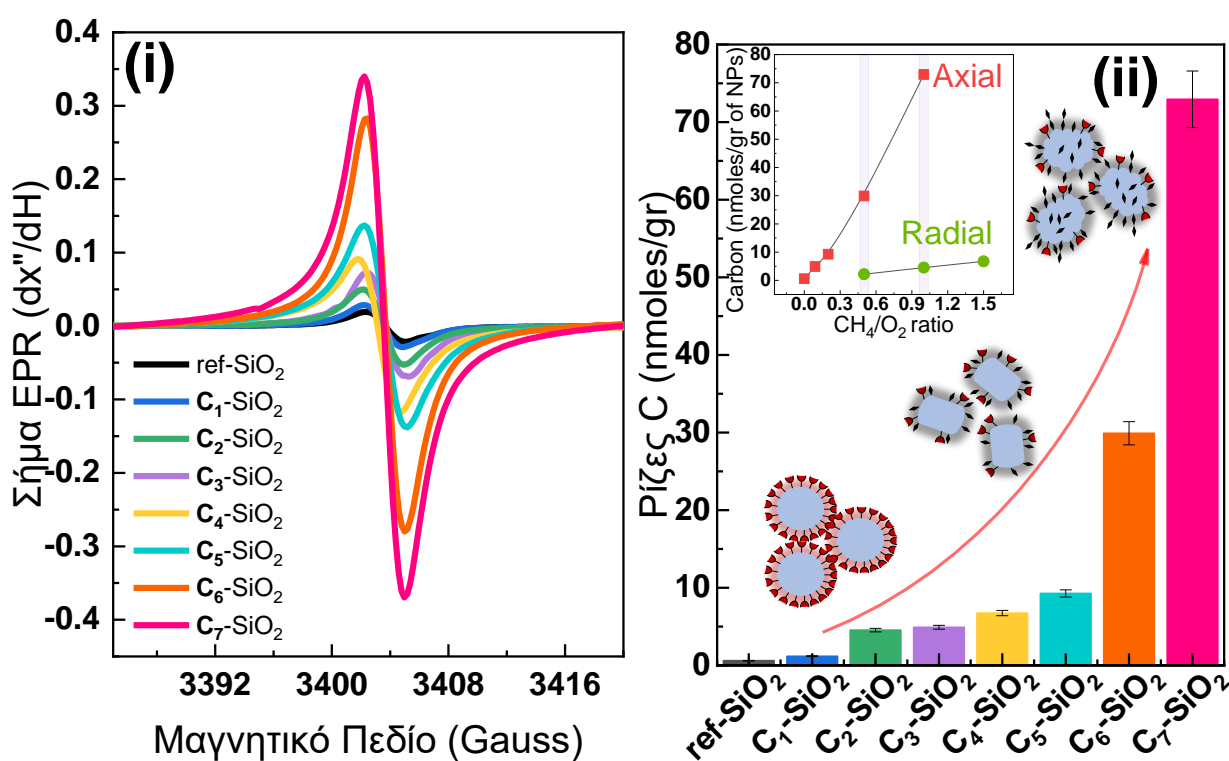
ΠΙΝΑΚΑΣ 7 Αποδόσεις όλων των χαρακτηριστικών κορυφών FT-IR και Raman των υλικών που σχετίζονται με δονήσεις του πυριτικού πλέγματος και του ενσωματωμένου C.

IR (cm ⁻¹)	Raman (cm ⁻¹)	Απόδοση Κορυφών
Πυριτικό Πλέγμα		
~1630		$\delta(\text{O-H})$
	~1597	G-band Carbon
	~1305	D-band Carbon
~1207	~1200	$\nu(\text{Si-O-Si})$. ^{307,308}
	~1160	$\nu(\text{Si-O-Si})$ asym. Non-bridging O atoms ^{307,308}
~957		Isolated $\nu(\text{Si-O(H)})$ ^{307,179}
~808	~800	$\nu(\text{Si-O-Si})$ sym. ^{307,179}
~685	~685	
$\delta(\text{Si-O-Si})$ δονήσεις αναπνοής (breathing modes)^{308,179}		
~600	~600	D ₂ mode / 3MR $\delta(\text{Si-O-Si})$ breathing modes ¹⁷⁹
~490	~490	D ₁ / $\delta(\text{Si-O-Si})$ asym. 4MR breathing modes ^{308,179}
~458	~458	R-band max / 5MR $\delta(\text{Si-O})$ ^{308,179}
~420	~420	D ₄ / mode 6MR ^{308,179}
~356	~356	D ₃ mode
Άνθρακας		
~1135		D* mode
~1290		D mode
~1525		D'' mode
~1600		G mode
~1796		D' mode

(iv) Μελέτη ριζών μέσω φασματοσκοπίας ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού (EPR)

Μελέτη σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα:

Η φασματοσκοπία EPR χρησιμοποιείται στην παρούσα μελέτη αρχικά για την ανίχνευση σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα, ενσωματωμένες στη δομή των υλικών, καθώς σχηματίζονται κατά την ανάπτυξη των σωματιδίων με την εισαγωγή ομάδων άνθρακα στο πυριτικό πλέγμα. Στο Σχήμα 2-40 παρουσιάζονται τα φάσματα EPR όλων των στερεών C-SiO₂ και η ποσοτικοποίησή τους σε nmoles/g.

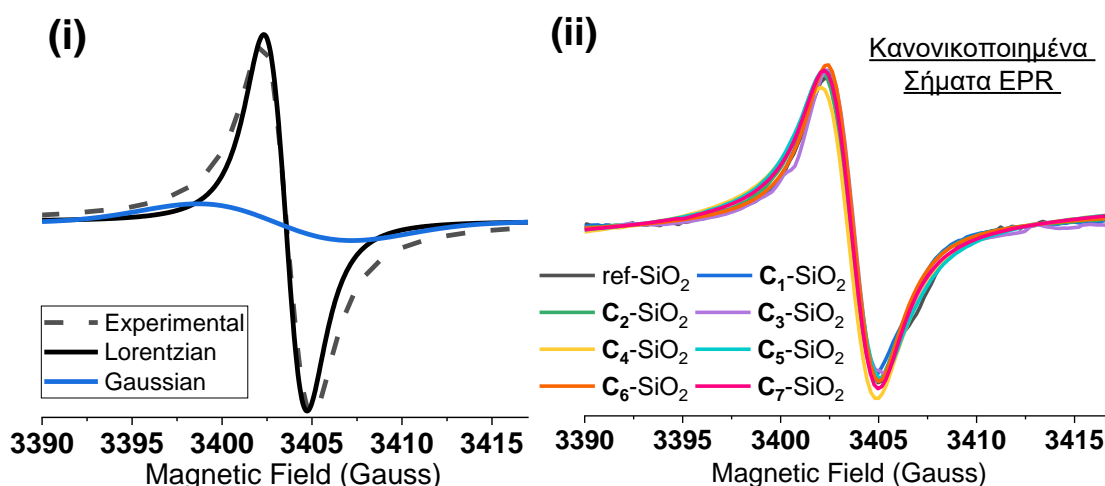


ΣΧΗΜΑ 2-40 (i) Φάσματα EPR των σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα που ανιχνεύεται στα στερεά νανοϋλικά Carbon-SiO₂ σε θερμοκρασία 77 K. **(ii)** Ποσοτικοποίηση ριζών σε nmoles ανά γραμμάριο υλικού. (ένθετο) ποσοτικοποίηση ριζών ανάλογα με τον τρόπο παρασκευής τους.

Σε όλες τις περιπτώσεις, ανιχνεύεται ένα μόνο σήμα EPR με τιμή g κοντά στα 2.0023 και εύρος κορυφής 2-3 Gauss. Τα σήματα είναι χαρακτηριστικά ριζών με βάση τον άνθρακα^{318,324,325}. Η ποσοτικοποίηση (βλ. Σχήμα 2-40 (ii)) δείχνει μια σταθερή αύξηση της συγκέντρωσης των ριζών αναλογικά με την αύξηση της εισαγωγής CH₄. Η μικρότερη συγκέντρωση ριζών εντοπίζεται στο ref-SiO₂ (0.6 nmoles ριζών / g υλικού) ενώ το C₇-SiO₂ περιέχει περίπου 120 φορές υψηλότερη συγκέντρωση (72.9 nmoles ριζών / g υλικού).

Όσον αφορά τις μεθόδους ΠΨΦ, τα “radial” υλικά περιέχουν λιγότερες ρίζες από τα “axial” υλικά (βλ. το ένθετο στο Σχήμα 2-40 (ii)) συμφωνώντας με την ανάλυση TGA ως προς τη συνολική περιεκτικότητά τους σε γραφίτοποιημένο άνθρακα.

Η θεωρητική ανάλυση των σημάτων, και συγκεκριμένα προσομοίωση του είδους της καμπύλης σε Lorentzian ή Gaussian, δίνει μια καλύτερη κατανόηση του είδους της ρίζας καθώς οι ρίζες που εντοπίζονται σε γραφίτοποιημένες μονάδες sp^2 χαρακτηρίζονται από ένα Lorentzian σχήμα^{324,325}. Αντίθετα, το σήμα των ριζών που εντοπίζονται σε μονάδες sp^3 άνθρακα έχει έναν πιο έντονο Gaussian χαρακτήρα^{324,325}. Η θεωρητική ανάλυση (μαθηματική αποσυνέλιξη) των πειραματικών σημάτων περιγράφεται στο **Σχήμα 2-41** (i) όπου με μαύρο χρώμα φαίνεται η λεπτή Lorentzian ενώ με μπλε η πιο φαρδιά Gaussian κατανομή, ενώ το (ii) απεικονίζει τα κανονικοποιημένα σήματα όλων των νανοϋλικών για λόγους σύγκρισης.



ΣΧΗΜΑ 2-41 (i) Θεωρητική ανάλυση (μαθηματική αποσυνέλιξη) των πειραματικών σημάτων ως άθροισμα Lorentzian και Gaussian καμπυλών. (ii) Κανονικοποιημένα σήματα όλων των ριζών.

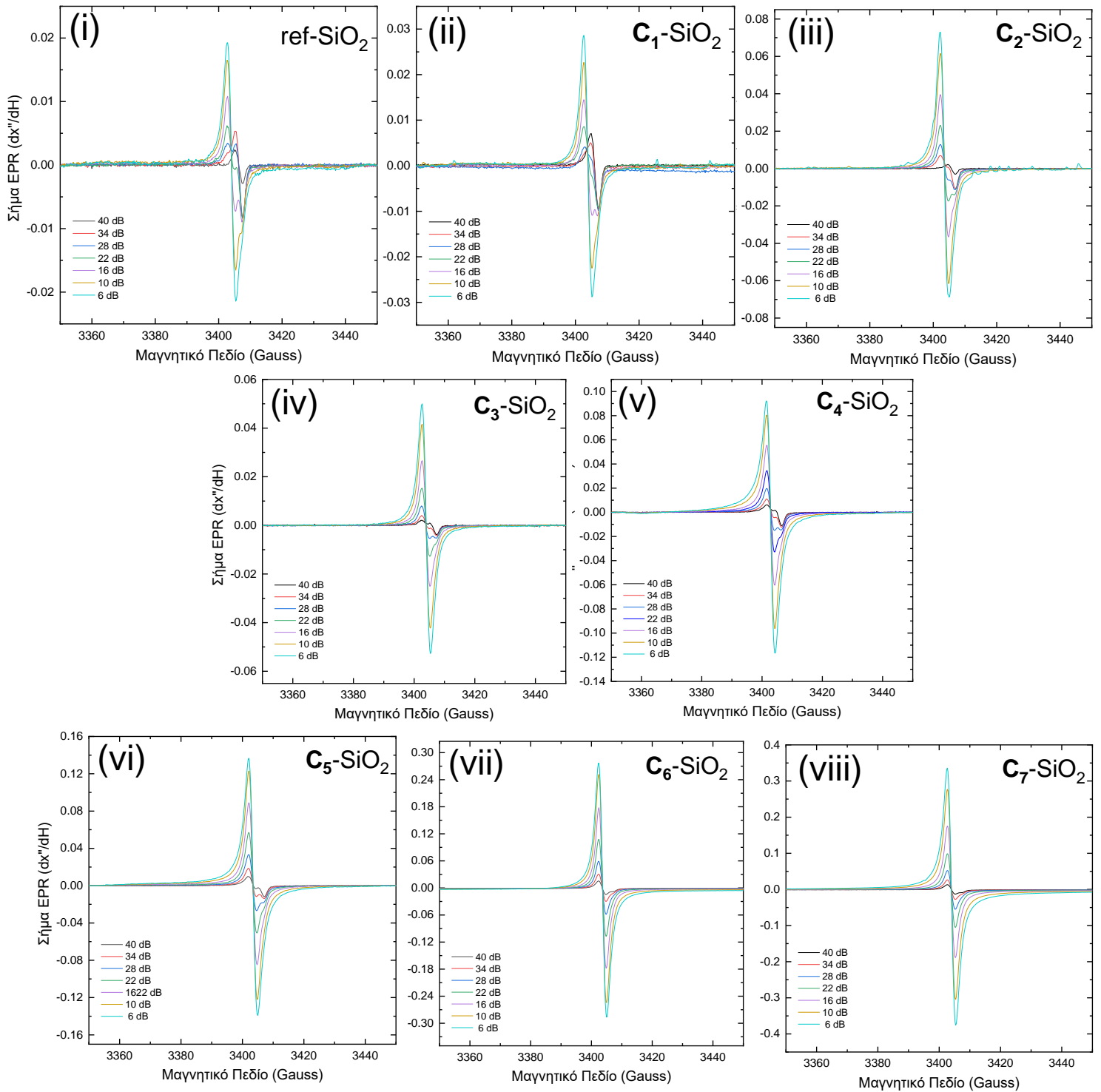
Η θεωρητική ανάλυση του σήματος του υλικού C_7-SiO_2 δείχνει μια συνεισφορά 9:1 της Lorentzian διαμόρφωσης έναντι της Gaussian, υποδεικνύοντας ότι τα σπιν των ριζών εντοπίζονται κατά προτίμηση στα γραφίτοποιημένα μέρη του άνθρακα.

Από την ανάλυση Raman του υλικού C_7-SiO_2 (βλ. προηγούμενη ενότητα (iii)) βλέπουμε πως περιέχει μια σημαντική ποσότητα sp^3 άνθρακα. Τα δεδομένα του EPR, ωστόσο, αποδεικνύουν πως οι ρίζες προτιμούν να συσσωρεύονται στις μονάδες sp^2 . Η παρατήρηση αυτή ισχύει για όλα τα υβριδικά νανοϋλικά C-SiO₂. Επιπλέον, σε όλες τις περιπτώσεις τα φάσματα EPR έχουν συγκρίσιμα προφίλ καμπυλότητας, με επικρατούσα την καμπύλη τύπου Lorentzian. Επομένως, οι σταθερές ρίζες όλων

των υλικών εντοπίζονται στις μονάδες sp^2 παρά την επικράτηση των μη γραφιτικών sp^3 , δομών όπως υποδεικνύεται από την ανάλυση Raman. Η θερμοδυναμική σταθεροποίηση των ασύζευκτων σπιν ριζών³²⁶ στις καταστάσεις sp^2 των δομών άνθρακα εννοείται έναντι των καταστάσεων sp^3 . Αυτή η παρατήρηση μπορεί να έχει πιο γενικό αντίκτυπο για αποφυγή κοινών παρερμηνειών κατά τη σύγκριση των δεδομένων EPR και Raman των νανοανθράκων. Στο **Σχήμα 2-42** περιλαμβάνονται οι λεπτομερείς αναλύσεις των στερεών υλικών σε 77 K συναρτήσει της μεταβαλλόμενης ισχύος.

Τα δεδομένα EPR των στερεών υβριδικών υλικών C-SiO₂ σε θερμοκρασία 77 K μπορούν να συνοψιστούν στα παρακάτω σημεία:

- (i) Το αναερόβιο περιβάλλον της σύνθεσης εννοεί την ενσωμάτωση άνθρακα στο πυριτικό πλέγμα. Η ενσωμάτωση εννοείται στην περίπτωση της “axial” εισαγωγής του μεθανίου.
- (ii) Οι ρίζες που φέρει ο ενσωματωμένος άνθρακας σταθεροποιούνται κατά προτίμηση στις μονάδες sp^2 .

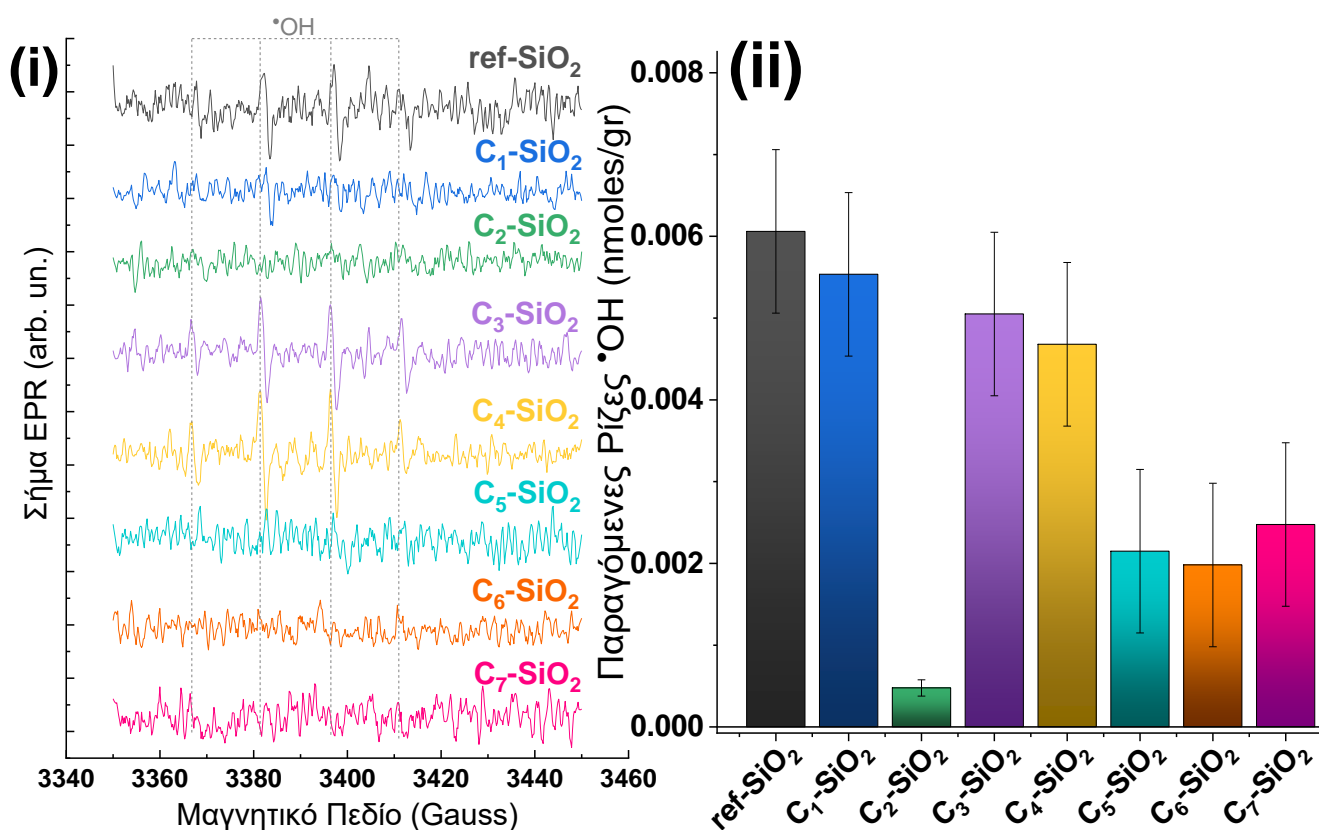


ΣΧΗΜΑ 2-42 Αναλύσεις EPR των στερεών υλικών σε 77 K συναρτήσει της μεταβαλλόμενης ισχύος. (i) ref-SiO_2 , (ii) $\text{C}_1\text{-SiO}_2$, (iii) $\text{C}_2\text{-SiO}_2$, (iv) $\text{C}_3\text{-SiO}_2$, (v) $\text{C}_4\text{-SiO}_2$, (vi) $\text{C}_5\text{-SiO}_2$, (vii) $\text{C}_6\text{-SiO}_2$, και (viii) $\text{C}_7\text{-SiO}_2$.

Μελέτη παραγωγής μη σταθερών δραστικών ειδών οξυγόνου:

Σε επόμενο στάδιο, η φασματοσκοπία EPR χρησιμοποιείται επιπλέον για τη μελέτη της παραγωγής μη σταθερών δραστικών ειδών οξυγόνου, όπως ρίζες υδροξυλίου, παρουσία των νανοϋλικών^{27,28} και H₂O₂. Τα δραστικά είδη οξυγόνου^{27,28} που παράγονται στη διεπιφάνεια στερεού υλικού και υγρού μέσου διασποράς ανιχνεύονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με χρήση spin-trap²⁹⁸ μορίου (DMPO) σε υδατικά εναιωρήματα των σωματιδίων. Ποσοτικοποίηση των σπιν πραγματοποιείται με χρήση DPPH ως πρότυπης σταθερής ρίζας²⁸.

Λόγω της παρουσίας τριμελών σιλοξανικών δακτυλίων στο πλέγμα της, η νανοσίλικα προκαλεί την ομολυτική σχάση του H₂O₂, και επομένως την παραγωγή ROS¹⁷⁹. Οι ρίζες που παράγονται και ανιχνεύονται ως DMPO-•OH παρουσιάζονται στο **Σχήμα 2-43** (i), ενώ η ποσοτικοποίησή τους φαίνεται στο (ii).



ΣΧΗΜΑ 2-43 (i) Σήματα EPR χαρακτηριστικά των DMPO-•OH παρουσία των υβριδικών νανοϋλικών C-SiO₂ και H₂O₂. (ii) Ποσοτικοποίηση παραγόμενων ριζών σε nmoles ανά γραμμάριο υλικού.

Η ποσοτική ανάλυση δείχνει ότι τα ROS που παράγονται από νανοϋλικά C-SiO₂ παρουσία H₂O₂ είναι σημαντικά χαμηλότερα, και συγκεκριμένα κατά τρεις τάξεις μεγέθους πιο κάτω, σε σύγκριση με

τις καθарές δομές νανοπυριτίας που παράγονται μέσω ΠΨΦ¹⁷⁵. Η αύξηση της περιεκτικότητας σε άνθρακα συσχετίζεται με μειωμένη ικανότητα παραγωγής ROS, με τη σημείωση ότι το C₂-SiO₂, παρουσιάζει σχεδόν μηδενική παραγωγή ριζών. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι τριμελείς σιλοξανικοί δακτύλιοι (3MRs) είναι οι πρωταρχικοί παράγοντες για την εμφάνιση •OH ριζών στα υλικά με βάση τη SiO₂, θεωρούμε, ότι η αλληλεπίδραση άνθρακα-SiO₂ μπλοκάρει -πιθανώς- την ικανότητα των δραστικών επιφανειακών δακτυλίων να προωθούν τη δημιουργία •OH ριζών.

(v) Συσχέτιση φυσικοχημείας επιφάνειας και τοξικότητας

Όπως αναφέρεται παραπάνω, η ικανότητα παραγωγής ROS των υβριδικών νανοδομών C-SiO₂, που αποτελεί κύριο παράγοντα τοξικότητας, είναι πολύ χαμηλή, σχεδόν επί έναν παράγοντα 10⁻³ σε σχέση με άλλες δομές με βάση τη νανοσίλικα που έχουν παραχθεί μέσω ΠΨΦ¹⁷⁵. Στο πλαίσιο διερεύνησης άλλων πιθανών παραγόντων τοξικότητας αυτό, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της επιφάνειας μελετώνται διεξοδικά. Δίνεται ιδιαίτερη έμφαση μεταξύ άλλων στο επιφανειακό φορτίο καθώς σε πολλές περιπτώσεις αποτελεί κύριο παράγοντα τοξικότητας²⁷.

Μελέτη δυναμικού ζ:

Εν συντομία, ο μηχανισμός ανάπτυξης επιφανειακού φορτίου έχει ως εξής: λόγω του αμφοτερικού τους χαρακτήρα, οι σιλανόλες (≡Si-OH) καθορίζουν το επιφανειακό φορτίο που αναπτύσσεται στα υλικά όταν αυτά διασπείρονται στο νερό^{310,327}. Η αλλαγή του pH προκαλεί αντιδράσεις πρωτονίωσης και αποπρωτονίωσης των επιφανειακών σιλανολών, ενώ ισορροπία μπορεί να επιτευχθεί μέσω της παρακάτω γενικής αντίδρασης³²⁷:



Η νανοσίλικα είναι συνήθως μη φορτισμένη σε pH > 2.0 ή αρνητικά φορτισμένη σε pH > 6.0¹⁷⁵. Στο **Σχήμα 2-44 (i)** παρουσιάζονται τα διαγράμματα μεταβολής του δυναμικού ζ όλων των υλικών C-SiO₂ σε συνάρτηση με το pH. Καθώς το pH μεταβάλλεται από *αλκαλικές σε όξινες τιμές* το δυναμικό ζ τείνει στο ισοηλεκτρικό σημείο (ΙΣ) που είναι ίσο με pH_{ΙΣ}=2.0-2.5, αντίστοιχο με αυτό των νανοϋλικών καθαρής síλικας³¹¹.

Όπως διακρίνεται και στο Σχήμα 2-44 (i) υπάρχει μια σημαντική ομοιότητα των επιφανειακών φορτίων μεταξύ των C₃-SiO₂, C₁-SiO₂, and C₅-SiO₂ τα οποία παρουσιάζουν λιγότερο αρνητικές τιμές δυναμικού ζ. Σε pH~4.00 διακρίνεται, ακόμη, μια αλλαγή στην καμπυλότητα η οποία μπορεί να αποδοθεί στην σταθερά pK_a επιφανειακών καρβοξυλομάδων (-COOH). Αυτά τα επιφανειακά

τμήματα -COOH ορίζουν κυρίως το συνολικό δυναμικό ζ των υλικών C₃-SiO₂, C₁-SiO₂, and C₅-SiO₂, επικαλύπτοντας την επίδραση των επιφανειακών ομάδων σιλανολών.

Από την άλλη πλευρά, παρά τη διαφορετική δομή τους, τα ref-SiO₂ και C₇-SiO₂ παρουσιάζουν επίσης παρόμοιο προφίλ δυναμικού ζ, το οποίο μοιάζει να ορίζεται περισσότερο από την αποπρωτονίωση των σιλανολών. Έτσι, τα δεδομένα δυναμικού ζ δείχνουν ότι τόσο στο ref-SiO₂ όσο και στο C₇-SiO₂, το επιφανειακό φορτίο ορίζεται από την εκτεθειμένη επιφάνεια SiO₂. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον, παρουσιάζει το γεγονός ότι η υψηλή συγκέντρωση του άνθρακα στο υλικό C₇-SiO₂ δεν φαίνεται να έχει καμία επίδραση στην ικανότητα των επιφανειακών σιλανολών να πρωτονιώνονται / αποπρωτονιώνονται.

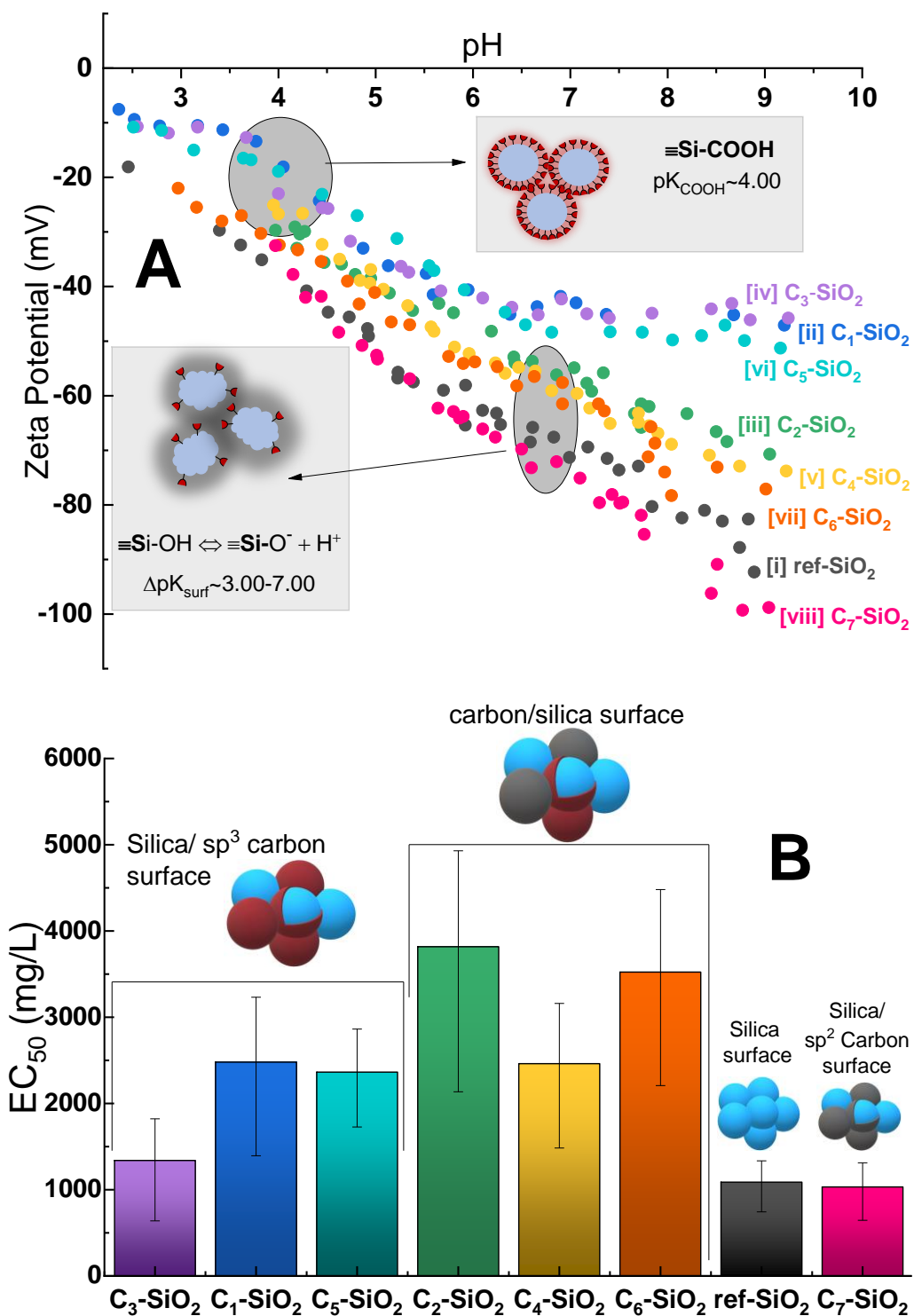
Τα προφίλ δυναμικού ζ όλων των υβριδικών νανοϋλικών C-SiO₂ μπορούν να τοποθετηθούν εντός αυτών των δύο ακραίων περιπτώσεων, δηλαδή:

- (i) η επιφάνεια SiO₂ να μην ορίζει το επιφανειακό φορτίο καθώς καλύπτεται από -COOH ή
- (ii) η επιφάνεια SiO₂ να ορίζει το επιφανειακό φορτίο καθώς δεν επηρεάζεται από την ύπαρξη άνθρακα (εκτός των -COOH).

Έτσι, τα παρόντα δεδομένα αποκαλύπτουν ότι το δυναμικό ζ δεν επηρεάζεται μόνο από τις αμφοτερικές ομάδες SiOH αλλά και από την λεπτομερή διαμόρφωση του εναποτιθέμενου νανοάνθρακα.

Μελέτη οξείας τοξικότητας:

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω φυσικοχημικά δεδομένα, αξιολογήθηκε η τοξικότητα των υβριδικών νανοϋλικών C-SiO₂ έναντι του *Aliivibrio Fischeri* χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Microtox (βλ. Σχήμα 2-44 (ii)). Και στην περίπτωση αυτή, η τοξικότητα εκφράζεται ως αποτελεσματική συγκέντρωση (EC₅₀) που προκαλεί μείωση κατά 50% στην ένταση της φωταύγειας των βακτηρίων *Aliivibrio Fischeri* μετά την έκθεσή τους στα νανοσωματίδια. Επομένως, υψηλότερες τιμές EC₅₀ αντιστοιχούν σε ασθενέστερη βιοκτόνο δράση.



ΣΧΗΜΑ 2-44 (A) Ανάλυση δυναμικού ζ (mV) των υβριδικών νανοϋλικών C-SiO₂ συναρτήσει του pH **(B)** Μελέτη οξείας τοξικότητας έναντι των βακτηρίων *Aliivibrio Fischeri* εκφρασμένη σε τιμές αποτελεσματικής συγκέντρωσης 50 % (EC₅₀).

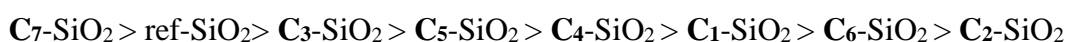
Οι τιμές EC_{50} για τα υβριδικά νανοϋλικά C-SiO₂, αποκαλύπτουν τις ακόλουθες τάσεις:

- (i) η τοξικότητα μειώνεται με την εισαγωγή μέτριων συγκεντρώσεων CH₄, δηλαδή στη περίπτωση των C₅-SiO₂, C₄-SiO₂, C₁-SiO₂, C₆-SiO₂ και C₂-SiO₂ που έχουν τιμές EC_{50} ίσες με 2362 mg/L, 2461 mg/L, 2478 mg/L, 3523 mg/L, και 3817 mg/L, αντίστοιχα σε σχέση με το ref-SiO₂ που έχει τιμή EC_{50} ίση με 1086 mg/L.
- (ii) Μεγάλη αύξηση της συγκέντρωσης του μεθανίου αυξάνει την οξεία τοξικότητα, που αγγίζει την τιμή EC_{50} =1031 mg/L στην περίπτωση του C₇-SiO₂.

Η σύνθεση με έλλειψη οξυγόνου προκαλεί σημαντικές δομικές και φυσικοχημικές τροποποιήσεις στο άμορφο πυριτικό πλέγμα, κυρίως λόγω της ενσωμάτωσης ατόμων άνθρακα και της παρουσίας ακινητοποιημένων ριζών. Συνολικά, το C₇-SiO₂ παρουσιάζει την υψηλότερη οξεία τοξικότητα, ενώ το C₂-SiO₂ είναι το λιγότερο τοξικό μεταξύ όλων των νανοϋβριδίων C-SiO₂.

Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι, σε αντίθεση με τα συνηθισμένα υλικά καπνοπυριτίας, η παραγωγή ROS δεν είναι ο πρωταρχικός παράγοντας που επηρεάζει την τοξική τους δράση. Παρόλα αυτά, η χαμηλή ικανότητα παραγωγής ROS μπορεί να έχει συνεργιστική δράση στη μείωση της βιοκτόνου δράσης. Η τοξικότητα προκαλείται πιθανώς από την προσρόφιση των βακτηρίων στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων και ακολουθεί την εξής σειρά:

Υψηλή τοξικότητα

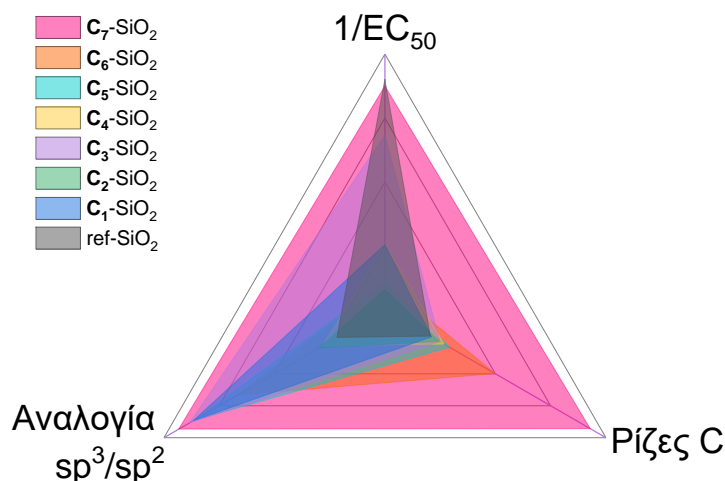


Χαμηλή τοξικότητα

Η συσχέτιση της τοξικότητας με τα φυσικοχημικά δεδομένα αποκαλύπτει ότι καμία από τις φυσικοχημικές παραμέτρους που μελετήθηκαν δεν μπορεί να συσχετιστεί άμεσα με τη βιοκτόνο δραστηριότητα. Για παράδειγμα, στην παρούσα περίπτωση, η παραγωγή ROS (ριζών •OH) είναι πολύ χαμηλή, ερχόμενη σε σαφή αντίθεση με τις σημαντικές διακυμάνσεις της EC_{50} . Αυτό υποδηλώνει ότι πρέπει να ληφθεί υπόψη ένας συνδυασμός παραγόντων για τη σωστή αξιολόγηση της σχέσης δομής-δραστηριότητας. Στη συνέχεια, το σύνολο των δεδομένων σχολιάζεται με βάση μια πολυπαραμετρική ανάλυση.

(vi) Πολυπαραμετρική ανάλυση φυσικοχημικών και δομικών χαρακτηριστικών σε σχέση με την τοξικότητα των νανοϋλικών C-SiO₂.

