

بناام حندا او ندا جان او مین کیم سخن در زبان آید



دانشکده شیمی

رساله دکتری شیمی معدنی

تهیه نانو ذرات سریم (IV) اکسید در بسترهای طبیعی و بررسی ویژگی های کاتالیستی، سمیت سلولی و توزیع زیستی آنها

نگارنده: بهروز الهی

اساتید راهنما

دکتر مهدی میرزایی

دکتر مجید درودی

اساتید مشاور

دکتر رضا کاظمی اسکویی

دکتر کیوان صدری

بهمن ماه ۱۳۹۸



مدیریت تحصیلات تکمیلی

باسمه تعالی

شماره:

۱۳۹۹، ۲، ۰۰۱

تاریخ:

۱۳۹۹، ۷، ۷

ویرایش:

پیوست شماره ۲

دانشکده: شیمی

گروه: شیمی

رساله دکتری آقای بهروز الهی

تحت عنوان: تهیه نانو ذرات سریم (IV) اکسید در بسترهای طبیعی و بررسی ویژگی های کاتالیستی، سمیت سلولی و توزیع زیستی آنها

در تاریخ ۱۳۹۹، ۱۱، ۷ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک رساله دکتری ارزیابی گردید و با درجه عالی مورد پذیرش قرار گرفت.

امضاء	اساتید مشاور	امضاء	اساتید راهنما
—	نام و نام خانوادگی: دکتر رضا کاظمی اسکویی		نام و نام خانوادگی: دکتر مهدی میرزایی
—	نام و نام خانوادگی: دکتر کیوان صدری		نام و نام خانوادگی: دکتر مجید درودی

امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء	اساتید داور
	نام و نام خانوادگی: دکتر محمد باخرد		نام و نام خانوادگی: دکتر بهرام بهرامیان
			نام و نام خانوادگی: دکتر غلامحسین گریوانی
			نام و نام خانوادگی: دکتر مسلم جعفری ثانی

پس مخصوص خداوند مهربان که به انسان توانایی و دانایی بخشید تا به بندگان شفقّت ورزد،
مهربانی کند و در حل مشکلاتشان یاری شان نماید. از راحت خویش بگذرد و آسایش هم نوحان را
مقدم دارد، با او معامله کند و در این خلوص انان بگیرد و خوش باشد که پروردگار سمیع و بصیر

است

پس ایند منان که به من این فرصت را داد تا به این مرحله از علم رسیده و از هیچ محبتی دریغ
نکرد و در تمام مراحل زندگیم مراقبت قلب بود

ماحصل آموخته باييم را تقديم مي كنم به آمان كه مهر آسماني شان آرام بخش آلام زميني ام است

به استوار ترين نكيه گاهم، دستان پر مهر پدرم

به مهربان ترين نگاه زندگيم، چشمان پر مهر مادرم

كه هر چه آموختم در مكتب عشق شما آموختم و هر چه بگوختم قطره اي از درياي بي كران مهربانيتان را پاس توانم بگويم

امروز هستي ام به اميد شماست و فردا كهيد باغ بهشتم رضاي شما

ره آوردي كر ان سنگ تر از اين ارزان نداشتم تا به خاك پايان شمار كنم، باشد كه حاصل تلاشم نيم كوزه غبار حسنينان

را بزدايد

بوسه بردستان پر مهربان

تقدیم به، همسر عزیزم

او که سیه مهربانش سیه ساز زندگیم است، او که در تمامی لحظات رفیق راه بود و با قلبی آکنده از عشق

و معرفت محیطی سرشار از سلامت و امنیت و آرامش و آسایش برای من فراهم نمود

دوستت دارم عشق جاودانه من

تقدیم به خانواده عزیزم

لحظات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جرات خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه های یکتا و

زیبای زندگیم، مدیون حضور سبز آنهاست

تقدیم به او که آموخت مرا تا یاد آموزم

استادان فرزانه و فرهیخته ای که در راه کسب علم و معرفت مرا یاری نمودند

نمی توانم معنایی بالاتر از تقدیر و تشکر بر زبانم جاری سازم و پاس خود را در وصف استادان خویش آشکار نمایم، که هر

چه گویم و سرایم، کم گفته ام

تقدیر و تشکر:

استاد گرامی و ارجمند جناب آقایان دکتر مجید درودی و دکتر مهدی میرزایی

به پاس راهم‌پیمای ارزنده و زحمات بی دریغشان

بی شک یکی از بزرگ‌ترین افتخارات زندگی ام

شاکردی در محضر این بزرگواران بوده است

استاد گرامی و ارجمند جناب آقایان دکتر رضا کاظمی اسکویی و دکتر کیوان صدیقی

به پاس تمامی زحمات و راهم‌پیمایی ایشان در انجام این رساله

پاس و قدر دانی از هیات داور محترم

جناب آقایان دکتر بهرامیان، دکتر جعفری ثانی، دکتر کریمی و دکتر باخرد

سپاس و قدردانی از سرکار خانم دکتر غلامی و دکتر قلوبی که در انجام این رساله مرایاری دادند

سپاس و قدردانی از کارشناسان آزمایشگاه مرکزی و علوم و قون دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد سرکار خانم ها

داوری، صلوتی و امامیان و جناب آقای مهندس فیضی که همواره کمال همکاری را با اینجانب داشتند

تعمدنامه

اینجانب بهروز الهی دانشجوی دوره دکتری رشته شیمی معدنی دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده رساله با عنوان تهیه نانو ذرات سریم (IV) اکسید در بسترهای طبیعی و بررسی ویژگی های کاتالیستی، سمیت سلولی و توزیع زیستی آنها تحت راهنمایی آقایان دکتر مهدی میرزایی و دکتر مجید درودی متعهد می‌شوم.

- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان‌نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافت‌های آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .
استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

حکیده

در این پژوهش نانو ذرات سریم اکسید به روش بیوسنتز در بستره‌های عصاره گیاهی جدید از پیش ماده سریم نیترات ۶ آبه تهیه گردیدند. در این سنتزها، مولکول‌های آلی عصاره‌های گیاهی بعنوان احاطه کننده عمل کرده و مانع رشد و تجمع ذرات شدند. محصولات بدست آمده با روش‌های فیزیکی و شیمیایی از جمله آنالیز حرارتی افتراقی (TGA/DTA)، تصویر برداری میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FESEM) مجهز به طیف سنج پراکندگی پرتو ایکس (EDX)، پراش پرتو ایکس و طیف سنجی‌های مادون قرمز و فرابنفش-مرئی مشخصه یابی گردیدند. نتایج نشان دادند اندازه نانو ذرات سنتز شده کمتر از ۳۰ نانومتر بوده و شکل آن‌ها کروی یا بصورت ساختارهای متحد شکل متراکم بود. تغییر دمای تکلیس و نسبت مقدار عصاره گیاهی به پیش ماده اولیه سریم بر روی اندازه و کیفیت ذرات بدست آمده تاثیر معنی داری نشان داد. نانو ذرات سریم اکسید توانستند زیر نور لامپ ۱۱ وات فرابنفش، محلول رنگی رودامین بی را تخریب نمایند. این واکنش فوتوکاتالیزوری در محیط خنثی نسبت به محیط اسیدی و بازی سریعتر انجام گردید. بررسی مکانیسم این فرایند نشان داد حفره‌ها نقش موثرتری در سرعت تخریب رنگ نسبت به رادیکال هیدروکسید و رایکال آنیون اکسیژن داشتند. آزمون MTT نشان داد نانو ذرات سریم اکسید در تمام غلظت‌ها سمیت معنی داری بر روی رده سلولی آدنوکارسینومای اپیتلیال ریوی انسانی (A549) نداشتند. ویژگی آنتی اکسیدان نانو ذرات سریم اکسید با آزمون ۲' و ۷' دی کلرو فلورسین دی استات (DCFDAH2) بررسی گردید. نتایج نشان داد این نانو ذرات بطور موثری گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) تولید شده در متابولیسم سلولی را کاهش دادند. همچنین نوع عصاره گیاهی استفاده شده در فرآیند سنتز نانو ذرات بدلیل تاثیر بر روی اندازه ذرات و نسبت سریم ۳+ و ۴+ می تواند بر ویژگی آنتی اکسیدان تاثیر گذارد. ویژگی آنتی باکتریال نانو ذرات سریم اکسید به روش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) بر روی باکتری‌های گرم منفی (اشرشیاکلی) و گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس) بررسی گردید. نتایج نشان داد این نانو ذرات اثر آنتی باکتریال قابل توجهی ندارند، علاوه بر این در غلظت‌های بالا رشد باکتری را افزایش می دهند، در حالیکه زیر نور فرابنفش نانو ذرات نه تنها موجب رشد باکتری نشدند بلکه حدود ۳۰ درصد رشد را کاهش دادند. به منظور ارزیابی توزیع زیستی نانو ذرات سریم اکسید در بدن موش، نانو ذرات با تکنسیوم رادیو اکتیو (^{99m}Tc) نشان دار گردیدند. نتایج آزمون کروماتوگرافی لایه نازک نشان داد نانو ذرات نشان دار شده در محیط بافر فسفات و سرم خون پایدار بوده و خلوص شیمیایی بالای ۹۵ درصد را داشتند، بنابراین آن‌ها برای انجام آزمون درون تنی مناسب بودند. توزیع زیستی نانو ذرات در مدت زمان ۲۴ ساعت در بدن موش نشان داد بیشترین تجمع این نانو ذرات در کلیه و مقداری کمتر در کبد بود.

کلمات کلیدی : سنتز سبز، نانو ذرات سریم اکسید، کاتالیزور، آنتی باکتریال، آنتی اکسیدان، نشان دار سازی، توزیع زیستی

لیست مقالات مستخرج از پایان نامه

- 1- Preparation of Cerium Oxide Nanoparticles in *Salvia Macrosiphon Boiss* seeds Extract and Investigation of Their Photo-catalytic Activities, *Ceramics International*, (2019) 45:4790-4797
- 2- Bio-based synthesis of Nano-Ceria and evaluation of its bio-distribution and biological properties, *Colloid and Surface B: Biointerfaces*, (2019) 181(1), 830-836
- 3- Role of oxygen vacancies on photo-catalytic activities of green synthesized ceria nanoparticles in *Cydonia oblonga miller* seeds extract and evaluation of its cytotoxicity effects, *Journal of Alloys and Compounds*, (2020), 816 (2020), 152553-152559
- 4- Plant-based synthesis of ceria nanoparticles and its catalytic activity, 20th Iranian chemistry congress, Ferdowsi University of Mashhad, 17-19 July 2018
- 5- Food-directed synthesis of cerium oxide nanoparticles, International Congress Nutrition: From Laboratory Research to clinical studies, Mashhad University of Medical Sciences, 6-8 September 2017.

فهرست مطالب

ز	فهرست جداول
ح	فهرست شکل ها
۱	فصل اول (مقدمه)
۲	۱-۱- نانو تکنولوژی
۲	۱-۲- سنتز سبز نانو ذرات
۴	۱-۳-۱- سریم و سریم اکسید
۶	۱-۳-۱-۱- سنتز نانو ذرات سریم اکسید
۶	۱-۳-۱-۱-۱- سنتز در بستر عصاره های گیاهی
۹	۱-۴-۱- روش های شناسایی نانوذرات سریم اکسید
۹	۱-۴-۱-۱- طیف سنجی مادون قرمز (IR)
۱۰	۱-۴-۱-۲- طیف سنجی فرابنفش-مرئی (UV-Vis)
۱۰	۱-۴-۱-۳- پراش پرتو ایکس (XRD)
۱۰	۱-۴-۱-۴- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)
۱۰	۱-۴-۱-۵- طیف سنجی فوتوالکترون پرتو ایکس (XPS)
۱۱	۱-۴-۱-۶- طیف سنجی فوتولومینسانس (PL)
۱۱	۱-۵- کاربرد های نانو ذرات سریم اکسید
۱۱	۱-۵-۱- ویژگی کاتالیزوری
۱۲	۱-۵-۲- ویژگی فوتوکاتالیزوری
۱۳	۱-۵-۳- ویژگی فوتولومینسانس
۱۴	۱-۵-۴- ویژگی آنتی باکتریال
۱۷	۱-۵-۵- ویژگی آنتی اکسیدان

- ۱-۶- کاربرد های بیولوژیکی سریم اکسید ۱۹
- ۱-۶-۱- سمیت سلولی (MTT) ۱۹
- ۱-۷- توزیع زیستی نانو ذرات در موجودات زنده ۲۰
- ۱-۷-۱- شیمی معدنی در تصویربرداری هسته ای و پرتو درمانی ۲۰
- ۱-۷-۲- تکنسیوم در پزشکی هسته ای ۲۱
- ۱-۷-۳- نشان دار نمودن نانو ذرات بوسیله ی ^{99m}Tc ۲۲
- ۱-۷-۴- نحوه نشان دار سازی نانوذرات با تکنسیوم ۲۳
- ۱-۸- اهداف پژوهش ۲۴

۲۵

فصل دوم (بخش تجربی)

- ۱-۲- مواد و دستگاه های مورد استفاده ۲۷
- ۲-۲- دستگاه های مورد استفاده ۲۹
- ۳-۲- تهیه نانو ذرات سریم اکسید به روش بیوسنتز ۳۰
- ۲-۳-۱- تهیه نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای ۳۰
- ۲-۳-۱-۱- عصاره گیری از دانه گیاه مریم گلی ۳۰
- ۲-۳-۱-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره گیاهی مریم گلی ۳۰
- ۲-۳-۲- تهیه نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره گیاه بامیه ۳۳
- ۲-۳-۲-۱- عصاره گیری از گیاه بامیه ۳۳
- ۲-۳-۲-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره گیاهی بامیه ۳۳
- ۲-۳-۳- تهیه نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه کتان ۳۵
- ۲-۳-۳-۱- عصاره گیری از دانه گیاه کتان ۳۵
- ۲-۳-۳-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه کتان ۳۵
- ۲-۳-۴- تهیه نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه \square به ۳۷
- ۲-۳-۴-۱- عصاره گیری از دانه میوه گیاه \square به ۳۷
- ۲-۳-۴-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه به ۳۷
- ۲-۳-۵- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ ۳۹
- ۲-۳-۵-۱- عصاره گیری از دانه گیاه بارهنگ ۳۹

- ۳-۵-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ ۳۹
- ۳-۳-۶- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره برگ گیاه عروس انگشتی ۴۱
- ۳-۳-۶-۱- عصاره گیری از برگ گیاه عروس انگشتی ۴۱
- ۳-۳-۶-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره برگ گیاه عروس انگشتی ۴۱
- ۴-۴-۱- واکنش های کاتالیزوری و فوتوکاتالیزوری ۴۳
- ۴-۴-۱-۱- واکنش کاتالیزوری حذف رنگ متیلن بلو با سدیم بورو هیدرید در حضور سریم اکسید..... ۴۳
- ۴-۴-۲- واکنش فوتوکاتالیزوری تخریب رنگ رودامین بی در حضور نور فرابنفش و نانو ذرات سریم اکسید ۴۳
- ۳-۴-۲- بررسی اثر نقش جایگاه های خالی از اکسیژن در واکنش فوتوکاتالیزوری حذف رنگ رودامین بی ۴۵
- ۴-۴-۲- بررسی اثر نقش pH در فرآیند فوتوکاتالیزوری حذف رنگ رودامین بی ۴۵
- ۵-۵-۲- بررسی ویژگی سمیت سلولی و آنتی اکسیدان نانو ذرات سریم اکسید ۴۶
- ۵-۲-۱- آزمون سمیت سلولی (MTT) ۴۶
- ۵-۲-۲- آزمون ارزیابی میزان ROS سلول های A549 در حضور نانو ذرات سریم اکسید..... ۴۷
- ۶-۶-۱- آزمون آنتی باکتریال به روش MIC ۴۸
- ۶-۲-۱- آماده سازی و کشت باکتری ها ۴۸
- ۶-۲-۲- آماده سازی و افزودن نانو ذرات سریم اکسید به چاهک ها ۴۹
- ۶-۳-۲- ارزیابی اثر آنتی باکتریال نانو ذرات سریم اکسید ۴۹
- ۶-۴-۲- آزمون حداقل غلظت دارای خاصیت کشندگی باکتری (MBC) ۵۰
- ۷-۲- توزیع زیستی نانو ذرات سریم اکسید ۵۰
- ۷-۲-۱- نشان دار نمودن نانو ذرات سریم اکسید با تکنسیوم ^{99m}Tc ۵۰
- ۷-۲-۲- انجام آزمون کنترل کیفیت (QC) نشان دار سازی ۵۱
- ۷-۳-۲- بررسی توزیع زیستی برون تنی نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم ۵۲
- ۷-۳-۱- کشت سلولی ۵۲
- ۷-۳-۲- بررسی میزان اتصال نانوذرات نشان دار شده با تکنسیوم به سلول A549 ۵۲
- ۷-۳-۳- بررسی توزیع زیستی نانو ذرات در بدن موش ۵۳

۵۷	۱-۳- پیشگفتار.....
	۲-۳- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای
۵۸
۵۸	۱-۲-۳- آنالیز TGA.....
۵۸	۲-۲-۳- آنالیز UV-Vis.....
۶۱	۳-۲-۳- آنالیز FTIR.....
۶۱	۴-۲-۳- آنالیز XRD.....
۶۲	۵-۲-۳- آنالیز FESEM/EDX.....
۶۴	۳-۳- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره گیاه بامیه.....
۶۴	۱-۳-۳- آنالیز TGA/DTA.....
۶۵	۲-۳-۳- آنالیز UV-Vis.....
۶۶	۳-۳-۳- آنالیز FTIR.....
۶۷	۴-۳-۳- آنالیز XRD.....
۶۸	۵-۳-۳- آنالیز FESEM/EDX.....
۶۹	۴-۴- بررسی اثر غلظت عصاره گیاهی در سنتز نانو ذرات.....
۷۰	۵-۳- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره دانه گیاه کتان.....
۷۰	۱-۵-۳- آنالیز TGA/DTA.....
۷۰	۲-۵-۳- آنالیز UV-Vis.....
۷۲	۳-۵-۳- آنالیز FTIR.....
۷۲	۴-۵-۳- آنالیز XRD.....
۷۳	۵-۵-۳- آنالیز FESEM/EDX.....
۷۴	۶-۳- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره دانه گیاه به.....
۷۴	۱-۶-۳- آنالیز TGA/DTA.....
۷۵	۲-۶-۳- آنالیز UV-Vis.....
۷۶	۳-۶-۳- آنالیز FTIR.....

۷۷ XRD	۳-۶-۴- آنالیز
۷۷ FESEM/EDX	۳-۶-۵- آنالیز
۷۸	۳-۷- بررسی اثر دمای تکلیس در سنتز نانو ذرات
۷۹	۳-۸- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره دانه گیاه بارهنگ
۷۹ TGA/DTA	۳-۸-۱- آنالیز
۷۹ UV-Vis	۳-۸-۲- آنالیز
۸۱ FTIR	۳-۸-۳- آنالیز
۸۱ XRD	۳-۸-۴- آنالیز
۸۲ FESEM/EDX	۳-۸-۵- آنالیز
۸۳	۳-۹- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره گیاه عروسی انگشتی
۸۳ UV-Vis	۳-۹-۱- آنالیز
۸۴ FTIR	۳-۹-۲- آنالیز
۸۴ XRD	۳-۹-۳- آنالیز
۸۴ FESEM	۳-۹-۴- آنالیز
۸۵	۳-۱۰- واکنش های فوتوکاتالیزوری و کاتالیزوری
		۳-۱۰-۱- تخریب رنگ رودامین بی با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه
۸۵	مریم گلی لوله ای در حضور نور فرابنفش
۸۶	۳-۱۰-۱-۱- بهینه سازی مقدار کاتالیزور
۸۶	۳-۱۰-۱-۲- بررسی سنتیک واکنش فوتوکاتالیزوری و اثر اندازه ذرات روی واکنش
۸۸	۳-۱۰-۱-۳- بررسی مکانیسم واکنش کاتالیزوری
		۳-۱۰-۲- تخریب رنگ رودامین بی با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه
۹۰	گیاه به در حضور نور فرابنفش
۹۱	۳-۱۰-۲-۱- طیف فوتولومینسانس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر دانه گیاه به
۹۲	۳-۱۰-۲-۲- تاثیر جایگاه های خالی از اکسیژن بر روی واکنش فوتوکاتالیزوری
		۳-۱۰-۳- تخریب رنگ رودامین بی با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه
۹۷	بارهنگ

۳-۱۰-۴- واکنش کاهش رنگ متیلن بلو با سدیم بور هیدرید در حضور کاتالیزور سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه عروس انگشتی	۱۰۰
۳-۱۱- بررسی سمیت سلولی نانو ذرات سریم اکسید	۱۰۲
۳-۱۲- بررسی اثر آنتی اکسیدانی نانو ذرات سریم اکسید	۱۰۴
۳-۱۳- بررسی اثر آنتی باکتریال نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاهی بامیه ...	۱۰۶
۳-۱۴- نشان دار سازی نانوذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر دانه گیاه کتان و بررسی توزیع زیستی آن در موش	۱۱۱
۳-۱۴-۱- تهیه و آزمون کنترل کیفیت (QC) نانوذرات نشان دار شده سریم اکسید با تکنسیوم (^{99m} Tc)	۱۱۲
۳-۱۴-۲- مطالعه میزان اتصال سلولی	۱۱۳
۳-۱۴-۳- توزیع زیستی درون تنی نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم	۱۱۴
۳-۱۵- نتیجه گیری	۱۱۶
۳-۱۶- پیشنهادها	۱۱۸
	۱۲۰
	۱۵۰

پیوست

مراجع

فهرست جداول

- جدول ۱-۱: میزان سمیت سلولی برای سریم اکسید در شرایط مختلف ۲۰
- جدول ۱-۲: مواد استفاده شده در پژوهش ۲۷
- جدول ۲-۲: دستگاه های بکار گرفته شده در پژوهش ۲۸
- جدول ۱-۳: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای ۶۰
- جدول ۲-۳: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره گیاه بامیه ۶۶
- جدول ۳-۳: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان ۷۲
- جدول ۴-۳: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به . ۷۶
- جدول ۵-۳: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ ۸۰
- جدول ۶-۳: واکنش های اکسایش و کاهش در سطح کاتالیزور ۹۶
- جدول ۷-۳: توزیع زیستی نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر دانه گیاه کتان در بافت های مختلف بدن موش در زمان های مختلف پس از تزریق نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم..... ۱۱۶