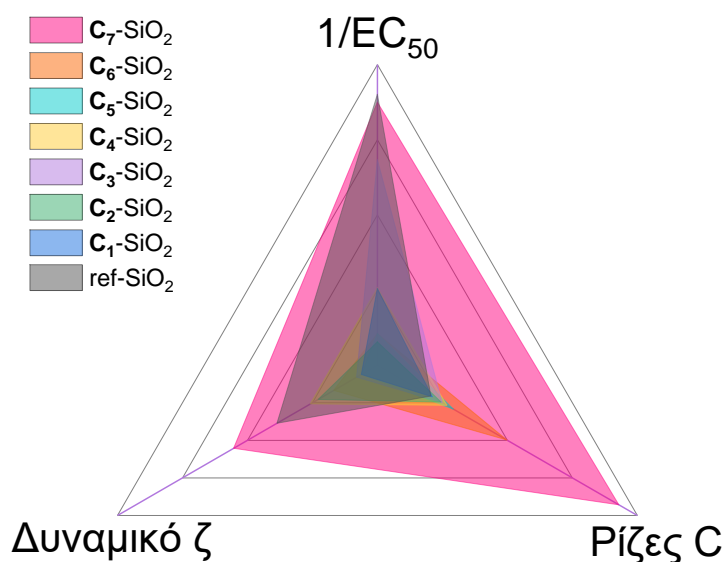
Για τη σωστή αξιολόγηση της σχέσης μεταξύ δομικών και φυσικοχημικών παραγόντων και της οξείας τοξικότητας των υβριδικών νανοϋλικών C-SiO₂, τα κύρια δεδομένα της παρούσας έρευνας σχολιάζονται ως σύνολο. Στο **Σχήμα 2-45** απεικονίζονται διαγράμματα ραντάρ όλων των υλικών που δείχνουν τη συσχέτιση μεταξύ του είδους του άνθρακα που εκφράζεται ως λόγος sp^3/sp^2 όπως απορρέει από την ανάλυση Raman, την ποσότητα των σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα όπως υπολογίζεται από την ανάλυση EPR, και την τοξικότητα. Η τοξικότητα εκφράζεται ως $1/EC_{50}$ με σκοπό την ευκολότερη ερμηνεία της απόλυτης τιμής της, καθώς με αυτόν τον τρόπο, μεγάλη τιμή $1/EC_{50}$ ισοδυναμεί με μεγάλη τοξικότητα.



ΣΧΗΜΑ 2-45 Διαγράμματα ραντάρ όλων των υλικών που δείχνουν τη συσχέτιση μεταξύ του είδους του άνθρακα που εκφράζεται ως λόγος sp^3/sp^2 όπως απορρέει από την ανάλυση Raman, την ποσότητα των σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα όπως υπολογίζεται από την ανάλυση EPR, και την τοξικότητα (που εκφράζεται σε μονάδες $1/EC_{50}$).

Το σχήμα που δημιουργείται (εδώ τρίγωνο) είναι χαρακτηριστικό του κάθε υλικού και αντανακλά τη σχέση μεταξύ των τριών παραγόντων που μελετώνται στην περίπτωση του. Για το λόγο αυτό, τα τρίγωνα μεταξύ των υλικών παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις. Ανάλογα με την ομοιότητα ή την απόκλιση των σχημάτων που δημιουργούν τα διάφορα επίπεδα των δεδομένων μπορεί οπτικά να εξαχθεί συμπέρασμα για το πώς αλλάζει η σχέση μεταξύ αυτών των τριών παραγόντων στη κάθε περίπτωση (δηλαδή για κάθε ξεχωριστό υλικό) και βάσει αυτού για το πόσο διαφορετικά είναι στην πραγματικότητα τα συγκρινόμενα υλικά μεταξύ τους.

Ομοίως, στο **Σχήμα 2-46** απεικονίζονται διαγράμματα ραντάρ όλων των υλικών που δείχνουν τη *συσχέτιση* μεταξύ του δυναμικού ζ (mV), την ποσότητα των σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα όπως υπολογίζεται από την ανάλυση EPR, και την *τοξικότητα* που εκφράζεται σε μονάδες $1/EC_{50}$. Η συγκεκριμένη απεικόνιση των δεδομένων έχει προσφέρει το πλεονέκτημα της δυνατότητας να εντοπίζονται γρήγορα, απλά, με οπτικό τρόπο οι χαρακτηριστικές διαφορές μεταξύ των υλικών.



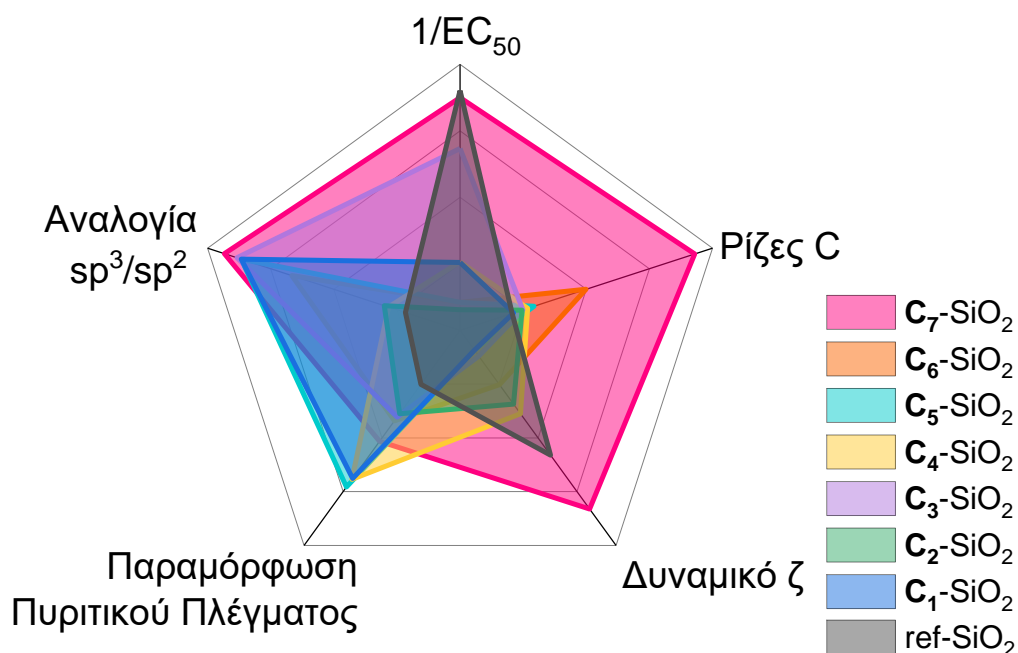
ΣΧΗΜΑ 2-46 Διαγράμματα ραντάρ όλων των υλικών που δείχνουν τη συσχέτιση μεταξύ του δυναμικού ζ, της ποσότητας των σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα όπως υπολογίζεται από την ανάλυση EPR, και την τοξικότητα (που εκφράζεται σε μονάδες $1/EC_{50}$).

Για παράδειγμα, παρατηρώντας τα τρίγωνα που σχηματίζουν τα υλικά ref-SiO₂ και C₇-SiO₂ στο Σχήμα 2-45 μπορούμε να συμπεράνουμε πως ούτε το είδος του άνθρακα ούτε η ποσότητα των σταθερών ριζών ευθύνονται για την υψηλή τους τοξικότητα. Αντίθετα, παρατηρώντας την ομοιότητα των τριγώνων των ίδιων υλικών στο Σχήμα 2-46, συμπεραίνουμε πως το δυναμικό ζ αποτελεί παράγοντα τοξικότητας.

Στο **Σχήμα 2-47** απεικονίζονται συνδυαστικά τέσσερις κύριοι φυσικοχημικοί παράγοντες με την τοξικότητα των νανοϋλικών C-SiO₂.

Πιο συγκεκριμένα, τα διαγράμματα ραντάρ όλων των υλικών δείχνουν τη *συσχέτιση* μεταξύ της *ποσότητας των σταθερών ριζών* με βάση τον άνθρακα όπως υπολογίζεται από την ανάλυση EPR, του *δυναμικού ζ* (mV), του *είδους του άνθρακα* που εκφράζεται ως λόγος sp^3/sp^2 όπως επίσης απορρέει από την ανάλυση Raman, και την *τοξικότητα* που εκφράζεται σε μονάδες $1/EC_{50}$. Προστίθεται ο

επιπλέον παράγοντας της παραμόρφωσης του πυριτικού πλέγματος όπως αξιολογείται από την ανάλυση Raman από τον λόγο των εντάσεων των κορυφών στα $490\text{ cm}^{-1}/600\text{ cm}^{-1}$ (δηλαδή του λόγου μεταξύ των 3MRs/4MRs). Καθώς οι μικρότεροι δακτύλιοι (3MRs) συνδέονται με μια λιγότερο αδρανή δομή¹⁷⁹, η σχετική τους μείωση δηλαδή μεγαλύτερη τιμή του λόγου $490\text{ cm}^{-1}/600\text{ cm}^{-1}$, θα αντιστοιχεί σε μια πιο αδρανή δομή¹⁷⁵. Συνολικά, η διασπορά του CH_4 -ως μοναδική μεταβλητή παράμετρος- επιτρέπει την παραγωγή μιας σειράς sp^2/sp^3 ανθράκων ενσωματωμένων στο πλέγμα της SiO_2 με ταυτόχρονη μεταβολή των δακτυλίων Si-O-Si και το σχηματισμό ομάδων SiC.



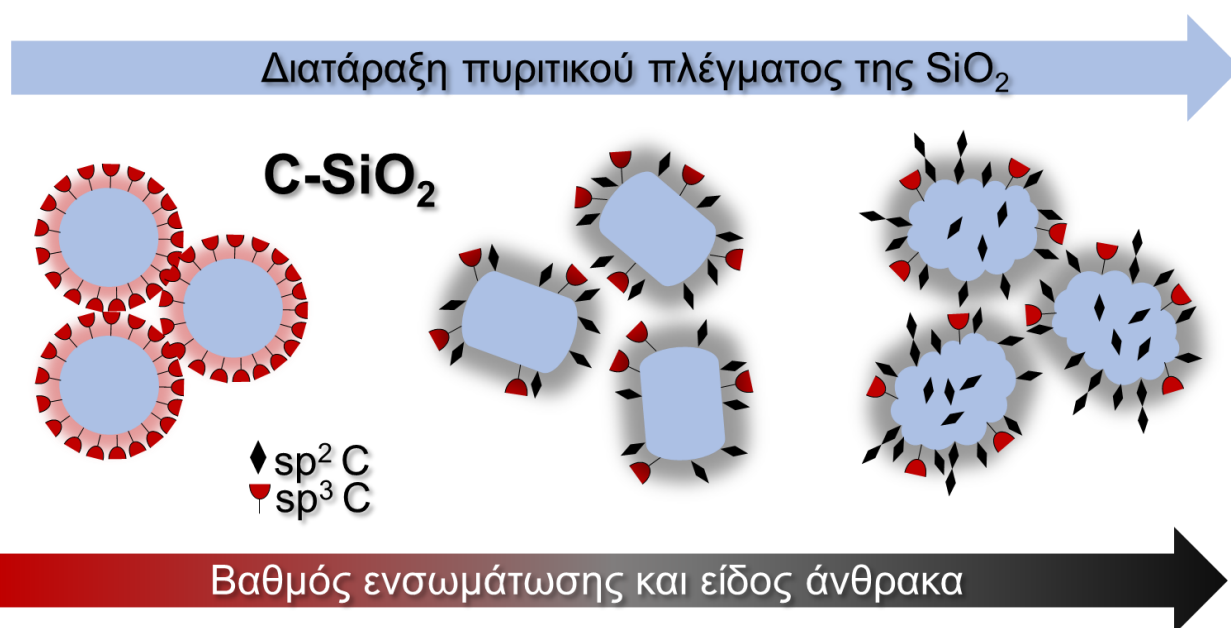
ΣΧΗΜΑ 2-47 Διαγράμματα ραντάρ όλων των υλικών που δείχνουν τη συσχέτιση μεταξύ της ποσότητας των σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα όπως υπολογίζεται από την ανάλυση EPR, της απόλυτης τιμής του δυναμικού ζ (mV), της παραμόρφωσης του πυριτικού πλέγματος όπως αξιολογείται από την ανάλυση Raman (I_{490}/I_{600}), του είδους του άνθρακα που εκφράζεται ως λόγος sp^3/sp^2 όπως επίσης απορρέει από την ανάλυση Raman, και την τοξικότητα που εκφράζεται σε μονάδες $1/EC_{50}$.

Από το Σχήμα 2-47 προκύπτει ξανά πως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του δυναμικού ζ και της τοξικότητας. Αντίθετα, το είδος του άνθρακα, η παραμόρφωση του πυριτικού πλέγματος ή η ποσότητα των σταθερών ριζών φαίνεται να επηρεάζουν σε πολύ μικρότερο βαθμό την τοξικότητα των νανοϋλικών C-SiO₂.

2.3.3. Σύνοψη – Μερικά Συμπεράσματα

Η σύνθεση σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου των υβριδικών νανοϋλικών C-SiO₂ επιτρέπει σημαντικές δομικές και φυσικοχημικές τροποποιήσεις στο άμορφο πυριτικό πλέγμα κυρίως λόγω της ενσωμάτωσης μονάδων άνθρακα στο εσωτερικό του. Πιο συγκεκριμένα, η ελεγχόμενη έλλειψη οξυγόνου και η εισαγωγή μεθανίου κατά τη σύνθεση οδηγεί σε δομική διαφοροποίηση σε σύγκριση με την κλασική καπνοπυριτία, όπως σταθερά συσσωματώματα ενός μεγέθους και πιο αρνητικές τιμές δυναμικού ζ. Ταυτόχρονα, διατηρούν μια άμορφη δομή σύμφωνα με την ανάλυση XRD. Επιπλέον, ενώ σύμφωνα με τη φασματοσκοπία Raman, ενώ το πυριτικό πλέγμα περιέχει μικρές δομές δακτυλίων (3MRs, 4MRs), ανιχνεύεται και η αφομοίωση των ατόμων άνθρακα στο πλέγμα (δημιουργία δεσμών Si-C), ειδικά στην περίπτωση της απευθείας εισαγωγής μεθανίου στη φλόγα (“axial” διαμόρφωση της διαδικασίας ΠΨΦ).

Είναι ενδιαφέρον ότι η φασματοσκοπία FT-IR και Raman δείχνουν ότι η παρουσία του άνθρακα (sp² και sp³) μπορεί να οδηγήσει σε παραμόρφωση του πυριτικού πλέγματος (βλ. Σχήμα 2-48). Επιπλέον, όπως αξιολογείται από την φασματοσκοπία EPR, σημαντικές ποσότητες σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα παράγονται κατά την αύξηση του γραφίτιοποιημένου C, και τα σπιν των σταθερών ριζών εντοπίζονται κατά κύριο λόγο στις sp² περιοχές του άνθρακα, ο σχηματισμός του οποίου ευνοείται ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της “axial” διαδικασίας ΠΨΦ. Από την άλλη πλευρά, η ικανότητα παραγωγής ROS (κυρίως ριζών υδροξυλίου) μειώνεται σημαντικά.



ΣΧΗΜΑ 2-48 Η ενσωμάτωση μονάδων άνθρακα προκαλεί την παραμόρφωση του πυριτικού πλέγματος.

Επιπλέον, οι αναλύσεις TG-DTA και Raman δείχνουν ότι ο άνθρακας που εισάγεται στα υλικά C-SiO₂ είναι σταθερά λιγότερος όταν χρησιμοποιείται η “radial” διαμόρφωση της διαδικασίας ΠΨΦ. Το φαινόμενο αυτό συμφωνεί με τις αρχές της τεχνικής ΠΨΦ, καθώς κατά τη διαδικασία axial το μεθάνιο εισάγεται απευθείας στο εσωτερικό της φλόγας και προάγει την ενσωμάτωση άνθρακα κατά τον σχηματισμό των σωματιδίων Si. Αντίθετα, κατά την radial ΠΨΦ, το μεθάνιο εισάγεται ως βοηθητικό αέριο που αλληλεπιδρά με τα προσχηματισμένα σωματίδια Si. Η θερμοσταθμική ανάλυση επιβεβαιώνει πως οι δυο διαφορετικοί τρόποι εισαγωγής του μεθανίου οδηγούν σε δύο διακριτές διαδικασίες για την ελεγχόμενη ενσωμάτωση άνθρακα στο πυριτικό πλέγμα της νανοσίλικας³¹⁵.

Ακόμη, συμπεραίνουμε ότι ο άνθρακας είναι παρόν τόσο στο εσωτερικό του πυριτικού πλέγματος λόγω των ανιχνευμένων έντονων κορυφών Raman κάτω από 600 cm⁻¹, οι οποίες αποδίδονται σε δονήσεις αναπνοής των σιλοξανικών δακτυλίων όσο και στην επιφάνεια λόγω της ανάλυσης του δυναμικού ζ.

Καμία από τις φυσικοχημικές παραμέτρους που μελετήθηκαν δεν μπορεί μεμονωμένα να συσχετιστεί άμεσα με τη βιοκτόνο δραστηριότητα. Σημαντικό σημείο στην παρούσα έρευνα αποτελεί η παραγωγή ROS (ριζών •OH) που είναι πολύ χαμηλή, ερχόμενη σε σαφή αντίθεση με τις σημαντικές διακυμάνσεις της EC₅₀. Επιπλέον, οι σημαντικές ποσότητες σταθερών ριζών που φέρουν οι ενσωματωμένες στο πυριτικό πλέγμα μονάδες άνθρακα δεν συσχετίζονται με την τοξικότητα των υλικών. Αντίθετα, η τοξικότητα των υβριδικών υλικών C-SiO₂ αποτελεί πολυπαραγοντικό φαινόμενο καθώς επηρεάζεται ταυτόχρονα από το είδος και την ποσότητα του άνθρακα αλλά και από το επιφανειακό φορτίο.

Τρίτο Μέρος
Αντιοξειδωτικά Νανοϋλικά CeO_{2-x}

2.4. Ανάπτυξη αντιοξειδωτικών νανοδομών CeO_{2-x}

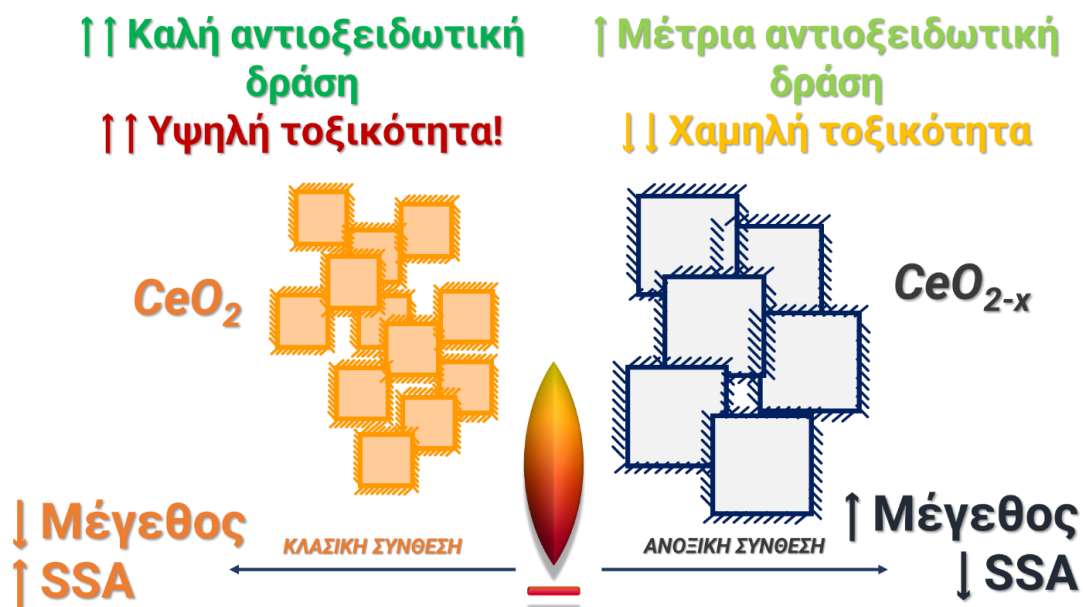
Η νανοσίρια (CeO_2), ένα οξείδιο μετάλλων σπάνιων γαιών, γνωστή για την ικανότητά της να προσλαμβάνει, να αποθηκεύει και να απελευθερώνει μοριακό οξυγόνο^{221,328}, αποτελεί σήμερα ένα από τα σημαντικότερα τεχνολογικά υλικά. Στην παρούσα έρευνα μελετώνται η τοξικότητα και η αντιοξειδωτική δράση των υλικών CeO_2 , δύο ιδιότητες φαινομενικά αντίθετες, που όμως καθορίζονται από τα δομικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και, όπως αποδεικνύεται, μπορούν να συνυπάρχουν στις ίδιες δομές.

Εκμεταλλούμενοι την ευελιξία της τεχνολογίας ΠΨΦ, η οποία επιτρέπει τον έλεγχο των δομικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των υλικών (όπως μέγεθος σωματιδίων, συγκέντρωση επιφανειακών ομάδων, υδροφοβικότητα της επιφάνειας κτλ.) μπορούμε να συνθέσουμε υλικά νανοσίριας με μικρή συγκέντρωση οξυγόνου στο πλέγμα της και αντίστοιχα μεγάλη συγκέντρωση ανηγμένων κέντρων Ce^{3+} . Στη παρούσα μελέτη αναπτύσσονται ανοξικές δομές μέσω της διαμόρφωσης “axial” της ΠΨΦ που προηγουμένως εφαρμόστηκε στη σύνθεση υβριδικών δομών C- SiO_2 . Αναπτύσσονται συνολικά έξι υλικά νανοσίριας σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου που συμβολίζονται ως CeO_{2-x} , με το x να κυμαίνεται μεταξύ 0-0.75. Το υλικό με $x=0$, χρησιμοποιείται ως υλικό αναφοράς καθώς βρίσκεται σε πλήρως οξειδωμένη μορφή (συμβολίζεται ως $ox-CeO_2$). Το προφίλ τοξικότητας των νανοσωματιδίων CeO_{2-x} , προς τα βακτήρια *Aliivibrio Fischeri* μελετήθηκε σε συνδυασμό με την ικανότητα αδρανοποίησης δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού (EPR).

Τα δεδομένα της μελέτης αποκαλύπτουν ότι ο έλεγχος της ανοξικότητας των CeO_{2-x} επηρεάζει τις φυσικοχημικές και δομικές ιδιότητες που προκύπτουν από ατέλειες του πλέγματος (Ce^{3+} και V_{os}). Ένα βασικό εύρημα της παρούσας μελέτης είναι ότι η ανοξική σύνθεση μπορεί να εισάγει επιλεκτικά ατέλειες Ce^{3+} με διαμορφώσεις τύπου-συστάδας (cluster-type) και κενές θέσεις οξυγόνου V_{os} . Αντίθετα, οι οξειδωμένες δομές νανοσίριας ($ox-CeO_2$) παρουσιάζουν κυρίως ατέλειες πλέγματος Ce^{3+} με μονομερείς διαμορφώσεις λόγω της χαμηλότερης συγκέντρωσής τους, τόσο στο εσωτερικό τους (bulk) όσο και στην επιφάνειά τους. Η ανοξικότητα της δομής και η παρουσία ατελειών με διαμόρφωση σε συστάδες στην επιφάνεια, μεταβάλλουν την οξειδοαναγωγική ικανότητα της επιφάνειας και επομένως επηρεάζουν άμεσα (μειώνουν) την ικανότητα αδρανοποίησης ελευθέρων ριζών (radical scavenging capacity, RSC), δηλ. την αντιοξειδωτική δράση των υλικών.

Εκτός όμως από την επίδραση στην οξειδοαναγωγική ικανότητα της επιφάνειας, η εισαγωγή μεγάλης συγκέντρωσης ατελειών Ce^{3+} και V_o τροποποιεί και τη δομή του υλικού. Συγκριμένα, το μέγεθος των σωματιδίων αυξάνεται σημαντικά (διπλασιάζεται), η ειδική επιφάνεια (SSA) μειώνεται

και αυτοί οι παράγοντες οδηγούν σε σημαντική μείωση της τοξικότητας. Τα παραπάνω, απεικονίζονται συνοπτικά στην **Εικόνα 2-5**.



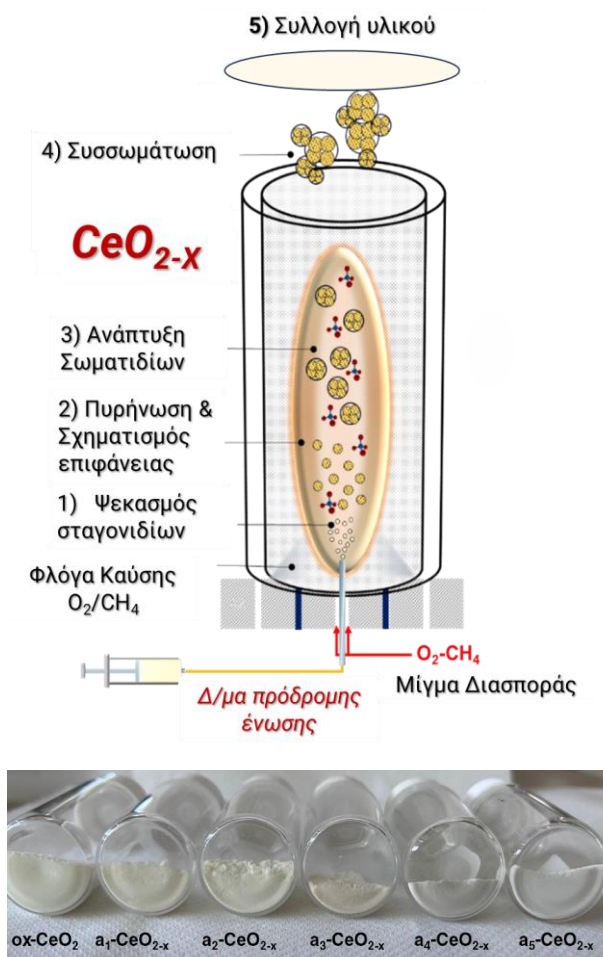
ΕΙΚΟΝΑ 2-5 Η ανοξικότητα της δομής και οι εισαγωγή ατελειών, μεταβάλλουν την οξειδοαναγωγική ικανότητα των υλικών και επομένως επηρεάζουν άμεσα την ικανότητα αδρανοποίησης ελευθέρων ριζών δηλ. την αντιοξειδωτική δράση των υλικών. Επιπλέον, εισάγουν δομικές τροποποιήσεις όπως αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων και μείωση της ειδικής επιφάνειας, γεγονός άμεσα συνδεδεμένα με την μείωση της τοξικότητάς τους.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αποκρυσταλλώνουν τη σχέση δομής-δραστηριότητας των υλικών νανοσίριας (Structure Activity Relationship, SAR) και επισημαίνουν ότι η τοξικότητα και η αντιοξειδωτική δράση έναντι ROS δεν είναι αμοιβαία αποκλειόμενες ιδιότητες. Τέλος, η τεχνολογία που αναπτύσσεται αποτελεί παράδειγμα μιας εύκολα εφαρμόσιμης διαδικασίας για την βιομηχανική παραγωγή υλικών CeO_2 που μπορούν να βρουν χρήση σε περιβαλλοντικές και βιοϊατρικές εφαρμογές.

2.4.1. Σύνθεση νανοδομών CeO_{2-x}

Έξι διαφορετικά νανοϋλικά CeO_{2-x} αναπτύσσονται με τη μέθοδο της πυρόλυσης ψεκασμού φλόγας (ΠΨΦ), όπως φαίνεται στο **Σχήμα 2-49 (i)**, όπου η ανοξικότητα των υλικών ελέγχεται μέσω της μείωσης της περιεκτικότητας σε οξυγόνο καύσης. Τα παραγόμενα υλικά ονοματίζονται $a_1\text{-CeO}_{2-x}$, $a_2\text{-CeO}_{2-x}$, $a_3\text{-CeO}_{2-x}$, $a_4\text{-CeO}_{2-x}$ και $a_5\text{-CeO}_{2-x}$ όπου το a συμβολίζει την ανοξικότητα της

δομής και οι αριθμοί $a_i=1-5$ υποδηλώνουν την αύξησή της. Επιπλέον, παράγεται και ένα πλήρως οξειδωμένο υλικό αναφοράς CeO_2 , με την ονομασία $ox\text{-CeO}_2$ σε ανοιχτή διάταξη ΠΨΦ. .



ΣΧΗΜΑ 2-49 (i) Σχηματική απεικόνιση της διάταξης πυρόλυσης ψεκασμού φλόγας για τη σύνθεση ανοξικών νανοδομών CeO_{2-x} . **(ii)** Φωτογραφίες των νανοϋλικών CeO_{2-x} όπου φαίνεται η σταδιακή αλλαγή του χρώματός τους από ανοιχτό κίτρινο σε ανοιχτό γκρι με την αύξηση της ανοξικότητας του πλέγματος.

Σε όλες τις περιπτώσεις το διάλυμα της πρόδρομης ένωσης παρασκευάστηκε με διάλυση 0.5 M 2-αιθυλ-εξανοϊκού Ce(III) ($\geq 98\%$) σε αναλογία 1:1 (κατά όγκο) σε μίγμα ξυλενίου και 2-αιθυλ-εξανοϊκού οξέος. Το διάλυμα εισάγεται στον αντιδραστήρα μέσω ενός τριχοειδούς σωλήνα με ρυθμό τροφοδοσίας $P=5 \text{ mL min}^{-1}$ και διασπείρεται με ρυθμό ροής $D_{\text{total}}=5 \text{ L min}^{-1}$ σε μια φλόγα οξυγόνου / μεθανίου ($\text{O}_2: 2 \text{ L min}^{-1}$, $\text{CH}_4: 1 \text{ L min}^{-1}$) για την έναρξη της καύσης²⁷⁷. Για την ελεγχόμενη έλλειψη οξυγόνου κατά τη σύνθεση, το ακροφύσιο ψεκασμού (spray nozzle) απομονώνεται πλήρως περιβαλλόμενο από έναν κυλινδρικό μεταλλικό θάλαμο που περιλαμβάνει έναν εξωτερικό μεταλλικό σωλήνα πυροσυσσωμάτωσης και έναν εσωτερικό διάτρητο μεταλλικό σωλήνα.

Επιπλέον, ένα περιβάλλον αέριο (sheath gas) αζώτου (N_2) με ροή 10 L min^{-1} χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή σωματιδίων και η πίεση καθορίστηκε στα 1.5 - 2 bar. Τα νανοσωματίδια εναποτίθενται σε φίλτρο γυάλινων μικροϊνών (Hahnemühle GF 6 257) με αντλία κενού (BUSCH V40) και συλλέγονται με απόξεση του στερεού από το φίλτρο.

Με την αύξηση της ανοξικότητας των σωματιδίων (δηλαδή της αναλογίας $[D_1(O_2) : D_2(CH_4)]$ στη διαδικασία ΠΨΦ) το χρώμα των παραγόμενων σωματιδίων αλλάζει από ανοιχτό κίτρινο για το $ox-CeO_2$ σε ανοιχτό γκρι για το a_5-CeO_{2-x} , (βλ. φωτογραφίες στο Σχήμα 2-49 (ii)).

2.4.2. Αποτελέσματα

(i) Χαρακτηρισμός νανοϋλικών CeO_{2-x}

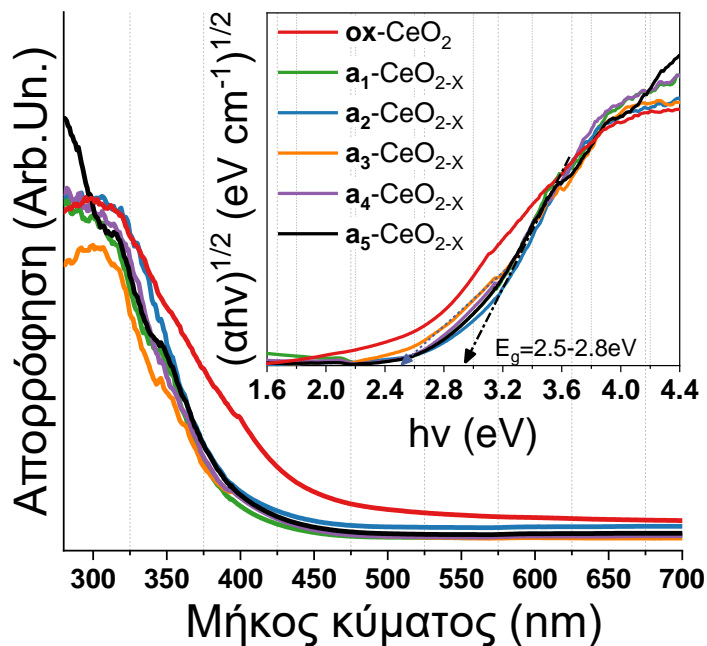
Όλα τα υβριδικά νανοϋλικά CeO_{2-x} έχουν χαρακτηριστεί λεπτομερώς ως προς τη δομή και τις επιφανειακές ιδιότητές τους, με φασματοσκοπικές και αναλυτικές τεχνικές. Ο Πίνακας 8 περιλαμβάνει δομικά χαρακτηριστικά, όπως το μέγεθος των σωματιδίων (d_{XRD} σε nm) και των συσσωματωμάτων (d_{DLS} σε nm) που μελετάται με τη δυναμική σκέδαση φωτός (DLS), το εμβαδόν ειδικής επιφάνειας (SSA σε m^2/g) που αναλύεται με τη μέθοδο BET, τα δεδομένα ανάλυσης πόρων που πραγματοποιείται με τη μέθοδο BJH τις χαρακτηριστικές τιμές χάσματος μεταξύ των ενεργειακών ζωνών (bandgap, eV) και το επιφανειακό φορτίο που λαμβάνεται με μετρήσεις δυναμικού ζ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8 Παράμετροι της ΠΨΦ και δομικά χαρακτηριστικά, όπως το μέγεθος των σωματιδίων (d_{XRD} σε nm) και των συσσωματωμάτων (d_{DLS} σε nm), το εμβαδόν ειδικής επιφάνειας (SSA σε m^2/g), τα δεδομένα ανάλυσης πόρων, οι χαρακτηριστικές τιμές bandgap (eV) και το δυναμικό ζ (mV).

Όνομα	Παράμετροι ΠΨΦ		Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των νανοϋλικών						
	D_1/D_2 (O_2/CH_4) (lt/min) Αέριο διασποράς	Περιβάλλον αέριο (lt/min)	Bandgap (eV)	d_{XRD} (nm)	d_{DLS} (nm)		SSA (m^2/g)	Όγκος Πόρων (cc/g)	Ακτίνα Πόρων (nm)
					Μέγεθος	Αναλογία (%)			
ox-CeO₂	O_2	O_2 : 10	2.80	13	157 ± 17 1635 ± 94 6894 ± 167	15 45 40	101	0.316	1.69
a1-CeO_{2-x}	5/0	N_2 : 10	2.76	28	134 ± 9 334 ± 58 1649 ± 142	15 58 27	44	0.130	1.68
a2-CeO_{2-x}	4.5/0.5	N_2 : 10	2.74	29	110 ± 4 1099 ± 8	8 85	42	0.105	1.68
a3-CeO_{2-x}	4/1	N_2 : 10	2.70	29	100 ± 3 841 ± 52	13 87	32	0.099	1.68
a4-CeO_{2-x}	3.5/1.5	N_2 : 10	2.62	25	159 ± 6 492 ± 43 1624 ± 102	8 21 71	33	0.088	1.68
a5-CeO_{2-x}	3/2	N_2 : 10	2.50	26	430 ± 11	100	40	0.107	1.68

Φάσματα οπτικής απορρόφησης

Η αλλαγή του χρώματος με την αύξηση της ανοξικότητας των σωματιδίων από ανοιχτό κίτρινο για το ox-CeO₂ σε ανοιχτό γκρι για το a₅-CeO_{2-x}, συμφωνεί και με τα δεδομένα της φασματοσκοπίας διάχυτης ανάκλασης υπεριώδους-ορατού (diffuse reflectance spectroscopy-UV/Vis, DRS-UV/Vis), όπου επαληθεύει ότι οι αλλαγές χρώματος αντιστοιχούν σε τροποποιήσεις στα φάσματα οπτικής απορρόφησης (βλ. Σχήμα 2-50). Παρατηρούνται τόσο μια επίπεδη μετατόπιση προς τα πάνω (upshift) στο εύρος μηκών κύματος 200-900 nm και μια μετατόπιση προς μεγαλύτερα μήκη κύματος (redshift).



ΣΧΗΜΑ 2-50 Φάσματα οπτικής απορρόφησης των νανοϋλικών CeO_{2-x}. Οι τροποποιήσεις στα φάσματα οπτικής απορρόφησης είναι άμεσα συνδεδεμένες με την εισαγωγή ατελειών στο πλέγμα λόγω της αυξημένης ανοξικότητας.

Η ανάλυση Kubelka-Mulc²⁸⁶ επιβεβαιώνει πως η τιμή E_g (χάσμα ενεργειακών επιπέδων, bandgap) μειώνεται σταδιακά από E_g=2.80 eV για το υλικό ox-CeO₂ σε 2.50 eV για το a₅-CeO_{2-x}. Οι τιμές E_g όλων των υλικών (Πίνακας 8) ακολουθούν τη σειρά:

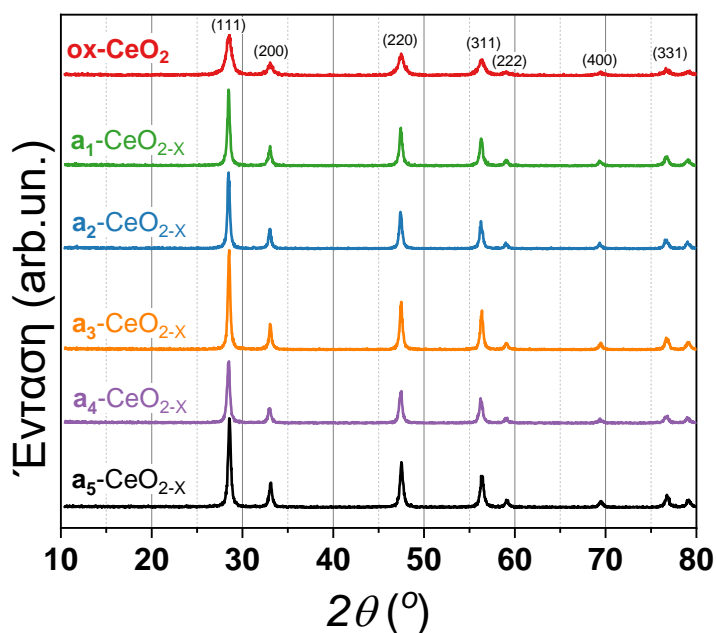
$$\text{ox-CeO}_2 (E_g=2.8 \text{ eV}) > \text{a}_1\text{-CeO}_{2-x} (E_g=2.76 \text{ eV}) > \text{a}_2\text{-CeO}_{2-x} (E_g=2.74 \text{ eV}) > \text{a}_3\text{-CeO}_{2-x} (E_g=2.70 \text{ eV}) > \text{a}_4\text{-CeO}_{2-x} (E_g=2.62 \text{ eV}) > \text{a}_5\text{-CeO}_{2-x} (E_g=2.50 \text{ eV})$$

Σε σχέση με τη σύνθεση, αυτή η χρωματομετρική ανάλυση δείχνει ότι η αυξημένη αναλογία [D₁(O₂): D₂(CH₄)] κατά την ΠΨΦ τροποποιεί τις οπτικές ιδιότητες του CeO_{2-x}, επιφέροντας κυρίως

αλλαγές στο bandgap, γεγονός άμεσα συνδεδεμένο με την εισαγωγή ατελειών στο πλέγμα όπως ανηγμένα κέντρα Ce^{3+} και κενές θέσεις οξυγόνου (V_{os})³²⁹.