فهرست شکل‌ها

- شکل ۱-۱: شمای کلی روش‌های فیزیکی شیمیایی نانو ذرات با تمرکز بیشتر بر روی سنتز سبز ۳
- شکل ۲-۱: ساختار بلوری سریم اکسید ۵
- شکل ۳-۱: فرمول شیمیایی ترکیب‌های فلاونید، تانین و ترپنوئید موجود در عصاره‌های گیاهی ۷
- شکل ۴-۱: مکانیسم فرضی فرآیند کاهش و پایدارسازی نانو ذرات CeO_2 ۹
- شکل ۵-۱: مکانیسم فعالیت فوتوکاتالیزوری نانوذرات در تخریب رنگ‌های آلی ۱۳
- شکل ۶-۱: سطوح انرژی پایه، برانگیخته و نقص‌های اکسیژنی در سریم اکسید ۱۴
- شکل ۷-۱: مکانیسم اثر نانو ذرات سریم اکسید بر سلول باکتری ۱۶
- شکل ۸-۱: نمودار میزان حفاظت از سلول عصبی $N2A$ بوسیله ی سریم اکسید، سریم نیترات و عصاره گیاهی آلو ورا ۱۸
- شکل ۹-۱: اتصال چند نوع لیگاند به تکنسیوم رادیواکتیو ۲۴
- شکل ۱-۳: نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه‌های سنتز شده در بستر گیاه مریم گلی لوله ای .. ۶۰
- شکل ۲-۳: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای ۶۲
- شکل ۳-۳: منحنی هیستوگرام توزیع اندازه ذرات برای سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه مریم گلی لوله ای ۶۴
- شکل ۴-۳: نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه‌های سنتز شده در بستر گیاه بامیه ۶۶
- شکل ۵-۳: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره گیاه بامیه ۶۸
- شکل ۶-۳: نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه‌های سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان ۷۱
- شکل ۷-۳: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه کتان ۷۳
- شکل ۸-۳: منحنی هیستوگرام توزیع اندازه ذرات برای سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان ۷۴
- شکل ۹-۳: نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه‌های سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به ۷۶

شکل ۳-۱۰: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سرب اکسید در بستر عصاره دانه گیاه \square به ۷۸

شکل ۳-۱۱: نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه های سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ ۸۰

شکل ۳-۱۲: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سرب اکسید در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ ۸۲

شکل ۳-۱۳: نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه های سنتز شده در بستر عصاره گیاه عروس انگشتی ۸۳

شکل ۳-۱۴: میزان شدت نور لامپ فرابنفش در طول موج های مختلف ۸۵

شکل ۳-۱۵: (a): بازده تخریب رنگ رودامین بی برای مقادیر متفاوت از کاتالیزور در مدت ۱۲ ساعت (b): درصد تخریب رنگ در حضور مقادیر متفاوت کاتالیزور در مدت ۱۲ ساعت (c): تغییرات جذب رنگ رودامین بی در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور و نور فرابنفش در زمان های مختلف (d): مقایسه بازده تخریب نوری رنگ رودامین بی در مدت زمان ۱۲ ساعت (۱) در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور و نور فرابنفش (۲) در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور در تاریکی (۳) در حضور نور فرابنفش بدون کاتالیزور ۸۷

شکل ۳-۱۶: (a): مقایسه بازده تخریب رنگ بین CeO_2-10 ، CeO_2-20 و CeO_2-30 (b): نمودار $\ln C/C_0$ نسبت به زمان تابش نور برای CeO_2-10 ، CeO_2-20 و CeO_2-30 ۸۸

شکل ۳-۱۷: طیف فرابنفش-مرئی محلول رودامین بی (۵۰ میلی لیتر با غلظت ۸ میلی گرم بر لیتر) قبل از فرآیند تخریب در مقایسه با محلول باقی مانده پس از فرآیند تخریب نوری با ۲۰۰ میلی گرم CeO_2 تحت تابش نور UV-A پس از ۱۲ ساعت ۸۹

شکل ۳-۱۸: اثر محصور کننده های مختلف بر روی بازده تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ رودامین بی با CeO_2-30 تحت تابش نور UV-A (a): با گذشت زمان (b) پس از ۱۲ ساعت ۹۰

شکل ۳-۱۹: نشر فوتولومینسانس نمونه های سرب اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به ۹۲

شکل ۳-۲۰: تغییرات جذب ۵۰ میلی لیتر رنگ رودامین بی با غلظت ۸ میلی گرم بر لیتر در زمان های مختلف در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور سرب اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاهی دانه به و نور فرابنفش ۹۳

شکل ۳-۲۱: مقایسه توانایی تخریب رنگ رودامین بی (۵۰ میلی لیتر با غلظت ۴ میلی گرم بر لیتر) بین CeO_2-400 ، CeO_2-500 و CeO_2-600 نسبت به زمان به همراه تغییرات جذب این رنگ در زمان مختلف تابش نور فرابنفش (UV-A) ۹۴

شکل ۳-۲۲: (a) نمودار $\ln C/C_0$ نسبت به زمان تابش نور برای CeO_2-400 ، CeO_2-500 و CeO_2 ۹۶
 600 (b) بازده تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ پس از ۱۸۰ دقیقه برای تمام نمونه ها ۹۶

شکل ۳-۲۳: مکانیسم فوتوکاتالیزوری تخریب رنگ رودامین بی در حضور نانو ذرات سریم اکسید تحت
 تابش نور UV-A ۹۷

شکل ۳-۲۴: تغییرات جذب محلول رنگی رودامین بی (۵۰ میلی لیتر با غلظت ۸ میلی گرم بر لیتر) در
 زمان های مختلف در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور سریم اکسید سنتز شده در عصاره دانه گیاه بارهنگ
 و نور فرابنفش ۹۸

شکل ۳-۲۵: مقایسه توانایی تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ رودامین بی (حجم ۵۰ میلی لیتر با غلظت ۴
 میلی گرم بر لیتر) با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر دانه گیاه بارهنگ در pH های مختلف
 نسبت به زمان ۹۹

شکل ۳-۲۶: (a) نمودار $\ln C/C_0$ نسبت به زمان تابش نور در حضور نانو ذرات سریم اکسید در pH های
 مختلف (b) بازده تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ پس از ۶ ساعت در pH های مختلف ۱۰۰

شکل ۳-۲۷: مقایسه قدرت کاهش رنگ متیلن بلو با سدیم بور هیدرید با و بدون حضور کاتالیزور نسبت
 به زمان و نمودار $1/C - 1/C_0$ نسبت به زمان واکنش ۱۰۱

شکل ۳-۲۸: درصد زنده ماندن سلول A549 در تماس با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بسترهای
 عصاره های گیاهی (a) دانه به (b) دانه کتان (c) دانه بارهنگ (d) بامیه ۱۰۲

شکل ۳-۲۹: ظرف های کشت ۹۶ چاهکی پس از افزودن ماده MTT شامل سلول A549 و نانو ذرات
 سریم اکسید سنتز شده در بسترهای عصاره های گیاهی (a) دانه به (b) دانه کتان (c) دانه بارهنگ (d)
 بامیه ۱۰۴

شکل ۳-۳۰: درصد خنثی سازی ROS حاصل از متابولیسم سلول های A549 با نانو ذرات سریم اکسید
 سنتز شده در بسترهای عصاره های گیاهی (a) دانه به (b) دانه کتان (c) دانه بارهنگ (d) بامیه ۱۰۵

شکل ۳-۳۱: ظرف کشت ۹۶ چاهکی شامل گروه کنترل باکتری GC، گروه کنترل نانوذرات NC، گروه
 کنترل محیط کشت SC و چاهک های حاوی باکتری و نانو ذرات سریم اکسید ۱۰۷

شکل ۳-۳۲: میزان رشد باکتری اشرشیاکلای در محیط بدون نانو ذره (GC) و در تماس با غلظت های
 مختلف نانو ذرات در شرایط تاریکی و تابش نور UV-A ۱۰۸

- شکل ۳-۳۳: میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در محیط بدون نانو ذره (GC) و در تماس با غلظت های مختلف نانو ذرات در شرایط تاریکی و تابش نور UV-A ۱۰۹
- شکل ۳-۳۴: ظرف های کشت باکتری برای آزمون MBC ۱۱۱
- شکل ۳-۳۵: میزان اتصال نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم در غلظت های مختلف به سلول های A549 ۱۱۳
- شکل ۳-۳۶: تصویر دوبعدی قدامی و خلفی از موش (a) ۶ ساعت (b) ۲۴ ساعت پس از تزریق $^{99m}\text{Tc-CeO}_2\text{-400}$ ۱۱۴

فصل اول مقدمه

۱-۱- نانو تکنولوژی

نانوتکنولوژی یک تکنولوژی جدید با کاربرد های ارزشمند است و شامل سنتز و کاربرد موادی است که حداقل در یک بعد دارای اندازه‌ی ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می باشند. امروزه روش های متنوع فیزیکی و شیمیایی برای سنتز نانو ذرات بکار برده می شود و از آن میان، کاهش بیوژنیک^۱ فلزات که نانو ذرات مربوطه را تولید می کنند بدلیل سازگاری با محیط زیست، کم بودن هزینه و حذف مواد شیمیایی مضر برای کاربردی های پزشکی و بیولوژیکی درجایی که خلوص نانوذرات حائز اهمیت است مورد توجه می باشد. برای سنتز نانو ذرات دو روش کلی بالا به پایین^۲ و پایین به بالا^۳ وجود دارد که احیا بیوژنیک یک روش پایین به بالا محسوب شده و مشابه روش شیمیایی است که در آن به جای عامل کاهنده شیمیایی، عصاره یک محصول طبیعی به کار گرفته می شود که بطور ذاتی دارای عامل پایدار کننده^۴ بوده و به سبب ویژگی محصور کنندگی^۵ از رشد ذرات جلوگیری می کند. نانو مواد بدلیل اندازه کوچک و مساحت سطح زیاد، خواص برجسته و جالبی نسبت به حالت توده ماده از خود نشان می دهند. سنتز سبز نانو ذرات به سبب بکارگیری عامل کاهنده، احاطه کننده و پایدار کننده طبیعی که فاقد مواد سمی و شیمیایی گران قیمت هستند و همچنین به سبب کاهش در مصرف انرژی، بسیار مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است [۴-۱].