Μέγεθος σωματιδίων

Ο Πίνακας 8 αναφέρει τα μεγέθη των σωματιδίων ενώ η ανάλυση περίθλασης ακτινών X (XRD) απεικονίζεται στο **Σχήμα 2-51** όπου διακρίνονται κορυφές χαρακτηριστικές της κρυσταλλικότητας του πλέγματος. Οι κορυφές που ανιχνεύονται σε όλα τα υλικά και αντιστοιχούν στα επίπεδα (111), (200), (220), (311), (222), (400) και (331), δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των υλικών. Η διάμετρος των νανοσωματιδίων υπολογίζεται από την εξίσωση Scherrer²⁷⁸ $d = k\lambda / \beta \cos\theta$, όπου d είναι η διάμετρος του σωματιδίου, η τιμή k αντιστοιχεί σε έναν αδιάστατο παράγοντα σχήματος, λ το μήκος κύματος των ακτινών X, β είναι το πλήρες πλάτος στο μισό μέγιστο (full width at half maximum, FWHM) και θ η γωνία Bragg²⁷⁸. Χρησιμοποιούνται οι πειραματικές τιμές του επιπέδου Miller (111) των σωματιδίων CeO_{2-x} .



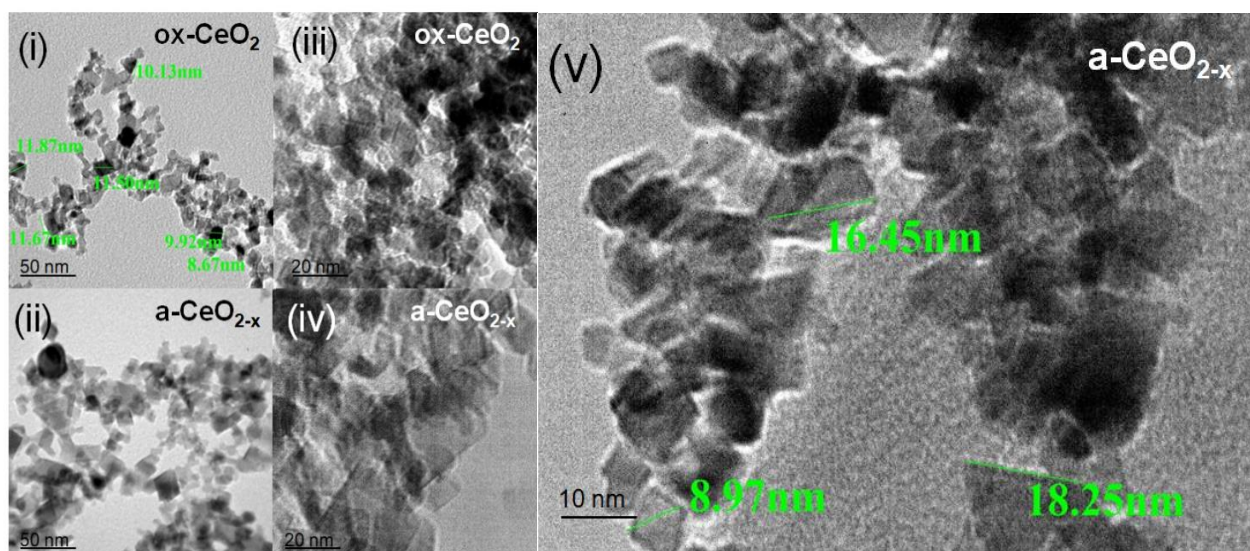
ΣΧΗΜΑ 2-51 Ανάλυση Περίθλασης Ακτινών X (XRD) όλων των υλικών CeO_{2-x} όπου διακρίνονται κορυφές χαρακτηριστικές της κρυσταλλικότητάς τους. Το επίπεδο Miller (111) χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της διαμέτρου των σωματιδίων.

Η ακτίνα των πλήρως οξειδωμένων σωματιδίων ox-CeO_2 είναι ίση με $d_{\text{XRD}} = 13 \text{ nm} \pm 1$, ένα μέγεθος αναμενόμενο και σύμφωνο με τις παραμέτρους της ΠΨΦ¹⁹¹. Αντίθετα, όλα τα ανοξικά υλικά CeO_{2-x} εμφανίζουν μεγαλύτερη ακτίνα, σχεδόν διπλάσιου μεγέθους που κυμαίνεται στα $d_{\text{XRD}} = 27 \text{ nm}$

± 2 . Η αύξηση του μεγέθους αποδίδεται στη χρήση του κυλινδρικού μεταλλικού θαλάμου, ο οποίος επεκτείνει τον χρόνο παραμονής σε υψηλή θερμοκρασία (HTRT). Επιπλέον, η χρήση του CH_4 ως αερίου διασποράς, αυξάνει την ενθαλπία καύσης της φλόγας κατά την αύξηση της συγκέντρωσης του CH_4 προς πιο ανοξικές συνθήκες. Η καύση του CH_4 συνεισφέρει 50-55 MJ / kg CH_4 ³³⁰.

Μορφολογία και βαθμός συσσωμάτωσης

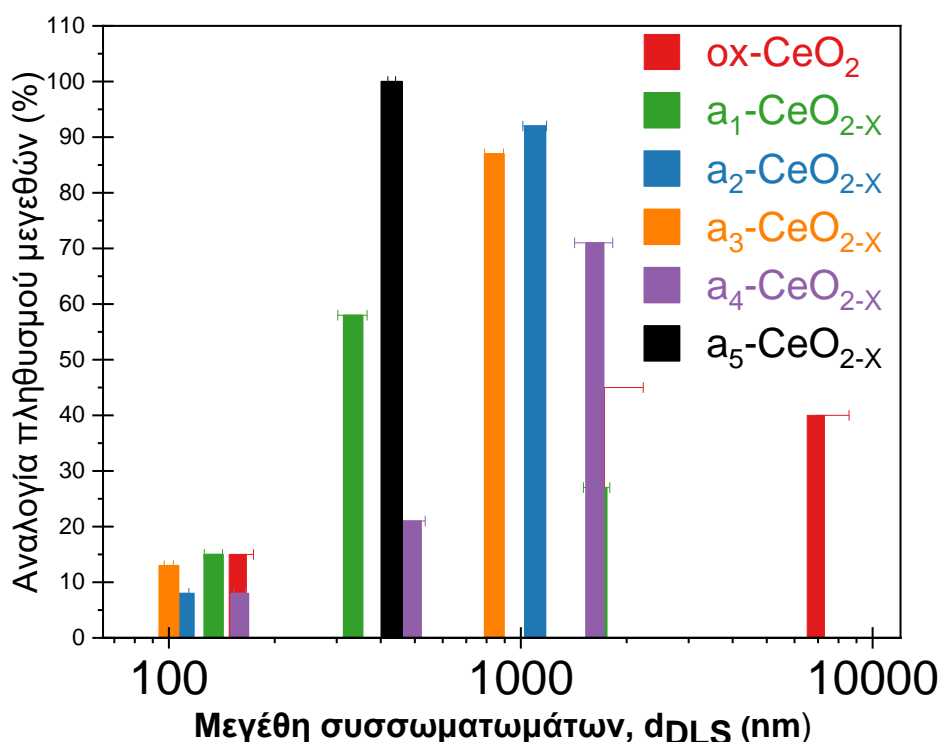
Η μορφολογία των υλικών μελετήθηκε μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διερχόμενης δέσμης (Transmission Electron Microscopy, TEM). Όπως φαίνεται στις εικόνες στο **Σχήμα 2-52**, τα σωματίδια έχουν κυβική δομή³³¹ και διαμορφώνονται σε συσσωματώματα, ανεξάρτητα από την ανοξικότητα του πλέγματός τους. Το μέγεθος των συσσωματωμάτων όταν διασπείρονται σε H_2O , μελετήθηκε μέσω της Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης DLS, δείχνουν πως τα νανοϋλικά σίριας σχηματίζουν έως τρία είδη μεγεθών συσσωμάτωσης (Πίνακας 8).



ΣΧΗΜΑ 2-52 Εικόνες TEM του πλήρως οξειδωμένου υλικού ox-CeO_2 και του πλήρως ανηγμένου a-CeO_{2-x} όπου διακρίνεται η χαρακτηριστική κυβική δομή των υλικών. (i) & (ii) ανάλυση 50 nm, (iii) & (iv) ανάλυση 20 nm και (v) ανάλυση 10 nm.

Πιο συγκεκριμένα, το πλήρως οξειδωμένο ox-CeO_2 υλικό σχηματίζει συσσωματώματα με μέσα μεγέθη $d_{\text{DLS}}=157$ nm (15 %), 1635 nm (45 %), και 6894 nm (40 %). Τα $\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$ και $\text{a}_4\text{-CeO}_{2-x}$ σχηματίζουν επίσης τρία είδη συσσωματωμάτων με το κυρίαρχο να βρίσκεται στην μικροκλίμακα (~ 1650 nm). Τα μεσαίας ανοξικότητας υλικά $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$ και $\text{a}_3\text{-CeO}_{2-x}$ σχηματίζουν δύο είδη συσσωματωμάτων με το κυρίαρχο να βρίσκεται επίσης στην μικροκλίμακα αν και μικρότερο. Το

ισχυρά ανοξικό υλικό $a_5\text{-CeO}_{2-x}$ σχηματίζει μόνο ένα είδος συσσωματωμάτων με μέσο μέγεθος στα 430 nm. Οι μεταβολές στο d_{DLS} δείχνουν ότι η αύξηση της ανοξικότητας επηρεάζει τη δυναμική του σχηματισμού συγκέντρωσης προς μικρότερα συσσωματώματα στην περιοχή των μικρομέτρων. Ο Πίνακας 8 περιλαμβάνει όλες οι τιμές των μεγεθών και αυτές επιπλέον απεικονίζονται στο **Σχήμα 2-53**.

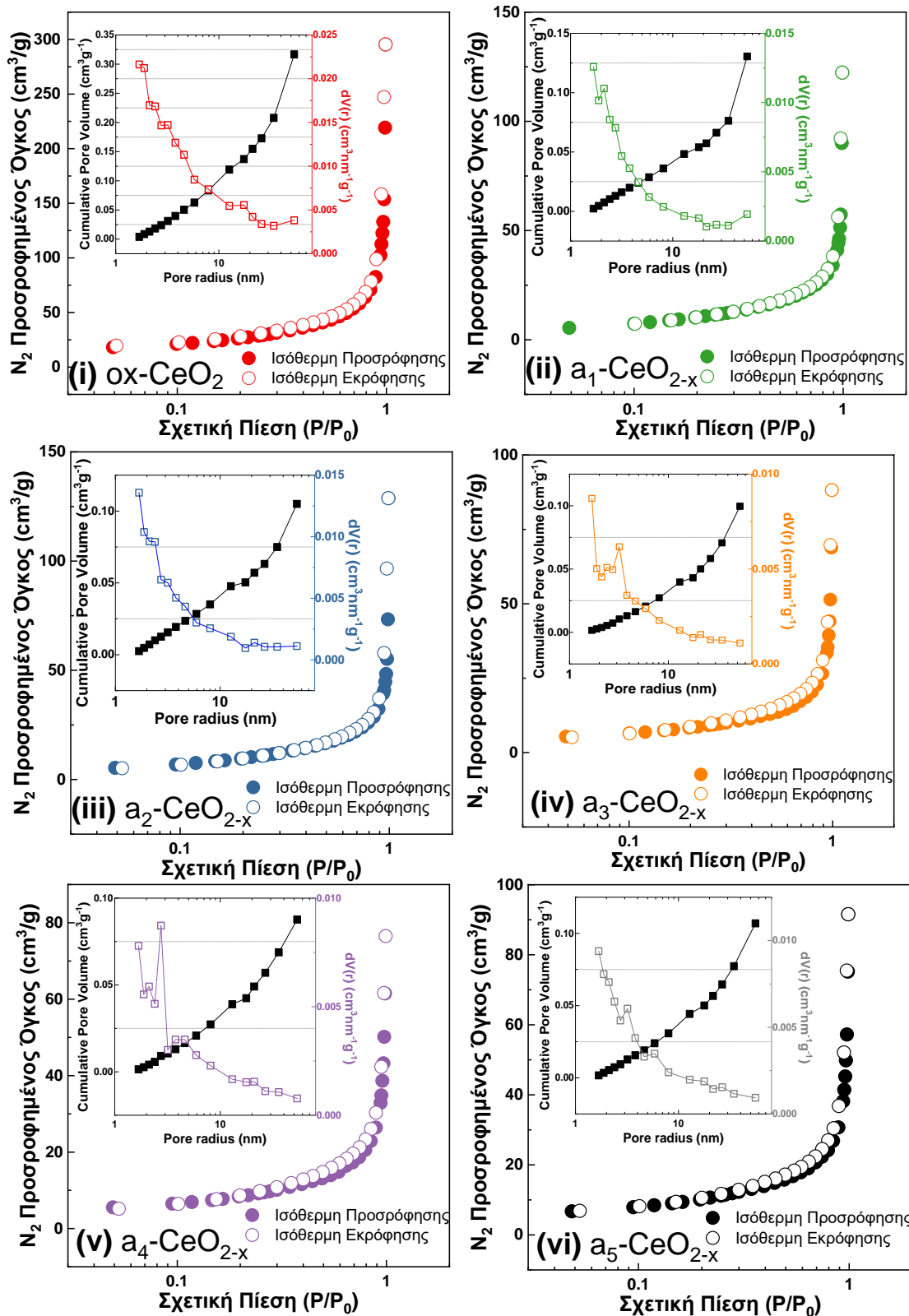


ΣΧΗΜΑ 2-53 Μελέτη μεγέθους συσσωματωμάτων (nm) νανοϋλικών μέσω Δυναμικής Σκέδασης Φωτός.

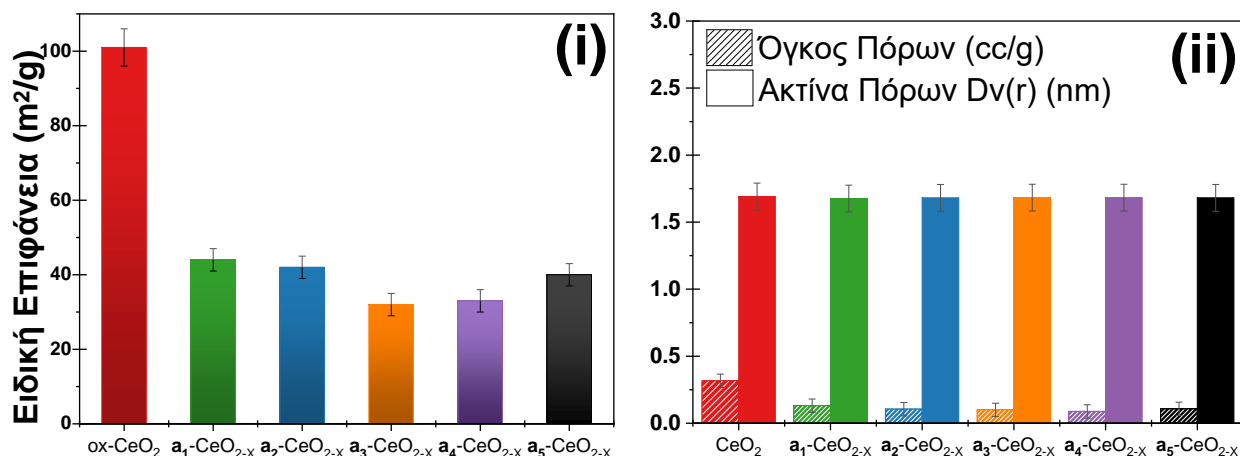
Ειδική επιφάνεια και χαρακτηριστικά πόρων

Η ειδική επιφάνεια (SSA, m^2/g) που αξιολογείται με τη μέθοδο BET, μειώνεται περισσότερο από το μισό σε όλα τα ανοξικά υλικά σε σύγκριση με το πλήρως οξειδωμένο νανοϋλικό ox-CeO₂ (SSA=100 m^2/g). Σύμφωνα με τις ισόθερμες προσρόφησης / εκρόφησης αερίου N₂ (βλ. **Σχήμα 2-54**) και την επακόλουθη ανάλυση πόρων (μέθοδος BJH) που απεικονίζεται και στο **Σχήμα 2-55**, φαίνεται πως ο όγκος των πόρων είναι υψηλότερος στην ox-CeO₂ παρά το γεγονός ότι η μέση ακτίνα των πόρων μεταξύ των υλικών είναι η ίδια.

Από τα παραπάνω δεδομένα φαίνεται ότι στο υλικό ox-CeO₂ σχηματίζεται ένας μεγαλύτερος αριθμός πόρων από ότι στα ανοξικά σωματίδια, με το μέγεθος κάθε πόρου να είναι συγκρίσιμο. Συνολικά, τα δεδομένα XRD, DLS και BET δείχνουν ότι η σύνθεση σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου και η εισαγωγή του αερίου CH₄, προκαλεί **αύξηση ~2 φορές** του μεγέθους των σωματιδίων και



ΣΧΗΜΑ 2-54 Ισόθερμες προσρόφησης / εκρόφησης αερίου N_2 . (i) ox-CeO_2 , (ii) $\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$, (iii) $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$, (iv) $\text{a}_3\text{-CeO}_{2-x}$, (v) $\text{a}_4\text{-CeO}_{2-x}$ και (vi) $\text{a}_5\text{-CeO}_{2-x}$.



ΣΧΗΜΑ 2-55 (i) Ειδική επιφάνεια (υπολογισμένη με τη μέθοδο BET) **(ii)** Δεδομένα ανάλυσης πόρων (Μέθοδος BJH) των υλικών νανοσίριας.

μειώνει περισσότερο από το μισό την ειδική επιφάνεια (SSA, m²/g). Υπογραμμίζεται, ότι όλες οι διαμορφώσεις των ανοξικών σωματιδίων a-CeO_{2-x} είναι πρακτικά συγκρίσιμες. Στη συνέχεια, μελετώνται οι διαφορές μεταξύ των ανοξικών a-CeO_{2-x} νανοϋλικών στο επίπεδο των ατελειών του πλέγματος, δηλ. των ανηγμένων κέντρων Ce³⁺ και των κενών θέσεων οξυγόνου V_{os}.

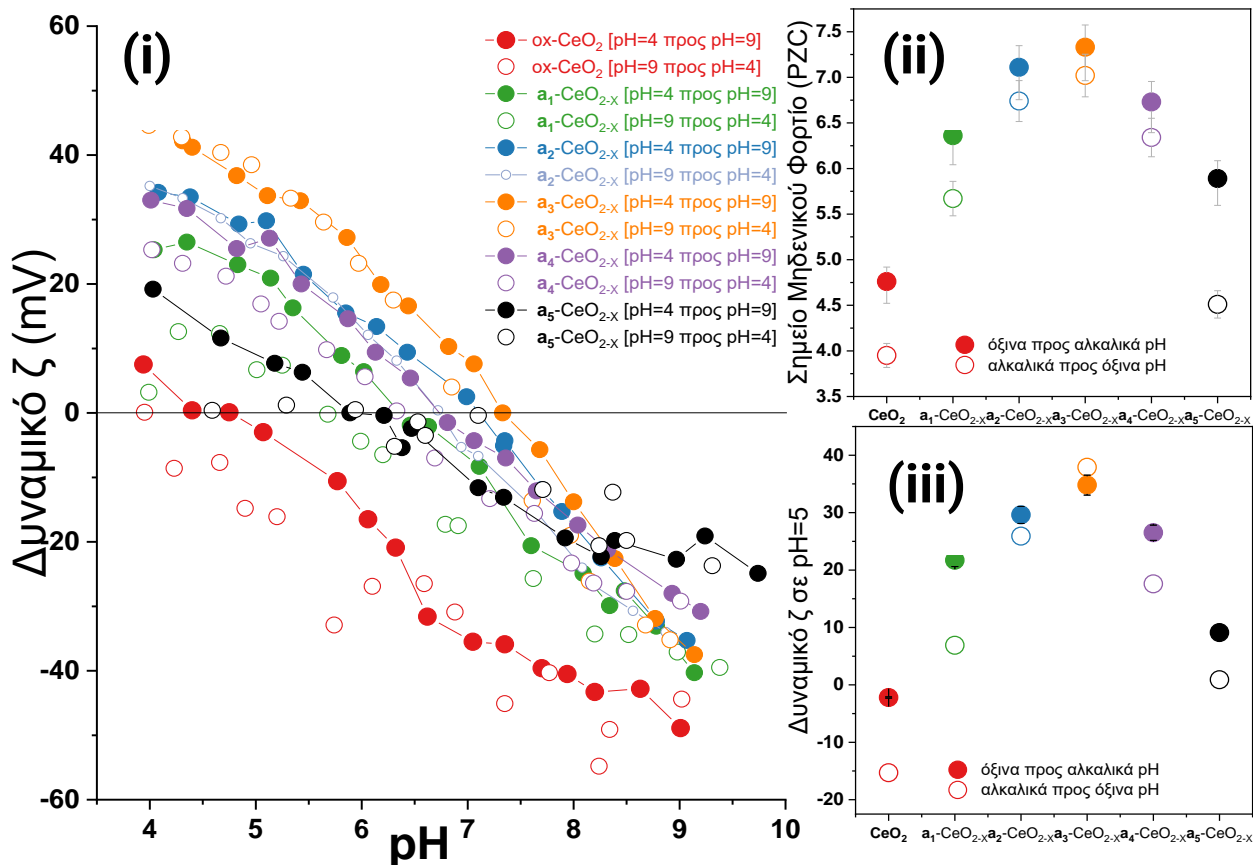
(ii) Επιφανειακές ιδιότητες νανοϋλικών CeO₂

Η φυσικοχημεία της επιφάνειας μελετήθηκε τόσο ως προς το φορτίο που αναπτύσσεται στη διεπιφάνεια στερεού-υγρού (μελέτες δυναμικού ζ) όσο και σε σχέση με τη μεταβολή της θερμοκρασίας (μέσω θερμοσταθμικής διαφορικής θερμικής ανάλυσης TG-DTA).

Μελέτη δυναμικού ζ

Στο **Σχήμα 2-56** παρουσιάζονται οι καμπύλες δυναμικού ζ όλων των υλικών σε σχέση με τη μεταβολή του pH. Σε μια υδατική διασπορά, τα επιφανειακά λειτουργικά τμήματα αλληλεπιδρούν με την υγρή φάση και οι τιμές pK_a των επιφανειακών ομάδων καθορίζουν την κατάσταση πρωτονίωσης του σωματιδίου³¹. Το δυναμικό ζήτα, το οποίο συσχετίζεται με τις επιφανειακές υδροξυλομάδες των νανοοξειδίων, συνδέεται άμεσα με τη δραστηριότητά τους³²⁷.

Ακόμη, ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στις τιμές δυναμικού ζ σε pH=5.0, καθώς αυτή είναι η τιμή του pH που στο τελευταίο στάδιο της αξιολόγησης των υλικών μελετάται η τοξικότητά τους (παρουσιάζεται σε επόμενη ενότητα).



ΣΧΗΜΑ 2-56 (i) Δυναμικό ζ (mV) των νανοϋλικών ox-CeO_2 , $\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$, $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$, $\text{a}_3\text{-CeO}_{2-x}$, $\text{a}_4\text{-CeO}_{2-x}$, και $\text{a}_5\text{-CeO}_{2-x}$ σε σχέση με το pH το οποίο μεταβάλλεται από όξινης προς αλκαλικές τιμές και στη συνέχεια επιστρέφει ξανά σε όξινης τιμές μέσω μιας δεύτερης επαναληπτικής τιτλοδότησης. (ii) Οι τιμές των σημείων μηδενικού φορτίου. (iii) Οι τιμές δυναμικού ζ σε $\text{pH}=5$.

Παρατηρούμε ότι το πλήρως οξειδωμένο ox-CeO_2 χαρακτηρίζεται από ένα σημείο μηδενικού φορτίου (point of zero charge, PZC) ίσο με 4.8, χαμηλότερο από τις τυπικές τιμές ($\sim 6,0 - 6,5$)³³² που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για τα υλικά CeO_2 και χαμηλότερο από τα υπόλοιπα υλικά αυτής της μελέτης. Επιπλέον, η τιμή δυναμικού ζ του ox-CeO_2 σε $\text{pH}=5.0$ είναι ίση με 0.18 mV. Αντίθετα, τα ανοξικά υλικά παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές PZC, στο εύρος 5.9-7.3.

Στο Σχήμα 2-56 (ii) απεικονίζεται η μη γραμμική μεταβολή των PZC σε συνάρτηση με την αύξηση της ανοξικότητας. Συγκεκριμένα, τα υλικά $\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$, $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$, $\text{a}_3\text{-CeO}_{2-x}$ χαρακτηρίζονται από τιμές PZC 6.4, 7.1 και 7.3, αντίστοιχα. Στη συνέχεια στα υλικά $\text{a}_4\text{-CeO}_{2-x}$ και $\text{a}_5\text{-CeO}_{2-x}$ οι τιμές PZC μειώνονται ξανά και γίνονται ίσες με 6.7 και 5.9, αντίστοιχα. Συνολικά, τόσο οι τιμές των σημείων μηδενικού φορτίου όσο και τα δυναμικά ζ σε $\text{pH}=5.0$ μεταβάλλονται με την εξής σειρά:

$$(\text{μικρότερο}) \text{ox-CeO}_2 < \text{a}_5\text{-CeO}_{2-x} < \text{a}_1\text{-CeO}_{2-x} < \text{a}_4\text{-CeO}_{2-x} < \text{a}_2\text{-CeO}_{2-x} < \text{a}_3\text{-CeO}_{2-x} (\text{μεγαλύτερο})$$

Είναι γνωστό^{290,292} ότι το επιφανειακό φορτίο σε αμφοτερικά οξείδια μετάλλων μπορεί να περιγραφεί από τις αντιδράσεις (2-10) και (2-11), όπου το $\equiv\text{S}$ συμβολίζει την επιφάνεια του οξειδίου. Ανάλογα με την ισορροπία πρωτονίωσης/αποπρωτονίωσης, η επιφάνεια του σωματιδίου μπορεί να είναι θετική, ουδέτερη ή αρνητικά φορτισμένη²⁹⁰.

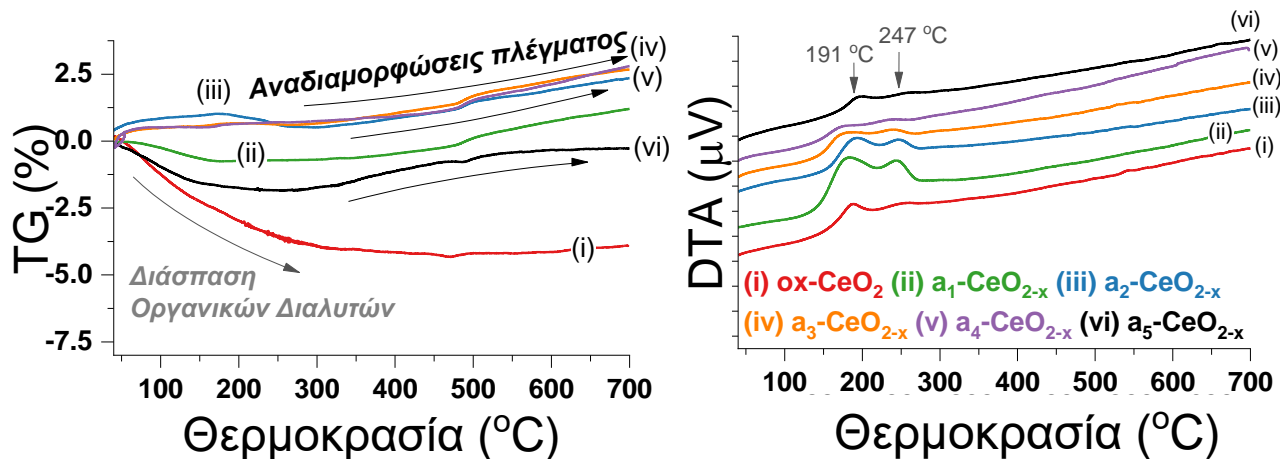


Το δυναμικό ζήτα γίνεται θετικό όταν επικρατούν οι διπλά πρωτονιωμένες ομάδες $\equiv\text{SOH}_2^+$ ενώ γίνεται αρνητικό όταν επικρατούν οι αποπρωτονιωμένες ομάδες $\equiv\text{SO}^-$. Ως μια διαδικασία βαθιά εξαρτώμενη από το pH, το σημείο μηδενικού φορτίου χαρακτηρίζει την τιμή του pH όπου $[\equiv\text{SOH}_2^+] = [\equiv\text{SO}^-]$. Με βάση αυτό, η μη-γραμμική μεταβολή του PZC με την αύξηση της ανοξικότητας μπορεί να προκαλείται από δύο ανταγωνιστικούς μηχανισμούς που επηρεάζουν την ισορροπία της ίσης συγκέντρωσης των δυο επιφανειακών ειδών, $[\equiv\text{SOH}_2^+] = [\equiv\text{SO}^-]$. Σε συνθήκες ενδιάμεσης ανοξικότητας, όπως στις περιπτώσεις των υλικών **a1-CeO_{2-x}**, **a2-CeO_{2-x}** και **a3-CeO_{2-x}**, το αυξανόμενο σημείο μηδενικού φορτίου δείχνει την παρουσία αλκαλικών επιφανειακών ομάδων. Ωστόσο, όταν το επίπεδο της ανοξικότητας υπερβεί ένα όριο, όπως στην περίπτωση των **a4-CeO_{2-x}** και **a5-CeO_{2-x}** ευνοείται ο σχηματισμός λιγότερο αλκαλικών επιφανειακών ομάδων, επαναφέροντας το PZC στις αρχικές τιμές του.

Θερμοσταθμική διαφορική θερμική ανάλυση (TG-DTA)

Η ανάλυση TG-DTA υπό ροή αέρα σε εύρος 25 °C–700 °C απεικονίζεται στο **Σχήμα 2-57**. Στην καμπύλη του DTA παρουσιάζονται δυο χαρακτηριστικές εξώθερμες κορυφές σε όλα τα υλικά, στους ~190 °C και ~247 °C, που μπορούν να αποδοθούν στην διάσπαση ιχνών άκαυστων υπολειμμάτων άνθρακα, που παρατηρείται συχνά στα υλικά που αναπτύσσονται μέσω ΠΥΦ³¹⁵. Όλα τα υλικά παρουσιάζουν προφίλ μικρής (< 3 %) μεταβολής μάζας (Δm) κατά τη θέρμανση υπό τεχνητό αέρα στην περιοχή T=25-700 °C.

Σε χαμηλές θερμοκρασίες (T < 150 °C) παρατηρείται μια σταδιακή ελάττωση της μάζας που οφείλεται στην εξάτμιση μορίων διαλυτών καθώς και φυσικά προσροφημένων μορίων H₂O που βρίσκονται εγκλωβισμένα μέσα στο πλέγμα του στερεού³²⁰. Στη συνέχεια, στην ενδιάμεση περιοχή θερμοκρασιών (150 °C < T < 300 °C), η απώλεια μάζας αντιστοιχεί στη διάσπαση δεσμών C-C, C-O, και C-H³²⁰ οξειδωμένων υπολειμμάτων άνθρακα και διαλυτών³¹⁵.



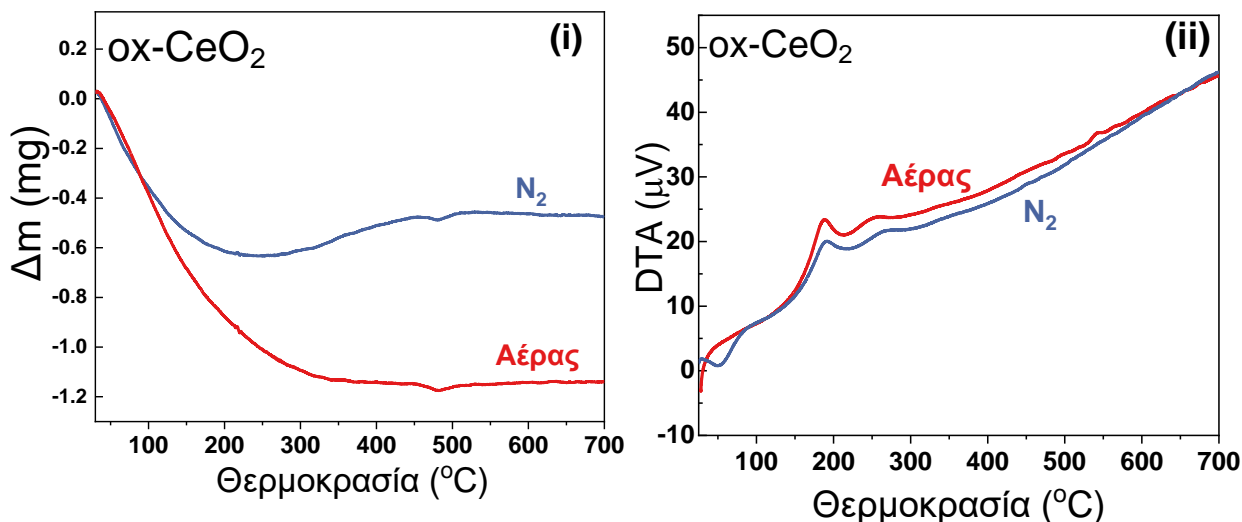
ΣΧΗΜΑ 2-57 Θερμοσταθμική διαφορική θερμική ανάλυση (TG-DTA) υπό ροή αέρα σε εύρος 25 °C–700 °C (Αριστερά) % Μεταβολή της μάζας. (Δεξιά) Καμπύλες μεταβολής ενέργειας. (i) ox-CeO_2 , (ii) $\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$, (iii) $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$, (iv) $\text{a}_3\text{-CeO}_{2-x}$, (v) $\text{a}_4\text{-CeO}_{2-x}$ και (vi) $\text{a}_5\text{-CeO}_{2-x}$.

Η τρίτη μεταβολής μάζας στην περιοχή υψηλών θερμοκρασιών $T > 300$ °C, μπορεί να αποδοθεί σε αναδιατάξεις του πλέγματος λόγω της μετακίνησης μορίων οξυγόνου. Στο εύρος αυτών των θερμοκρασιών παρατηρείται μια μικρή αύξηση της μάζας των υλικών (**Πίνακας 9**).

ΠΙΝΑΚΑΣ 9 Μεταβολή μάζας (Δm) κατά τη θέρμανση στους 300-700 °C των νανοϋλικών CeO_2 υπό αέρα.

Νανοϋλικά	Μεταβολή μάζας (%) υπό θέρμανση στους 300-700 °C
ox-CeO_2	- 3.40
$\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$	+ 0.38
$\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$	+ 0.37
$\text{a}_3\text{-CeO}_{2-x}$	+ 0.40
$\text{a}_4\text{-CeO}_{2-x}$	+ 0.41
$\text{a}_5\text{-CeO}_{2-x}$	+ 0.29

Στο **Σχήμα 2-58** παρουσιάζεται, επιπλέον, η ανάλυση TG-DTA του υλικού ox-CeO_2 υπό ροή αερίου αζώτου. Παρατηρείται πως η συνολική απώλεια μάζας (περισσότερο έντονη στην περιοχή 25-300 °C) είναι μικρότερη σε σχέση με την θέρμανση υπό ροή αέρα



ΣΧΗΜΑ 2-58 Θερμοσταθμική διαφορική θερμική ανάλυση (TG-DTA) του υλικού ox-CeO₂ υπό ροή αζώτου σε εύρος 25 °C–700 °C (i) (%) Μεταβολή της μάζας (ίδια αρχική μάζα). (ii) Καμπύλες μεταβολής ενέργειας.

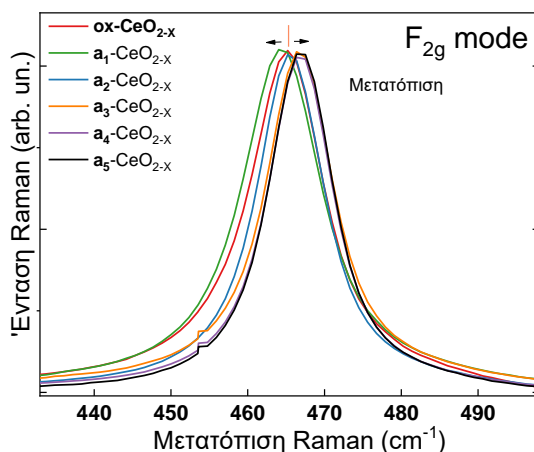
(iii) Φασματοσκοπική μελέτη των πλεγματικών αλλαγών

Μελέτη των ατελειών του πλέγματος μέσω φασματοσκοπίας Raman

Η φασματοσκοπία Raman είναι ένα ισχυρό εργαλείο για τον χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων CeO₂³³³, καθώς είναι πιθανό να μελετηθούν τροποποιήσεις ή ατέλειες του κρυσταλλικού πλέγματος και χαρακτηριστικές δονήσεις επιφανειακών ομάδων^{333,334}.