۱-۲- سنتز سبز نانو ذرات

همانطور که اشاره شد در سنتز نانو ذرات بطور کلی از دو روش پایین به بالا و بالا به پایین استفاده می شود (شکل ۱-۱)، در روش بالا به پایین نانو ذرات با کاهش اندازه ذرات به روش های مختلف فیزیکی و

^۱ Biogenic reduction

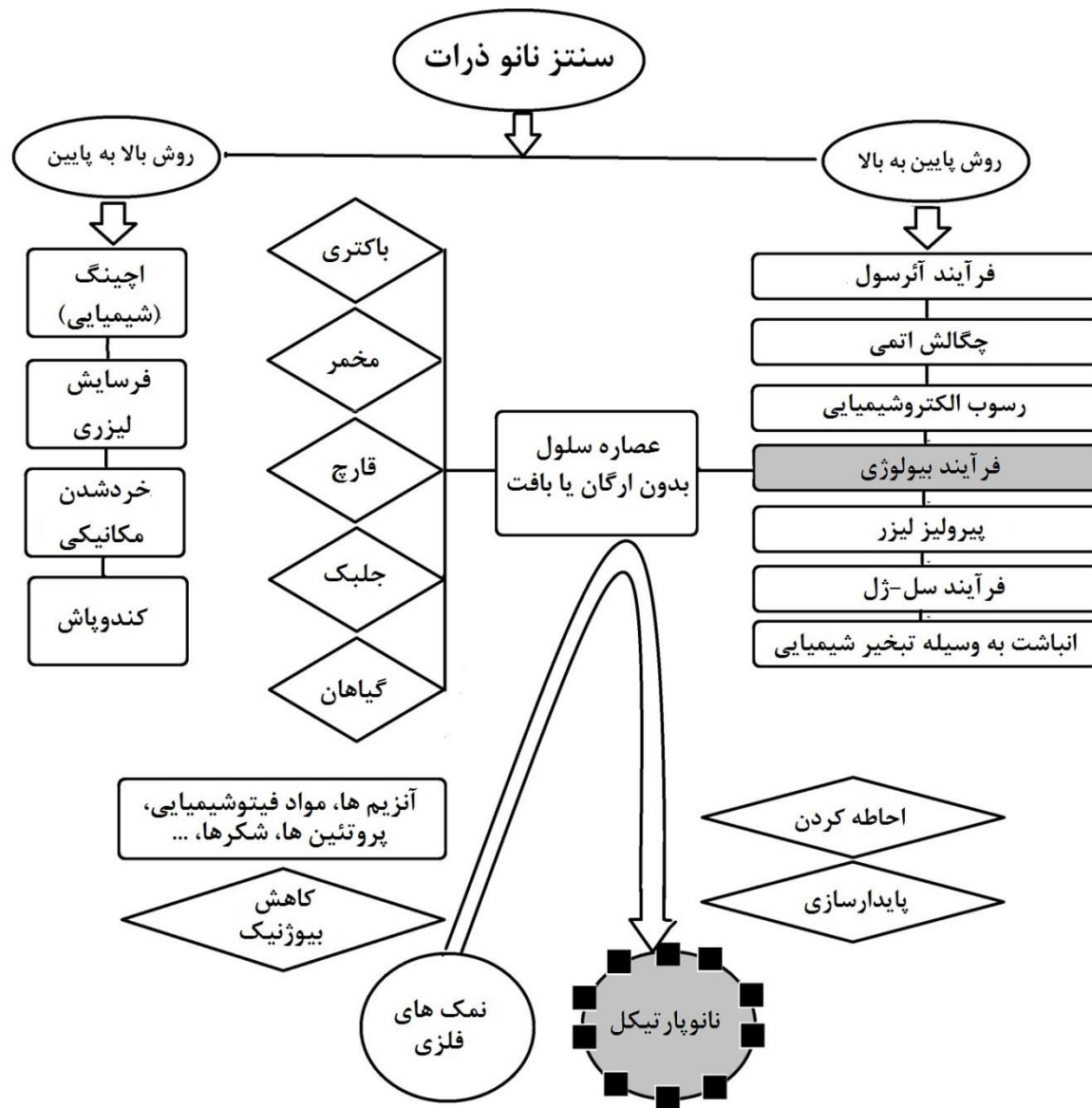
^۲ Top Down

^۳ Bottom Up

^۴ Reducing agent

^۵ Capping

شیمیایی بدست می آیند [۵]. در روش پایین به بالا نانو ذرات از بخش های کوچکی مثل اتم ها و مولکول ها با استفاده از واکنش های اکسایش و کاهش تولید می شوند.



شکل ۱-۱: شمای کلی روش های فیزیکی شیمیایی نانو ذرات با تمرکز بیشتر بر روی سنتز سبز [۶]

در روش سنتز بیولوژیکی میکروارگانیسم ها و نیز عصاره های گیاهی کاربرد گسترده ای دارند [۷]. سنتز نانو ذرات به این روش که به روش سبز نیز معروف است، شبیه به کاهش شیمیایی است و همانطور که

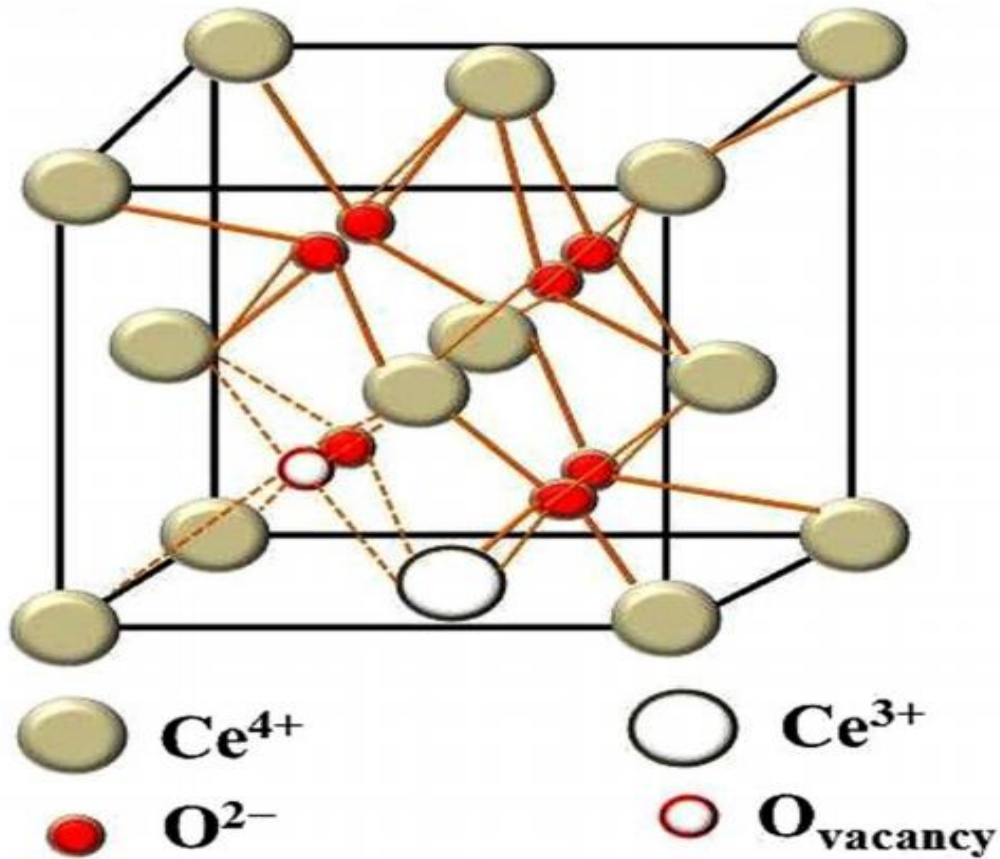
اشاره شد مواد شیمیایی گران قیمت در این روش با عصاره های گیاهی جایگزین می گردند تا نانو ذرات فلزی یا اکسید آن ها تولید گردد. طبیعت این مواد بیولوژیک و غلظت آن ها تاثیر مستقیم بر روی اندازه و شکل نانو ذرات دارد [۸] و نانو ذرات تولید شده به این روش دارای ترکیب شیمیایی هموزن و حداقل نقص می باشند. به علاوه، اندازه و شکل نانو ذرات به پارامترهای رشد شامل pH، دما، غلظت نمک و زمان فرایند نیز کاملاً وابسته است [۹].

۱-۳- سریم و سریم اکسید

اتم سریم از دسته لانتانیدها بوده و اکسید آن (CeO_2)، جز اکسیدهای کمیاب در زمین است که ویژگی نیمه هادی دارد. مقدار سریم در پوسته زمین ppm ۶۴ و بیشتر از مس و قلع با فراوانی به ترتیب ۶۰ و ppm ۲/۳ است [۱۰، ۱۱]. اتم سریم دارای ۳۰ ایزوتوپ رادیواکتیو با نیمه عمر متفاوت و عددهای جرمی ۱۲۳ تا ۱۵۲ گرم بر مول می باشد. ایزوتوپ های پایدار آن ^{136}Ce ، ^{138}Ce و ^{140}Ce هستند که فراوان ترین آن ها ایزوتوپ ^{140}Ce با فراوانی ۸۸٫۵ درصد است. فلز سریم در فشار یک اتمسفر و در جو آرگون در محدوده دمایی ۷۹۵ تا ۳۴۴۳ درجه سانتیگراد مایع بوده و ظاهری شبیه به قلع داشته، نرم و رسانا است. این فلز با قرار گرفتن در معرض اکسیژن هوا برای مدت تقریبی یک ساعت بسادگی تبدیل به سریم اکسید با رنگ زرد می شود. سریم اکسید دارای گپ انرژی^۱ در بازه ای وسیع و انرژی برانگیختگی زیاد (۳/۱۹ الکترون ولت) می باشد. فرمول شیمیایی سریم اکسید در واقع CeO_{2-x} ($x=0$ تا ۰٫۵) است که اتم سریم در آن دارای عدد اکسایش +۳ و +۴ بوده و دارای ساختار کریستالی مکعبی وجوه مرکز پر فلوریت با گروه فضایی $Fm3m$ (شکل ۱-۲) می باشد که در آن هر کاتیون فلزی بوسیله ی هشت اتم اکسیژن، احاطه شده است [۱]. این اکسید فلزی دارای کاربرد های مهمی در زمینه هایی از علم مواد، پزشکی، الکتروشمی و فوتوشیمی است که از آن جمله می توان به کاربرد آن در کاتالیزور ها [۱۲]، سنسورهای

^۱ Band gap

گاز [۱۳]، مواد صیقل دهنده^۱ [۱۴]، سل‌های سوختی اکسیدی جامد^۲ [۱۵]، عینک آفتابی [۱۶]، جاذب های نور فرابنفش [۱۷]، الکترونیک [۱۸]، کشاورزی [۱۹]، ابزارهای نوری [۲۰]، دارو رسانی^۳ [۲۱] و زمینه های زیست پزشکی اشاره نمود.



شکل ۱-۲: ساختار بلوری سریم اکسید

^۱ Polishing materials

^۲ Solid oxide fuel cells

^۳ Drug delivery

۱-۳-۱- سنتز نانو ذرات سریم اکسید

نانو ذرات سریم اکسید تاکنون به روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی از جمله سل-ژل^۱ [۲۴-۲۲]، هیدروترمال^۲ [۲۵]، سولوترمال^۳ [۲۶]، مایکروویو^۴ [۲۷]، سونوشیمی^۵ [۲۸]، پیرولیزاسپری شعله^۶ [۲۹]، بال میل^۷ [۳۰]، تجزیه حرارتی^۸ [۳۱] و هم رسوبی^۹ [۳۲] سنتز شده اند.

۱-۱-۳-۱- سنتز در بستر عصاره‌های گیاهی

بکارگیری عصاره‌ها در سنتزهای شیمیایی مزایای زیادی دارد، از جمله اینکه دسترسی و بکارگیری آن‌ها آسان بوده و این مواد شامل مولکول‌های بیولوژیکی متنوعی از جمله آلکالوئیدها^{۱۰}، فلاونیدها^{۱۱}، ترپنوئیدها^{۱۲}، فنل‌ها^{۱۳}، تانین‌ها^{۱۴}، کوئینین‌ها^{۱۵}، پروتین‌ها^{۱۶} و ... می باشند [۲۸]. بعنوان مثال، فرمول شیمیایی فلاونید، تانین و ترپنوئید در شکل ۱-۳ نشان داده شده است. از دیگر خواص این مواد می توان به اثرات دارویی مانند ویژگی آنتی اکسیدان، محافظ قلب، ضد فشار خون و ضد سرطان آن‌ها اشاره نمود [۳۳].

^۱ Sol-gel

^۲ Hydrothermal

^۳ Solvothermal

^۴ Microwave

^۵ Sonochemical

^۶ Flame spray pyrolysis

^۷ Ball milling

^۸ Thermal decomposition

^۹ Co-precipitation

^{۱۰} Alkaloids

^{۱۱} Flavonoids

^{۱۲} Terpenoids

^{۱۳} Phenols

^{۱۴} Tannins

^{۱۵} Quinins

^{۱۶} Protein

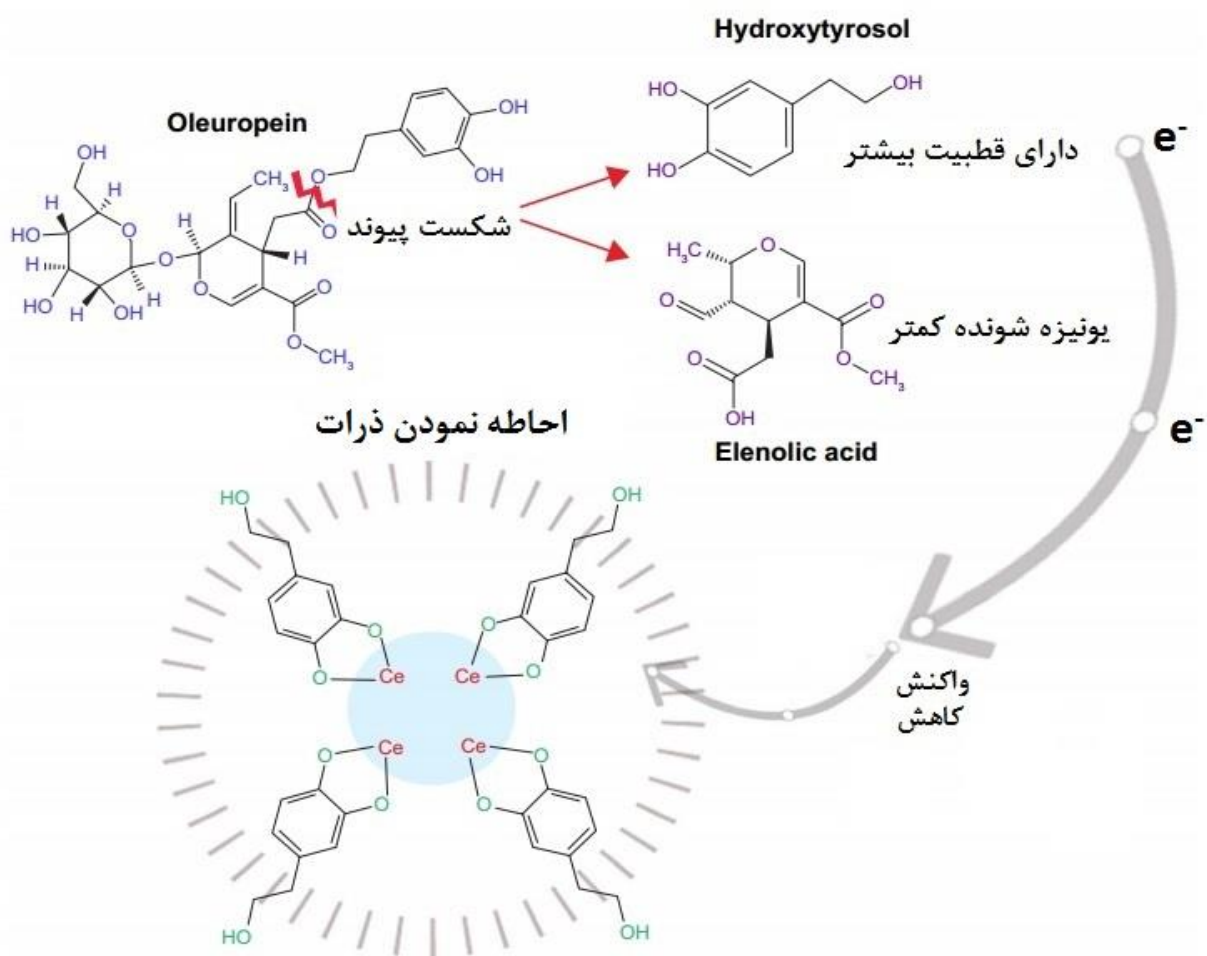
تاکنون گزارش های محدودی از سنتز سبز نانو ذرات سریم اکسید بوسیله مواد بیولوژیکی مانند عسل [۳۶]، سوسن آتش^۱ [۱]، لئوکس آسپرا^۲ [۳۷] و زیتون^۳ [۳۸] منتشر شده است. برای درک بهتر مکانیسم عملکرد عصاره های گیاهی بعنوان عامل کاهنده و پایدار کننده مکانیسم اثر عصاره زیتون در سنتز نانو ذرات سریم اکسید در شکل ۱-۴ آورده شده است. عصاره زیتون شامل مواد بسیاری است که بعنوان عامل احاطه کننده ذرات نقش دارند، اولئوروپئین^۴ فراوان ترین ترکیب زیست فعال در عصاره زیتون است که به هیدروکسی تیروسل شکسته می شود [۳۹] و این ماده همانطور که در شکل ۱-۴ نشان داده شده به عنوان احاطه کننده / پایدار کننده عمل می نماید [۳۸].

^۱ *Gloriosa superba*L

^۲ *Leucas aspera*

^۳ *Olea europaea*

^۴ *Oleuropein*



شکل ۴-۱: مکانیسم فرضی فرآیند کاهش و پایدارسازی نانو ذرات CeO₂ [۳۸]

۴-۱- روش های شناسایی نانوذرات سریم اکسید

۴-۱-۱- طیف سنجی مادون قرمز (IR)

ارتعاش کششی قوی پیوند Ce-O در حدود 450 cm^{-1} تایید تشکیل CeO₂ است. همچنین باند ضعیف مربوط به ارتعاش کششی پیوند O-Ce-O در حدود 1050 cm^{-1} در طیف مادون قرمز این ترکیب مشاهده می شود [۴۰].

۱-۴-۲- طیف سنجی فرابنفش-مرئی (UV-Vis)

سرب اکسید دارای یک نوار جذبی قوی در ناحیه ۳۰۰ تا ۴۰۰ نانومتر است که این نوار جذبی مربوط به انتقال الکترون از O_{2p} به Ce_{4f} می باشد. موقعیت این نوار جذبی با توجه به اندازه ذرات جابه‌جا می گردد [۲۳، ۳۷].

۱-۴-۳- پراش پرتو ایکس (XRD)

الگوی پراش سرب اکسید که در شبکه مکعب مرکز پر فلوریت متبلور می گردد مربوط به صفحه های بلوری (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۲۲۲)، (۴۰۰)، (۳۳۱)، (۴۲۰) و (۴۲۲) می باشد (JCPDS data card No:34-0394) که بترتیب در زوایای (2θ) ۲۸/۵، ۳۳، ۴۷/۴، ۵۶/۲، ۵۸/۸، ۶۹/۴، ۷۶/۳ و ۸۹/۲ درجه مشاهده می گردند.

۱-۴-۴- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

براساس مطالعات گذشته اندازه و شکل نانوذرات به فرآیند سنتز (غلظت عصاره گیاهی، غلظت نمک سرب، دما و...) بستگی دارد، از جمله شکل هایی که برای نانو ذرات سرب اکسید مشاهده شده است می توان به کروی، مثلثی، چهار ضلعی و هشت وجهی اشاره نمود [۴۰، ۴۱].

۱-۴-۵- طیف سنجی فوتوالکترون پرتو ایکس (XPS)

به کمک طیف سنجی فوتوالکترون پرتو ایکس حالت اکسایش هر یک از عناصر نمونه و همچنین ترکیب گروه های سطحی نانو ذرات تعیین می گردد. نسبت Ce^{4+}/Ce^{3+} در عملکرد ویژگی آنتی اکسیدان و آنتی باکتریال نانو اکسید سرب نقش دارد [۱].

۱-۴-۶- طیف سنجی فوتولومینسانس (PL)

وجود فضاهای خالی از اکسیژن در سطح سریم اکسید سبب ایجاد ترازهای انرژی در سطح پایین‌تری نسبت به باند هدایت سریم اکسید می‌شود که انرژی انتقال آن‌ها در ناحیه مرئی واقع می‌گردد و سبب ایجاد نشر فوتولومینسانس نیز می‌شود. باند های نشر فوتولومینسانس در ناحیه بین ۴۰۰ تا ۵۵۰ نانومتر ظاهر می‌گردند [۴۱, ۴۲].

۱-۵- کاربرد های نانو ذرات سریم اکسید

۱-۵-۱- ویژگی کاتالیزوری

فعالیت کاتالیزوری سریم اکسید به دو دلیل است: ۱- توانایی بالای جذب اکسیژن در شبکه کریستالی، ۲- آسان بودن تبدیل سریم $+۳$ و $+۴$ به یکدیگر. این اکسید در اندازه نانو دارای فضاهای خالی از اکسیژن بیشتری نسبت به حالت توده ماده می‌باشد و در این حالت کاربرد کاتالیزوری وسیع‌تری خواهد داشت. به علاوه، وجود این اکسید در پوسته زمین قیمت آنرا کاهش داده و این اکسید فلزی را گزینه مناسبی جهت انجام واکنش‌های کاتالیزوری می‌نماید. بطور نمونه سریم در صنایع خودروسازی در مبدل‌های کاتالیزوری آگزوز خودرو برای حذف گوگرد مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین در صنایع تصفیه نفت خام، ۴۵ درصد وزنی ترکیب‌های کاتالیزوری را سریم و دیگر عناصر کمیاب زمین تشکیل می‌دهند. برای تولید استایرن از اتیل بنزن نیز کاتالیزوری شامل مخلوط سریم اکسید و آهن اکسید به کار گرفته می‌شود [۴۳].

۱-۵-۲- ویژگی فوتوکاتالیزوری

در فرآیندهای فوتوکاتالیزوری، الکترون های باند ظرفیت^۱ نیمه هادی ها هنگامی که در معرض تابش فوتون با انرژی کافی (برابر یا بزرگتر از گپ انرژی) قرار می گیرند به باند هدایت^۲ منتقل گردیده و تولید ساختار الکترون-حفره می نمایند که این الکترون ها در فرآیندهای زیر نقش دارند: [۴۴]

الف) تشکیل محصولات کاهش یافته رنگ ها

ب) جاذب های الکترون: مانند اکسیژن موجود در سطح سریم اکسید یا اکسیژن محلول در آب

که با گرفتن الکترون تولید رادیکال آنیون سوپر اکسید ($O_2^{\bullet-}$) می کند.

البته حفره ها نیز باعث فرآیندهای زیر می گردند:

الف) تولید محصولات اکسید شده رنگ ها

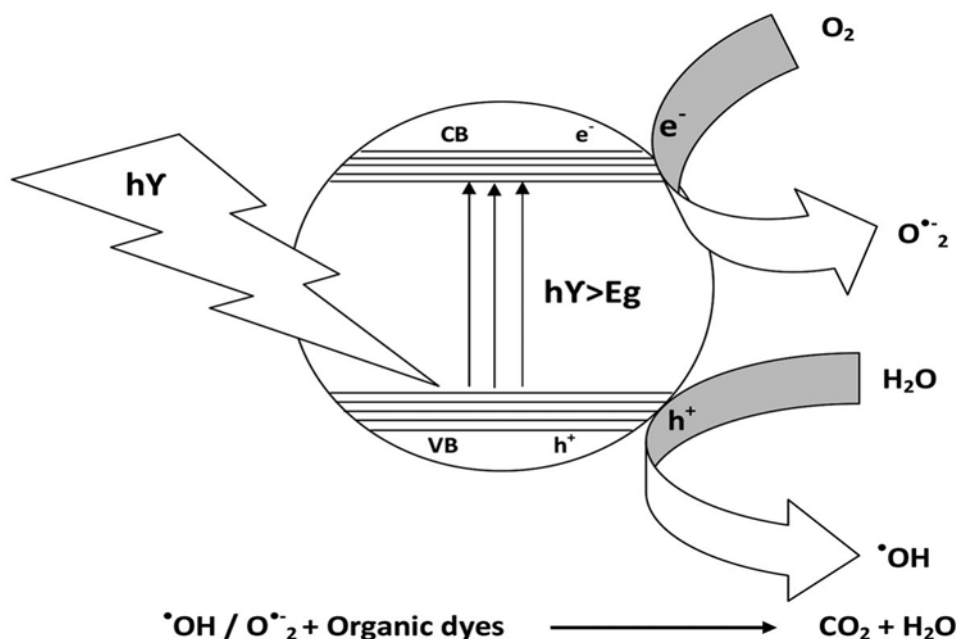
ب) ترکیب با آب و تولید رادیکال هیدروکسیل ($\bullet OH$)، که اکسید کننده ای قوی بوده و قابلیت

اکسید کردن رنگ های آزو و تبدیل آن ها به مواد غیرسمی را دارد.