Η πιο χαρακτηριστική κορυφή δόνησης Raman της νανοσίριας, δηλαδή η κορυφή στα ~465 cm⁻¹ (βλ. Σχήμα 2-60 A), αποδίδεται στην δόνηση κάμψης (παλλόμενη)³³⁵ του ατόμου οξυγόνου που τοποθετείται μεταξύ δύο ιόντων Ce⁴⁺. Πιο συγκεκριμένα, η κορυφή αυτή σχετίζεται με τη συμμετρική δόνηση τάσης της μονάδας Ce⁴⁺-O-Ce⁴⁺, χαρακτηριστική της δομής τύπου-φθορίτη (F_{2g}) οι μετατοπίσεις της οποίας μεταξύ των υλικών δίνονται στο **Σχήμα 2-59**.

Οι δονήσεις των ατόμων οξυγόνου είναι χαρακτηριστικές των ατελειών του πλέγματος, και εντοπίζονται στην περιοχή 540-600 cm⁻¹. Πιο συγκεκριμένα, όπως φαίνεται στα μεγεθυμένα φάσματα Raman στο **Σχήμα 2-60 B**, οι ατέλειες των ανηγμένων κατιόντων Ce³⁺ μπορούν να ανιχνευθούν έμμεσα καθώς οι κορυφές σε ~560 cm⁻¹ και ~600 cm⁻¹ αντιστοιχούν σε δονήσεις των μονάδων Ce³⁺-O-Ce⁴⁺ κοντά και μακριά από μια κενή θέση οξυγόνου, αντίστοιχα³³⁶.



ΣΧΗΜΑ 2-59 Μεταξύ των διαφορετικών υλικών υπάρχει μετατόπιση στην κορυφή της συμμετρικής δόνησης τάσης της μονάδας $Ce^{4+}O-Ce^{4+}$, χαρακτηριστική της δομής τύπου φθορίτη (F_{2g}).

Η κορυφή στα $\sim 560\text{ cm}^{-1}$ σχετίζεται με τις κενές θέσεις οξυγόνου που δημιουργούνται κατά την αναγωγή³³⁶ της επιφάνειας. Η ένταση των κορυφών που σχετίζονται με τις ατέλειες του πλέγματος, αυξάνεται σημαντικά στα υλικά μεσαίας ανοξικότητας a_1-CeO_{2-x} , a_2-CeO_{2-x} και a_3-CeO_{2-x} . Ακόμη, η ασθενής κορυφή στα $\sim 590\text{ cm}^{-1}$ αφορά τυπικές κενές θέσεις οξυγόνου τύπου Frenkel (δόνηση D), οι οποίες σχηματίζονται στην επιφάνεια αλλά μπορεί να υπάρχουν και στο εσωτερικό του πλέγματος³³⁵. Οι πολλαπλές κορυφές χαμηλής έντασης στην περιοχή $1235-1795\text{ cm}^{-1}$, μπορούν να συσχετιστούν είτε με σουπεροξο- ($O_2^{\cdot-}$) και υπεροξο- (O_2^{2-}) επιφανειακά είδη που προκύπτουν από την προσρόφηση O_2 ³³⁵ ή να αποδοθούν σε ίχνη άνθρακα. Στα οξειδία μετάλλων, τα είδη που προκύπτουν από την προσρόφηση O_2 στην επιφάνεια³³⁵ μπορούν να ανιχνευθούν λόγω της αύξησης του μήκους δεσμού σε σύγκριση με το μοριακό O_2 και της αντίστοιχης μετατόπισης συχνότητας της τάσης του δεσμού O-O λόγω μεταφοράς φορτίου³³⁷. Προσροφημένα υπεροξο-είδη (O_2^{2-}) ανιχνεύονται στα 1140 cm^{-1} . Ο **Πίνακας 10** περιλαμβάνει τις αποδόσεις των χαρακτηριστικών κορυφών που ανιχνεύονται και αποδίδονται είτε σε δονήσεις χαρακτηριστικές της δομής φθορίτη, των ατελειών του πλέγματος ή δομών οξυγόνου³³³. Το **Σχήμα 2-60** απεικονίζει τα φάσματα Raman κάθε νανοϋλικού ως μέσο όρο τριών φασμάτων που καταγράφηκαν σε διαφορετικά σημεία της επιφάνειας.

ΠΙΝΑΚΑΣ 10 Αποδόσεις χαρακτηριστικών κορυφών της ανάλυσης Raman των νανοϋλικών CeO_2 .

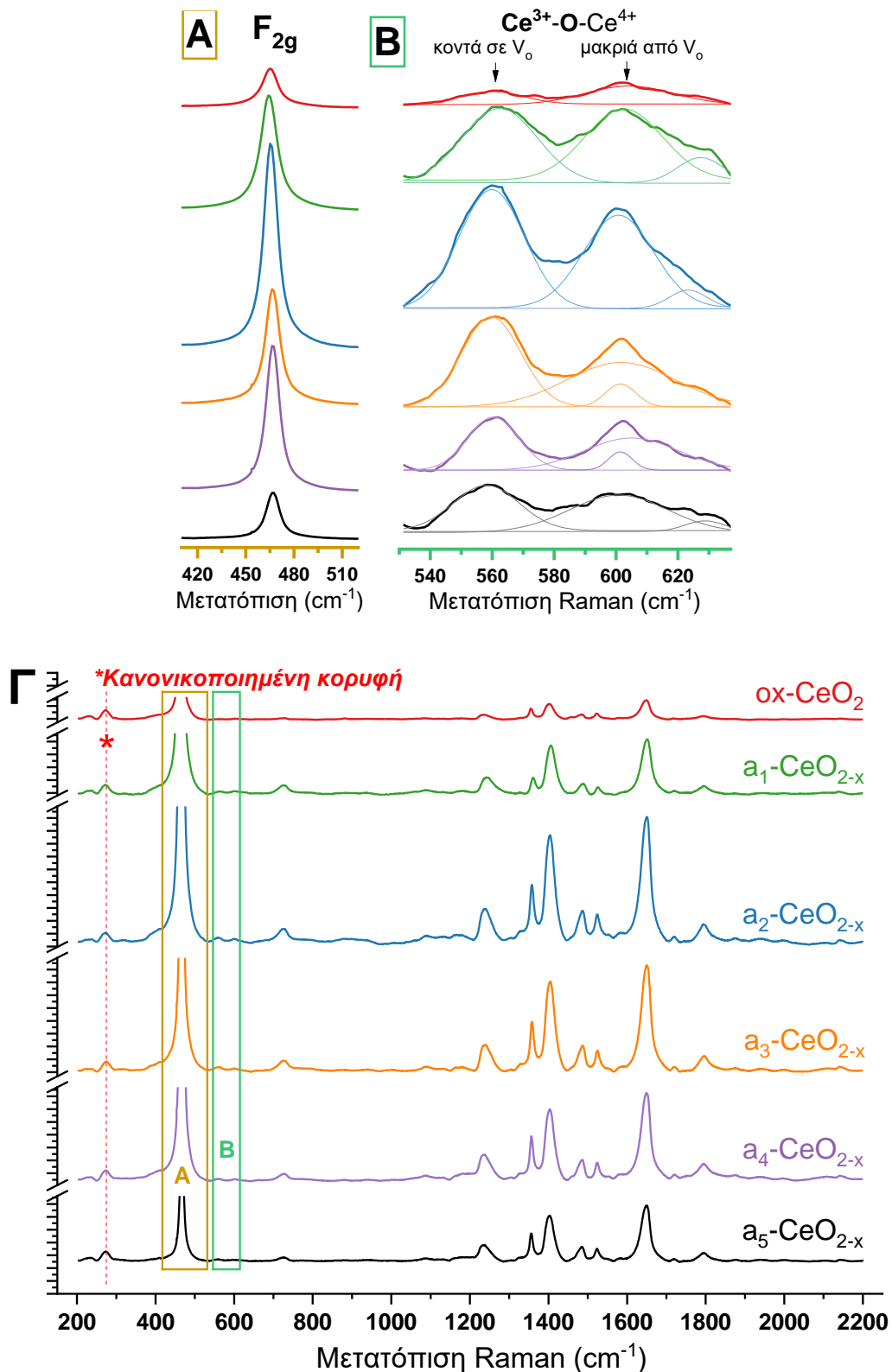
Κορυφή (cm^{-1})	Απόδοση
~ 265	Εγγενείς ατέλειες οξυγόνου πλέγματος ³³⁸

~ 463	Συμμετρική δόνηση $Ce^{4+}-O-Ce^{4+}$ / Δόνηση κάμψης (παλλόμενη) ατόμου O^{335}
~560	Δόνηση τάσης ατόμου O ανάμεσα από ιόντα Ce^{3+} (ή M^{3+}) και Ce^{4+} κοντά σε ατέλεια οξυγόνου ³³⁵
~ 600	Δόνηση τάσης ατόμου O ανάμεσα από ιόντα Ce^{3+} (ή M^{3+}) και Ce^{4+} μακριά από ατέλεια οξυγόνου ³³⁵
~ 840	Δόνηση τάσης $O-O$ (προσροφημένα υπεροξο-είδη)
~ 860	(Προσροφημένα σουπεροξο -είδη) / O_2^-
~ 1140	(Προσροφημένα υπεροξο-είδη) / O_2^{2-}
~ 1350	D-band Άνθρακα
~ 1530	Προσροφημένο οξυγόνο
~ 1580	G-band Άνθρακα
986/1162	Σκεδάσεις δεύτερης τάξης

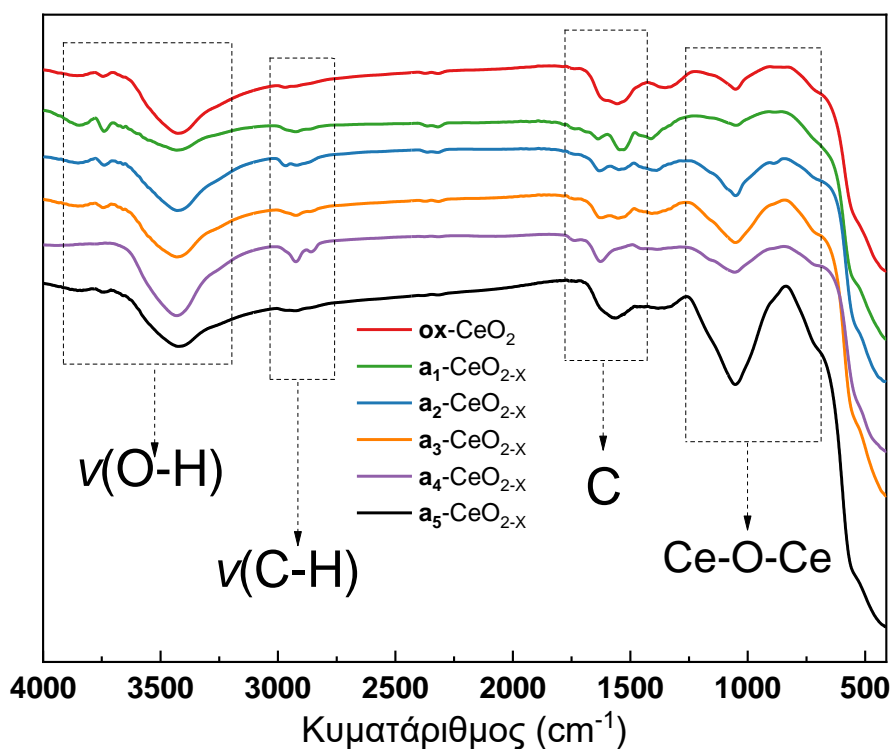
Μελέτη άλλων επιφανειακών ομάδων μέσω φασματοσκοπίας Raman και FT-IR

Μια σημαντική οικογένεια δεσμών που ανιχνεύονται μέσω της φασματοσκοπίας Raman είναι οι δονήσεις δεσμών άνθρακα ($\sim 1235-1795\text{ cm}^{-1}$). Η κορυφή στα 1795 cm^{-1} αποδίδεται στη δόνηση τάσης του δεσμού $C=O^{339}$, ενώ η κορυφή στα 1652 cm^{-1} αντιστοιχεί πιθανώς σε δονήσεις τάσης των δεσμών $C=C^{339}$. Επιπλέον, οι δονήσεις των δεσμών $C-H^{339}$ μπορούν να ανιχνευθούν στα 1485 cm^{-1} , 1414 cm^{-1} , και 1235 cm^{-1} , ενώ δονήσεις λόγω παραμόρφωσης της ομάδας $-CH_3^{288}$ ανιχνεύονται στα 1354 cm^{-1} .

Η παρουσία κορυφών που αντιστοιχούν σε δονήσεις δεσμών άνθρακα συμφωνεί με τα ίχνη $C < 3\%$ των θερμογραφημάτων TGA. Η ανίχνευσή τους από το Raman δείχνει ότι είναι τοποθετημένα κυρίως στην επιφάνεια των σωματιδίων. Αυτό **επιβεβαιώνεται επιπλέον και από την ανάλυση με φασματοσκοπία υπέρυθρου FT-IR** (βλ. Σχήμα 2-61 και Σχήμα 2-62). Η ανάλυση FT-IR υποδεικνύει την τάση του δεσμού $C-H$ στα 2960 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} και 2852 cm^{-1} που αποδίδεται σε ασύμμετρες και συμμετρικές δονήσεις τάσης της ομάδας $-CH_3$ και $\nu(\text{αλκυλ-C-H})$, αντίστοιχα²⁸⁸. Συνεπώς, τα παρόντα δεδομένα TGA, Raman και FTIR αποδεικνύουν ότι, μια περιορισμένη $< 3\%$, εναπόθεση υπολειμμάτων άνθρακα εννοείται κατά τη διάρκεια της σύνθεσης σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου.



ΣΧΗΜΑ 2-60 (A) Φάσματα Raman σε εύρος $420-510\text{ cm}^{-1}$ που αντιστοιχεί στην χαρακτηριστική δόνηση της μονάδας $Ce^{4+}-O-Ce^{4+}$ (F_{2g}). (B) Φάσματα Raman σε εύρος $530-640\text{ cm}^{-1}$ που αντιστοιχεί στις δονήσεις αναπνοής της μονάδας $Ce^{3+}-O-Ce^{4+}$ (ατέλειες πλέγματος). (Γ) Φάσματα Raman σε εύρος $200-2200\text{ cm}^{-1}$.

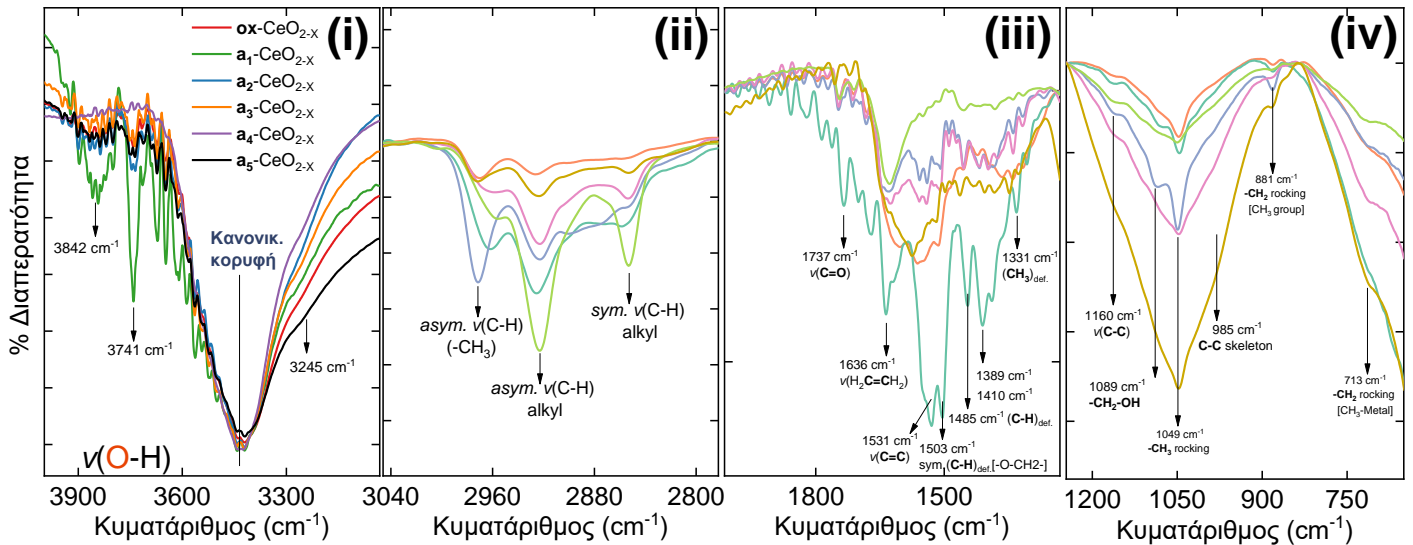


ΣΧΗΜΑ 2-61 Φάσματα FT-IR των υλικών CeO_2 σε εύρος $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$.

Τέλος, οι ευρείες κορυφές στην περιοχή των 3432 cm^{-1} αποδίδονται στις δονήσεις τάσης των δεσμών $\nu(\text{O-H})$ και εμφανίζονται στα φάσματα όλων των υλικών. Στο Σχήμα 2-62 (i) παρουσιάζονται κανονικοποιημένες για την εύκολη σύγκριση μεταξύ τους. Η κορυφή που εντοπίζεται στα $\sim 3747\text{ cm}^{-1}$ είναι ιδιαίτερα εμφανής στο $\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$, και αποδίδεται στη δόνηση τάσης απομονωμένων (πιθανώς δραστικών) επιφανειακών ομάδων O-H ¹⁹⁶.

Συνολικά τα δεδομένα της δονητικής φασματοσκοπίας Raman και FT-IR και τα δεδομένα της ανάλυσης TG-DTA δείχνουν ότι:

- (i) Οι ατέλειες του πλέγματος είναι πιο εμφανείς σε όλα τα ανοξικά υλικά a-CeO_{2-x} σε σύγκριση με το οξειδωμένο ox-CeO_2 ,
- (ii) κατά τη διάρκεια της σύνθεσης με συνθήκες έλλειψης οξυγόνου εννοείται η περιορισμένη απόθεση υπολειμμάτων άνθρακα στην επιφάνεια των υλικών,
- (iii) απομονωμένες, δονητικά τοξικές, ομάδες $-\text{OH}$ εντοπίζονται κυρίως στο υλικό $\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$.



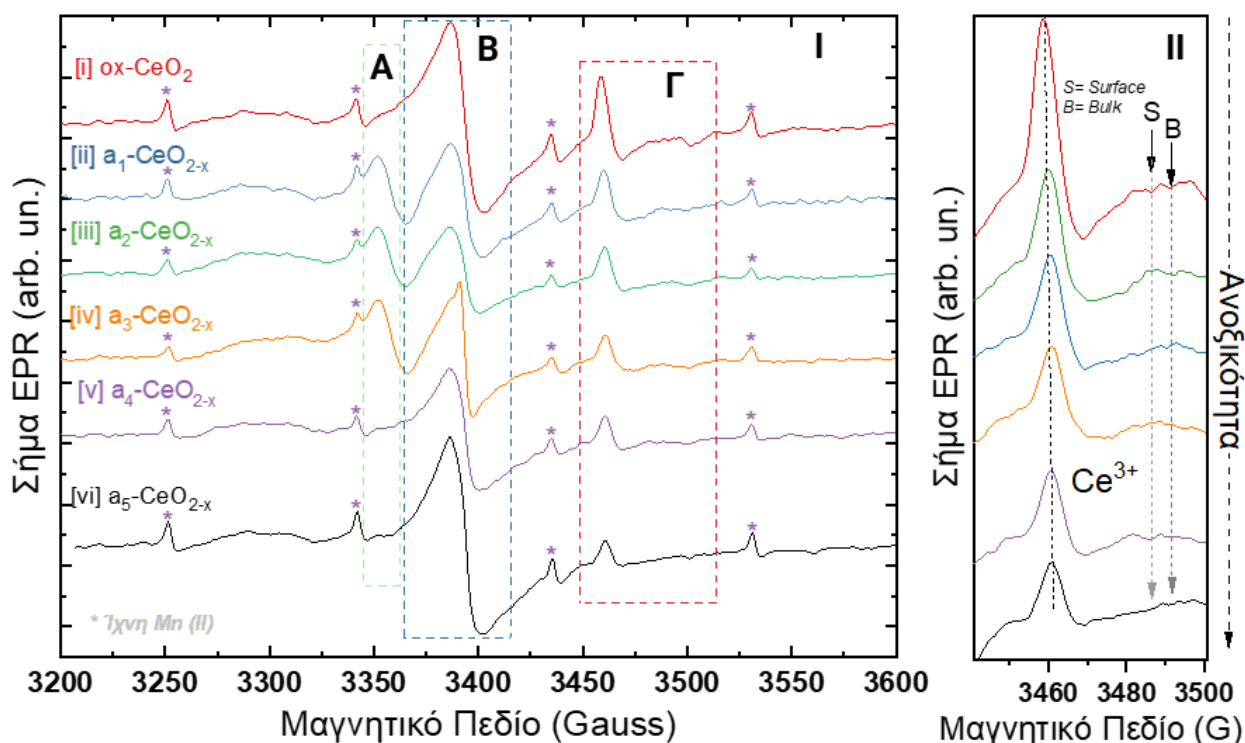
ΣΧΗΜΑ 2-62 Φάσματα FT-IR των υλικών CeO_{2-x} με κανονικοποιημένες κορυφές ως προς την κορυφή της δόνησης $\nu(OH)$ στα $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$, (i) Περιοχή δονήσεων δεσμών O-H. (ii) Περιοχή δονήσεων δεσμών C-H. (iii) Περιοχή δονήσεων δεσμών C. (iv) Περιοχή δονήσεων πλέγματος.

Μελέτη των ατελειών του πλέγματος μέσω φασματοσκοπίας EPR

Η ανάλυση EPR χαμηλών θερμοκρασιών (77 K) χρησιμοποιείται για τη μελέτη των παραμαγνητικών κέντρων Ce^{3+} , που αποτελούν ένα είδος ατέλειας πλέγματος³⁴⁰, μετά από θέρμανση των νανοϋλικών σίριας στους 350 °C για 2 ώρες. Τα πειραματικά σήματα EPR σε εύρος 3200-3600 Gauss παρουσιάζονται στο **Σχήμα 2-63**, όπου ανιχνεύονται πολλαπλές κορυφές.

Η πιο εμφανής κορυφή βρίσκεται σε $g \sim 2.003$, δηλ. κοντά στην τιμή g των ελεύθερων ηλεκτρονίων (σήμα (B)) και μπορεί να αποδοθεί κυρίως σε είδη οξυγόνου που είναι είτε προσροφημένα σε κέντρα Ce^{4+} είτε γεμίζουν κενά οξυγόνου³⁴⁰. Λεπτομερής ανάλυση EPR των στερεών υλικών σε θερμοκρασία 77 K πραγματοποιήθηκε και σε συνάρτηση με την μεταβολή της ισχύος (βλ. **Σχήμα 2-64**). Σε αυτό το πλαίσιο, διαφορετικές διαμορφώσεις ατελειών οξυγόνου, που έχουν ως αποτέλεσμα την παραμόρφωση του πλέγματος και τη διαφοροποίηση των τοπικών συμμετριών αντικατοπτρίζονται σε διαφορετικά σήματα EPR^{222,294} (π.χ. προσροφημένα σουπεροξο-είδη (O_2^-) λόγω του ενός ασύζευκτου ηλεκτρονίου τους³³¹).

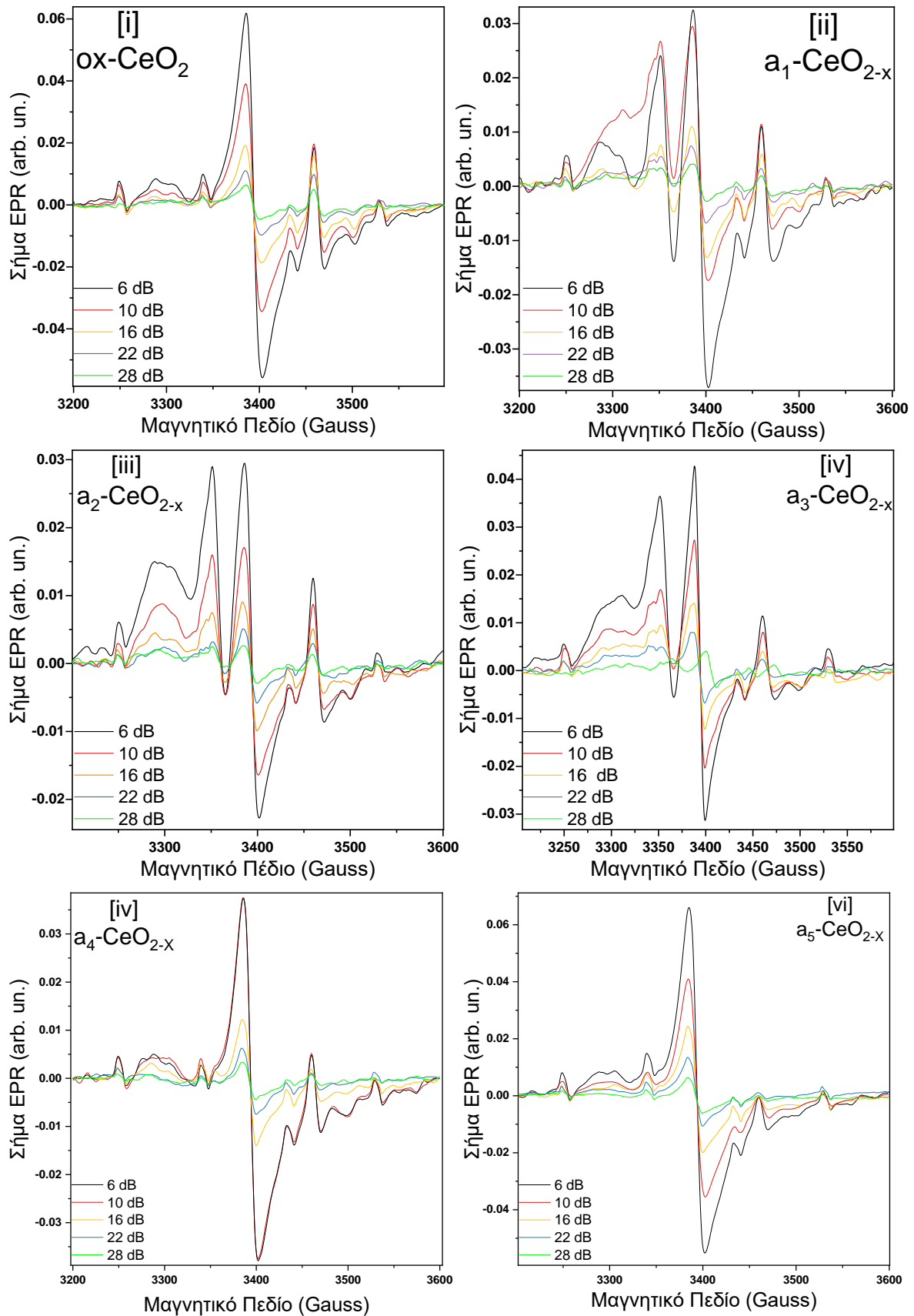
Τα σήματα που σημειώνονται με (*) είναι ίχνη της εξαπλέτας Mn^{2+} που υπάρχει ως πρόσμιξη στην εμπορική πρόδρομη ένωση. Τα ιόντα αυτά είναι ενσωματωμένα στο πλέγμα των σωματιδίων και είναι αδρανή, επομένως δεν εμπλέκονται σε κανένα μέρος της παρούσας μελέτης.



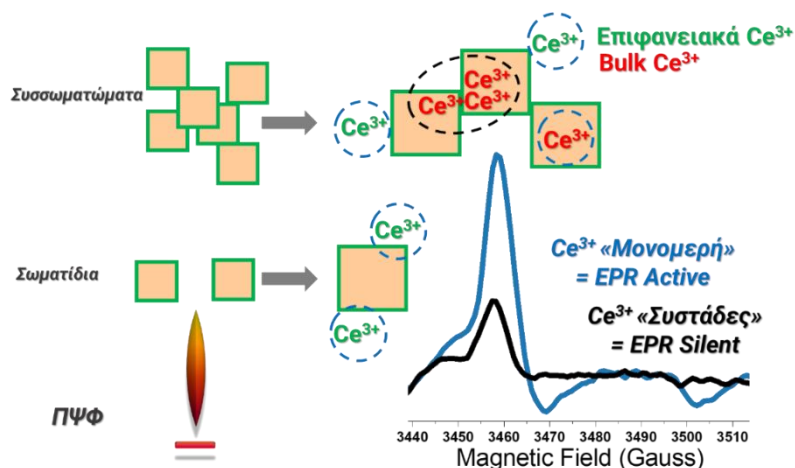
ΣΧΗΜΑ 2-63 Η ανάλυση EPR χαμηλών θερμοκρασιών (77 K) για τη μελέτη των παραμαγνητικών κέντρων Ce^{3+} . (I) Εύρος 3200-3600 Gauss (II) Εστίαση στην χαρακτηριστική κορυφή των παραμαγνητικών κέντρων Ce^{3+} (i) ox-CeO_2 , (ii) $\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$, (iii) $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$, (iv) $\text{a}_3\text{-CeO}_{2-x}$, (v) $\text{a}_4\text{-CeO}_{2-x}$ και (vi) $\text{a}_5\text{-CeO}_{2-x}$.

Η έλλειψη οξυγόνου ευνοεί τον σχηματισμό κέντρων Ce^{3+} στο πλέγμα που ανιχνεύονται σε τιμές $g \sim 1.96$. Υψηλή συγκέντρωση Ce^{3+} μπορεί, ωστόσο, να οδηγήσει σε διαμορφώσεις τύπου-συστάδων (cluster-type) που επηρεάζουν κυρίως τα κοντινά μεταξύ τους κέντρα Ce^{3+} . Σε αυτή την περίπτωση, η συνδυαστική ανάλυση με τη φασματοσκοπία Raman παρέχει μια βαθύτερη κατανόηση της χημείας του πλέγματος και είναι κρίσιμης σημασίας.

Αν και η συγκέντρωση των ατελειών αυξάνεται στα ανοξικά υλικά (με το $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$ να δείχνει τη μέγιστη τιμή σύμφωνα με τη φασματοσκοπία Raman), τα αντίστοιχα σήματα EPR φαίνεται να συρρικνώνονται. Τα κατά τα άλλα ανιχνεύσιμα από το EPR παραμαγνητικά κέντρα Ce^{3+} μπορούν να οδηγήσουν σε φαινόμενα ανταλλαγής spin^{341} στην περίπτωση υψηλών συγκεντρώσεων, με αποτέλεσμα ευρύτερα και χαμηλότερης έντασης σήματα EPR³⁴² (βλ. **Εικόνα 2-6**).

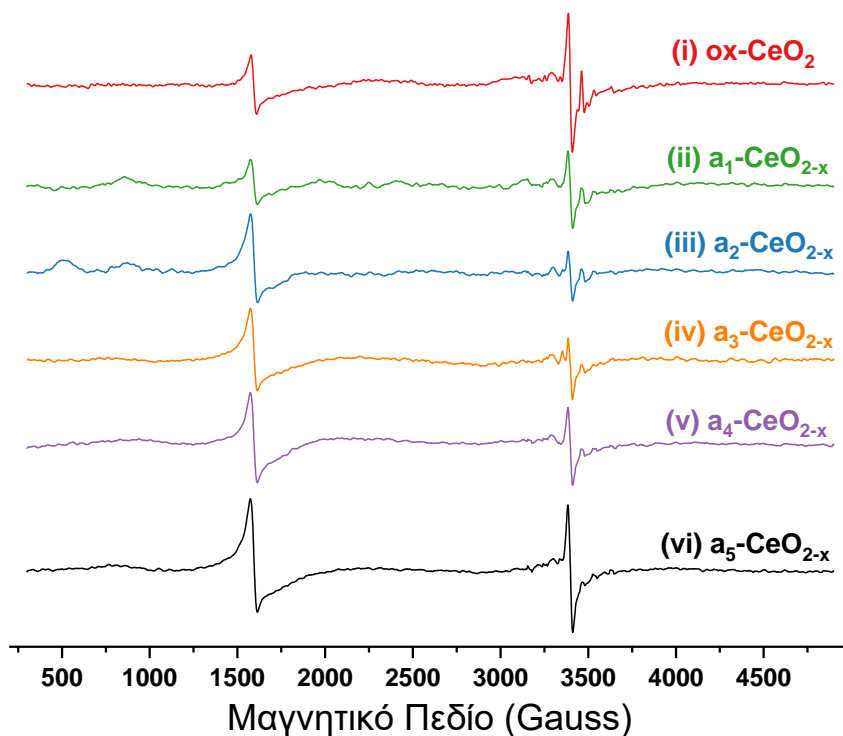


ΣΧΗΜΑ 2-64 Αναλύσεις EPR των στερεών υλικών σε 77 K συναρτήσει της μεταβαλλόμενης ισχύος. (i) $0x\text{-CeO}_2$, (ii) $a_1\text{-CeO}_{2-x}$, (iii) $a_2\text{-CeO}_{2-x}$, (iv) $a_3\text{-CeO}_{2-x}$, (v) $a_4\text{-CeO}_{2-x}$, και (vi) $a_5\text{-CeO}_{2-x}$.



ΕΙΚΟΝΑ 2-6 Σε υψηλές συγκεντρώσεις και διαμορφώσεις τύπου-συστάδων (cluster-type) τα κατά τα άλλα ανιχνεύσιμα από το EPR παραμαγνητικά κέντρα Ce^{3+} οδηγούν σε φαινόμενα ανταλλαγής spin με αποτέλεσμα ευρύτερα και χαμηλότερης έντασης σήματα EPR.

Τέλος, όπως φαίνεται στα φάσματα EPR πλήρους εύρους (βλ. **Σχήμα 2-65**) ανιχνεύονται επίσης σήματα με παράγοντα $g \sim 4,26$. Βιβλιογραφικά τα σήματα αυτά αποδίδονται σε εγγενείς ατέλειες του πλέγματος³⁴³ (Ce^{3+} που συνδέονται με ηλεκτρόνια της ζώνης αγωγιμότητας)³⁴⁰.



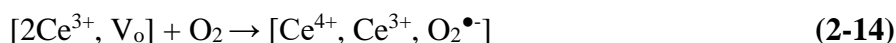
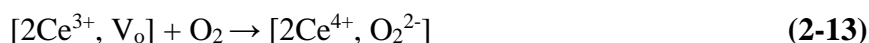
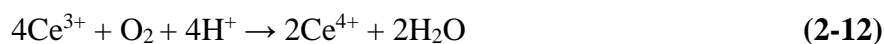
ΣΧΗΜΑ 2-65 Η ανάλυση EPR χαμηλών θερμοκρασιών (77 K) σε πλήρες εύρος. (i) ox-CeO_2 , (ii) $\text{a}_1\text{-CeO}_{2-x}$, (iii) $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$, (iv) $\text{a}_3\text{-CeO}_{2-x}$, (v) $\text{a}_4\text{-CeO}_{2-x}$, και (vi) $\text{a}_5\text{-CeO}_{2-x}$.

Ωστόσο, το σήμα αυτού του τύπου θα μπορούσε εύκολα να δημιουργηθεί από ίχνη Fe^{3+} που επίσης υπάρχουν στην εμπορική πρόδρομη ένωση.

(iv) Αξιολόγηση οξειδοαναγωγικής ικανότητας της επιφάνειας των υλικών μέσω φασματοσκοπίας EPR

Όταν αλληλεπιδρούν με το οξυγόνο, τα CeONPs διαθέτουν ιδιότητες αυτοαναγέννησης²²⁹, λαμβάνει δηλαδή χώρα μια εσωτερική, συνεχώς ρυθμιζόμενη οξειδοαναγωγική μετατροπή μεταξύ των κέντρων $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$. Αυτός ο επιφανειακά εξαρτώμενος μηχανισμός προσδίδει στα υλικά την ικανότητα της μίμησης ενζύμων, η οποία καθορίζει την τύπου-βιο δραστηριότητά τους³⁴⁴. Τα διαφορετικά είδη δραστηριότητας της νανοσίριας εκκινούν από την κινητικότητα του οξυγόνου μέσα και έξω από το πλέγμα, επιτρέποντας επιφανειακές αντιδράσεις οξείδωσης/αναγωγής²¹⁷. Η αλληλεπίδραση χαμηλής ένταξης ιόντων Ce^{3+} στην επιφάνεια με το οξυγόνο, οδηγεί στη δημιουργία ριζών σουπεροξειδίου ($\text{O}_2^{\bullet-}$) που μπορούν να ανιχνευθούν με φασματοσκοπία EPR. Κατά την προσρόφηση οξυγόνου σε μια ατέλεια οξυγόνου όχι, το Ce^{3+} μπορεί να οξειδωθεί σε Ce^{4+} σύμφωνα με τις αντιδράσεις (2-12) και (2-13)¹⁷³.

Ακόμη, μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό επιφανειακών υπεροξο-ειδών (σύμφωνα με την αντίδραση 2-13) και σουπεροξο-ειδών (αντίδραση 2-14)³⁴⁵. Ωστόσο, σε υδατικά εναιωρήματα, η παρουσία κενών οξυγόνου (V_{os}) μπορεί επίσης να οδηγήσει στην παραγωγή ριζών $\bullet\text{OH}$ λόγω επιφανειακής ενεργοποίησης του H_2O από κενές θέσεις οξυγόνου³³¹.



Στο πλαίσιο αυτό, η οξειδοαναγωγική ικανότητα της επιφάνειας των νανοϋλικών CeO_2 μελετάται μέσω φασματοσκοπίας EPR. Η ικανότητα παραγωγής ριζών των νανοσωματιδίων αξιολογείται παρουσία δύο διαφορετικών μέσων: (i) σε εναιωρήματα των νανοϋλικών σε υδατικό αραιωτικό μέσο (που χρησιμοποιείται στην αξιολόγηση της τοξικότητας, όπως περιγράφεται σε

επόμενη ενότητα) και (ii) παρουσία H_2O_2 . Χρησιμοποιούνται ξανά το DMPO ως μόριο παγίδευσης του σπιν, και το DPPH για την ποσοτικοποίηση των μετρούμενων σπιν.