مکانیسم تخریب رنگ های آلی در فرآیندهای فوتوکاتالیزوری، در شکل ۱-۵ آورده شده است [۴۵].

^۱ Valence band

^۲ Conduction band



شکل ۱-۵: مکانیسم فعالیت فوتوکاتالیزوری نانوذرات در تخریب رنگ های آلی [۴۵]

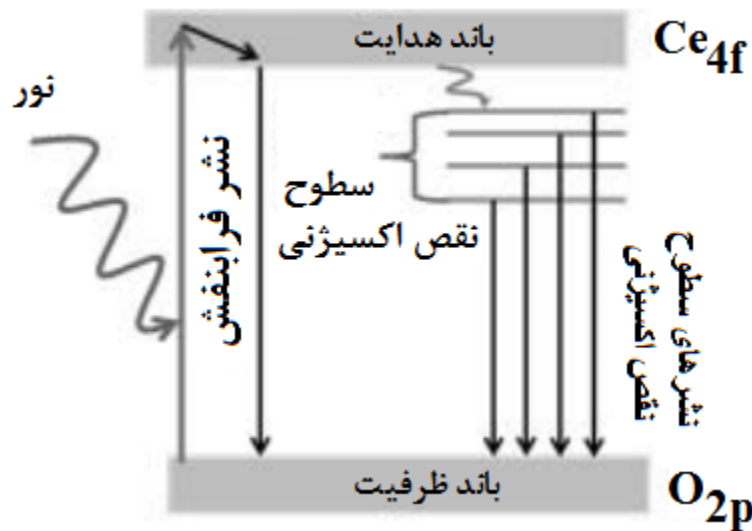
رنگ های مورد استفاده در صنایع نساجی و دیگر صنایع یکی از عوامل مهم در آلودگی محیط زیست بشمار می آیند. این رنگ های محلول در آب برای رنگریزی عمیق^۱ بکار می روند، در نتیجه پساب این صنایع حاوی پسماندهای رنگی است. امروزه دانشمندان به دنبال راه های مناسبی برای تخریب این رنگ ها و حذف آن ها از پساب های صنعتی هستند که یکی از آن راه ها استفاده از ترکیبات دارای ویژگی فوتوکاتالیزوری است. سریم اکسید از جمله ترکیباتی است که با داشتن باند گپ ۳/۱۹ الکترون ولت گزینه مناسبی برای این کاربرد در نظر گرفته می شود.

۱-۵-۳- ویژگی فوتولومینسانس

در نیمه هادی ها، از ویژگی فوتولومینسانس آن ها برای مطالعه بدام انداختن، مهاجرت و انتقال بار در ساختار الکترون-حفره استفاده می شود [۴۴]. خواص فوتولومینسانس سریم اکسید بدلیل نقص های

^۱ Deep-dyeing

سطحی و جایگاه های خالی از اکسیژن آن است که با انتقال الکترون میان ترازهای انرژی مربوط به جایگاه های خالی اکسیژن و اوربیتال 2p اکسیژن پدید می آید [۴۶]. نشر فوتولومینسانس در سریم اکسید در محدوده مرئی قرار دارد بدلیل اینکه ترازهای انرژی مربوط به جایگاه های خالی اکسیژن در سطح انرژی پایین تری نسبت به باند هدایت دارند و در نتیجه انرژی انتقال الکترون کمتر می باشد و شدت نشر با افزایش تعداد جایگاه های اکسیژن در سطح افزایش می یابد. در شکل ۱-۶ تراز های انرژی و مکانیسم فوتولومینسانس نشان داده شده است.



شکل ۱-۶: سطوح انرژی پایه، برانگیخته و نقص های اکسیژنی در سریم اکسید^۱

۱-۵-۴- ویژگی آنتی باکتریال

ویژگی آنتی باکتریال نانو ذرات CeO_2 به اندازه ذرات، مساحت سطح، بار سطح^۲ و مورفولوژی بستگی داشته که با روش های متنوع سنتز می توان آن ها را کنترل کرد [۴۷, ۴۸]. در صورتی که بار سطحی نانو ذرات و باکتری با هم متفاوت باشند، برهمکنش الکترواستاتیک بین آن ها باعث جذب بیشتر نانو ذرات به دیواره سلولی باکتری و تقویت ویژگی آنتی باکتریال می شود. علاوه بر این نانو ذرات سریم اکسید

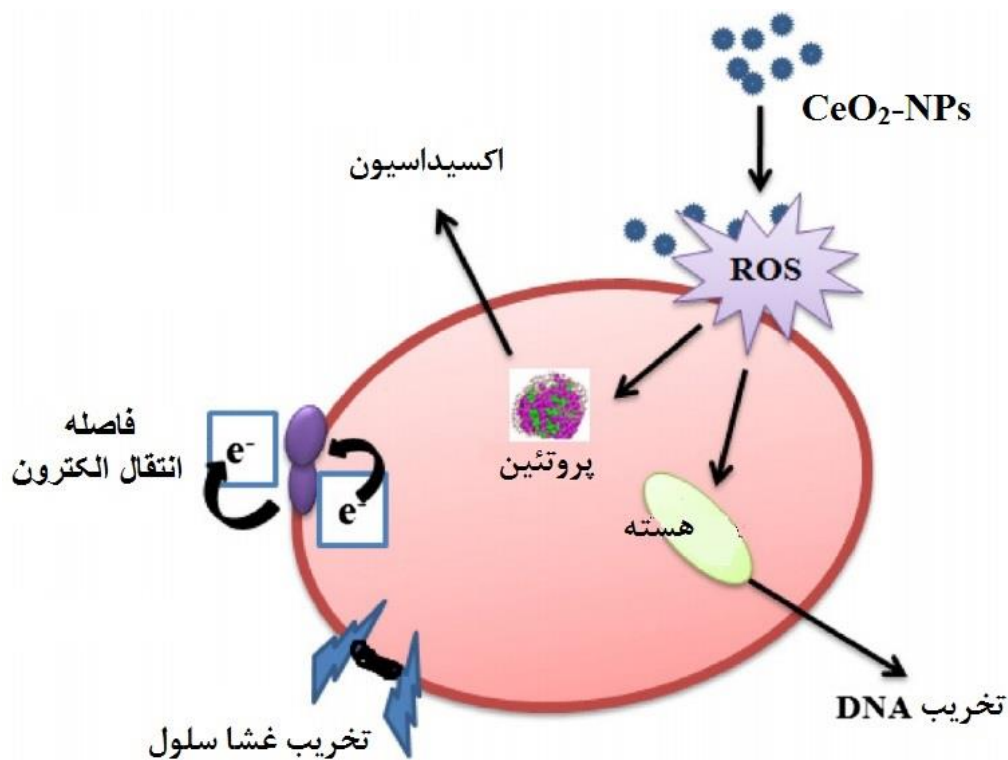
^۱ رسم شده توسط نرم افزار Adobe Photoshop CC

^۲ Surface charge

می توانند با تولید گونه های اکسیژنی فعال^۱ (ROS) باعث مرگ سلول باکتری گردند [۴۹]. زمانی که نانو ذرات سریم اکسید در معرض نور با انرژی بیشتر از باند گپ خود قرار می گیرند الکترون به باند هدایت منتقل شده و حفره در باند ظرفیت بوجود می آید [۴۹]، که این الکترون در واکنش با اکسیژن مولکولی، تولید رادیکال آنیون، سوپر اکسید ($O_2^{\cdot-}$) نموده و حفره نیز با جذب الکترون از آب، تولید رادیکال هیدروکسید ($\cdot OH$) می کند [۵۰]. رادیکال هیدروکسید یک اکسید کننده قوی است و باعث آسیب و از بین بردن تمام مولکول های زیستی آلی شامل کربوهیدرات ها، نوکلئیک اسیدها، لیپیدها، پروتئین ها، دزوکسی ریبونوکلیک اسیدها (DNA) و آمینو اسیدها می شود [۵۱]. رادیکال آنیون سوپر اکسید به اندازه رادیکال هیدروکسید قوی نیست، اما می تواند همان اثرات را ایجاد نماید. همچنین اکسیژن یکتایی (1O_2) که بطور غیر مستقیم از واکنش های آبی آنیون سوپر اکسید تولید می شود، بطور غیر برگشت پذیری به بافت های سلولی آسیب می رساند [۵۲]. شکل ۱-۷ مکانیسم اثر نانو ذرات سریم اکسید بر باکتری را نشان می دهد. عامل دیگری که می تواند باعث اثر آنتی باکتریال گردد وجود نسبت بیشتر Ce^{4+} به Ce^{3+} در ساختار سریم اکسید بوده که در اثر تبدیل سریم $+۴$ به سریم $+۳$ گونه های اکسیداتیو (ROS) مانند رادیکال هیدروکسیل تشکیل می شود که بر اساس آنچه در شکل ۱-۷ نشان داده شده باعث از بین رفتن باکتری ها می شود. زمانی که ذرات سیم اکسید به اندازه نانو می رسند، نقص های اکسیژنی افزایش یافته و نسبت سریم $+۳$ به $+۴$ افزایش می یابد که اثر معکوس بر ویژگی آنتی باکتریال داشته و بلکه به آن خاصیت آنتی اکسیدانی می بخشد [۴۸].

^۱ Reactive Oxygen Species (ROS)

در یک پژوهش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس^۱ (گرم مثبت) و اشرشیاکلا^۲ (گرم منفی) برای ارزیابی ظرفیت آنتی باکتریال نانو ذرات سریم اکسید بررسی گردیدند. نتایج نشان داد نانو ذرات سریم اکسید دارای خاصیت آنتی باکتریال می باشند، نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده دارای بار سطحی مثبت



شکل ۱-۷: مکانیسم اثر نانو ذرات سریم اکسید بر سلول باکتری [۵۲]

هستند و این امر همانطور که گفته شد بدلیل جذب بهتر این نانو ذرات بر روی سطح باکتری خاصیت ضد باکتری نانو ذرات سریم اکسید را افزایش می دهد [۲۷].