Παραγωγή ριζών σε υδατικό μέσο

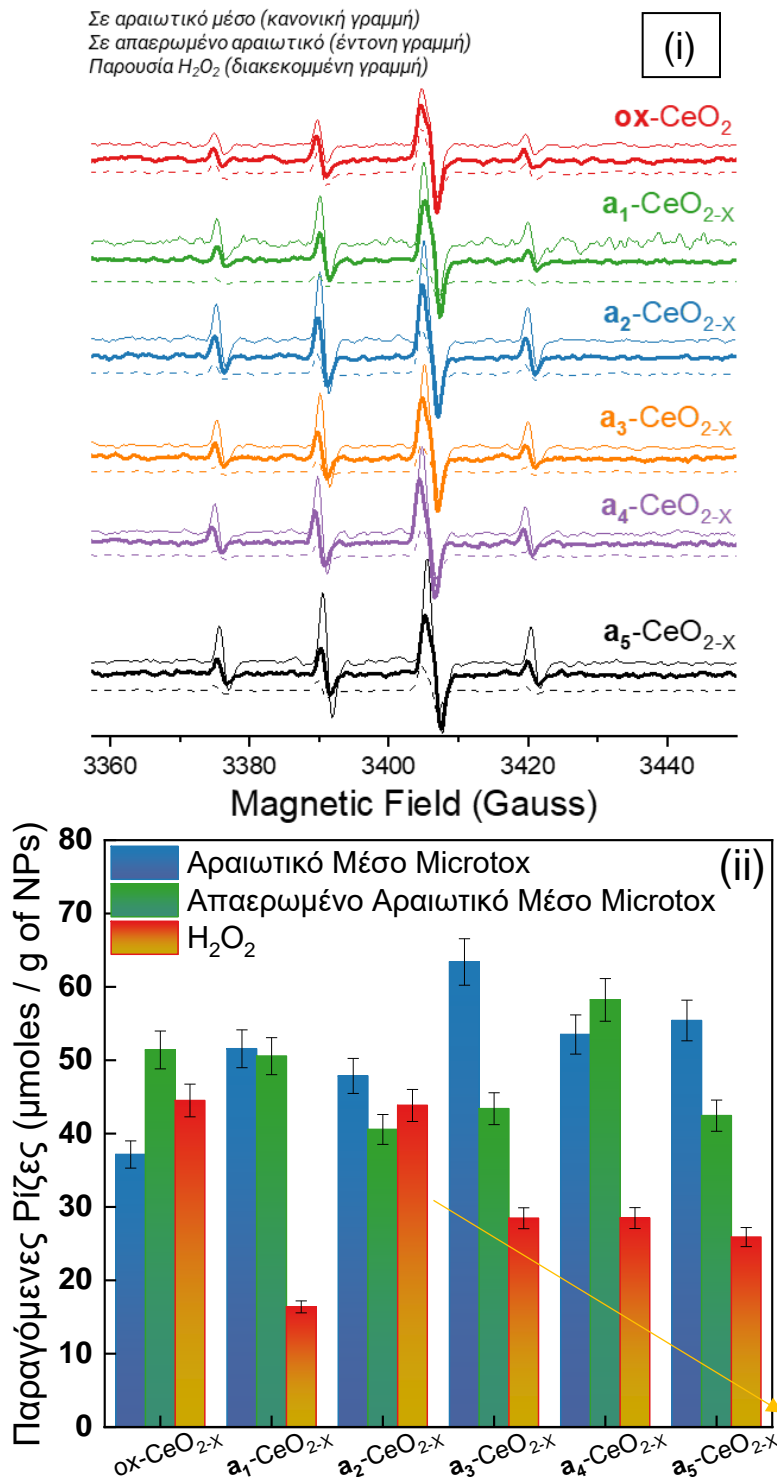
Η ικανότητα παραγωγής ριζών των υλικών νανοσίριας σε υδατικό μέσο (αραιωτικό μέσο της μεθόδου Microtox) αξιολογείται μέσω EPR. Τα σήματα που απεικονίζονται στο **Σχήμα 2-66** είναι χαρακτηριστικά των DMPO-OH και μελετώνται επιπλέον με μαθηματική προσομοίωση³⁴⁶. Ελαιωρήματα των νανοϋλικών σε απαερωμένο και μη απαερωμένο υδατικό μέσο σε pH=5.0 παρασκευάστηκαν μετά από διασπορά σε λουτρό υπερήχων (20 W) για 5 λεπτά. Οι παράμετροι της μέτρησης περιγράφονται αναλυτικά στην ενότητα 2.3.1.

Όλα τα υλικά παράγουν ρίζες $\bullet OH$ στα υδατικά ελαιωρήματά τους (βλ. Σχήμα 2-66 (i)), πιθανώς λόγω της επιφανειακής ενεργοποίησης του H_2O από τις κενές θέσεις οξυγόνου³³¹. Για το λόγο αυτό, η ικανότητα παραγωγής ριζών των νανοϋλικών σίριας, υποδεικνύει έμμεσα τον αριθμό των κενών θέσεων οξυγόνου στο πλέγμα³³¹.

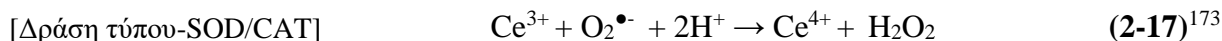
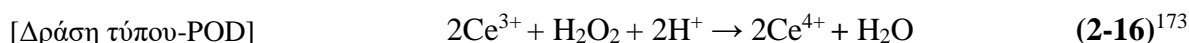
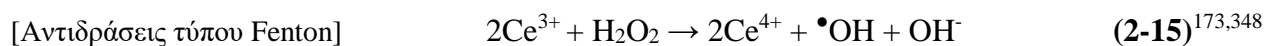
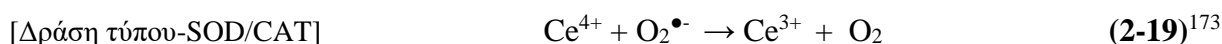
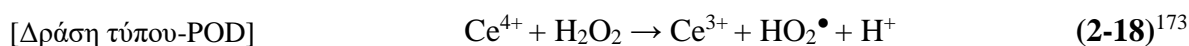
Σε μη απαερωμένο αραιωτικό μέσο (NaCl 2 % σε H_2O) η παραγωγή ριζών $\bullet OH$ αυξάνεται κατά ~10-20 $\mu moles/g$ υλικού στις ανοξικές δομές, χωρίς ωστόσο να ακολουθείται κάποια συγκεκριμένη τάση. Μετά από απαέρωση του μέσου η μέγιστη παραγωγή ριζών $\bullet OH$ παρατηρείται στο υλικό a_4-CeO_{2-x} ενώ η ελάχιστη στο a_2-CeO_{2-x} . Ομοίως, **δεν ακολουθείται κάποια συγκεκριμένη τάση της ικανότητας παραγωγής ριζών αναλογικά της ανοξικότητας.**

Παραγωγή ριζών παρουσία H_2O_2

Η οξειδοαναγωγική δραστηριότητα της νανοσίριας έναντι του H_2O_2 είναι γνωστό ότι συσχετίζεται με τις κενές θέσεις οξυγόνου του πλέγματος³⁴⁷ και όχι με τα κέντρα Ce^{3+} . Κατά την αντίδραση με H_2O_2 , η νανοσίρια εμφανίζει πολλαπλή βιομιμητική δράση. Πρώτον, ο σχηματισμός ριζών υδροξυλίου είναι πιθανός μέσω επιφανειακά καταλυόμενων αντιδράσεων τύπου Fenton^{173,348} (αντίδραση **2-15**). Επιπλέον, μπορεί να ξεκινήσουν διαφορετικοί κύκλοι αναγωγής-επανοξειδωσης ανάλογα με την επικρατούσα κατάσταση οξείδωσης του ατόμου δημητρίου στην επιφάνεια όπως περιγράφεται από τις αντιδράσεις (**2-15 - 2-19**)¹⁷³.

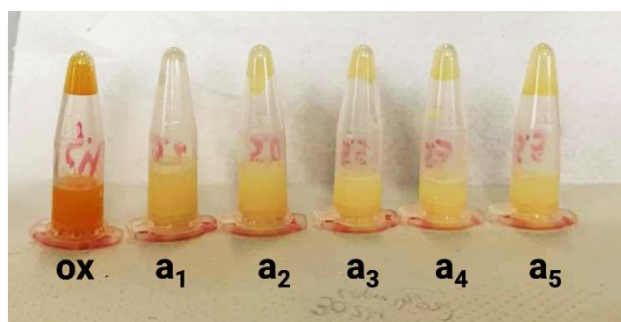


ΣΧΗΜΑ 2-66 Ικανότητα παραγωγής ριζών σε υδατικό απαερωμένο και μη απαερωμένο υδατικό μέσο και παρουσία H_2O_2 . (i) Σήματα EPR χαρακτηριστικά των DMPO-OH (ii) Ποσοτικοποίηση ριζών στο αραιωτικό μέσο του Microtox (μπλε), στο απαερωμένο υδατικό μέσο (πράσινο) και παρουσία H_2O_2 (πορτοκαλί).

Μονοπάτια αντίδρασης από Ce^{3+} *Μονοπάτια αντίδρασης από Ce^{4+}* 

Όπως φαίνεται στη φωτογραφία στο Σχήμα 2-67, μετά την προσθήκη H_2O_2 , το χρώμα των εναιωρημάτων αλλάζει από υπόλευκο σε κίτρινο²³⁰, υποδηλώνοντας την οξειδωση³⁴⁹ του Ce^{3+} σε Ce^{4+} . Η αλλαγή του χρώματος είναι πιο έντονη στην περίπτωση του υλικού ox-CeO₂, υποδεικνύοντας έμμεσα την αυξημένη συγκέντρωση κέντρων Ce^{3+} στις ανοξικές δομές, τα οποία διατηρούνται ως ένα βαθμό και μετά την αντίδραση με H_2O_2 .

Επιπλέον, αυτή η οξειδωση του Ce^{3+} σε Ce^{4+} , καθώς ευνοείται σε αντιδράσεις με ισχυρό οξειδωτικό δεν θα μπορούσε να συμβεί στην περίπτωση που το Ce^{3+} αντιδρά με H_2O ή το υδατικό αραιωτικό μέσο (NaCl 2 % σε H_2O). Σημειώνεται ότι δεν σχηματίζονται ρίζες απουσία NPs (πειράματα ελέγχου).



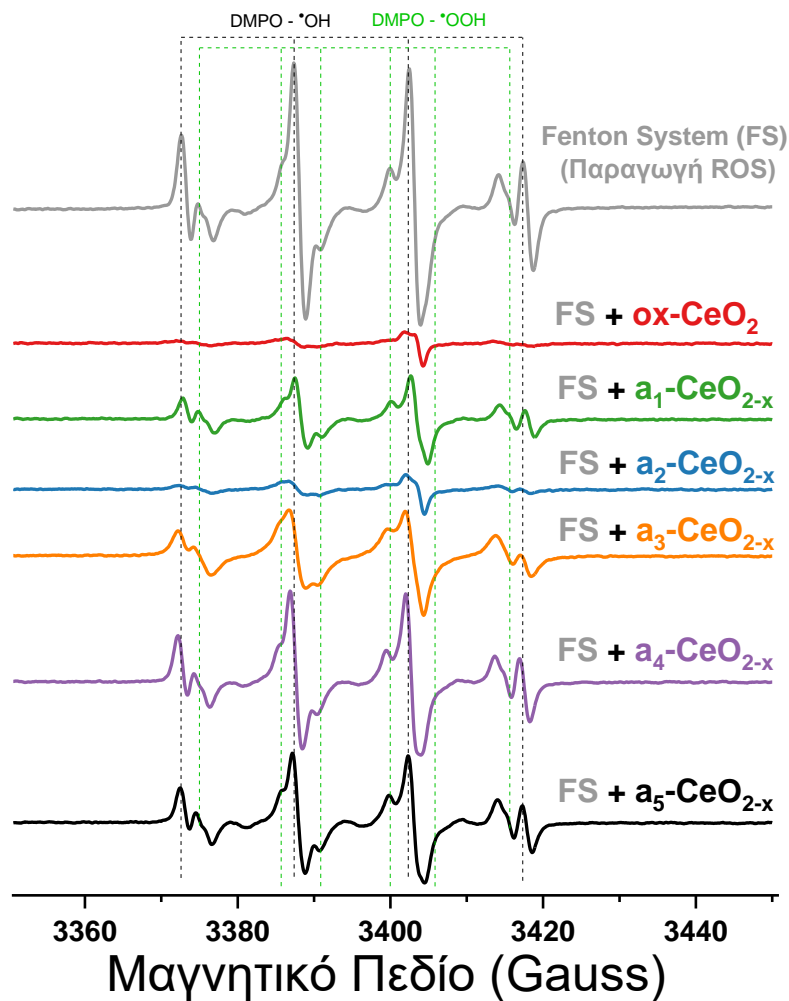
ΣΧΗΜΑ 2-67 Αλλαγή του χρώματος των διαλυμάτων παρουσία H_2O_2 λόγω της οξειδωσης των κέντρων Ce^{3+} σε Ce^{4+} .

Σύμφωνα με την ποσοτικοποίηση των ριζών στο Σχήμα 2-66 (ii) φαίνεται πως παρουσία H_2O_2 τα ανοξικά υλικά παράγουν συστηματικά λιγότερες ρίζες $\bullet OH$ σε σχέση με το οξειδωμένο ox-CeO₂. Ενδιαφέρον παρουσιάζει πως το υλικό a₂-CeO_{2-x} αποτελεί εξαίρεση καθώς εμφανίζει συγκρίσιμη δραστηριότητα με το υλικό ox-CeO_{2-x} όταν αντιδρά με το H_2O_2 (~ 45 $\mu moles \bullet OH / g$ υλικού). Ακόμη, αντίθετα με τα προηγούμενα υδατικά συστήματα, παρουσία H_2O_2 η παραγωγή ριζών μειώνεται

αναλογικά της αύξησης της ανοξικότητας ακολουθώντας τη σειρά $a_2\text{-CeO}_{2-x} > a_3\text{-CeO}_{2-x} > a_4\text{-CeO}_{2-x} > a_5\text{-CeO}_{2-x}$. Στην περίπτωση του υλικού $a_1\text{-CeO}_{2-x}$ (που έχει συντεθεί σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου αλλά και σε χαμηλότερη θερμοκρασία λόγω έλλειψης μεθανίου) δεν ακολουθείται η τάση των υπόλοιπων ανοξικών υλικών αλλά παρατηρείται η χαμηλότερη παραγωγή ριζών που είναι ίση με $\sim 27 \mu\text{moles } \bullet\text{OH} / \text{g υλικού}$.

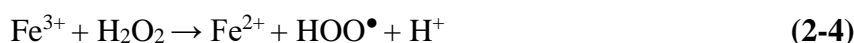
(v) Μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω EPR

Η αντιοξειδωτική δράση της νανοσίριας προέρχεται από τις ατέλειες του κρυσταλλικού πλέγματος και κυρίως από την ύπαρξη ανηγμένων κέντρων³⁴⁷ Ce^{3+} , που τροφοδοτεί τον κύκλο $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$.

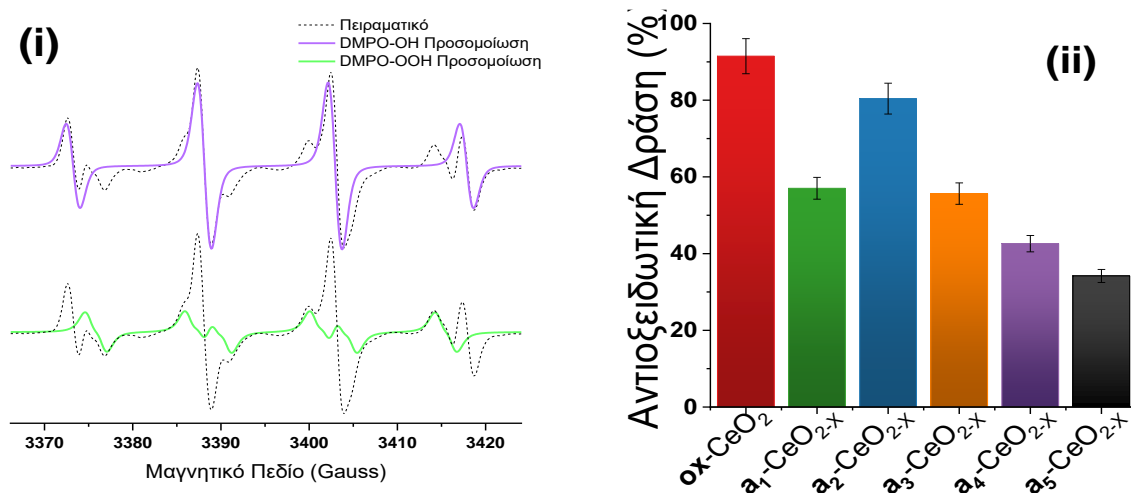


ΣΧΗΜΑ 2-68 Σήματα EPR χαρακτηριστικά των $\text{DMPO}\cdot\text{OH}$, και $\text{DMPO}\cdot\text{OOH}$ παρουσία του συστήματος προσχηματισμένων ριζών βάσει της αντίδρασης Fenton και των νανοϋλικών.

Εδώ, η αντιοξειδωτική δράση παρακολουθείται με την προσθήκη των νανοσωματιδίων σε ένα καλά μελετημένο σύστημα παραγωγής ROS, αυτό του Fe^{2+} με H_2O_2 , βάσει της αντίδρασης Fenton³⁵⁰, σε $\text{pH}=5.0$ ¹⁶⁹. Ο επταένυδρος θεικός σίδηρος χρησιμοποιείται ως αντιδραστήριο Fe^{2+} για την προώθηση της δημιουργίας δύο ειδών ROS (α) ριζών υδροξυλίου ($\bullet\text{OH}$) και (β) ριζών υπεροξειδίου ($\text{HOO}\bullet$) όπως περιγράφεται στις αντιδράσεις (2-3) και (2-4)²⁹⁹.

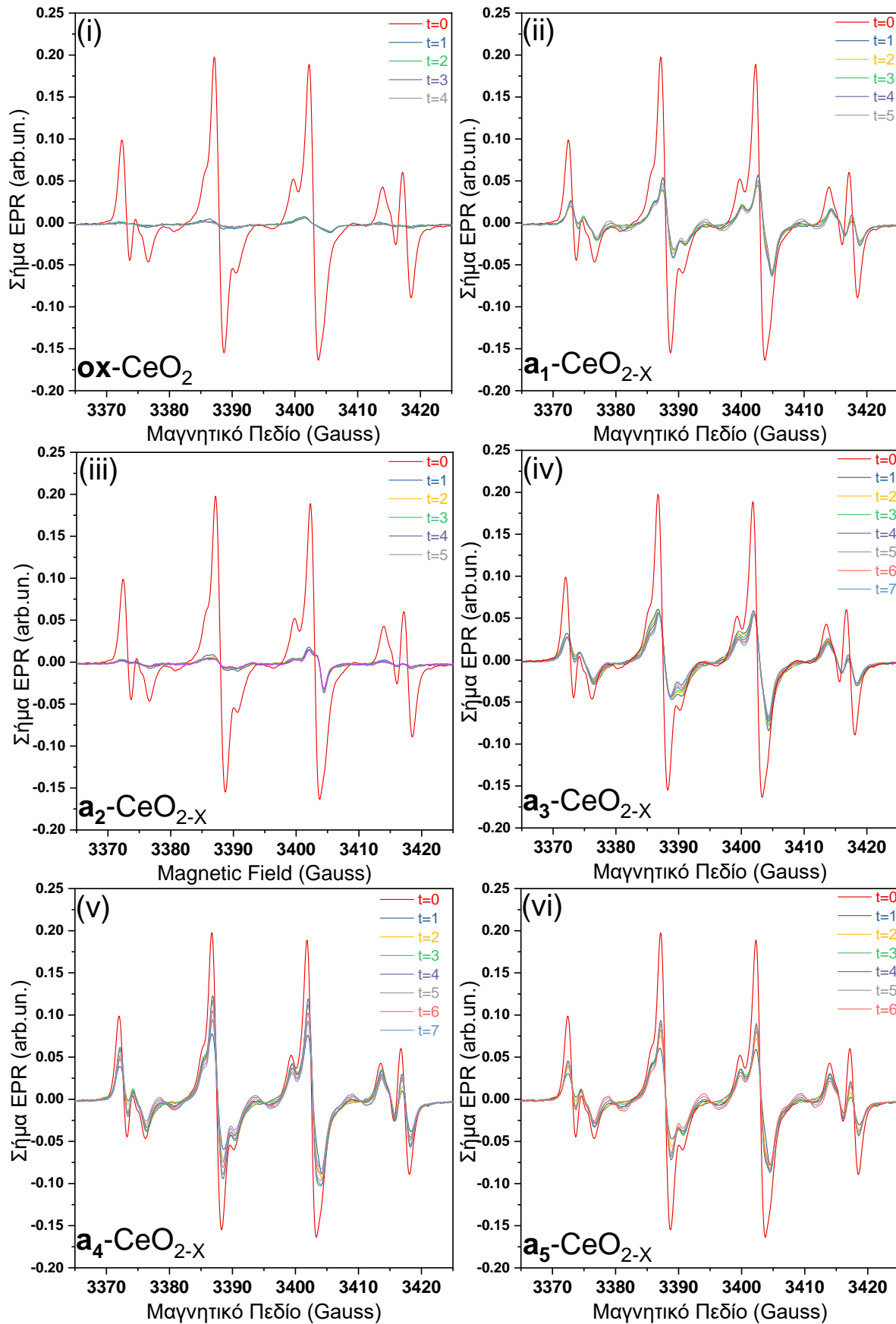


Τα χαρακτηριστικά σήματα των $\text{DMPO}\cdot\text{OH}$, $\text{DMPO}\cdot\text{OOH}$ παρουσιάζονται στο **Σχήμα 2-68**, και μελετώνται επιπλέον με μαθηματική προσομοίωση³⁴⁶ (βλ. και **Σχήμα 2-69** (i)). Γίνεται σαφές (βλ. και **Σχήμα 2-69** (ii)) πως η οξειδωμένη νανοδομή ox-CeO_2 έχει την υψηλότερη ικανότητα αδρανοποίησης των προσχηματισμένων ριζών $\bullet\text{OH}$ και $\bullet\text{OOH}$, που είναι ίση με 92 %. Η ισχυρή αυτή αντιοξειδωτική δράση, οφείλεται πιθανότητα στην παρουσία των κέντρων Ce^{3+} που δεν ακολουθούν διαμορφώσεις τύπου-συστάδων³⁴⁷ διευκολύνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την οξειδοαναγωγική ικανότητα του υλικού. Στο **Σχήμα 2-70** απεικονίζεται, ακόμη, η μείωση των ριζών παρουσία του κάθε νανοϋλικού σε συνάρτηση με το χρόνο (όπου $t=1$ min).



ΣΧΗΜΑ 2-69 (i) Μαθηματική προσομοίωση των πειραματικών σημάτων $\text{DMPO}\cdot\text{OH}$, $\text{DMPO}\cdot\text{OOH}$. **(ii)** Ικανότητα αδρανοποίησης προσχηματισμένων ριζών (%) των υλικών CeO_2 .

Με την εισαγωγή του μεθανίου, η αντιοξειδωτική δράση μειώνεται ακολουθώντας τη σειρά $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$ (80 %) > $\text{a}_3\text{-CeO}_{2-x}$ (55 %) > $\text{a}_4\text{-CeO}_{2-x}$ (43 %) > $\text{a}_5\text{-CeO}_{2-x}$ (34 %). Η συγκρίσιμη με του ox-CeO_2 αντιοξειδωτική ικανότητα του $\text{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$ που αδρανοποιεί το 80 % των προσχηματισμένων ριζών οφείλεται πιθανότητα σε μια βέλτιστη συγκέντρωση επιφανειακών ατελειών $\text{Ce}^{3+}/\text{V}_{\text{os}}$.

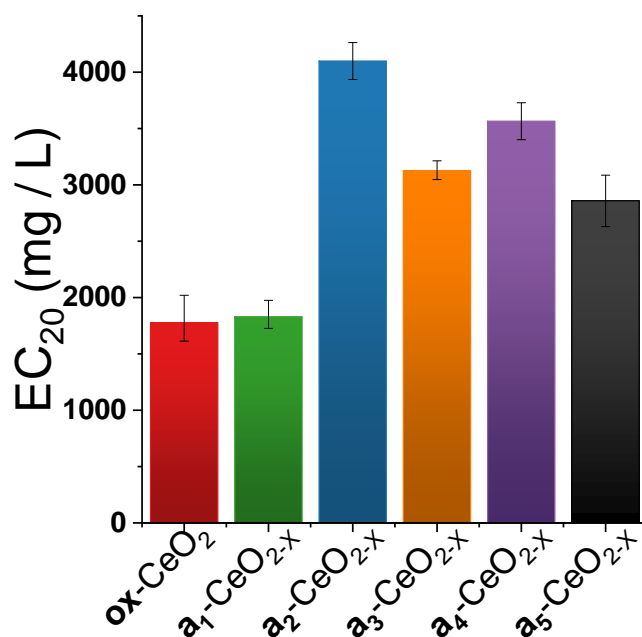


ΣΧΗΜΑ 2-70 Μέτρηση της μείωσης των προσχηματισμένων ριζών παρουσία των νανοϋλικών συναρτήσεως του χρόνου (όπου $t=1$ min) σε κάθε περίπτωση.

Η περίπτωση του υλικού a_1 -CeO_{2-x} διαφέρει, και η αντιοξειδωτική του ικανότητα που είναι ίση με 57 % είναι πιθανό να οφείλεται στην μερικώς ανηγμένη επιφάνειά του καθώς αναπτύχθηκε σε σύστημα απομονωμένο από το περιβαλλοντικό οξυγόνο. Ταυτόχρονα, είναι πιθανή η παρουσία άκαυστων μορίων διαλυτών, υπολειμμάτων της σύνθεσης σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου αλλά και χαμηλότερης θερμοκρασίας καθώς περίπτωση αυτού του υλικού, δεν εισήχθη μεθάνιο στη φλόγα.

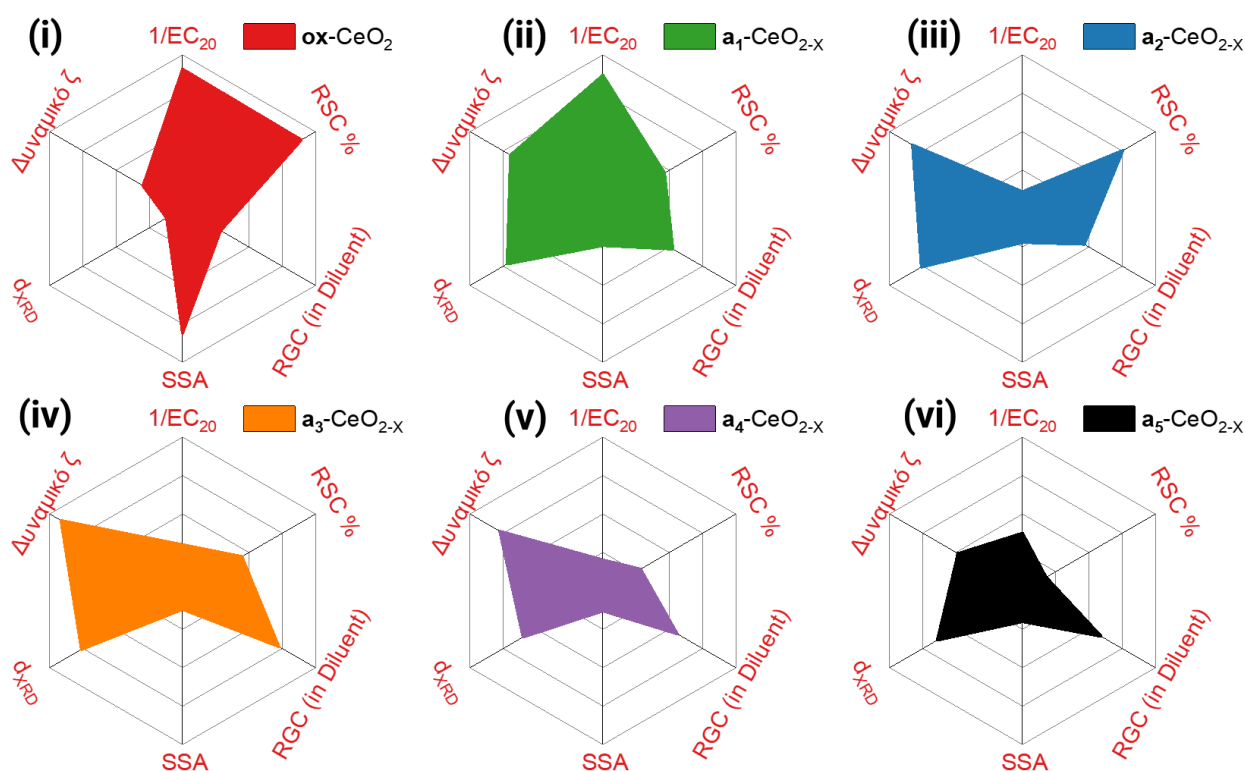
(vi) Αξιολόγηση τοξικότητας

Η αλλαγή των ιδιοτήτων της επιφάνειας συσχετίζεται άμεσα με τις νανο-βιο αλληλεπιδράσεις, καθορίζοντας το τοξικολογικό προφίλ των τεχνητών νανοσωματιδίων¹⁴. Η αξιολόγηση της τοξικότητας, από την πλευρά της, είναι πολύ σημαντική για την ελαχιστοποίηση των πιθανών δυσμενών επιπτώσεων στο οικοσύστημα και στην ανθρώπινη υγεία^{27,351}. Η μελέτη της *οξείας τοξικότητας*, που στην παρούσα εργασία μελετάται με τη μέθοδο Microtox είναι κρίσιμη για την ανίχνευση πιθανών τοξικών επιδράσεων των παρασκευασμένων νανοϋλικών σχεδόν αμέσως (δηλ., σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα) μετά την έκθεσή τους σε ένα μελετώμενο σύστημα. Αποτελούν κατ' αυτόν τον τρόπο το πρώτο και πολύ σημαντικό στάδιο αξιολόγησης της τοξικότητας κατά την ανάπτυξη νανοϋλικών βιομηχανικού ενδιαφέροντος¹⁴.



ΣΧΗΜΑ 2-71 Μελέτη οξείας τοξικότητας έναντι των βακτηρίων *Aliivibrio Fischeri* εκφρασμένη σε τιμές αποτελεσματικής συγκέντρωσης 20 % (EC₂₀).

Εδώ, μια σειρά μελετών οξείας τοξικότητας μετά από βραχυχρόνια έκθεση (15 λεπτά) πραγματοποιείται με τη χρήση της μεθόδου Microtox¹¹⁴ και εκφράζεται μέσω της ποσοτικοποίησης της βιο-φωταύγειας των μη παθογόνων θαλάσσιων βακτηρίων *Aliivibrio Fischeri*³⁵². Μείωση της βιο-φωταύγειας αντιστοιχεί σε θάνατο των κυττάρων¹¹⁴. Ακόμη, η οξεία τοξικότητα εκφράζεται ως αποτελεσματική συγκέντρωση (EC₂₀) που προκαλεί μείωση κατά 20% στην ένταση της φωταύγειας μετά από έκθεση στην τοξική ουσία.



ΣΧΗΜΑ 2-72 Διαγράμματα ραντάρ όλων των υλικών μεμονωμένα που δείχνουν τη συσχέτιση μεταξύ της τοξικότητας (1/EC₂₀), της αντιοξειδωτικής ικανότητας (% RSC), της ικανότητας παραγωγής ριζών σε υδατικό μέσο (RGC), της ειδικής επιφάνειας, του μεγέθους του σωματιδίου (dXRD), και του δυναμικού ζ. (i) ox-CeO₂, (ii) a₁-CeO_{2-x}, (iii) a₂-CeO_{2-x}, (iv) a₃-CeO_{2-x}, (v) a₄-CeO_{2-x}, και (vi) a₅-CeO_{2-x}.

Το **Σχήμα 2-71** παρουσιάζει τις τιμές αποτελεσματικής συγκέντρωσης EC₂₀, όλων των νανοϋλικών. Τα παραπάνω αποτελέσματα, δείχνουν σαφή μείωση της τοξικότητας στα ανοξικά υλικά σε σύγκριση με το ox-CeO₂, το οποίο έχει τιμή EC₂₀ ίση με 1777 mg/L. Στις νανοδομές που έχει εισαχθεί μεθάνιο φαίνεται σημαντική ελάττωση της τοξικότητας, αν και δεν ακολουθείται κάποια ειδική τάση αναλογικά με τον βαθμό της ανοξικότητας. Πιο συγκεκριμένα, το a₅-CeO_{2-x} παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή τοξικότητας ανάμεσα στις ανοξικές δομές ίση με 2858 mg/L (EC₂₀) και ακολουθεί το a₃-CeO_{2-x} με τιμή EC₂₀ ίση με 3126 mg/L. Η οξεία τοξικότητα, στη συνέχεια, μειώνεται παρουσία Υβριδικά Νανοϋλικά με Αντιοξειδωτικές Ιδιότητες για Ελεγχόμενη Τοξικότητα και Ασφάλεια | Φωτεινή Φράγκου (Διδακτορική Διατριβή)

του $a_4\text{-CeO}_{2-x}$, η τιμή EC_{20} του οποίου είναι 3565 mg/L. Ενδιαφέρον είναι ότι το $a_2\text{-CeO}_{2-x}$ είναι το λιγότερο τοξικό υλικό αφού η τιμή της αποτελεσματικής συγκέντρωσής του, EC_{20} , φτάνει τα 4099 mg/L. Τέλος, το $a_1\text{-CeO}_{2-x}$, παρουσιάζει ελαφρώς μειωμένη τοξική επίδραση, συγκρίσιμη με αυτή του $ox\text{-CeO}_2$, με τιμή EC_{20} 1829 mg/L.

Συνοψίζοντας, το $ox\text{-CeO}_2$ είναι το πιο τοξικό υλικό, το $a_2\text{-CeO}_{2-x}$ είναι το λιγότερο τοξικό υλικό, ενώ η οξεία τοξικότητα όλων των υλικών ακολουθεί τη σειρά:

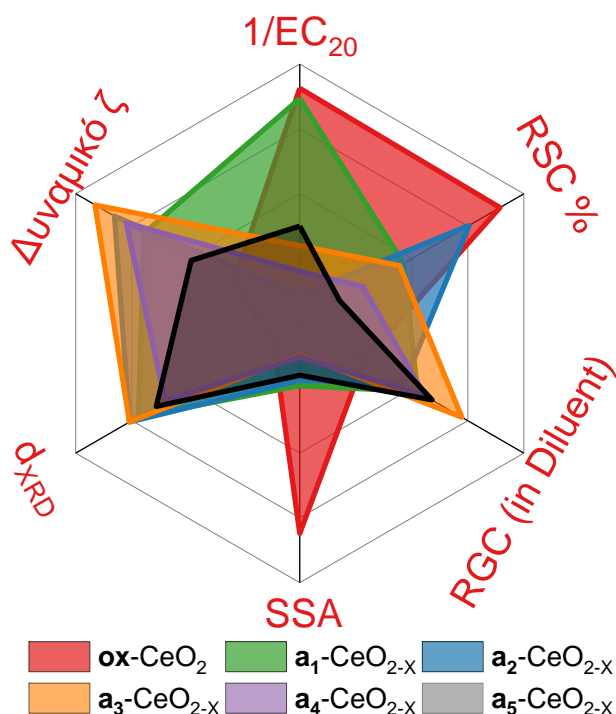
Τοξικό $ox\text{-CeO}_2 > a_1\text{-CeO}_{2-x} > a_5\text{-CeO}_{2-x} > a_3\text{-CeO}_{2-x} > a_4\text{-CeO}_{2-x} > a_2\text{-CeO}_{2-x}$ Μη τοξικό

Το **Σχήμα 2-72** απεικονίζει διαγράμματα ραντάρ των υλικών μεμονωμένα που δείχνουν τη συσχέτιση μεταξύ της τοξικότητας (που εκφράζεται ως το αντίστροφο της αποτελεσματικής συγκέντρωσης, $1/EC_{20}$), της (%) αντιοξειδωτικής τους ικανότητας (Radical Scavenging Capacity, RSC (%)), της ικανότητάς τους να παράγουν ρίζες $\cdot\text{OH}$ στο μη απαερωμένο αραιωτικό μέσο των βακτηρίων (Radical Generation Capacity, RGC), της ειδικής επιφάνειας (Specific Surface Area, SSA), του μεγέθους του σωματιδίου όπως υπολογίσθηκε θεωρητικά μέσω των δεδομένων της ανάλυσης XRD (d_{XRD}), και του δυναμικού ζ σε $pH=5$, δηλ. στο pH όπου αξιολογείται η τοξικότητα.

Από την ομοιότητα ή όχι των σχημάτων που δημιουργούνται για τα διαφορετικά υλικά, μπορεί άμεσα, οπτικά να εξαχθεί συμπέρασμα για το πώς αλλάζει η σχέση μεταξύ αυτών των έξι παραγόντων για κάθε υλικό και βάσει αυτού για το πόσο διαφορετικά είναι στην πραγματικότητα τα συγκρινόμενα υλικά μεταξύ τους.

Παρατηρώντας τα σχήματα (εξάγωνα) που σχηματίζει το κάθε υλικό στο Σχήμα 2-72, διακρίνεται η διαφορετική διαμόρφωση του κόκκινου (ii) εξαγώνου που αντιστοιχεί στο υλικό $ox\text{-CeO}_2$ σε σύγκριση με τα υπόλοιπα υλικά. Η μεγαλύτερη διαφοροποίηση υπάρχει στους άξονες του μεγέθους (d_{XRD}) και της ειδικής επιφάνειας (SSA), όπου σε όλα τα ανοξικά υλικά ανεξαρτήτως αυξάνεται και μειώνεται, αντίστοιχα. **Τα d_{XRD} και SSA μπορούν, επομένως, να θεωρούνται βασικοί παράγοντες μείωσης της τοξικότητας των ανοξικών υλικών.** Εξαίρεση αποτελεί το υλικό $a_1\text{-CeO}_{2-x}$, το εξάγωνο του οποίου διαφέρει σημαντικά σε σχέση με το $ox\text{-CeO}_2$ αν και εμφανίζουν συγκρίσιμες, υψηλές τιμές τοξικότητας. Η ομοιότητά του, ωστόσο, με τα υπόλοιπα (μη τοξικά) ανοξικά υλικά, υποδεικνύει έμμεσα την ύπαρξη επιπλέον παραγόντων που εντείνουν την τοξικότητά του. Η αυξημένη τοξικότητα του υλικού $a_1\text{-CeO}_{2-x}$ μπορεί να ερμηνευθεί με βάση τον τρόπο σύνθεσής του που οδηγεί σε μερική αναγωγή της επιφάνειάς αλλά και στην παρουσία άκαυστων μορίων διαλυτών, υπολειμμάτων της σύνθεσης σε κλειστό σύστημα ΠΨΦ χαμηλότερης θερμοκρασίας (χωρίς εισαγωγή μεθανίου που αυξάνει την ενθαλπία καύσης). Δευτερεύων παράγοντας, μπορεί να είναι, τέλος, η παρουσία απομονωμένων υδροξυλομάδων οι οποίες έχουν συσχετισθεί πειραματικά με την

τοξικότητα νανο-οξειδίων¹⁹⁶ και οι οποίες φαίνονται ως έντονες κορυφές του FT-IR στην περιοχή 3741 cm^{-1} and 3842 cm^{-2} . Το σημείο αυτό, ωστόσο, απαιτεί περισσότερη έρευνα.



ΣΧΗΜΑ 2-73 Διαγράμματα ραντάρ όλων των υλικών που δείχνουν τη συσχέτιση μεταξύ της τοξικότητας ($1/EC_{20}$), της αντιοξειδωτικής ικανότητας (% RSC), της ικανότητας παραγωγής ριζών σε υδατικό μέσο (RGC), της ειδικής επιφάνειας, του μεγέθους του σωματιδίου (d_{XRD}), και του δυναμικού ζ σε $pH=5$.

Από το Σχήμα 2-72 αλλά και το **Σχήμα 2-73** που παρουσιάζει συνδυαστικά τη συσχέτιση όλων των φυσικοχημικών δεδομένων με την τοξικότητα των μελετώμενων υλικών, εντοπίζουμε ακόμη, πως υπάρχει μεγάλη ομοιότητα μεταξύ των ανοξικών υλικών $a_3\text{-CeO}_{2-x}$ (πορτοκαλί) και $a_4\text{-CeO}_{2-x}$ (μωβ). Αν και, λόγω του μεγέθους και της ειδικής τους επιφάνειας, θεωρούνται πολύ λιγότερο τοξικά σε σχέση με το $ox\text{-CeO}_2$, η ελαφρώς υψηλότερη τοξικότητα του $a_3\text{-CeO}_{2-x}$ σε σχέση με το $a_4\text{-CeO}_{2-x}$ φαίνεται να οφείλεται κυρίως στο υψηλότερο επιφανειακό φορτίο αλλά και στην ικανότητα παραγωγής ROS στο μη απαερωμένο αραιωτικό μέσο των βακτηρίων (βλ. RGC in Diluent). Τέλος, παρατηρώντας τα εξάγωνα των ανοξικών υλικών $a_2\text{-CeO}_{2-x}$ (μπλε), $a_3\text{-CeO}_{2-x}$ (πορτοκαλί), $a_4\text{-CeO}_{2-x}$ (μωβ) και $a_5\text{-CeO}_{2-x}$ (μαύρο) σε παράθεση στο Σχήμα 2-73 και συγκεκριμένα τις κορυφές των τιμών RGC, d_{XRD} και δυναμικού ζ συμπεραίνεται ότι μεγαλύτερη τοξικότητα, απορρέει συνδυαστικά αλλά ακολουθώντας την εξής σειρά: πρώτα από το μικρό μέγεθος και τη μεγάλη ειδική επιφάνεια, δεύτερον

από την υψηλή ικανότητα παραγωγής ριζών σε διάλυμα και τρίτον από το υψηλό (θετικό) επιφανειακό φορτίο. Έτσι, στην περίπτωση του υλικού $a_2\text{-CeO}_{2-x}$ το μεγάλο μέγεθος του σωματιδίου, η χαμηλότερη ικανότητα παραγωγής ριζών, και το θετικό του επιφανειακό φορτίο είναι αυτά τα οποία συνθέτουν από κοινού το προφίλ χαμηλής τοξικότητας του υλικού.

Συνολικά, τα αποτελέσματα της μελέτης τοξικότητας επιβεβαιώνουν πως **η τοξικότητα είναι ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο καθώς** επηρεάζεται ταυτόχρονα από τα διαφορετικά δομικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά όπως το μέγεθος, η SSA, η παραγωγή ριζών σε δ/μα και το επιφανειακό φορτίο. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το ότι οι παράγοντες που ως σύνολο επηρεάζουν την τοξικότητα αν και μπορεί να ακολουθούν μια γενική τάση, δεν συσχετίζονται γραμμικά με την τοξικότητα όταν μελετώνται ως μονάδες (π.χ. μέγεθος σωματιδίων, ικανότητα παραγωγής ριζών σε δ/μα).

2.4.1. Σύνοψη - Μερικά Συμπεράσματα

Μελετήθηκαν τα οξειδία του δημητρίου (CeO_2), τα οποία ως σημαντικά τεχνολογικά νανοϋλικά βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στη βιομηχανία. Η τοξικότητά τους έναντι βακτηρίων αλλά και η ικανότητα αδρανοποίησης ελευθέρων ριζών σε διάλυμα μελετήθηκε σε σχέση με τα δομικά και φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά.

Η σύνθεση μιας σειράς ανοξικών νανο-δομών ($\mathbf{a}\text{-CeO}_{2-x}$) σε ένα κλειστό, ελεγχόμενο περιβάλλον ελλειπούς συγκέντρωσης οξυγόνου (\mathbf{a} =ανοξική δομή), η λεπτομερής μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων και της τοξικότητάς τους, και η σύγκριση αυτών με τις αντίστοιχες ενός υλικού συντεθειμένου σε μη-αναερόβιες συνθήκες ($\mathbf{ox}\text{-CeO}_2$, όπου \mathbf{ox} =οξειδωμένη δομή), οδήγησε στις παρακάτω παρατηρήσεις:

- (i) Όλα τα υλικά παρουσιάζουν οξειδοαναγωγική ικανότητα παράγοντας ρίζες $\bullet\text{OH}$ όταν έρθουν σε επαφή με ένα υδατικό μέσο.
- (ii) Όλα τα νανοϋλικά ακολουθούν την ίδια τάση στην ικανότητα παραγωγής ριζών παρουσία H_2O_2 και την ικανότητα αδρανοποίησης προσχηματισμένων ριζών $\bullet\text{OH}$ και $\bullet\text{OOH}$.
- (iii) Κατά την ανοξική σύνθεση ευνοείται ο σχηματισμός περισσότερων ατελειών του κρυσταλλικού πλέγματος όπως κέντρων Ce^{3+} και κενών θέσεων οξυγόνου (V_{os}), που μεταβάλλουν τα δομικά και επιφανειακά χαρακτηριστικά των υλικών. Η μεγάλη επίδραση προέρχεται από τα κέντρα Ce^{3+} , τα οποία σε μεγάλες συγκεντρώσεις αποκτούν διαμορφώσεις τύπου-συστάδων.
- (iv) Η συγκέντρωση ατελειών του πλέγματος είναι μέγιστη σε ενδιάμεσες τιμές ανοξικότητας.
- (v) Η αντιοξειδωτική δράση μειώνεται αναλογικά της αύξησης της ανοξικότητας της δομής και επηρεάζεται κυρίως από την ύπαρξη ατελειών στην επιφάνεια των υλικών, με την πλήρως οξειδωμένη δομή $\mathbf{ox}\text{-CeO}_2$ να αδρανοποιεί προσχηματισμένες ρίζες $\bullet\text{OH}$ και $\bullet\text{OOH}$ κατά 92 %.
- (vi) Η εισαγωγή ατελειών στο πλέγμα οδηγεί σε δομικές διαφοροποιήσεις (όπως μεταβολή μεγέθους και επιφανειακού φορτίου) που συνδυαστικά με την χαμηλότερη ικανότητα παραγωγής ριζών σε διάλυμα μειώνουν σημαντικά την τοξικότητα των ανοξικών υλικών.

Τέλος, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης επιβεβαιώνουν πως η τοξικότητα και η αντιοξειδωτική δράση είναι δύο μη αμοιβαία αλληλοαποκλειόμενες ιδιότητες που μπορούν να συνυπάρχουν ταυτόχρονα στα υλικά νανοσίριας. Στο πλαίσιο αυτό, **η νανο-δομή $\mathbf{a}_2\text{-CeO}_{2-x}$ μεσαίας ανοξικότητας, η οποία χαρακτηρίζεται από την χαμηλότερη τοξικότητα σε σχέση με όλα τα**

υπόλοιπα υλικά, ενώ διατηρεί ταυτόχρονα μια πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση (80 %), μπορεί να θεωρηθεί βέλτιστο υλικό.

Κεφάλαιο Τρίτο | Συμπεράσματα

3. Συμπεράσματα

Η εκτεταμένη βιομηχανική παραγωγή νανοϋλικών για εφαρμογές και η αναμενόμενη εν πολλοίς διαρροή τους στο περιβάλλον έφερε στο προσκήνιο τους κινδύνους που προκύπτουν από την ελλιπή αξιολόγηση της τοξικότητάς τους. Στο πλαίσιο αυτό, **η ανάπτυξη νανοϋλικών ασφαλών για χρήση** αποτελεί αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης τα τελευταία χρόνια, καθώς γίνεται προσπάθεια να ελαχιστοποιηθεί η βλαβερή δράση τους προς τον άνθρωπο και το περιβάλλον.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής γίνεται μια στοχευμένη μελέτη της **σχέσης δομής-δραστηριότητας**, νανοϋλικών SiO_2 , CeO_2 και **ανόργανων υβριδικών δομών C-SiO₂** καθώς χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία, προσανατολισμένη κυρίως στο **να εντοπιστούν οι παράγοντες που τους προσδίδουν τοξικότητα και να προταθούν κατάλληλες μέθοδοι παραγωγής που θα εξασφαλίζουν την ασφαλή χρήση τους**. Η εργασία αυτή, εστιάζει στη λεπτομερή μελέτη (α) της δομής και των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των νανοϋλικών, όπως *μέγεθος, βαθμό συσσωμάτωσης, ειδική επιφάνεια, επιφανειακό φορτίο, πορώδες, μορφολογία*, αλλά και (β) σε ειδικότερες ιδιότητες όπως *η ικανότητα παραγωγής ριζών, η δραστηριότητα σταθερών ριζών* που φέρει η επιφάνειά τους (C-SiO₂) ή στην περίπτωση των υλικών CeO₂ *η αντιοξειδωτική τους ικανότητα*. Τα δομικά χαρακτηριστικά τους συνδυάζονται με την αξιολόγηση της οξείας τοξικότητάς τους έναντι μη παθογόνων βακτηρίων που ζουν σε υδατικά συστήματα (*Aliivibrio Fischeri*) και γίνεται προσπάθεια να εντοπισθούν οι βασικοί παράγοντες που εκκινούν την τοξική δράση τους, όπου αυτή εντοπίζεται. Αυτή η ερευνητική προσέγγιση είναι στο πλαίσιο της φιλοσοφίας “Safe-by-Design” και τελικώς **προτείνεται για κάθε κατηγορία υλικών τουλάχιστον μια βέλτιστη μεθοδολογία σύνθεσης για τον έλεγχο της παρατηρούμενης τοξικότητάς τους**.

Η πρώτη οικογένεια νανοϋλικών που μελετήθηκαν διεξοδικά είναι αυτή της νανοπυριτίας, ή σίλικας (SiO_2), ένα νανοϋλικό που αποτελεί συστατικό πολυάριθμων εμπορικά διαθέσιμων προϊόντων που έρχονται σε επαφή με τον άνθρωπο (τρόφιμα, φάρμακα, προϊόντα καθημερινής χρήσης κ.ά.). Αν και τα υλικά σίλικας παράγονται βιομηχανικά εδώ και δεκαετίες, μόλις τα τελευταία χρόνια άρχισε να αξιολογείται συστηματικά το τοξικολογικό τους προφίλ. Μέχρι στιγμής, αν και αναμένεται ότι πολλοί παράγοντες μπορούν να μεταβάλλουν την τοξικότητα της νανοπυριτίας, η παραγωγή ROS κατέχει κρίσιμη θέση μεταξύ αυτών.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, μελετήθηκαν υλικά νανοπυριτίας που αναπτύχθηκαν μέσω της τεχνικής της Πυρόλυσης Ψεκασμού Φλόγας (ΠΨΦ) σε διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας. Πιο συγκεκριμένα, μελετώνται τρία είδη σίλικας: μια δομή που έχει συντεθεί σε

συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας, και κωδικοποιείται ως SiO_2 , μια δομή που έχει συντεθεί σε περιβάλλον χαμηλής θερμοκρασίας, $r\text{SiO}_2$, όπου το πρόθεμα r προέρχεται από τη διάταξη δακτυλίου χαμηλής θερμοκρασίας που χρησιμοποιήθηκε (ring), και ένα μικό υλικό των δύο παραπάνω μορφών, τύπου πυρήνα-κελύφους, το $r\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$, με πυρήνα την υψηλής θερμοκρασίας SiO_2 και κέλυφος από τη χαμηλής θερμοκρασίας $r\text{SiO}_2$. Μελετάται επιπλέον η επίδραση στη δραστηριότητά τους μιας μετα-συνθετικής χημικής τροποποίησης της επιφάνειάς τους. Τα τροποποιημένα υλικά, συμβολίζονται με το γράμμα **p**- από τη λέξη **p**assivation.

Πρόσφατα, η τοξικότητα της *καπνοπυριτίας* (δηλ. νανοσίλικας που έχει συντεθεί μέσω φλόγας και όχι υγρής μεθόδου) συσχετίστηκε άμεσα με την ύπαρξη δραστικών τριμελών σιλοξανικών δακτυλίων (3MRs) στο πυριτικό πλέγμα που εμπλέκονται στην παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (ελευθέρων ριζών υδροξυλίου). Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας επιβεβαιώνουν πως **η ύπαρξη λιγότερο τεταμένων σιλοξανικών δακτυλίων μεγαλύτερης έκτασης, δηλαδή τετραμελών (4MRs), πενταμελών (5MRs), εξαμελών (6MRs) κ.ο.κ., μειώνει την παραγωγή ROS και την οξεία τοξικότητα** των υλικών. Επιβεβαιώνονται επίσης δεδομένα της βιβλιογραφίας καθώς συνδέεται άμεσα η θερμοκρασία της σύνθεσης με τη δομή του πυριτικού πλέγματος και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της επιφάνειας. Η ταυτόχρονη μελέτη της δομής μέσω Raman, της ικανότητας παραγωγής ριζών μέσω EPR και της οξείας τοξικότητας με τη μέθοδο Microtox αποδεικνύεται πως **όσο περισσότερους τριμελείς δακτυλίους περιέχει το πυριτικό πλέγμα τόσο αυξάνονται η ικανότητα παραγωγής ROS που οδηγούν σε οξεία τοξικότητα**. Ακόμη, η μείωση της ικανότητας παραγωγής ριζών είναι ανάλογη με:

- (iii) Την αύξηση του μεγέθους των σιλοξανικών δακτυλίων (κύριος παράγοντας)
- (iv) Τη μείωση της ειδικής επιφάνειας (SSA) (δευτερεύων παράγοντας).

Αποδεικνύεται ακόμη, πως η θερμοκρασία της σύνθεσης επηρεάζει το μέγεθος, την ειδική επιφάνεια και το επιφανειακό φορτίο των νανοϋλικών.

Προτείνονται, δύο πιθανές μέθοδοι για την παραγωγή λιγότερο τοξικής νανοσίλικας: μια διαδικασία ΠΨΦ ενός σταδίου **σε χαμηλή θερμοκρασία** και μια διαδικασία δύο σταδίων που περιλαμβάνει ένα επιπλέον βήμα υγρής κατεργασίας. Από άποψη δομής, και οι δύο μέθοδοι οδηγούν στο ίδιο αποτέλεσμα, το οποίο είναι **ο σχηματισμός μεγαλύτερων δακτυλίων σιλοξανίων, οι οποίοι με τη σειρά τους οδηγούν σε μείωση της παραγωγής ROS και ελαχιστοποίηση της οξείας τοξικότητας** έναντι βακτηρίων. Μεταξύ των υλικών νανοπυριτίας που αναπτύχθηκαν, **η νανοσίλικα χαμηλής θερμοκρασίας $r\text{SiO}_2$ μπορεί να θεωρηθεί ως βέλτιστο υλικό**, είτε ως έχει είτε μετά από ένα απλό βήμα ενυδάτωσης.

Από τεχνολογικής άποψης, τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης προτείνουν ότι χρησιμοποιώντας την βιομηχανική τεχνολογία ΠΨΦ, μπορούμε να παρασκευάσουμε υλικά νανοπυριτίας σε ένα βήμα, ασφαλέστερα από το σχεδιασμό τους, και επιπλέον να παραλείψουμε μετασυνθετικές υγρές κατεργασίες χρησιμοποιώντας μόνο μια απλή, εναλλακτική διαμόρφωση του αντιδραστήρα. Επομένως, η προτεινόμενη προσέγγιση κρίνεται ότι είναι οικονομικά αποδοτική, κατάλληλη για παραγωγή νανοπυριτίας χαμηλής τοξικότητας σε μεγάλη κλίμακα.

Η δεύτερη κατηγορία νανοϋλικών βιομηχανικού ενδιαφέροντος που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή είναι οι υβριδικές νανοδομές άνθρακα-σίλικας (C-SiO₂) που αναπτύχθηκαν μέσω ΠΨΦ σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου. Πιο συγκεκριμένα, μια σειρά επτά υβριδικών νανοϋλικών C-SiO₂ με αυξανόμενη συγκέντρωση άνθρακα που προέρχεται από μεθάνιο (η οποία συμβολίζεται με αυξανόμενο αριθμό του δείκτη C_x-SiO₂, όπου x=1-7) μελετήθηκαν ως προς τα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά και την τοξικότητά τους συγκρινόμενα με μια SiO₂ αναφοράς.

Η ταυτόχρονη μελέτη μέσω Raman, και FT-IR δείχνει πως **η ελεγχόμενη έλλειψη οξυγόνου και η εισαγωγή μεθανίου κατά τη σύνθεση οδηγεί σε δομική διαφοροποίηση** σε σύγκριση με την κλασική καπνοπυριτία, όπως σταθερά συσσωματώματα ενός μεγέθους και πιο αρνητικές τιμές δυναμικού ζ. Ταυτόχρονα, η μελέτη μέσω XRD και TEM αποδεικνύει πως **όλα τα υλικά διατηρούν μια άμορφη δομή**. Επιπλέον, σύμφωνα με τα δεδομένα του Raman, ενώ το πυριτικό πλέγμα διατηρεί μικρές δομές σιλοξανικών δακτυλίων (3MRs, 4MRs), **άτομα άνθρακα αφομοιώνονται στο πλέγμα** και εντοπίζεται η δημιουργία δεσμών Si-C. Οι αναλύσεις δυναμικού ζ, TEM και Raman δείχνουν συνδυαστικά πως **ο άνθρακας είναι παρόν τόσο στο εσωτερικό του πυριτικού πλέγματος όσο και στην επιφάνεια του υλικού**. **Η παρουσία** τόσο **εμάδων ανθράκων sp²** όσο και **sp³** οδηγεί σε **παραμόρφωση του πυριτικού πλέγματος**, ενώ μεγάλη επίδραση στο επιφανειακό φορτίο παρουσιάζουν **οι επιφανειακές ομάδες ≡S-COOH που επικαλύπτουν την ικανότητα πρωτονίωσης/αποπρωτονίωσης των επιφανειακών ομάδων ≡S-OH**.

Η μελέτη EPR, δείχνει επιπλέον πως **οι ενσωματωμένες στο πυριτικό πλέγμα ομάδες άνθρακα φέρουν σταθερές ρίζες, τα σπιν των οποίων εντοπίζονται κατά κύριο λόγο στις sp² περιοχές**. Από την άλλη πλευρά, **η ικανότητα παραγωγής ROS (κυρίως ριζών υδροξυλίου) μειώνεται σημαντικά, κατά έναν παράγοντα 10⁻³ σε σχέση με τα καθαρά νανοϋλικά SiO₂**. Ακόμη, διαφορετικοί τρόποι εισαγωγής του μεθανίου κατά τη σύνθεση οδηγούν σε δύο διακριτές διαδικασίες για την ελεγχόμενη ενσωμάτωση άνθρακα στο πυριτικό πλέγμα.

Η μελέτη Microtox και η πολυπαραμετρική ανάλυση μέσω της οποίας συσχετίζονται όλα τα δεδομένα δομής, δραστηριότητας και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών με την τοξικότητα έδειξαν πως

η βιοκτόνος δράση των C-SiO₂ δεν οφείλεται σε έναν μεμονωμένο παράγοντα. Αντίθετα, η ποσότητα του ενσωματωμένου άνθρακα, το είδος του, το επιφανειακό φορτίο και η ειδική επιφάνεια καθορίζουν συνεργιστικά την τοξική δράση των υλικών. Σημειώνεται ως ιδιαίτερα σημαντικό το γεγονός ότι αντίθετα με ότι συμβαίνει στις δομές καθαρής νανοπυριτίας, η ικανότητα παραγωγής ROS δεν είναι ο κύριος παράγοντας που εκκινεί την βιοκτόνο δράση των υβριδικών νανοδομών άνθρακα-SiO₂. Ομοίως, η τοξικότητα είναι ανεξάρτητη των σταθερών ριζών με βάση τον άνθρακα που φέρουν οι ενσωματωμένες στο πυριτικό πλέγμα μονάδες C. Στο παραπάνω πλαίσιο, η υβριδική δομή C₂-SiO₂ μπορεί να θεωρηθεί βέλτιστη, καθώς παρουσιάζει τη χαμηλότερη τοξικότητα.

Η τελευταία οικογένεια νανοϋλικών που μελετήθηκαν είναι τα οξειδία του δημητρίου (CeO₂), τα οποία αποτελούν μια ιδιαίτερη κατηγορία τεχνολογικών νανοϋλικών που βρίσκουν ευρεία εφαρμογή λόγω της οξειδοαναγωγικής δράσης της επιφάνειάς τους. Εδώ, η ειδική δραστηριότητά τους, που μελετάται σε σχέση με τα δομικά και φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά δεν περιλαμβάνει μόνο την τοξικότητά τους αλλά και την αντιοξειδωτική τους δράση.

Στο πλαίσιο αυτό, μελετάται μια σειρά νανοδομών που αναπτύχθηκαν μέσω ΠΨΦ σε ένα κλειστό, ελεγχόμενο περιβάλλον ελλειπούς συγκέντρωσης οξυγόνου τα οποία συμβολίζονται με το γράμμα **a** (=ανοξική δομή) ως a_i-CeO_{2-x}, όπου i=1-5. Η λεπτομερής μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων και της τοξικότητάς τους, και η σύγκριση αυτών με τις αντίστοιχες ενός υλικού συνθεμένου σε μη-αναερόβιες συνθήκες (ox-CeO₂, όπου ox=οξειδωμένη δομή), οδήγησε στις παρακάτω παρατηρήσεις:

Όλα τα υλικά παρουσιάζουν οξειδοαναγωγική ικανότητα όταν έρθουν σε επαφή με ένα υδατικό μέσο. Πιο συγκεκριμένα, όταν διαχέονται σε υδατικό διάλυμα τόσο παρουσία υψηλής (μη απαερωμένο) όσο και παρουσία χαμηλής (απαερωμένο) συγκέντρωσης διαλυμένου οξυγόνου, όλα τα νανοϋλικά σίριας παράγουν ρίζες υδροξυλίου χωρίς ωστόσο να ακολουθούν μια συγκεκριμένη τάση. Ακόμη, τα νανοϋλικά παράγουν ρίζες παρουσία H₂O₂, με την ικανότητα παραγωγής ριζών να μειώνεται αναλογικά με την αύξηση της ανοξικότητας. Στην περίπτωση του υλικού a₁-CeO_{2-x} (που έχει συνθεθεί σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου αλλά και σε χαμηλότερη θερμοκρασία λόγω έλλειψης μεθανίου) δεν ακολουθείται η τάση των υπόλοιπων ανοξικών υλικών αλλά παρατηρείται η χαμηλότερη παραγωγή ριζών που είναι ίση με ~27 μmoles •OH / g υλικού.

Σύμφωνα με τα δεδομένα της μελέτης Raman, τα ανοξικά υλικά περιέχουν μεγαλύτερο αριθμό ατελειών του κρυσταλλικού πλέγματος όπως παραμαγνητικά κέντρα Ce³⁺ και κενές θέσεις οξυγόνου (V_{os}), που μεταβάλλουν τα δομικά και επιφανειακά χαρακτηριστικά τους. Σημαντικό εύρημα αποτελεί το ότι οι ατέλειες του πλέγματος είναι μέγιστες σε ενδιάμεσες τιμές

ανοξικότητας. Τονίζεται πως η μεγαλύτερη επίδραση στη δομή των υλικών προέρχεται από **τα κέντρα Ce^{3+}** , τα οποία σύμφωνα με τη μελέτη EPR **σε μεγάλες συγκεντρώσεις αποκτούν διαμορφώσεις τύπου-συστάδων (cluster-type)**, γεγονός που αντανακλάται στο «φάρδεμα» των πειραματικών σημάτων EPR και τη μείωση της έντασής τους λόγω φαινομένων ανταλλαγής σπιν.

Επιπλέον, η **οξειδωμένη νανοδομή $ox-CeO_2$ παρουσιάζει την υψηλότερη ικανότητα αδρανοποίησης** των προσχηματισμένων (μέσω συστήματος Fe^{2+} και H_2O_2 βάσει της αντίδρασης Fenton) **ριζών $\bullet OH$ και $\bullet OOH$** , που είναι ίση με **92 %**. Η ισχυρή αυτή αντιοξειδωτική δράση, οφείλεται πιθανότητα στην παρουσία των κέντρων Ce^{3+} που δεν ακολουθούν διαμορφώσεις τύπου-συστάδων διευκολύνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την οξειδοαναγωγική ικανότητα του υλικού. **Η αντιοξειδωτική δράση μειώνεται αναλογικά της εισαγωγής μεθανίου στη δομή κατά τη σύνθεση,** και πιθανώς επηρεάζεται από την ύπαρξη ατελειών στην επιφάνεια των υλικών ακολουθώντας τη σειρά a_2-CeO_{2-x} (80 %) > a_3-CeO_{2-x} (55 %) > a_4-CeO_{2-x} (43 %) > a_5-CeO_{2-x} (34 %). Η συγκρίσιμη με του $ox-CeO_2$ αντιοξειδωτική ικανότητα του a_2-CeO_{2-x} που αδρανοποιεί το 80 % των προσχηματισμένων ριζών οφείλεται πιθανότητα σε μια βέλτιστη συγκέντρωση επιφανειακών ατελειών Ce^{3+}/V_{os} . Όμοια με την περίπτωση της ικανότητας παραγωγής ριζών παρουσία H_2O_2 , η περίπτωση του υλικού a_1-CeO_{2-x} διαφέρει ξανά, καθώς παρουσιάζει χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα που είναι ίση με 57 %. Η ιδιότητά του αυτή αποδίδεται στην μερικώς ανηγμένη επιφάνειά του καθώς αναπτύχθηκε σε σύστημα απομονωμένο από το περιβαλλοντικό οξυγόνο. Ταυτόχρονα, είναι πιθανή η παρουσία άκαυστων μορίων διαλυτών, υπολειμμάτων της σύνθεσης σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου αλλά και χαμηλότερης θερμοκρασίας καθώς στην περίπτωση αυτού του υλικού, δεν εισήχθη μεθάνιο στη φλόγα. Τονίζεται πως **όλα τα νανοϋλικά ακολουθούν την ίδια τάση στην ικανότητα παραγωγής ριζών παρουσία H_2O_2 και ικανότητα αδρανοποίησης προσχηματισμένων ριζών**, δηλ. χαμηλή ικανότητα παραγωγής ROS και χαμηλή αντιοξειδωτική δράση του a_1-CeO_{2-x} , ενώ και οι δύο δράσεις είναι μέγιστες στο υλικό $ox-CeO_2$, συγκρίσιμη όμως με αυτές του a_2-CeO_{2-x} και μειώνονται αναλογικά με την αύξηση της ανοξικότητας των υλικών (από το a_2 στο a_5).

Όμοιως με τα προηγούμενα υλικά, η μελέτη Microtox και η πολυπαραμετρική συσχέτιση της δομής, δραστηριότητας και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών με την τοξικότητα επιβεβαιώνουν πως η τοξικότητα των νανοϋλικών CeO_2 είναι πολυπαραγοντικό φαινόμενο. **Η εισαγωγή ατελειών του πλέγματος οδηγεί σε δομικές διαφοροποιήσεις, με σημαντικότερη την αύξηση μεγέθους και μείωση της ειδικής επιφάνειας, που μειώνουν σημαντικά (τουλάχιστον στο μισό) την τοξικότητα των ανοξικών υλικών σε σχέση με τις οξειδωμένες δομές.** Η ικανότητα παραγωγής ριζών σε υδατικό μέσο δεν καθορίζει μεμονωμένα την τοξικότητα των υλικών.

Στο πλαίσιο αυτό, η **νανο-δομή $a_2\text{-CeO}_{2-x}$** , η οποία χαρακτηρίζεται από χαμηλή τοξικότητα ενώ διατηρεί ταυτόχρονα την αντιοξειδωτική της δράση, μπορεί να θεωρηθεί βέλτιστο υλικό. Τέλος, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αποδεικνύουν πως η τοξικότητα και η αντιοξειδωτική δράση είναι δύο ιδιότητες που μπορούν να υφίστανται ταυτόχρονα σε υλικά νανοσίριας.

Βιβλιογραφία

1. Day P, Interrante L, West A. What Is “Materials Chemistry?” *Chem Int – Newsmag IUPAC*. 2009;31(3):9-13. doi:10.1515/ci.2009.31.3.4
2. Gemenetzi A, Deligiannakis Y, Louloudi M. Controlled Photoplasmonic Enhancement of H₂ Production via Formic Acid Dehydrogenation by a Molecular Fe Catalyst. *ACS Catal*. 2023;13(14):9905-9917. doi:10.1021/acscatal.3c01925
3. Δεληγιαννάκης Ι. Υλικά Και Περιβάλλον. 2η έκδοση. Εκδόσεις Τζιόλα; 2022.
4. Feynman RP. There’s Plenty of Room at the Bottom: An Invitation to Enter a New Field of Physics*. *Handb Nanosci Eng Technol Third Ed*. Published online 2012:3-12. doi:10.1201/9781315217178-6
5. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. *Molecules*. 2020;25(1):1-15. doi:10.3390/molecules25010112
6. Binnig G, Rohrer H, Gerber C, Weibel E. Tunneling through a controllable vacuum gap. *Appl Phys Lett*. 1982;40(2):178-180. doi:10.1063/1.92999
7. Sakai K. Atomic Force Microscope (AFM). *Meas Tech Pract Colloid Interface Phenom*. 2019;56(9):51-57. doi:10.1007/978-981-13-5931-6_8
8. Barhoum A, García-Betancourt ML, Jeevanandam J, et al. Review on Natural, Incidental, Bioinspired, and Engineered Nanomaterials: History, Definitions, Classifications, Synthesis, Properties, Market, Toxicities, Risks, and Regulations. *Nanomaterials*. 2022;12(2). doi:10.3390/nano12020177
9. Lespes G, Faucher S, Slaveykova VI. Natural Nanoparticles, Anthropogenic Nanoparticles, Where Is the Frontier? *Front Environ Sci*. 2020;8(May):1-5. doi:10.3389/fenvs.2020.00071
10. Salata O V. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnology*. 2004;6(3):1-6. doi:10.1186/1477-3155-2-12
11. Griffin S, Masood MI, Nasim MJ, et al. Natural nanoparticles: A particular matter inspired by nature. *Antioxidants*. 2018;7(1). doi:10.3390/antiox7010003
12. Bhatt I, Tripathi BN. Interaction of engineered nanoparticles with various components of the environment and possible strategies for their risk assessment. *Chemosphere*. 2011;82(3):308-317. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.10.011
13. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*. 2007;2(4):MR17-MR71. doi:10.1116/1.2815690
14. He X, Aker WG, Fu PP, Hwang HM. Toxicity of engineered metal oxide nanomaterials mediated by nano-bio-eco-interactions: A review and perspective. *Environ Sci Nano*. 2015;2(6):564-582. doi:10.1039/c5en00094g
15. Baig N, Kammakam I, Falath W, Kammakam I. Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. *Mater Adv*. 2021;2(6):1821-1871. doi:10.1039/d0ma00807a
16. Kwon EJ, Lo JH, Bhatia SN. Smart nanosystems: Bio-inspired technologies that interact with the host environment. *Proc Natl Acad Sci*. 2015;112(47):14460-14466. doi:10.1073/pnas.1508522112
17. Katiyar NK, Goel G, Hawi S, Goel S. Nature-inspired materials: Emerging trends and prospects. *NPG Asia Mater*. 2021;13(1):56. doi:10.1038/s41427-021-00322-y
18. Gong Z, Zhang Y, Yu X. Review on Bio-inspired Materials with Nanotechnology Applications in Medical Devices. *J Phys Conf Ser*. 2021;1948(1):012227. doi:10.1088/1742-6596/1948/1/012227
19. Χαριτίδης Κ. Νανοδομές & Νανοϋλικά. Σύνθεση, Ιδιότητες & Εφαρμογές. Published online 2011:335.