^۱ Staphylococcus aureus

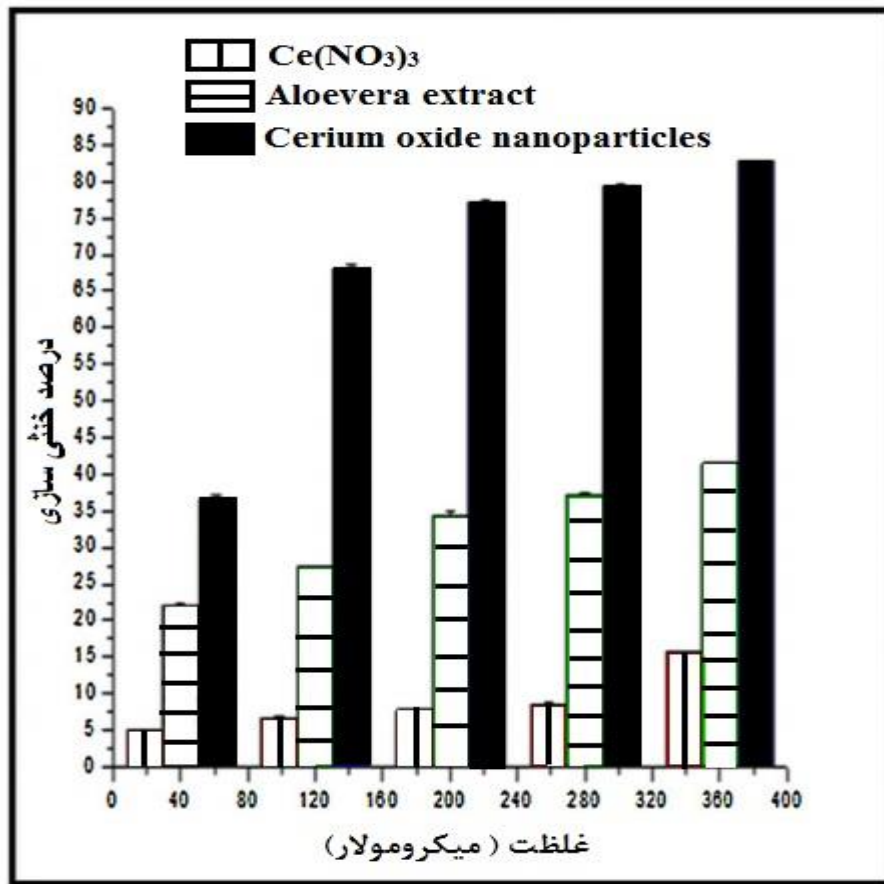
^۲ Escherichia coli

۱-۵-۵- ویژگی آنتی اکسیدان

مواد اکسیدان، به جهت تولید گونه های اکسیژن واکنش پذیر همچون رادیکال آنیون اکسیژن، رادیکال هیدروکسیل، اکسیژن یکتایی و هیدروژن پراکسید، تخریب کننده سلول های زنده هستند [۵۳] و نقش آنتی اکسیدان ها محافظت سلول از این مواد است. در ساختار سریم اکسید، اتم سریم دارای عدد اکسایش $+۳$ و $+۴$ بوده که پایدارترین حالت آن $+۴$ است. سریم $+۳$ و سریم $+۴$ به راحتی به یکدیگر تبدیل می شوند که این امر بدلیل اختلاف ناچیز انرژی لازم برای اشغال اوربیتال های $4f$ و $5d$ است [۳۶]. در اثر تبدیل سریم $+۴$ به $+۳$ در ساختار سریم اکسید، نقص اکسیژنی بوجود می آید که خود در ایجاد خاصیت آنتی اکسیدان این ماده نقش دارد. در سریم اکسید، سریم $+۳$ بوسیله ی گونه های اکسیژنی واکنش پذیر محیطی، سریعاً به سریم $+۴$ تبدیل می گردد که به خنثی شدن این گونه های اکسند می انجامد [۵۳]. از سوی دیگر، تبدیل سریم $+۴$ به سریم $+۳$ با گونه های اکسیژنی واکنش پذیر کاهنده، با سرعت کندی انجام می شود که این امر باعث ایجاد خاصیت آنتی اکسیدان این ترکیب می گردد. جایگاه های خالی از اکسیژن نیز در این فرآیند، با جذب رادیکال آنیون اکسیژن و هیدروژن پراکسید، در سرعت بخشیدن به این امر کمک می کنند [۵۴]. بر اساس پژوهش های انجام شده، هرچه سنتز سریم اکسید در دمای پایین تری انجام شود، نسبت Ce^{3+}/Ce^{4+} در ساختار سریم اکسید تولید شده افزایش یافته و سبب ایجاد ویژگی آنتی اکسیدانی بهتری در محصول می شود [۵۵]. همچنین در سنتز از طریق عصاره های گیاهی، ترکیبات بیولوژیک این عصاره ها دارای مواد فعالی هستند که خود دارای ویژگی آنتی اکسیدان بوده و می توانند این فرآیند را بهبود بخشند [۵۶].

در یک مطالعه نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاهی آلوورا از نظر ویژگی آنتی اکسیدان مورد بررسی قرار گرفت و همانطور که در شکل ۱-۸ نشان داده شده است سریم اکسید بطور

قابل توجهی در خنثی سازی رادیکال ها نسبت به سریم نیترات و عصاره گیاهی آلوورا موفق تر عمل کرده است [۵۷].



شکل ۱-۸: نمودار میزان حفاظت از سلول عصبی N2A بوسیله ی سریم اکسید، سریم نیترات و عصاره گیاهی آلوورا [۵۷]

مطالعات اخیر پزشکی نشان داده است که نانوذرات سریم اکسید، برای کاهش آسیب رسانی رادیکال های آزاد به سلول های مغز موش صحرایی، شامل نرون ها یا سلول های عصبی، نوروگلی^۱ و میکرونوروگلی^۲ [۵۸، ۵۹] توانا هستند. گمان می رود که ویژگی ضد اکسیدکنندگی این نانو ذرات بتواند طول عمر سلول های

^۱ Neuroglia

^۲ Micro neuroglia

عصبی را با کاهش آسیب رسانی رادیکال‌های آزاد، که معمولاً در اختلالات کهنه و حادثه‌شونده سیستم کنترل عصبی مشارکت دارند، افزایش دهد.

۱-۶- کاربرد های بیولوژیکی سریم اکسید

۱-۶-۱- سمیت سلولی (MTT^۱)

میزان سمیت نانو ذرات سریم اکسید با تست رنگ سنجی (MTT) 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide انجام می‌گیرد [۶۰]. هنگامی که سلول‌ها در معرض نانو ذرات سمی قرار می‌گیرند تولید اکسیداتیو استرس (ROS) می‌کنند که منجر به مرگ سلول می‌شود. برای تعیین میزان سمیت سلولی سریم اکسید در تماس با سلول‌های مختلف از آزمون MTT استفاده می‌شود. ماده زرد رنگ MTT توسط آنزیم دهیدروژناز ترشح شده از میتوکندری سلول‌های زنده موجب کاهش ماده MTT و تولید بلورهای بنفش رنگ فورمازان^۲ می‌شود که با حل کردن این بلورها در حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) و اندازه‌گیری جذب آن می‌توان میزان سمیت نانو ذره را تعیین کرد، در واقع از دیدگاه کیفی هر چقدر رنگ بنفش پررنگ‌تر باشد نشان دهنده درصد بیشتری از سلول‌های زنده است.

در یک مطالعه سمیت نانو ذرات سریم اکسید به روش MTT بر روی سلول‌های عصبی N2A^۳ ارزیابی گردید و نتایج نشان داد، این نانو ذره در غلظت‌های کمتر از ۱۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر سمیتی ندارد و می‌توان این ماده را در کارهای بیولوژیکی بکار گرفت [۲۳]. میزان سمیت نانو ذرات سریم اکسید بر

^۱ 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide

^۲ Formazan

^۳ Mouse neuroblastoma cells

اساس روش سنتز، اندازه نانو ذرات و نوع سلولی که با آن در تماس هستند می تواند متفاوت باشد. جدول ۱-۱ سمیت نانو ذرات سریم اکسید در شرایط متفاوت را نشان می دهد.

جدول ۱-۱: میزان سمیت سلولی برای سریم اکسید در شرایط مختلف

شماره رفرنس	غلظت امن نانو ذره برای سلول ($\mu\text{g/ml}$)	نوع سلول	اندازه ذرات (nm)	روش سنتز
[۶۱]	۳۰۰	HELFL	۵	شیمیایی - همرسوبی
[۶۲]	۵	HT29	۱۵	شیمیایی - همرسوبی
[۶۲]	۱۶۰	SW620	۱۵	شیمیایی - همرسوبی
[۶۳]	۵۰۰	WEHI164	۲۵	سنتز سبز (سل ژل) - کیتوزان بعنوان احاطه کننده
[۶۴]	۲۵۰	WEHI164	۳۰	شیمیایی - همرسوبی
[۶۴]	۵۰۰	L929	۳۰	شیمیایی - همرسوبی
[۶۵]	۲۵	MSCs	۶	سنتز سبز (مایکروویو)- شکر بعنوان احاطه کننده
[۲۴]	۲۵	N2A	۲۳	سنتز سبز (سل ژل) - عسل بعنوان احاطه کننده

۱-۷- توزیع زیستی^۱ نانو ذرات در موجودات زنده

۱-۷-۱- شیمی معدنی در تصویربرداری هسته ای و پرتو درمانی

فلزات رادیواکتیو نقش مهمی در رادیو داروهای تشخیصی و درمانی ایفا می کنند. این زمینه از رادیو شیمی شامل چندین زمینه تخصصی شامل تولید رادیو فلزات، جداسازی آن ها از منبع، طراحی آن ها بعنوان لیگاند کمپلکس دهنده در محیط بیولوژیکی و مشخص کردن جایگاه قرار گیری این رادیو فلز در بدن موجود زنده می باشد، و همچنین تصویر برداری هسته ای یا پرتو درمانی از کاربردهای این رادیو

^۱ Bio-distribution

داروها می باشد. شیمی معدنی در طراحی و کاربرد رادیو فلزات، هم در تصویربرداری و هم در پرتودرمانی نقش اساسی و کلیدی دارد [۶۶].

کاربرد رادیو ایزوتوپ های عناصر معدنی در پزشکی هسته ای، تشخیصی و درمانی علاقه پژوهشگران به مطالعه در این زمینه را از زمان کشف رادیو اکتیو برانگیخته است. در اواسط تا اواخر دهه ۱۹۳۰ میلادی شاهد توسعه رادیو مواد دارای کاربرد پزشکی شامل ^{32}P ، ^{131}I و ^{89}Sr بودیم و مطالعات اولیه انسانی در درمان لوکمیا، تیروئید و استخوان انجام گرفت [۶۶]. توسعه ژنراتور تولید کننده $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ در اواخر دهه ۱۹۵۰ میلادی منجر به برتری $^{99\text{m}}\text{Tc}$ در پزشکی هسته ای گردید و بعنوان رادیو دارو در تصویر برداری و درمان مورد توجه قرار گرفت [۶۷].

۱-۷-۲- تکنسیوم در پزشکی هسته‌ای

تکنسیوم در دسترس بصورت یون پرتکنیتات^۱ ($^{99}\text{TcO}_4^-$) بوده که با رآکتور نسبتا ارزان $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ تولید شده و برای تصویربرداری برش‌نگاری رایانه‌ای تک فوتونی (SPECT^2) بسیار مناسب است. تکنسیوم دارای اعداد اکسایش ۱- تا ۷+ می باشد که Tc(III) ، Tc(I) و Tc(V) در پزشکی هسته ای استفاده می گردد [۶۸]. در ژنراتورهای $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ هسته مادر با نیمه عمر ۶۶ ساعت و هسته دختر آن $^{99\text{m}}\text{Tc}$ دارای نیمه عمر ۶ ساعت می باشد. در این ژنراتور عنصر مادر به صورت سدیم مولیبدات بر روی ستون کروماتوگرافی آلومینا (Al_2O_3) جذب می شود. از استحاله ^{99}Mo یون پرتکنیتات به وجود می آید. با عبور سرم فیزیولوژیک از داخل ستون و تعویض یون ها می توان محلول حاوی سدیم پرتکنیتات را به صورت استریل و عاری از پیروژن^۳ از ژنراتور برداشت نمود. آنیون مولیبدات (MoO_4^{2-}) بدلیل بار منفی بیشتر

^۱ Pertechnetate

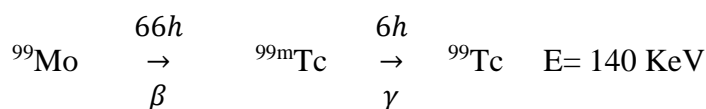
^۲ Single-photon emission computed tomography

^۳ Pyrogens

جذب ستون آلومینا شده و آنیون پرتکنیتات از ستون عبور می کند و اصطلاحاً از ژنراتور دوشیده^۱ می شود.