20. Park E, Kim YE, Song J, Park MS, Kim H. Biphasic silicon oxide nanocomposites as high-performance lithium storage materials. *J Mater Chem A*. 2019;7(26):15621-15626. doi:10.1039/c9ta04493k
21. Wang F, Liu X. Multicolor tuning of lanthanide-doped nanoparticles by single wavelength excitation. *Acc Chem Res*. 2014;47(4):1378-1385. doi:10.1021/ar5000067
22. Liu B, Hu X. *Hollow Micro- and Nanomaterials: Synthesis and Applications*. Elsevier Inc.; 2020. doi:10.1016/B978-0-12-814796-2.00001-0
23. Gao C, Lyu F, Yin Y. Encapsulated Metal Nanoparticles for Catalysis. *Chem Rev*. 2021;121(2):834-881. doi:10.1021/acs.chemrev.0c00237
24. Khedr A, Striolo A. Self-assembly of mono- And poly-dispersed nanoparticles on emulsion droplets: Antagonistic: vs. synergistic effects as a function of particle size. *Phys Chem Chem Phys*. 2020;22(39):22662-22673. doi:10.1039/d0cp02588g
25. Fu PP, Xia Q, Hwang HM, Ray PC, Yu H. Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species. *J Food Drug Anal*. 2014;22(1):64-75. doi:10.1016/j.jfda.2014.01.005
26. Sukhanova A, Bozrova S, Sokolov P, Berestovoy M, Karaulov A, Nabiev I. Dependence of Nanoparticle Toxicity on Their Physical and Chemical Properties. *Nanoscale Res Lett*. 2018;13(1):44. doi:10.1186/s11671-018-2457-x
27. Ganguly P, Breen A, Pillai SC. Toxicity of Nanomaterials: Exposure, Pathways, Assessment, and Recent Advances. *ACS Biomater Sci Eng*. 2018;4(7):2237-2275. doi:10.1021/acsbio.2018.00068
28. Weiss M, Fan J, Claudel M, et al. Density of surface charge is a more predictive factor of the toxicity of cationic carbon nanoparticles than zeta potential. *J Nanobiotechnology*. 2021;19(1):1-18. doi:10.1186/s12951-020-00747-7
29. Huang H-J, Lee Y-H, Hsu Y-H, Liao C-T, Lin Y-F, Chiu H-W. Current Strategies in Assessment of Nanotoxicity: Alternatives to In Vivo Animal Testing. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8):4216. doi:10.3390/ijms22084216
30. Pinto FCM, De-Oliveira ACAX, De-Carvalho RR, et al. Acute toxicity, cytotoxicity, genotoxicity and antigenotoxic effects of a cellulosic exopolysaccharide obtained from sugarcane molasses. *Carbohydr Polym*. 2016;137:556-560. doi:10.1016/j.carbpol.2015.10.071
31. Akçan R, Aydoğan HC, Yildirim MŞ, Taştekin B, Sağlam N. Nanotoxicity: A challenge for future medicine. *Turkish J Med Sci*. 2020;50(4):1180-1196. doi:10.3906/sag-1912-209
32. Kumah EA, Fopa RD, Harati S, Boadu P, Zohoori FV, Pak T. Human and environmental impacts of nanoparticles: a scoping review of the current literature. *BMC Public Health*. 2023;23(1). doi:10.1186/s12889-023-15958-4
33. Rajeshkumar S, Naik P. Synthesis and biomedical applications of Cerium oxide nanoparticles – A Review. *Biotechnol Reports*. 2018;17(October 2017):1-5. doi:10.1016/j.btre.2017.11.008
34. Wang Z, Shen X, Gao X, Zhao Y. Simultaneous enzyme mimicking and chemical reduction mechanisms for nanoceria as a bio-antioxidant: a catalytic model bridging computations and experiments for nanozymes. *Nanoscale*. 2019;11(28):13289-13299. doi:10.1039/c9nr03473k
35. Abuid NJ, Gattás-Asfura KM, LaShoto DJ, Poulos AM, Stabler CL. Biomedical applications of cerium oxide nanoparticles: a potent redox modulator and drug delivery agent. In: *Nanoparticles for Biomedical Applications*. Elsevier; 2020:283-301. doi:10.1016/b978-0-12-816662-8.00017-5
36. Bondarenko O, Juganson K, Ivask A, Kasemets K, Mortimer M, Kahru A. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: A critical review. *Arch Toxicol*. 2013;87(7):1181-1200. doi:10.1007/s00204-013-1079-4
37. Nel AE, Mädler L, Velegol D, et al. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nat Mater*. 2009;8(7):543-557. doi:10.1038/nmat2442
38. Zhao H, Wang Y, Bao L, Chen C. Engineering Nano–Bio Interfaces from Nanomaterials to Nanomedicines. *Accounts Mater Res*. 2022;3(8):812-829. doi:10.1021/accoumsr.2c00072

39. Nel A, Xia T, Meng H, et al. Nanomaterial Toxicity Testing in the 21st Century: Use of a Predictive Toxicological Approach and High-Throughput Screening. *Acc Chem Res.* 2013;46(3):607-621. doi:10.1021/ar300022h
40. Nel A, Xia T, Mädler L, Li N. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. *Science (80-).* 2006;311(5761):622-627. doi:10.1126/science.1114397
41. Orts-Gil G, Natte K, Österle W. Multi-parametric reference nanomaterials for toxicology: State of the art, future challenges and potential candidates. *RSC Adv.* 2013;3(40):18202-18215. doi:10.1039/c3ra42112k
42. Ramírez-Sánchez IM, Tuberty S, Hambourger M, Bandala ER. Resource efficiency analysis for photocatalytic degradation and mineralization of estriol using TiO₂ nanoparticles. *Chemosphere.* 2017;184:1270-1285. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.06.046
43. He W, Kim H-K, Wamer WG, Melka D, Callahan JH, Yin J-J. Photogenerated Charge Carriers and Reactive Oxygen Species in ZnO/Au Hybrid Nanostructures with Enhanced Photocatalytic and Antibacterial Activity. *J Am Chem Soc.* 2014;136(2):750-757. doi:10.1021/ja410800y
44. Dvoranová D, Barbieriková Z, Brezová V. Radical Intermediates in Photoinduced Reactions on TiO₂ (An EPR Spin Trapping Study). *Molecules.* 2014;19(11):17279-17304. doi:10.3390/molecules191117279
45. Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *Biomed Res Int.* 2013;2013. doi:10.1155/2013/942916
46. The Royal Society, Engineering TRA of, Dowling a, et al. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. *London R Soc R Acad Eng Rep.* 2004;46(July):618-618.
47. Donaldson K, Stone V, Tran CL, Kreyling W, Borm PJA. Nanotoxicology. *Occup Environ Med.* 2004;61(9):727-728. doi:10.1136/oem.2004.013243
48. Donaldson K, Tran CL. Inflammation caused by particles and fibers. *Inhal Toxicol.* 2002;14(1):5-27. doi:10.1080/089583701753338613
49. André Nel. Air Pollution – Related Illness : Effects of Particles. *Science (80-).* 2005;308(5273):804-806.
50. Shvedova AA, Kisin ER, Mercer R, et al. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol.* 2005;289(5 33-5). doi:10.1152/ajplung.00084.2005
51. Bell AT. The impact of nanoscience on heterogeneous catalysis. *Science (80-).* 2003;299(5613):1688-1691. doi:10.1126/science.1083671
52. Asati A, Santra S, Kaittanis C, Perez JM. Surface-charge-dependent cell localization and cytotoxicity of cerium oxide nanoparticles. *ACS Nano.* 2010;4(9):5321-5331. doi:10.1021/nn100816s
53. Jeon S, Clavadetscher J, Lee DK, Chankeshwara S V., Bradley M, Cho WS. Surface charge-dependent cellular uptake of polystyrene nanoparticles. *Nanomaterials.* 2018;8(12):1-11. doi:10.3390/NANO8121028
54. Awashra M, Młynarz P. The toxicity of nanoparticles and their interaction with cells: an in vitro metabolomic perspective. *Nanoscale Adv.* 2023;5(10):2674-2723. doi:10.1039/d2na00534d
55. Alpaslan E, Geilich BM, Yazici H, Webster TJ. PH-Controlled Cerium Oxide Nanoparticle Inhibition of Both Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria Growth. *Sci Rep.* 2017;7(December 2016):1-12. doi:10.1038/srep45859
56. José Pochapski D, Carvalho dos Santos C, Wosiak Leite G, Helena Pulcinelli S, Valentim Santilli C. Zeta Potential and Colloidal Stability Predictions for Inorganic Nanoparticle Dispersions: Effects of Experimental Conditions and Electrokinetic Models on the Interpretation of Results. *Langmuir.* 2021;37(45):13379-13389. doi:10.1021/acs.langmuir.1c02056
57. Lushchak VI. Free radicals , reactive oxygen species , oxidative stresses and their classifications *Chemico-Biological Interactions Free radicals , reactive oxygen species , oxidative stress and its classification.* *Chem Biol Interact.* 2016;224(April):164-175. doi:10.1016/j.cbi.2014.10.016

58. Fragou F, Moularas C, Adamska K, Deligiannakis Y, Louloudi M. Mn(II)-Based Catalysts Supported on Nanocarbon-Coated Silica Nanoparticles for Alkene Epoxidation. *ACS Appl Nano Mater.* 2020;3(6):5583-5592. doi:10.1021/acsanm.0c00849
59. Eftekhari A, Dizaj SM, Chodari L, et al. The promising future of nano-antioxidant therapy against environmental pollutants induced-toxicities. *Biomed Pharmacother.* 2018;103(February):1018-1027. doi:10.1016/j.biopha.2018.04.126
60. Fragou F., Theofanous A, Deligiannakis Y., Louloudi M. Nanoantioxidant Materials: Nanoengineering Inspired by Nature. *Micromachines.* 2023;14(2):383. doi:10.3390/mi14020383
61. Helberg J, Pratt DA. Autoxidation vs. antioxidants-the fight for forever. *Chem Soc Rev.* 2021;50(13):7343-7358. doi:10.1039/d1cs00265a
62. Wang F, Yuan Q, Chen F, et al. Fundamental Mechanisms of the Cell Death Caused by Nitrosative Stress. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9(September):1-10. doi:10.3389/fcell.2021.742483
63. Tharmalingam S, Alhasawi A, Appanna VP, Lemire J, Appanna VD. Reactive Nitrogen Species (RNS)-resistant microbes: Adaptation and medical implications. *Biol Chem.* 2017;398(11):1193-1208. doi:10.1515/hsz-2017-0152
64. Martínez MC, Andriantsitohaina R. Reactive nitrogen species: Molecular mechanisms and potential significance in health and disease. *Antioxidants Redox Signal.* 2009;11(3):669-702. doi:10.1089/ars.2007.1993
65. Khalil I, Yehye WA, Etxeberria AE, et al. Nanoantioxidants: Recent trends in antioxidant delivery applications. *Antioxidants.* 2020;9(1). doi:10.3390/antiox9010024
66. Kumar H, Bhardwaj K, Nepovimova E, et al. Antioxidant functionalized nanoparticles: A combat against oxidative stress. *Nanomaterials.* 2020;10(7):1-31. doi:10.3390/nano10071334
67. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015;30(1):11-26. doi:10.1007/s12291-014-0446-0
68. Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Zulfiqar F, et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants.* 2020;9(8):1-52. doi:10.3390/antiox9080681
69. Dad S, Bisby RH, Clark IP, Parker AW. Europe PMC Funders Group Formation of singlet oxygen from solutions of vitamin E. *Free Radic Res.* 2006;40(3):333-338. doi:10.1080/10715760500491174.F Formation
70. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol.* 2018;217(6):1915-1928. doi:10.1083/jcb.201708007
71. Çalışkan B, Çalışkan AC. EPR Analysis of Antioxidant Compounds. *Free Radicals, Antioxidants Dis.* Published online 2018. doi:10.5772/intechopen.74294
72. Halliwell B. Antioxidants in Human Health and Disease. *Annu Rev Nutr.* 1996;16(1):33-50. doi:10.1146/annurev.nutr.16.1.33
73. Zeb A. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J Food Biochem.* 2020;44(9):1-22. doi:10.1111/jfbc.13394
74. Nosaka Y, Nosaka AY. Generation and Detection of Reactive Oxygen Species in Photocatalysis. *Chem Rev.* 2017;117(17):11302-11336. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00161
75. Rubio L, Pyrgiotakis G, Beltran-Huarac J, et al. Safer-by-design flame-sprayed silicon dioxide nanoparticles: The role of silanol content on ROS generation, surface activity and cytotoxicity. *Part Fibre Toxicol.* 2019;16(1):1-15. doi:10.1186/s12989-019-0325-1
76. Das B, Makol A, Kundu S. Phosphorus radicals and radical ions. *Dalt Trans.* 2022;51(33):12404-12426. doi:10.1039/d2dt01499h
77. Ulas G, Lemmin T, Wu Y, Gassner GT, DeGrado WF. Designed metalloprotein stabilizes a semiquinone

- radical. *Nat Chem*. 2016;8(4):354-359. doi:10.1038/nchem.2453
78. Shafirovich V, Dourandin A, Huang W, Geacintov NE. The Carbonate Radical Is a Site-selective Oxidizing Agent of Guanine in Double-stranded Oligonucleotides. *J Biol Chem*. 2001;276(27):24621-24626. doi:10.1074/jbc.M101131200
 79. Bühl M, Dabell P, Manley DW, McCaughan RP, Walton JC. Bicarbonate and Alkyl Carbonate Radicals: Structural Integrity and Reactions with Lipid Components. *J Am Chem Soc*. 2015;137(51):16153-16162. doi:10.1021/jacs.5b10693
 80. Scurti S, Caretti D, Mollica F, Di Antonio E, Amorati R. Chain-Breaking Antioxidant and Peroxyl Radical Trapping Activity of Phenol-Coated Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Antioxidants*. 2022;11(6). doi:10.3390/antiox11061163
 81. Stathi P, Fotou E, Moussis V, Tsikaris V, Louloudi M, Deligiannakis Y. Control of Tyrosyl Radical Stabilization by {SiO₂@Oligopeptide} Hybrid Biomimetic Materials. *Langmuir*. 2022;38(32):9799-9809. doi:10.1021/acs.langmuir.2c00710
 82. Dixon WT, Murphy D. Determination of the acidity constants of some phenol radical cations by means of electron spin resonance. *J Chem Soc Faraday Trans 2 Mol Chem Phys*. 1976;72:1221-1230. doi:10.1039/F29767201221
 83. Karoui H, Hogg N, Fréjaville C, Tordo P, Kalyanaraman B. Characterization of sulfur-centered radical intermediates formed during the oxidation of thiols and sulfite by peroxyxynitrite: ESR-spin trapping and oxygen uptake studies. *J Biol Chem*. 1996;271(11):6000-6009. doi:10.1074/jbc.271.11.6000
 84. Xia X, Zhu F, Li J, et al. A Review Study on Sulfate-Radical-Based Advanced Oxidation Processes for Domestic/Industrial Wastewater Treatment: Degradation, Efficiency, and Mechanism. *Front Chem*. 2020;8(November). doi:10.3389/fchem.2020.592056
 85. Lednor PW, Versloot PC. Radical-anion chemistry of carbon monoxide. *J Chem Soc Chem Commun*. 1983;983(6):284-285. doi:10.1039/c39830000284
 86. Pokrovski GS, Kokh MA, Desmaele E, et al. The trisulfur radical ion S₃⁻ controls platinum transport by hydrothermal fluids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021;118(34). doi:10.1073/pnas.2109768118
 87. Lei Y, Lei X, Westerhoff P, Zhang X, Yang X. Reactivity of Chlorine Radicals (Cl[•] and Cl₂^{-•}) with Dissolved Organic Matter and the Formation of Chlorinated Byproducts. *Environ Sci Technol*. 2021;55(1):689-699. doi:10.1021/acs.est.0c05596
 88. Taub T, Ruthstein S, Cohen H. The involvement of carbon-centered radicals in the aging process of coals under atmospheric conditions: An EPR study. *Phys Chem Chem Phys*. 2018;20(42):27025-27035. doi:10.1039/c8cp04098b
 89. Yan L, Zhao F, Wang J, Zu Y, Gu Z, Zhao Y. A Safe-by-Design Strategy towards Safer Nanomaterials in Nanomedicines. *Adv Mater*. 2019;31(45):1805391. doi:10.1002/adma.201805391
 90. Hu W, Peng C, Lv M, et al. Protein Corona-Mediated Mitigation of Cytotoxicity of Graphene Oxide. *ACS Nano*. 2011;5(5):3693-3700. doi:10.1021/nn200021j
 91. Zhao Y, Sun X, Zhang G, Trewyn BG, Slowing II, Lin VS-Y. Interaction of Mesoporous Silica Nanoparticles with Human Red Blood Cell Membranes: Size and Surface Effects. *ACS Nano*. 2011;5(2):1366-1375. doi:10.1021/nn103077k
 92. Ruenraroengsak P, Novak P, Berhanu D, et al. Respiratory epithelial cytotoxicity and membrane damage (holes) caused by amine-modified nanoparticles. *Nanotoxicology*. 2012;6(1):94-108. doi:10.3109/17435390.2011.558643
 93. Wu, Zhang. Toxic effects of iron oxide nanoparticles on human umbilical vein endothelial cells. *Int J Nanomedicine*. Published online May 2010:385. doi:10.2147/IJN.S10458
 94. Mao Z, Xu B, Ji X, et al. Titanium dioxide nanoparticles alter cellular morphology via disturbing the microtubule dynamics. *Nanoscale*. 2015;7(18):8466-8475. doi:10.1039/C5NR01448D

95. Schmid G. The relevance of shape and size of Au55 clusters. *Chem Soc Rev.* 2008;37(9):1909. doi:10.1039/b713631p
96. Soenen SJ, Rivera-Gil P, Montenegro J-M, Parak WJ, De Smedt SC, Braeckmans K. Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation. *Nano Today.* 2011;6(5):446-465. doi:10.1016/j.nantod.2011.08.001
97. Nguyen KC, Rippstein P, Tayabali AF, Willmore WG. Mitochondrial Toxicity of Cadmium Telluride Quantum Dot Nanoparticles in Mammalian Hepatocytes. *Toxicol Sci.* 2015;146(1):31-42. doi:10.1093/toxsci/kfv068
98. Barua S, Mitragotri S. Challenges associated with penetration of nanoparticles across cell and tissue barriers: A review of current status and future prospects. *Nano Today.* 2014;9(2):223-243. doi:10.1016/j.nantod.2014.04.008
99. Puppi J, Mitry RR, Modo M, Dhawan A, Raja K, Hughes RD. Use of a Clinically Approved Iron Oxide MRI Contrast Agent to Label Human Hepatocytes. *Cell Transplant.* 2011;20(6):963-976. doi:10.3727/096368910X543367
100. Park E-J, Park K. Oxidative stress and pro-inflammatory responses induced by silica nanoparticles in vivo and in vitro. *Toxicol Lett.* 2009;184(1):18-25. doi:10.1016/j.toxlet.2008.10.012
101. Choi S-J, Oh J-M, Choy J-H. Toxicological effects of inorganic nanoparticles on human lung cancer A549 cells. *J Inorg Biochem.* 2009;103(3):463-471. doi:10.1016/j.jinorgbio.2008.12.017
102. Savage DT, Hilt JZ, Dziubla TD. In vitro methods for assessing nanoparticle toxicity. *Methods Mol Biol.* 2019;1894:1-29. doi:10.1007/978-1-4939-8916-4_1
103. Muro S, Garnacho C, Champion JA, et al. Control of Endothelial Targeting and Intracellular Delivery of Therapeutic Enzymes by Modulating the Size and Shape of ICAM-1-targeted Carriers. *Mol Ther.* 2008;16(8):1450-1458. doi:10.1038/mt.2008.127
104. Tammam SN, Azzazy HM, Breitingner HG, Lamprecht A. Chitosan Nanoparticles for Nuclear Targeting: The Effect of Nanoparticle Size and Nuclear Localization Sequence Density. *Mol Pharm.* 2015;12(12):4277-4289. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.5b00478
105. Singh L, Parboosing R, Kruger HG, Maguire GEM, Govender T. Intracellular localization of gold nanoparticles with targeted delivery in MT-4 lymphocytes. *Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol.* 2016;7(4):045013. doi:10.1088/2043-6262/7/4/045013
106. Lechtman E, Pignol J-P. Interplay between the gold nanoparticle sub-cellular localization, size, and the photon energy for radiosensitization. *Sci Rep.* 2017;7(1):13268. doi:10.1038/s41598-017-13736-y
107. Gratton SEA, Ropp PA, Pohlhaus PD, et al. The effect of particle design on cellular internalization pathways. *Proc Natl Acad Sci.* 2008;105(33):11613-11618. doi:10.1073/pnas.0801763105
108. Delgado-Mellado N, Ayuso M, Villar-Chavero MM, García J, Rodríguez F. Ecotoxicity evaluation towards *Vibrio fischeri* of imidazolium- and pyridinium-based ionic liquids for their use in separation processes. *SN Appl Sci.* 2019;1(8):896. doi:10.1007/s42452-019-0916-3
109. Su Y, Zhao Q, Du J, et al. Pickering emulsion-enhanced *Vibrio fischeri* assay for ecotoxicity assessment of highly hydrophobic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere.* 2023;313:137470. doi:10.1016/j.chemosphere.2022.137470
110. Garcia-Ordiales E, Roqueñí N, Rico JM, Cienfuegos P, Alvarez R, Ordoñez A. Assessment of the toxicity toward *Vibrio fischeri* in sediments of a mining impacted estuary in the north of Spain. *Sci Total Environ.* 2019;660:826-833. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.01.086
111. Lopes I, Ribeiro R, Antunes FE, et al. Toxicity and genotoxicity of organic and inorganic nanoparticles to the bacteria *Vibrio fischeri* and *Salmonella typhimurium*. *Ecotoxicology.* 2012;21(3):637-648. doi:10.1007/s10646-011-0808-9
112. Ríos F, Fernández-Arteaga A, Fernández-Serrano M, Jurado E, Lechuga M. Silica micro- and nanoparticles reduce the toxicity of surfactant solutions. *J Hazard Mater.* 2018;353(2010):436-443.

doi:10.1016/j.jhazmat.2018.04.040

113. Jiang W, Mashayekhi H, Xing B. Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles. *Environ Pollut.* 2009;157(5):1619-1625. doi:10.1016/j.envpol.2008.12.025
114. Daza EA, Misra SK, Scott J, et al. Multi-Shell Nano-CarboScavengers for Petroleum Spill Remediation. *Sci Rep.* 2017;7(February):1-15. doi:10.1038/srep41880
115. Augusta Ajuzieogu C, Obukowho Odokuma L, Chioma Blaise C. Toxicity Assessment of Produced Water Using Microtox Rapid Bioassay. *South Asian J Res Microbiol.* 2018;(September):1-9. doi:10.9734/sajrm/2018/v1i4826
116. Trinh TX, Kim J. Status quo in data availability and predictive models of nano-mixture toxicity. *Nanomaterials.* 2021;11(1):1-26. doi:10.3390/nano11010124
117. Turek M, Rózycka-Sokołowska E, Owsianik K, Marciniak B, Bałczewski P. Modification of the Microtox® Basic Solid Phase Test: A new application for the ecotoxicological studies on poorly soluble antihypertensive drugs. *J Hazard Mater.* 2020;399(December 2019):122839. doi:10.1016/j.jhazmat.2020.122839
118. Strigul N, Vaccari L, Galdun C, et al. Acute toxicity of boron, titanium dioxide, and aluminum nanoparticles to *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. *Desalination.* 2009;248(1-3):771-782. doi:10.1016/j.desal.2009.01.013
119. Commission E. Στρατηγική για τη βιωσιμότητα των χημικών προϊόντων. Για ένα περιβάλλον χωρίς τοξικές ουσίες. 2020;21(1):1-9.
120. Tavernaro I, Dekkers S, Soeteman-Hernández LG, Herbeck-Engel P, Noorlander C, Kraegeloh A. Safe-by-Design part II: A strategy for balancing safety and functionality in the different stages of the innovation process. *NanoImpact.* 2021;24. doi:10.1016/j.impact.2021.100354
121. Gulumian M, Cassee FR. Safe by design (SbD) and nanotechnology: a much-discussed topic with a prudence? *Part Fibre Toxicol.* 2021;18(1):1-4. doi:10.1186/s12989-021-00423-0
122. Hjorth R, van Hove L, Wickson F. What can nanosafety learn from drug development? The feasibility of "safety by design." *Nanotoxicology.* 2017;11(3):305-312. doi:10.1080/17435390.2017.1299891
123. Union E. Assessing the environmental safety of manufactured nanomaterials *Science for Environment Policy Science for Environment Policy Assessing the environmental safety of manufactured nanomaterials About Science for Environment Policy.* Published online 2017. doi:10.2779/690478
124. Kraegeloh A, Suarez-Merino B, Sluijters T, Micheletti C. Implementation of safe-by-design for nanomaterial development and safe innovation: Why we need a comprehensive approach. *Nanomaterials.* 2018;8(4). doi:10.3390/nano8040239
125. Deak P, Kimani F, Cassaidy B, Esser-Kahn A. Determining Whether Agonist Density or Agonist Number Is More Important for Immune Activation via Micoparticle Based Assay. *Front Immunol.* 2020;11. doi:10.3389/fimmu.2020.00642
126. Giaume D, Poggi M, Casanova D, et al. Organic Functionalization of Luminescent Oxide Nanoparticles toward Their Application As Biological Probes. *Langmuir.* 2008;24(19):11018-11026. doi:10.1021/la8015468
127. Fragou F, Stathi P, Deligiannakis Y, Louludi M. Safe-by-Design Flame Spray Pyrolysis of SiO₂ Nanostructures for Minimizing Acute Toxicity. *ACS Appl Nano Mater.* 2022;5(6):8184-8195. doi:10.1021/acsanm.2c01273
128. Stamatis A, Giasafaki D, Christoforidis KC, Deligiannakis Y, Louludi M. The catalytic function of SiO₂-immobilized Mn(II)-complexes for alkene epoxidation with H₂O₂. *J Mol Catal A Chem.* 2010;319(1-2):58-65. doi:10.1016/j.molcata.2009.11.021
129. Mavroggiorgou A, Papastergiou M, Deligiannakis Y, Louludi M. Activated carbon functionalized with Mn(II) Schiff base complexes as efficient alkene oxidation catalysts: Solid support matters. *J Mol Catal A Chem.*

- 2014;393:8-17. doi:10.1016/j.molcata.2014.05.038
130. Zois D, Vartzouma C, Deligiannakis Y, et al. Active catalytic centers in silica-supported Cu(II) and Mn(II) biomimetic complexes: Correlation between catalytic and EPR data. *J Mol Catal A Chem.* 2007;261(2):306-317. doi:10.1016/j.molcata.2006.11.023
 131. Zindrou A, Belles L, Solakidou M, Boukos N, Deligiannakis Y. Non-graphitized carbon/Cu₂O/CuO nanohybrids with improved stability and enhanced photocatalytic H₂ production. *Sci Rep.* 2023;13(1):13999. doi:10.1038/s41598-023-41211-4
 132. Panagiota S, Louloudi M, Deligiannakis Y. EPR study of phenolic radical stabilization by grafting on SiO₂. *Chem Phys Lett.* 2009;472(1-3):85-89. doi:10.1016/j.cplett.2009.02.080
 133. Deligiannakis Y, Sotiriou GA, Pratsinis SE. Antioxidant and antiradical SiO₂ nanoparticles covalently functionalized with gallic acid. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2012;4(12):6609-6617. doi:10.1021/am301751s
 134. Theofanous A, Sarli I, Fragou F, Bletsas E, Deligiannakis Y, Louloudi M. Antioxidant Hydrogen-Atom-Transfer to DPPH Radicals by Hybrids of {Hyaluronic-Acid Components}@SiO₂. *Langmuir.* 2022;38(40):12333-12345. doi:10.1021/acs.langmuir.2c02021
 135. Mavrogiorgou A, Baikousi M, Costas V, et al. Mn-Schiff base modified MCM-41, SBA-15 and CMK-3 NMs as single-site heterogeneous catalysts: Alkene epoxidation with H₂O₂ incorporation. *J Mol Catal A Chem.* 2016;413:40-55. doi:10.1016/j.molcata.2015.12.015
 136. Seristatidou E, Mavrogiorgou A, Konstantinou I, Louloudi M, Deligiannakis Y. Recycled carbon (RC) materials made functional: An efficient heterogeneous Mn-RC catalyst. *J Mol Catal A Chem.* 2015;403:84-92. doi:10.1016/j.molcata.2015.04.001
 137. Mavrogiorgou A, Simaioforidou A, Louloudi M. Pyrolytic carbon as support matrix for heterogeneous oxidation catalysts: The influence of pyrolytic process on catalytic behavior. *J Environ Chem Eng.* 2018;6(1):1127-1136. doi:10.1016/j.jece.2018.01.040
 138. Vartzouma C, Evaggellou E, Sanakis Y, Hadjiliadis N, Louloudi M. Alkene epoxidation by homogeneous and heterogenised manganese(II) catalysts with hydrogen peroxide. *J Mol Catal A Chem.* 2007;263(1-2):77-85. doi:10.1016/j.molcata.2006.08.025
 139. Schneider J, Matsuoka M, Takeuchi M, et al. Understanding TiO₂ Photocatalysis: Mechanisms and Materials. *Chem Rev.* 2014;114(19):9919-9986. doi:10.1021/cr5001892
 140. Sotiriou GA, Blattmann CO, Deligiannakis Y. Nanoantioxidant-driven plasmon enhanced proton-coupled electron transfer. *Nanoscale.* 2016;8(2):796-803. doi:10.1039/c5nr04942c
 141. Recent A, Perspectives F, Shah ST, Chowdhury ZZ, Simarani K, Basirun WJ. Nanoantioxidants : The Fourth Generation of. Published online 2022.
 142. Sen CK, Khanna S, Gordillo G, Bagchi D, Bagchi M, Roy S. Oxygen, Oxidants, and Antioxidants in An Emerging Paradigm. *Ann NY Acad Sci.* 2002;957:239-249.
 143. Gülçin I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology.* 2006;217(2-3):213-220. doi:10.1016/j.tox.2005.09.011
 144. Pasanphan W, Chirachanchai S. Conjugation of gallic acid onto chitosan: An approach for green and water-based antioxidant. *Carbohydr Polym.* 2008;72(1):169-177. doi:10.1016/j.carbpol.2007.08.002
 145. Menaga D, Rahman PKSM, Rajakumar S, Ayyasamy PM. Antioxidant and Cytotoxic Activities of A Novel Isomeric Molecule (PF5) Obtained from Methanolic Extract of Pleurotus Florida Mushroom. *J Bioresour Bioprod.* 2021;6(4):338-349. doi:10.1016/j.jobab.2021.04.008
 146. Chakraborty A, Jana NR. Vitamin C-Conjugated Nanoparticle Protects Cells from Oxidative Stress at Low Doses but Induces Oxidative Stress and Cell Death at High Doses. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2017;9(48):41807-41817. doi:10.1021/acsami.7b16055
 147. Sahiner N, Sagbas S, Aktas N. Preparation and characterization of monodisperse, mesoporous natural poly(tannic acid)-silica nanoparticle composites with antioxidant properties. *Microporous Mesoporous*

- Mater. 2016;226:316-324. doi:10.1016/j.micromeso.2016.02.012
148. Khojasteh A, Mirjalili MH, Alcalde MA, Cusido RM, Eibl R, Palazon J. Powerful plant antioxidants: A new biosustainable approach to the production of rosmarinic acid. *Antioxidants*. 2020;9(12):1-31. doi:10.3390/antiox9121273
 149. Du L, Suo S, Wang G, et al. Mechanism and cellular kinetic studies of the enhancement of antioxidant activity by using surface-functionalized gold nanoparticles. *Chem - A Eur J*. 2013;19(4):1281-1287. doi:10.1002/chem.201203506
 150. Bletsas E, Stathi P, Dimos K, Louloudi M, Deligiannakis Y. Interfacial Hydrogen Atom Transfer by nanohybrids based on Humic Acid Like Polycondensates. *J Colloid Interface Sci*. 2015;455:163-171. doi:10.1016/j.jcis.2015.05.039
 151. Jodko-Piórecka K, Sikora B, Kluzek M, Przybylski P, Litwinienko G. Antiradical Activity of Dopamine, L-DOPA, Adrenaline, and Noradrenaline in Water/Methanol and in Liposomal Systems. *J Org Chem*. 2022;87(3):1791-1804. doi:10.1021/acs.joc.1c02308
 152. Fan Y, Liu Y, Gao L, Zhang Y, Yi J. Improved chemical stability and cellular antioxidant activity of resveratrol in zein nanoparticle with bovine serum albumin-caffeic acid conjugate. *Food Chem*. 2018;261(November 2017):283-291. doi:10.1016/j.foodchem.2018.04.055
 153. Ebabe Elle R, Rahmani S, Lauret C, et al. Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticle with Antioxidants as a New Carrier That Generates Lower Oxidative Stress Impact on Cells. *Mol Pharm*. 2016;13(8):2647-2660. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.6b00190
 154. Arriagada F, Günther G, Morales J. Nanoantioxidant-based silica particles as flavonoid carrier for drug delivery applications. *Pharmaceutics*. 2020;12(4):1-17. doi:10.3390/pharmaceutics12040302
 155. Nelson BC, Johnson ME, Walker ML, Riley KR, Sims CM. Antioxidant cerium oxide nanoparticles in biology and medicine. *Antioxidants*. 2016;5(2):1-21. doi:10.3390/antiox5020015
 156. Nayak D, Minz AP, Ashe S, et al. Synergistic combination of antioxidants, silver nanoparticles and chitosan in a nanoparticle based formulation: Characterization and cytotoxic effect on MCF-7 breast cancer cell lines. *J Colloid Interface Sci*. 2016;470:142-152. doi:10.1016/j.jcis.2016.02.043
 157. Li X, Li M, Liu J, et al. Preparation of Hollow Biopolymer Nanospheres Employing Starch Nanoparticle Templates for Enhancement of Phenolic Acid Antioxidant Activities. *J Agric Food Chem*. 2017;65(19):3868-3882. doi:10.1021/acs.jafc.7b01172
 158. Anwer MK, Al-Mansoor MA, Jamil S, Al-Shdefat R, Ansari MN, Shakeel F. Development and evaluation of PLGA polymer based nanoparticles of quercetin. *Int J Biol Macromol*. 2016;92:213-219. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.07.002
 159. Theofanous A, Sarli I, Fragou F, Bletsas E, Deligiannakis Y, Louloudi M. Antioxidant Hydrogen-Atom-Transfer to DPPH Radicals by Hybrids of {Hyaluronic-Acid Components}@SiO₂. *Langmuir*. Published online 2022. doi:10.1021/acs.langmuir.2c02021
 160. Nie Z, Liu KJ, Zhong CJ, et al. Enhanced radical scavenging activity by antioxidant-functionalized gold nanoparticles: A novel inspiration for development of new artificial antioxidants. *Free Radic Biol Med*. 2007;43(9):1243-1254. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.06.011
 161. Valgimigli L, Baschieri A, Amorati R. Antioxidant activity of nanomaterials. *J Mater Chem B*. 2018;6(14):2036-2051. doi:10.1039/c8tb00107c
 162. Yao C, Xu Y, Tang J, Hu P, Qi H, Yang D. Dynamic assembly of DNA-ceria nanocomplex in living cells generates artificial peroxisome. *Nat Commun*. 2022;13(1):1-13. doi:10.1038/s41467-022-35472-2
 163. Anwar H, Hussain G, Mustafa I. Antioxidants from Natural Sources. *Antioxidants Foods Its Appl*. Published online 2018:3-28. doi:10.5772/intechopen.75961
 164. Agarwal RG, Coste SC, Groff BD, et al. Free Energies of Proton-Coupled Electron Transfer Reagents and Their Applications. *Chem Rev*. 2022;122(1):1-49. doi:10.1021/acs.chemrev.1c00521

165. Ghosh S, Castillo-Lora J, Soudackov A V., Mayer JM, Hammes-Schiffer S. Theoretical Insights into Proton-Coupled Electron Transfer from a Photoreduced ZnO Nanocrystal to an Organic Radical. *Nano Lett.* 2017;17(9):5762-5767. doi:10.1021/acs.nanolett.7b02642
166. Agarwal RG, Kim HJ, Mayer JM. Nanoparticle O-H bond dissociation free energies from equilibrium measurements of cerium oxide colloids. *J Am Chem Soc.* 2021;143(7):2896-2907. doi:10.1021/jacs.0c12799
167. Damatov D, Laga SM, Mader EA, Peng J, Agarwal RG, Mayer JM. Redox Reactivity of Colloidal Nanoceria and Use of Optical Spectra as an in Situ Monitor of Ce Oxidation States. *Inorg Chem.* 2018;57(22):14401-14408. doi:10.1021/acs.inorgchem.8b02598
168. Laga SM, Townsend TM, O'Connor AR, Mayer JM. Cooperation of cerium oxide nanoparticles and soluble molecular catalysts for alcohol oxidation. *Inorg Chem Front.* 2020;7(6):1386-1393. doi:10.1039/c9qi01640f
169. Liu B, Liu J. Surface modification of nanozymes. *Nano Res.* 2017;10(4):1125-1148. doi:10.1007/s12274-017-1426-5
170. Huang Y, Ren J, Qu X. Nanozymes: Classification, Catalytic Mechanisms, Activity Regulation, and Applications. *Chem Rev.* 2019;119(6):4357-4412. doi:10.1021/acs.chemrev.8b00672
171. Liang M, Yan X. Nanozymes: From New Concepts, Mechanisms, and Standards to Applications. *Acc Chem Res.* 2019;52(8):2190-2200. doi:10.1021/acs.accounts.9b00140
172. Zeng X, Wang H, Ma Y, et al. Vanadium Oxide Nanozymes with Multiple Enzyme-Mimic Activities for Tumor Catalytic Therapy. *ACS Appl Mater Interfaces.* Published online 2022. doi:10.1021/acsami.2c20878
173. Xiao G, Li H, Zhao Y, Wei H, Li J, Su H. Nanoceria-Based Artificial Nanozymes: Review of Materials and Applications. *ACS Appl Nano Mater.* 2022;5(10):14147-14170. doi:10.1021/acsanm.2c03009
174. Silveri F, Della Pelle F, Scroccarello A, et al. Carbon Black Functionalized with Naturally Occurring Compounds in Water Phase for Electrochemical Sensing of Antioxidant Compounds. *Antioxidants.* 2022;11(10). doi:10.3390/antiox11102008
175. Fragou F, Stathi P, Deligiannakis Y, Louloudi M. Safe-by-Design Flame Spray Pyrolysis Nano-SiO₂: Minimizing the ROS generation and acute toxicity by design. *ACS Appl Nano Mater.* Published online 2022.
176. Rodríguez VI, Mendow G, Sánchez BS, et al. Ruthenium Catalysts Supported on Hydrothermally Treated Carbon from Rice Husk: The Effect of Reduction Temperature on the Hydrogenation Reaction of Levulinic Acid to γ -Valerolactone. *Processes.* 2023;11(5). doi:10.3390/pr11051421
177. Khan II, Saeed K, Khan II. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arab J Chem.* 2019;12(7):908-931. doi:10.1016/j.arabjc.2017.05.011
178. Moularas C, Georgiou Y, Adamska K, Deligiannakis Y. Thermoplasmonic Heat Generation Efficiency by Nonmonodisperse Core-Shell Ag₀@SiO₂ Nanoparticle Ensemble. *J Phys Chem C.* 2019;123(36):22499-22510. doi:10.1021/acs.jpcc.9b06532
179. Zhang H, Dunphy DR, Jiang X, et al. Processing pathway dependence of amorphous silica nanoparticle toxicity: Colloidal vs pyrolytic. *J Am Chem Soc.* 2012;134(38):15790-15804. doi:10.1021/ja304907c
180. Croissant JG, Butler KS, Zink JI, Brinker CJ. Synthetic amorphous silica nanoparticles: toxicity, biomedical and environmental implications. *Nat Rev Mater.* 2020;5(12):886-909. doi:10.1038/s41578-020-0230-0
181. Salh R. Defect Related Luminescence in Silicon Dioxide Network : A Review. Published online 1991.
182. Zhu X, Jiang W, Cui W, Liang R, Zhang L, Qiu J. SC. *Chinese Chem Lett.* Published online 2019. doi:10.1016/j.ccllet.2019.02.022
183. Deligiannakis Y, Sotiriou GA, Pratsinis SE. Antioxidant and Antiradical SiO₂ Nanoparticles Covalently Functionalized with Gallic Acid. Published online 2012.
184. Mädler L, Stark WJ, Pratsinis SE. Flame-made Ceria Nanoparticles. *J Mater Res.* 2002;17(6):1356-1362. doi:10.1557/JMR.2002.0202

185. Mädler L, Kammler HK, Mueller R, Pratsinis SE. Controlled synthesis of nanostructured particles by flame spray pyrolysis. *J Aerosol Sci.* 2002;33(2):369-389. doi:10.1016/S0021-8502(01)00159-8
186. Kammler HK, Mädler L, Pratsinis SE. Flame Synthesis of Nanoparticles. *Chem Eng Technol.* 2001;24(6):583-596. doi:10.1002/1521-4125(200106)24:6<583::AID-CEAT583>3.0.CO;2-H
187. Heidinger S, Spranger F, Dostál J, Zhang C, Klaus C. Material Treatment in the Pulsation Reactor—From Flame Spray Pyrolysis to Industrial Scale. *Sustainability.* 2022;14(6):3232. doi:10.3390/su14063232
188. Wu C, Zhang Y, Yang L, et al. Flame Spray Pyrolysis Synthesis of WO₃ Sensing Materials: Effects of Flame Parameters on Particle Size Distribution and NO₂ Sensing Performance. *Langmuir.* 2022;38(50):15506-15515. doi:10.1021/acs.langmuir.2c01945
189. Pokhrel S, Mädler L. Flame-made Particles for Sensors, Catalysis, and Energy Storage Applications. *Energy and Fuels.* 2020;34(11):13209-13224. doi:10.1021/acs.energyfuels.0c02220
190. Waser O, Robert B, Hintennach A, Nova P. Continuous flame aerosol synthesis of carbon-coated nano-LiFePO₄ for Li-ion batteries. 2011;42:657-667. doi:10.1016/j.jaerosci.2011.06.003
191. Teoh WY, Lutz M. Flame spray pyrolysis : An enabling technology for nanoparticles design and fabrication. Published online 2010:1324-1347. doi:10.1039/c0nr00017e
192. Luechinger NA, Stark WJ, Wu T, et al. Large-scale production of carbon-coated copper nanoparticles for sensor. Published online 2006. doi:10.1088/0957-4484/17/6/022
193. Herman R. Shepherd, *Aerosols Science and Technology Interscience Publishers*, 1961.
194. Nader R, Hamieh T, Villieras F, et al. Study of gas adsorption on biphasic nanostructured surfaces. *Phys Procedia.* 2014;55:373-382. doi:10.1016/j.phpro.2014.07.054
195. Zhuravlev LT. The surface chemistry of amorphous silica . *Zhuravlev model.* 2000;173:1-38.
196. Pavan C, Santalucia R, Leinardi R, et al. Nearly free surface silanols are the critical molecular moieties that initiate the toxicity of silica particles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(45):27836-27846. doi:10.1073/pnas.2008006117
197. Pavan C, Delle Piane M, Gullo M, et al. The puzzling issue of silica toxicity: Are silanols bridging the gaps between surface states and pathogenicity? Part *Fibre Toxicol.* 2019;16(1):1-10. doi:10.1186/s12989-019-0315-3
198. Jeffrey Brinker C, Butler KS, Garofalini SH. Are nearly free silanols a unifying structural determinant of silica particle toxicity? *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(48):30006-30008. doi:10.1073/pnas.2021078117
199. Huo T, Dong F, Yu S, et al. Synergistic oxidative stress of surface silanol and hydroxyl radical of crystal and amorphous silica in A549 cells. *J Nanosci Nanotechnol.* 2017;17(9):6645-6654. doi:10.1166/jnn.2017.14432
200. Smith DK. Nomenclature of the Silica Minerals and Bibliography. *Power Diffr.* 1998;13(1):2-19.
201. Spyrogianni A, Herrmann IK, Keevend K, Pratsinis SE, Wegner K. The silanol content and in vitro cytolytic activity of flame-made silica. *J Colloid Interface Sci.* 2017;507:95-106. doi:10.1016/j.jcis.2017.07.096
202. Lehman SE, Morris AS, Mueller PS, Salem AK, Grassian VH, Larsen SC. Silica nanoparticle-generated ROS as a predictor of cellular toxicity: mechanistic insights and safety by design. *Environ Sci Nano.* 2016;3(1):56-66. doi:10.1039/C5EN00179J
203. Clément L, Zenerino A, Hurel C, et al. Toxicity assessment of silica nanoparticles, functionalised silica nanoparticles, and HASE-grafted silica nanoparticles. *Sci Total Environ.* 2013;450-451:120-128. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.01.042
204. Das U, Zhang G, Hu B, et al. Effect of Siloxane Ring Strain and Cation Charge Density on the Formation of Coordinately Unsaturated Metal Sites on Silica: Insights from Density Functional Theory (DFT) Studies. *ACS Catal.* 2015;5(12):7177-7185. doi:10.1021/acscatal.5b01699

205. Yu T, Malugin A, Ghandehari H. Impact of silica nanoparticle design on cellular toxicity and hemolytic activity. *ACS Nano*. 2011;5(7):5717-5728. doi:10.1021/nn2013904
206. Nabeshi H, Yoshikawa T, Matsuyama K, et al. Amorphous nanosilica induce endocytosis-dependent ROS generation and DNA damage in human keratinocytes. *Part Fibre Toxicol*. 2011;8(1):1-10. doi:10.1186/1743-8977-8-1
207. Wang S, Guo H, Li Y, Li X. Penetration of nanoparticles across a lipid bilayer: effects of particle stiffness and surface hydrophobicity. *Nanoscale*. 2019;11(9):4025-4034. doi:10.1039/c8nr09381d
208. Singh P, Srivastava S, Singh SK. Nanosilica: Recent Progress in Synthesis, Functionalization, Biocompatibility, and Biomedical Applications. *ACS Biomater Sci Eng*. 2019;5(10):4882-4898. doi:10.1021/acsbiomaterials.9b00464
209. Yu Z, Li Q, Wang J, et al. Reactive Oxygen Species-Related Nanoparticle Toxicity in the Biomedical Field. *Nanoscale Res Lett*. 2020;15(1). doi:10.1186/s11671-020-03344-7
210. Lehman SE, Morris AS, Mueller PS, Salem AK, Grassian VH, Larsen SC. Environmental Science Environmental Science Silica nanoparticle-generated ROS as a predictor of cellular toxicity: mechanistic insights and safety by design † ‡. *Environ Sci Nano*. 2014;3(1):56. doi:10.1039/c5en00179j
211. Lehman SE, Morris AS, Mueller PS, Salem AK, Grassian VH, Larsen SC. Silica nanoparticle-generated ROS as a predictor of cellular toxicity: mechanistic insights and safety by design. *Environ Sci Nano*. 2016;3(1):56-66. doi:10.1039/C5EN00179J
212. Chen F, Li G, Zhao ER, et al. Cellular toxicity of silicon carbide nanomaterials as a function of morphology. *Biomaterials*. 2018;179:60-70. doi:10.1016/j.biomaterials.2018.06.027
213. Muhammad F, Huang F, Cheng Y, et al. Nanocerium as an Electron Reservoir: Spontaneous Deposition of Metal Nanoparticles on Oxides and Their Anti-inflammatory Activities. *ACS Nano*. 2022;16(12):20567-20576. doi:10.1021/acsnano.2c07306
214. Leal Filho WL, Kotter R, Özuyar PG, Abubakar IR, Eustachio JHPP, Matandirotya NR. Understanding Rare Earth Elements as Critical Raw Materials. *Sustainability*. 2023;15(3):1919. doi:10.3390/su15031919
215. Xu C, Qu X. Cerium oxide nanoparticle: a remarkably versatile rare earth nanomaterial for biological applications. *NPG Asia Mater*. 2014;6(3):e90-e90. doi:10.1038/am.2013.88
216. Nyoka M, Choonara YE, Kumar P, Kondiah PPD, Pillay V. Synthesis of cerium oxide nanoparticles using various methods: Implications for biomedical applications. *Nanomaterials*. 2020;10(2). doi:10.3390/nano10020242
217. Karakoti A, Singh S, Dowding JM, Seal S, Self WT. Redox-active radical scavenging nanomaterials. *Chem Soc Rev*. 2010;39(11):4422-4432. doi:10.1039/b919677n
218. Kim Y, Jang G, Kim DH. Hydrogen Production via Cerium-Promoted Dehydrogenation of Formic Acid Catalyzed by Carbon-Supported Palladium Nanoparticles. *ACS Appl Nano Mater*. 2023;6(8):6929-6939. doi:10.1021/acsanm.3c00668
219. Lima Oliveira R, A. Ledwa K, Chernyayeva O, et al. Cerium Oxide Nanoparticles Confined in Doped Mesoporous Carbons: A Strategy to Produce Catalysts for Imine Synthesis. *Inorg Chem*. 2023;62(33):13554-13565. doi:10.1021/acs.inorgchem.3c01985
220. Vogt MAH, Thill AS, Matte LP, Escudero C, Bernardi F. CeO_{2-x} Nanoparticles Heated to 900 °C Afford Nanomaterials without Thermally Induced Mismatches: Implications for Catalyst Carriers. *ACS Appl Nano Mater*. 2023;6(7):5712-5720. doi:10.1021/acsanm.3c00152
221. Seal S, Jeyaranjan A, Neal CJ, Kumar U, Sakthivel TS, Sayle DC. Engineered defects in cerium oxides: Tuning chemical reactivity for biomedical, environmental, & energy applications. *Nanoscale*. 2020;12(13):6879-6899. doi:10.1039/d0nr01203c
222. Kappis K, Papadopoulos C, Papavasiliou J, et al. Tuning the catalytic properties of copper-promoted nanocerium via a hydrothermal method. *Catalysts*. 2019;9(2). doi:10.3390/catal9020138

223. Montini T, Melchionna M, Monai M, Fornasiero P. Fundamentals and Catalytic Applications of CeO₂-Based Materials. *Chem Rev.* 2016;116(10):5987-6041. doi:10.1021/acs.chemrev.5b00603
224. Eriksson P, Tal AA, Skallberg A, et al. Cerium oxide nanoparticles with antioxidant capabilities and gadolinium integration for MRI contrast enhancement. *Sci Rep.* 2018;8(1):1-12. doi:10.1038/s41598-018-25390-z
225. Hegazy MAE, Maklad HM, Abd Elmonsif DA, et al. The possible role of cerium oxide (CeO₂) nanoparticles in prevention of neurobehavioral and neurochemical changes in 6-hydroxydopamine-induced parkinsonian disease. *Alexandria J Med.* 2017;53(4):351-360. doi:10.1016/j.ajme.2016.12.006
226. Gil D, Rodriguez J, Ward B, Vertegel A, Ivanov V, Reukov V. Antioxidant activity of SOD and catalase conjugated with nanocrystalline ceria. *Bioengineering.* 2017;4(1):1-9. doi:10.3390/bioengineering4010018
227. Thangudu S, Lee CJ, Su C-H. Biocompatible Cerium Carbonate-Based Nanozymes for Oxidase Activity, Sensing, Computed Tomography Contrast, and Delivery of Small Molecules. *ACS Appl Nano Mater.* Published online 2023. doi:10.1021/acsanm.3c01652
228. Nelson BC, Johnson ME, Walker ML, Riley KR, Sims CM. Antioxidant cerium oxide nanoparticles in biology and medicine. *Antioxidants.* 2016;5(2):1-21. doi:10.3390/antiox5020015
229. Casals E, Zeng M, Parra-Robert M, et al. Cerium Oxide Nanoparticles: Advances in Biodistribution, Toxicity, and Preclinical Exploration. *Small.* 2020;1907322:1-22. doi:10.1002/sml.201907322
230. Lin YH, Shen LJ, Chou TH, Shih Y hsin. Synthesis, Stability, and Cytotoxicity of Novel Cerium Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *J Clust Sci.* Published online 2020. doi:10.1007/s10876-020-01798-4
231. Schmitt R, Nenning A, Kraynis O, et al. A review of defect structure and chemistry in ceria and its solid solutions. *Chem Soc Rev.* 2020;49(2):554-592. doi:10.1039/c9cs00588a
232. Ma Y, Gao W, Zhang Z, et al. Regulating the surface of nanoceria and its applications in heterogeneous catalysis. *Surf Sci Rep.* 2018;73(1):1-36. doi:10.1016/j.surfrep.2018.02.001
233. Okamoto H. Ce-O (Cerium-Oxygen). *J Phase Equilibria Diffus.* 2008;29(6):545-547. doi:10.1007/s11669-008-9392-y
234. Huang B, Gillen R, Robertson J. Study of CeO₂ and its native defects by density functional theory with repulsive potential. *J Phys Chem C.* 2014;118(42):24248-24256. doi:10.1021/jp506625h
235. Zhu H, Yang C, Li Q, et al. Charge transfer drives anomalous phase transition in ceria. *Nat Commun.* 2018;9(1):1-8. doi:10.1038/s41467-018-07526-x
236. Murugan B, Ramaswamy A V. Defect-site promoted surface reorganization in nanocrystalline ceria for the low-temperature activation of ethylbenzene. *J Am Chem Soc.* 2007;129(11):3062-3063. doi:10.1021/ja066834k
237. Matter MT, Furer LA, Starsich FHL, Fortunato G, Pratsinis SE, Herrmann IK. Engineering the Bioactivity of Flame-Made Ceria and Ceria/Bioglass Hybrid Nanoparticles. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2019;11(3):2830-2839. doi:10.1021/acsami.8b18778
238. Kim YG, Lee Y, Lee N, Soh M, Kim D, Hyeon T. Ceria-Based Therapeutic Antioxidants for Biomedical Applications. *Adv Mater.* 2023;2210819:1-38. doi:10.1002/adma.202210819
239. Heckert EG, Karakoti AS, Seal S, Self WT. The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanoceria. *Biomaterials.* 2008;29(18):2705-2709. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.03.014
240. Korsvik C, Patil S, Seal S, Self WT. Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles. *Chem Commun.* 2007;(10):1056-1058. doi:10.1039/b615134e
241. Kuchma MH, Komanski CB, Colon J, et al. Phosphate ester hydrolysis of biologically relevant molecules by cerium oxide nanoparticles. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med.* 2010;6(6):738-744. doi:10.1016/j.nano.2010.05.004

242. Baldim V, Bedioui F, Mignet N, Margail I, Berret JF. The enzyme-like catalytic activity of cerium oxide nanoparticles and its dependency on Ce³⁺ surface area concentration. *Nanoscale*. 2018;10(15):6971-6980. doi:10.1039/c8nr00325d
243. Celardo I, Pedersen JZ, Traversa E, Ghibelli L. Pharmacological potential of cerium oxide nanoparticles. *Nanoscale*. 2011;3(4):1411-1420. doi:10.1039/c0nr00875c
244. Nicholls P. Classical catalase: Ancient and modern. *Arch Biochem Biophys*. 2012;525(2):95-101. doi:10.1016/j.abb.2012.01.015
245. Alili L, Sack M, Karakoti AS, et al. Combined cytotoxic and anti-invasive properties of redox-active nanoparticles in tumor-stroma interactions. *Biomaterials*. 2011;32(11):2918-2929. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.12.056
246. Singh S, Dosani T, Karakoti AS, Kumar A, Seal S, Self WT. A phosphate-dependent shift in redox state of cerium oxide nanoparticles and its effects on catalytic properties. *Biomaterials*. 2011;32(28):6745-6753. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.05.073
247. Azevedo AM, Martins VC, Prazeres DMF, Vojinović V, Cabral JMS, Fonseca LP. Horseradish peroxidase: A valuable tool in biotechnology. *Biotechnol Annu Rev*. 2003;9(03):199-247. doi:10.1016/S1387-2656(03)09003-3
248. Song Y, Qu K, Zhao C, Ren J, Qu X. Graphene oxide: Intrinsic peroxidase catalytic activity and its application to glucose detection. *Adv Mater*. 2010;22(19):2206-2210. doi:10.1002/adma.200903783
249. Lee HJ, Reimann J, Huang Y, Ädelroth P. Functional proton transfer pathways in the heme-copper oxidase superfamily. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg*. 2012;1817(4):537-544. doi:10.1016/j.bbabi.2011.10.007
250. Asati A, Santra S, Kaittanis C, Nath S, Perez JM. Oxidase-like activity of polymer-coated cerium oxide nanoparticles. *Angew Chemie - Int Ed*. 2009;48(13):2308-2312. doi:10.1002/anie.200805279
251. Peng Y, Xiaojun X, Yi G, Gao Z. Mechanism of the oxidation of organic dyes in the presence of nanoceria. *Chem Commun*. 2011;47(10):2916-2918. doi:10.1039/c0cc04679e
252. Cohen P. The origins of protein phosphorylation. *Nat Cell Biol*. 2002;4(5). doi:10.1038/ncb0502-e127
253. Artificial dinuclear phosphoesterases *Jik Chin*. Published online 1989:514-521.
254. Franklin SJ. Lanthanide-mediated DNA hydrolysis. *Curr Opin Chem Biol*. 2001;5(2):201-208. doi:10.1016/S1367-5931(00)00191-5
255. Kuchma MH, Komanski CB, Colon J, et al. No Title. 2010;6(6). doi:10.1016/j.nano.2010.05.004
256. R. Buettner G. Superoxide Dismutase in Redox Biology: The Roles of Superoxide and Hydrogen Peroxide. *Anticancer Agents Med Chem*. 2012;11(4):341-346. doi:10.2174/187152011795677544
257. Patil AJ, Kumar RK, Barron NJ, Mann S. Cerium oxide nanoparticle-mediated self-assembly of hybrid supramolecular hydrogels. *Chem Commun*. 2012;48(64):7934-7936. doi:10.1039/c2cc33351a
258. Lipinski B. Hydroxyl radical and its scavengers in health and disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2011;2011. doi:10.1155/2011/809696
259. Schlick S, Danilczuk M, Drews AR, Kukreja RS. Scavenging of Hydroxyl Radicals by Ceria Nanoparticles: Effect of Particle Size and Concentration. *J Phys Chem C*. 2016;120(12):6885-6890. doi:10.1021/acs.jpcc.6b00404
260. Singh S. Cerium oxide based nanozymes: Redox phenomenon at biointerfaces. *Biointerphases*. 2016;11(4):04B202. doi:10.1116/1.4966535
261. Das M, Patil S, Bhargava N, et al. Auto-catalytic ceria nanoparticles offer neuroprotection to adult rat spinal cord neurons. *Biomaterials*. 2007;28(10):1918-1925. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.11.036
262. Xue Y, Luan Q, Yang D, Yao X, Zhou K. Direct evidence for hydroxyl radical scavenging activity of cerium oxide nanoparticles. *J Phys Chem C*. 2011;115(11):4433-4438. doi:10.1021/jp109819u

263. Dowding JM, Dosani T, Kumar A, Seal S, Self WT. Cerium oxide nanoparticles scavenge nitric oxide radical (-NO). *Chem Commun.* 2012;48(40):4896-4898. doi:10.1039/c2cc30485f
264. Knott AB, Bossy-Wetzel E. Nitric oxide in health and disease of the nervous system. *Antioxidants Redox Signal.* 2009;11(3):541-553. doi:10.1089/ars.2008.2234
265. Kalyanaraman V, Naveen SV, Mohana N, et al. Biocompatibility studies on cerium oxide nanoparticles-combined study for local effects, systemic toxicity and genotoxicity: Via implantation route. *Toxicol Res (Camb).* 2019;8(1):25-37. doi:10.1039/c8tx00248g
266. Alsharif NB, Viczián D, Szcześ A, Szilagyi I. Formulation of Antioxidant Composites by Controlled Heteroaggregation of Cerium Oxide and Manganese Oxide Nanozymes. *J Phys Chem C.* Published online 2023. doi:10.1021/acs.jpcc.3c03964
267. Dhouib A, Mezghrani B, Finocchiaro G, et al. Synthesis of Stable Cerium Oxide Nanoparticles Coated with Phosphonic Acid-Based Functional Polymers. *Langmuir.* Published online 2023. doi:10.1021/acs.langmuir.3c00576
268. De Marzi L, Monaco A, De Lapuente J, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of ceria nanoparticles on different cell lines in vitro. *Int J Mol Sci.* 2013;14(2):3065-3077. doi:10.3390/ijms14023065
269. Wegner K, Schimmöller B, Thiebaut B, Fernandez C, Rao TN. Pilot Plants for Industrial Nanoparticle Production by Flame Spray Pyrolysis. *KONA Powder Part J.* 2011;29:251-265. doi:10.14356/kona.2011025
270. Strobel R, Pratsinis SE. Flame aerosol synthesis of smart nanostructured materials. *J Mater Chem.* 2007;17(45):4743. doi:10.1039/b711652g
271. Kammler HK, Mueller R, Senn O, Pratsinis SE. Synthesis of silica-carbon particles in a turbulent H₂-air flame aerosol reactor. *AIChE J.* 2001;47(7):1533-1543. doi:10.1002/aic.690470707
272. Gong J, Niu R, Tian N, et al. Combination of fumed silica with carbon black for simultaneously improving the thermal stability, flame retardancy and mechanical properties of polyethylene. *Polymer (Guildf).* 2014;55(13):2998-3007. doi:10.1016/j.polymer.2014.05.006
273. Gockeln M, Pokhrel S, Meierhofer F, et al. Fabrication and performance of Li₄Ti₅O₁₂ /C Li-ion battery electrodes using combined double flame spray pyrolysis and pressure-based lamination technique. *J Power Sources.* 2018;374:97-106. doi:10.1016/j.jpowsour.2017.11.016
274. Meierhofer F, Fritsching U. Synthesis of Metal Oxide Nanoparticles in Flame Sprays: Review on Process Technology, Modeling, and Diagnostics. *Energy and Fuels.* 2021;35(7):5495-5537. doi:10.1021/acs.energyfuels.0c04054
275. Bickmore CR, Waldner KF, Treadwell DR, Laine RM. Ultrafine Spinel Powders by Flame Spray Pyrolysis of a Magnesium Aluminum Double Alkoxide. *J Am Ceram Soc.* 1996;79(5):1419-1423. doi:10.1111/j.1151-2916.1996.tb08608.x
276. Spicer PT, Artelt C, Sanders S, Pratsinis SE. Flame synthesis of composite carbon black-fumed silica nanostructured particles. *J Aerosol Sci.* 1998;29(5-6):647-659. doi:10.1016/S0021-8502(97)10023-4
277. Meierhofer F, Mädler L, Fritsching U. Nanoparticle evolution in flame spray pyrolysis—Process design via experimental and computational analysis. *AIChE J.* 2020;66(2):1-14. doi:10.1002/aic.16885
278. Deligiannakis Y, Mantzani A, Zindrou A, Smykala S, Solakidou M. Control of monomeric Vo's versus Vo clusters in ZrO_{2-x} for solar-light H₂ production from H₂O at high-yield (millimoles gr⁻¹ h⁻¹). *Sci Rep.* 2022;12(1):1-11. doi:10.1038/s41598-022-19382-3
279. Researches B. *EPR of Transition Metal Ions.* 1925;(053).
280. Cook MA. Theory of Adsorption of Grases on Solids. *J Am Chem Soc.* 1948;70(9):2925-2930. doi:10.1021/ja01189a029
281. *Material and Chemical Characterisation Facility.* Determining the surface area of solids using the BET equation. Published online 2021:2.

282. Brunauer, S., Teller E., Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. 1938.
283. Barrett, Joyner, Halenda. BJK analysis. Vol Area Distrib Porous Subst. 1951;73(1948):373-380.
284. Masthan SK, Rao KSR, Prasad PSS, Rao PK. Derivation of the Expanded Form of the BJK Equation and its Application to the Pore Structure Analysis of Mesoporous Adsorbents. *Adsorpt Sci Technol*. 1992;9(4):212-230. doi:10.1177/026361749200900401
285. Hummel RE. Differential Reflectance Spectroscopy in Analysis of Surfaces. In: *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Wiley; 2000. doi:10.1002/9780470027318.a2504
286. Alcaraz de la Osa R, Iparragirre I, Ortiz D, Saiz JM. The extended Kubelka–Munk theory and its application to spectroscopy. *ChemTexts*. 2020;6(1):1-14. doi:10.1007/s40828-019-0097-0
287. Makuła P, Pacia M, Macyk W. How To Correctly Determine the Band Gap Energy of Modified Semiconductor Photocatalysts Based on UV-Vis Spectra. *J Phys Chem Lett*. 2018;9(23):6814-6817. doi:10.1021/acs.jpcclett.8b02892
288. Socrates G. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts, 3rd Edition.*; 2004.
289. Chligui M, Guimbretière G, Canizarès A, Matzen G, Vaills Y, Simon P. New features in the Raman spectrum of Silica : Key-points in the improvement on structure knowledge. *Phys Rev B*. 2010;(September):1-5.
290. David A. Dzombak, François M. M. Morel. *Surface Complexation Modeling: Hydrrous Ferric Oxide*. John Wiley Sons, Ltd. Published online 1991.
291. Abbas Z, Labbez C, Nordholm S, Ahlberg E. Size-dependent surface charging of nanoparticles. *J Phys Chem C*. 2008;112(15):5715-5723. doi:10.1021/jp709667u
292. Kosmulski M. *Chemical Properties of Material Surfaces*. Taylor Fr. 2019;102. doi:ISBN 9780367397111
293. John A. Weil JRB. *Electron Paramagnetic Resonance: Elementary Theory and Practical Applications.*; 2006. doi:10.1002/0470084987
294. Munzarová ML. *Electron Paramagnetic Resonance. Compr Inorg Chem II (Second Ed From Elem to Appl)*. 2013;9:359-380. doi:10.1016/B978-0-08-097774-4.00915-3
295. Peyrot F, Lajnef S, Versace DL. Electron Paramagnetic Resonance Spin Trapping (EPR–ST) Technique in Photopolymerization Processes. *Catalysts*. 2022;12(7). doi:10.3390/catal12070772
296. Guo Q, Qian SY, Mason RP. Separation and identification of DMPO adducts of oxygen-centered radicals formed from organic hydroperoxides by HPLC-ESR, ESI-MS and MS/MS. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2003;14(8):862-871. doi:10.1016/S1044-0305(03)00336-2
297. Cle J, Siri D, Karoui H, Rockenbauer A. Assignment of the EPR Spectrum of 5 , 5-Dimethyl-1-pyrroline N -Oxide (DMPO) Superoxide Spin Adduct †. 2005;(1):1198-1203.
298. He W, Liu Y, Wamer WG, Yin JJ. Electron spin resonance spectroscopy for the study of nanomaterial-mediated generation of reactive oxygen species. *J Food Drug Anal*. 2014;22(1):49-63. doi:10.1016/j.jfda.2014.01.004
299. Lu C, Deng K, Hu C, Lyu L. Dual-reaction-center catalytic process continues Fenton's story. *Front Environ Sci Eng*. 2020;14(5). doi:10.1007/s11783-020-1261-x
300. Psathas P, Georgiou Y, Moularas C, Armatas GS, Deligiannakis Y. Controlled-Phase Synthesis of Bi₂Fe₄O₉ & BiFeO₃ by Flame Spray Pyrolysis and their evaluation as non-noble metal catalysts for efficient reduction of 4-nitrophenol. *Powder Technol*. 2020;368:268-277. doi:10.1016/j.powtec.2020.04.059
301. Teleki A, Heine MC, Krumeich F, Akhtar MK, Pratsinis SE. In Situ Coating of Flame-Made TiO₂ Particles with Nanothin SiO₂ Films. 2008;(1):12553-12558.
302. Sotiriou GA, Sannomiya T, Teleki A, Krumeich F, Vörös J, Pratsinis SE. Non-toxic dry-coated nanosilver for plasmonic biosensors. *Adv Funct Mater*. 2010;20(24):4250-4257. doi:10.1002/adfm.201000985
303. Danks AE, Hall SR, Schnepf Z. The evolution of “sol-gel” chemistry as a technique for materials synthesis.

- Mater Horizons*. 2016;3(2):91-112. doi:10.1039/c5mh00260e
304. Kusterbeck S. Hydrolysis and Condensation of Silicates: Effects on Structure. *J Non Cryst Solids*. 1998;100:31-50.
 305. Stathi P, Deligiannakis Y, Louloudi M. Co-catalytic enhancement of H₂ production by SiO₂ nanoparticles. *Catal Today*. 2015;242(Part A):146-152. doi:10.1016/j.cattod.2014.07.012
 306. Papastergiou M, Stamatis A, Simaioforidou A, Louloudi M. Bio-inspired Mn-catalysts immobilized on silica surface: The influence of the ligand synthesis on catalytic behavior. *Catal Commun*. 2018;108(October 2017):33-40. doi:10.1016/j.catcom.2018.01.026
 307. Capeletti LB, Baibich IM, Butler IS, Dos Santos JHZ. Infrared and Raman spectroscopic characterization of some organic substituted hybrid silicas. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc*. 2014;133:619-625. doi:10.1016/j.saa.2014.05.072
 308. Kalampounias AG. IR and Raman spectroscopic studies of sol – gel derived alkaline-earth. *High Temp*. 2011;34(2):299-303.
 309. Canyon Hydro, Summary E, Of F, et al. *Intech*. 2013;32(July):137-144.
 310. Singappuli-Arachchige D, Slowing II. Control of interfacial pH in mesoporous silica nanoparticles via surface functionalization. *J Chem Phys*. 2020;152(3). doi:10.1063/1.5138912
 311. Antonio Alves Júnior J, Baptista Baldo J. The Behavior of Zeta Potential of Silica Suspensions. *New J Glas Ceram*. 2014;04(02):29-37. doi:10.4236/njgc.2014.42004
 312. Eftekhari M, Schwarzenberger K, Javadi A, Eckert K. The influence of negatively charged silica nanoparticles on the surface properties of anionic surfactants: Electrostatic repulsion or the effect of ionic strength? *Phys Chem Chem Phys*. 2020;22(4):2238-2248. doi:10.1039/c9cp05475h
 313. Murdock RC, Braydich-Stolle L, Schrand AM, Schlager JJ, Hussain SM. Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to in vitro exposure using dynamic light scattering technique. *Toxicol Sci*. 2008;101(2):239-253. doi:10.1093/toxsci/kfm240
 314. Efthimiou I, Kalamaras G, Papavasileiou K, et al. ZnO, Ag and ZnO-Ag nanoparticles exhibit differential modes of toxic and oxidative action in hemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Sci Total Environ*. 2021;767:144699. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.144699
 315. Fragou F, Zindrou A, Deligiannakis Y, Louloudi M. Carbon–SiO₂ Hybrid Nanoparticles with Enhanced Radical Stabilization and Biocide Activity. *ACS Appl Nano Mater*. *ACS Appl. Nano Mater*. 2023, 6, 22, 20841–20854. doi:10.1021/acsanm.3c03852
 316. Solano-Umaña V, Vega-Baudrit JR. Micro, Meso and Macro Porous Materials on Medicine. *J Biomater Nanobiotechnol*. 2015;06(04):247-256. doi:10.4236/jbmb.2015.6423
 317. Bye E, Føreland S, Lundgren L, Kruse K, Rønning R. Quantitative determination of airborne respirable non-fibrous α-silicon carbide by X-ray powder diffractometry. *Ann Occup Hyg*. 2009;53(4):403-408. doi:10.1093/annhyg/mep022
 318. Stabilization of Phenolic Radicals on Graphene Oxide : An XPS and EPR Study. Published online 2015. doi:10.1021/acs.langmuir.5b01248
 319. Pierri L, Gemenetzi A, Mavrogiorgou A, Borges Regitano J, Deligiannakis Y, Louloudi M. Biochar as supporting material for heterogeneous Mn(II) catalysts: Efficient olefins epoxidation with H₂O₂. *Mol Catal*. 2020;489(March). doi:10.1016/j.mcat.2020.110946
 320. Gomez-Martin A, Schnepf Z, Ramirez-Rico J. Structural Evolution in Iron-Catalyzed Graphitization of Hard Carbons. *Chem Mater*. 2021;33(9):3087-3097. doi:10.1021/acs.chemmater.0c04385
 321. Issa AA, Luyt AS. Kinetics of alkoxysilanes and organoalkoxysilanes polymerization: A review. *Polymers (Basel)*. 2019;11(3). doi:10.3390/polym11030537
 322. Li Y, Chen C, Li JT, Yang Y, Lin ZM. Surface charges and optical characteristic of colloidal cubic SiC

- nanocrystals. *Nanoscale Res Lett.* 2011;6(1):1-7. doi:10.1186/1556-276X-6-454
323. Thapliyal V, Alabdulkarim ME, Whelan DR, Mainali B, Maxwell JL. A concise review of the Raman spectra of carbon allotropes. *Diam Relat Mater.* 2022;127(February):109180. doi:10.1016/j.diamond.2022.109180
324. Singer LS, Lewis IC. Applications of ESR To Carbonaceous Materials. *Appl Spectrosc.* 1982;36(1):52-57. doi:10.1366/0003702824638944
325. Tsoufis T, Ampoumogli A, Gournis D, et al. Direct observation of spin-injection in tyrosinate-functionalized single-wall carbon nanotubes. *Carbon N Y.* 2014;67:424-433. doi:10.1016/j.carbon.2013.10.014
326. Sheka EF. sp^2 Carbon Stable Radicals. *C.* 2021;7(2):31. doi:10.3390/c7020031
327. Pavan C, Santalucia R, Escolano-Casado G, Ugliengo P, Mino L, Turci F. Physico-Chemical Approaches to Investigate Surface Hydroxyls as Determinants of Molecular Initiating Events in Oxide Particle Toxicity. *Int J Mol Sci.* 2023;24(14). doi:10.3390/ijms241411482
328. Wei DY, Yue MF, Qin SN, et al. In Situ Raman Observation of Oxygen Activation and Reaction at Platinum-Ceria Interfaces during CO Oxidation. *J Am Chem Soc.* 2021;143(38):15635-15643. doi:10.1021/jacs.1c04590
329. Khan MM, Ansari SA, Pradhan D, Han DH, Lee J, Cho MH. Defect-induced band gap narrowed CeO₂ nanostructures for visible light activities. *Ind Eng Chem Res.* 2014;53(23):9754-9763. doi:10.1021/ie500986n
330. U.S. Department of Commerce. NIST Chemistry WebBook. Technol Natl Inst Stand Technol. Published online 2023. doi:https://doi.org/10.18434/T4D303
331. Wang L, Yu Y, He H, Zhang Y, Qin X, Wang B. Oxygen vacancy clusters essential for the catalytic activity of CeO₂ nanocubes for o-xylene oxidation. *Sci Rep.* 2017;7(1):1-11. doi:10.1038/s41598-017-13178-6
332. Bohinc K, Korade K, Jerin K, et al. Experimental and Theoretical Study of Morphological and Charging Properties of Truncated Octahedron and Cubic Ceria Nanoparticles: Implications for Biomedical Applications. *ACS Appl Nano Mater.* 2021;4(2):1434-1444. doi:10.1021/acsnm.0c02960
333. Loridant S. Raman spectroscopy as a powerful tool to characterize ceria-based catalysts. doi:10.1016/j.cattod.2020.03.044i
334. Sartoretti E, Novara C, Giorgis F, et al. In situ Raman analyses of the soot oxidation reaction over nanostructured ceria-based catalysts. *Sci Rep.* 2019;9(1):9-13. doi:10.1038/s41598-019-39105-5
335. Xu Y, Wang F, Liu X, et al. Resolving a Decade-Long Question of Oxygen Defects in Raman Spectra of Ceria-Based Catalysts at Atomic Level. *J Phys Chem C.* 2019;123:18889-18894. doi:10.1021/acs.jpcc.9b00633
336. Wu Z, Li M, Howe J, Iii HMM, Overbury SH. Probing Defect Sites on CeO₂ Nanocrystals with Well-Defined Surface Planes by Raman Spectroscopy and O₂ Adsorption †. 2010;104(21):16595-16606. doi:10.1021/la101723w
337. Chen Y, Li K, Chen Y, Zhang W, Pu Z, Jiang L. Surface interactions affect the toxicity of engineered metal oxide nanoparticles toward Paramecium. *Chem Res Toxicol.* 2012;25(8):1675-1681. doi:10.1021/tx300151y
338. Choudhury B, Chetri P, Choudhury A. Oxygen defects and formation of Ce³⁺ affecting the photocatalytic performance of CeO₂ nanoparticles. *RSC Adv.* 2014;4(9):4663-4671. doi:10.1039/c3ra44603d
339. Shen X, Wang Z, Gao X, Zhao Y. Density Functional Theory-Based Method to Predict the Activities of Nanomaterials as Peroxidase Mimics. *ACS Catal.* 2020;10(21):12657-12665. doi:10.1021/acscatal.0c03426
340. Esmailpour AA, Moradi S, Yun J, Scott J, Amal R. Promoting surface oxygen vacancies on ceria via light pretreatment to enhance catalytic ozonation. *Catal Sci Technol.* 2019;9(21):5979-5990. doi:10.1039/c9cy01450k
341. Astvatsaturov DA, Kokorin AI, Melnikov MY, Chumakova NA. Spin exchange between paramagnetic probes

- inside graphite oxide. *Chem Phys Lett.* 2023;833(November):140946. doi:10.1016/j.cplett.2023.140946
342. Bales BL, Peric M. EPR line shifts and line shape changes due to spin exchange of nitroxide free radicals in liquids 2. Extension to high spin exchange frequencies and inhomogeneously broadened spectra. *J Phys Chem A.* 2002;106(19):4846-4854. doi:10.1021/jp014518g
343. Khan ME, Khan MM, Cho MH. Ce³⁺-ion, Surface Oxygen Vacancy, and Visible Light-induced Photocatalytic Dye Degradation and Photocapacitive Performance of CeO₂-Graphene Nanostructures. *Sci Rep.* 2017;7(1):1-17. doi:10.1038/s41598-017-06139-6
344. Thakur N, Manna P, Das J. Synthesis and biomedical applications of nanoceria, a redox active nanoparticle. *J Nanobiotechnology.* 2019;17(1):1-27. doi:10.1186/s12951-019-0516-9
345. Paier J, Penschke C, Sauer J. Oxygen defects and surface chemistry of ceria: Quantum chemical studies compared to experiment. *Chem Rev.* 2013;113(6):3949-3985. doi:10.1021/cr300494g
346. Stoll S, Schweiger A. EasySpin, a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR. *J Magn Reson.* 2006;178(1):42-55. doi:10.1016/j.jmr.2005.08.013
347. Celardo I, De Nicola M, Mandoli C, Pedersen JZ, Traversa E, Ghibelli L. Ce³⁺ ions determine redox-dependent anti-apoptotic effect of cerium oxide nanoparticles. *ACS Nano.* 2011;5(6):4537-4549. doi:10.1021/nn200126a
348. Filippi A, Liu F, Wilson J, et al. Antioxidant activity of cerium dioxide nanoparticles and nanorods in scavenging hydroxyl radicals. *RSC Adv.* 2019;9(20):11077-11081. doi:10.1039/C9RA00642G
349. Hennig C, Ikeda-Ohno A, Kraus W, et al. Crystal structure and solution species of Ce(III) and Ce(IV) formates: From mononuclear to hexanuclear complexes. *Inorg Chem.* 2013;52(20):11734-11743. doi:10.1021/ic400999j
350. Bokare AD, Choi W. Review of iron-free Fenton-like systems for activating H₂O₂ in advanced oxidation processes. *J Hazard Mater.* 2014;275:121-135. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.04.054
351. Nel AE, Parak WJ, Chan WCW, et al. Where Are We Heading in Nanotechnology Environmental Health and Safety and Materials Characterization? *ACS Nano.* 2015;9(6):5627-5630. doi:10.1021/acs.nano.5b03496