۱-۷-۳- نشان دار نمودن نانو ذرات بوسیله ی ^{99m}Tc

از قرن بیستم نانو ذرات و کاربرد آنها در پزشکی رشد روزافزونی داشته است و در این راستا درمان و تشخیص سرطان با استفاده از نانوذرات در حال گسترش می باشد. ترکیبی از نانو ذرات و منابع نوری در تشخیص و درمان سرطان در تمام مراحل پیشروی سرطان نقطه عطف گسترش این تکنیک می باشد [۶۹]. تاکنون نانوذرات مختلفی از جمله نانوذرات آهن، طلا، نقره، مس مورد مطالعه قرار گرفته است [۷۰]، ولی تاکنون مطالعه خاصی بر روی نانوذرات سریا یا سریم اکسید صورت نگرفته است. در این تکنیک به منظور ارزیابی توزیع زیستی نانو ذرات، آنها را بوسیله ی تکنسیوم (^{99m}Tc) نشان دار^۲ کرده و به بدن موجود زنده تزریق می نمایند. با توجه به ویژگی پرتوزایی تکنسیوم که پیشتر به آن اشاره شد، با بکارگیری تصویر برداری دوربین گاما، به بررسی تجمع نانوذرات در بدن می پردازند. فرآیند پرتوزایی تکنسیوم طبق معادله زیر انجام می شود



در یک پژوهش نانوذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) با تکنسیوم نشان دار شده و توزیع حیاتی این ذرات نانو فریت را در موش ویستار^۳ بررسی نمودند [۷۱]. میزان نشان دار سازی نانوذرات با تکنسیوم ۹۹٪ بوده و سپس نحوه توزیع رادیو دارو به کمک دوربین گاما در بخش پزشکی هسته ای مورد مطالعه قرار گرفت. میزان پایداری این نشان دار سازی در محیط برون تنی^۴ نیز با روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) در

^۱ Eluted

^۲ Labeled

^۳ Wistar

^۴ In vitro

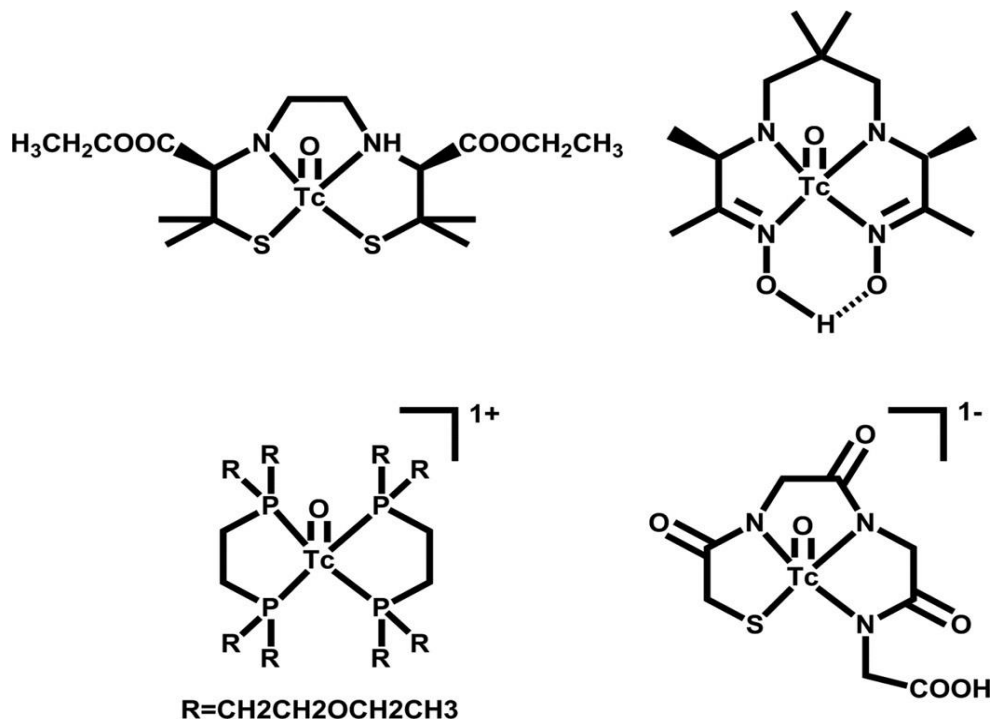
محیط بافری مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان تجمع رادیو دارو در زمانهای مختلف پس از تزریق باکمک تصویر برداری دوربین گاما تعیین شد و نتیجه گیری شد که بیشترین تجمع اکتیویته در کبد حیوان ۳۰ دقیقه بعد از تزریق می باشد.

در پژوهشی دیگر ذرات طلا و Mannase/HYNIC-GGc با یکدیگر ترکیب شده و نتیجه آن در ارزیابی رفتار بیولوژیکی به عنوان رادیو دارو در سیستم گره لنفاوی بررسی شد [۷۲]. در این مطالعه پس از هم آمیختن نانو ذرات با ماده مورد نظر و تکنسیوم به کمک میکروسکوپ الکترونی TEM ساختار مولکولی آن مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعات آزمایشگاهی کروماتوگرافی TLC و HPLC به کار گرفته شد. با میکروسکوپ الکترونی ساختار جدید ترکیب جدید نشان داده شد و به کمک تکنیک کروماتوگرافی میزان پیوند ماده‌ی مورد نظر با تکنسیوم رادیواکتیو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که درصد اتصال این ماده به تکنسیوم ۹۵٪ بود. همچنین بیشترین تجمع نانو ذرات در کبد حیوان موش و یستار مشاهده گردید که پس از تزریق، میزان ۹۹٪ اکتیویته در محل لنفاوی حیوان اندازه گیری شد و این موضوع به کمک تصویر برداری SPECT/CT مورد تأیید قرار گرفت. در نهایت مشاهده شد که بعد از گذشت ۲۴ ساعت عمده این دارو در کلیه ها تجمع یافته و به میزان کمی در بقیه ارگانهای حیوان وجود داشت.

۱-۷-۴- نحوه نشان دار سازی نانوذرات با تکنسیوم

همانطور که گفته شد تکنسیوم رادیواکتیو که از ژانراتور دوشیده می شود بصورت سدیم پرتکنیتات (NaTcO_4) می باشد که عدد اکسایش تکنسیوم در آن $+۷$ است. برای اینکه بتوان فرآیند نشان دار سازی را انجام داد باید تکنسیوم با یک کاهنده مانند قلع (II) کلرید کاهش یابد. معمولا عدد اکسایش تکنسیوم به $+۳$ تا $+۵$ تبدیل می گردد و با از دست دادن لیگاندهای اکسیژن اطرافش می تواند پذیرای لیگاندهای جدید باشد که اکسیدهای فلزی نانو ذرات، از طریق اکسیژن به تکنسیوم کوئوردینه می شوند. شکل ۱-۹ نحوه اتصال چهار لیگاند مختلف به تکنسیوم را نشان می دهد. این ترکیبات از اختلاط بین تکنسیوم

کاهش یافته و لیگاند مورد نظر در داخل یک تیوب در دمای محیط برای مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه تشکیل می شوند.



شکل ۹-۱: اتصال چند نوع لیگاند به تکنسیوم رادیواکتیو

۸-۱- اهداف پژوهش

در این پژوهش سنتز سبز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره های گیاهی جدید به روش سل-ژل انجام پذیرفت. تمام ترکیبات با روش های مختلف آنالیز فیزیکی- شیمیایی از جمله طیف سنجی FTIR و UV-Vis، پراش پرتو ایکس (XRD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM) مجهز به طیف سنج پراکندگی اشعه ایکس (EDX)، آنالیز وزن سنجی حرارتی TGA/DTA، طیف سنجی نشر فوتولومینسانس (PL) و آنالیز پراکندگی نور (DLS) مشخصه یابی گردیدند. شرایط سنتز شامل غلظت مواد واکنش دهنده

و تاثیر دمای تکلیس^۱ و زمان سنتز در کیفیت نانو ذرات تولیدی مورد بررسی و بهینه سازی قرار گرفت. ویژگی کاتالیزوری این نانو ذرات در حذف رنگ متیلن بلو مورد بررسی قرار گرفت. همچنین توانایی نانوذرات در تخریب رنگدانه آلی رودامین بی در حضور نور فرابنفش بررسی و شرایط این آزمایش بهینه سازی شد. مکانیسم فرآیند فوتوکاتالیزوری و ارزیابی تاثیر نقص های اکسیژنی ساختار سریم اکسید بر روی واکنش فوتوکاتالیزوری نیز مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه ویژگی های بیولوژیکی نانو ذرات سریم اکسید شامل آزمون سمیت سلولی، خاصیت آنتی اکسیدان و آنتی باکتریال نانو ذرات ارزیابی گردید. در انتها نانو ذرات سریم اکسید با تکنسیوم رادیواکتیو نشان دار سازی گردید و پس از بهینه سازی شرایط آزمایش و انجام تست های کنترل کیفی و آزمون برون تنی، توزیع زیستی این نانو ذرات نشان دار شده ی رادیواکتیو در بدن موش مورد ارزیابی قرار گرفت.

^۱ Calcination temperature

فصل دوم بخش تجربی

۲-۱- مواد و دستگاه های مورد استفاده

در این پژوهش مواد و دستگاه های فهرست شده در جدول های ۱-۲ و ۲-۲ مورد استفاده قرار گرفته است.

جدول ۱-۲: مواد استفاده شده در پژوهش

ردیف	مواد مورد نیاز	فرمول مولکولی	جرم مولکولی	شرکت سازنده
۱	سریم نترات ۶ آب	$Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$	۴۳۴/۲۲	Merck
۲	سدیم بوروهیدرید	$NaBH_4$	۳۷/۸۳	Merck
۳	کلرواستانور	$SnCl_2$	۱۸۹/۶	Merck
۴	آب مقطر	H_2O	۱۸	شرکت داخلی
۵	اتانول	C_2H_5OH	۴۶/۰۷	شرکت هامون
۶	سدیم هیدروژن کربنات	$NaHCO_3$	۸۴	Merck
۷	۲- و ۷- دی کلرو دی هیدرو فلورسین (DCFH ₂ -DA)	$C_{24}H_{16}Cl_2O_7$	۴۸۷/۲۹	Sigma-Aldrich
۸	۳-(۴-دی اتیل تiazول-۲-یل)-۵-دی اتیل فیتیل تترازولیوم بروماید (MTT)	$C_{18}H_{16}BrN_5S$	۴۱۴/۳۲	Sigma-Aldrich
۹	دی متیل سولفوکسید	$(CH_3)_2SO$	۷۸/۱۴	Merck
۱۰	بافر نمکی فسفات (PBS)			
۱۱	بنزویک اسید	$C_7H_6O_2$	۱۲۲/۱۲	Merck
۱۲	باریم کلرید	$BaCl_2$	۲۰۸/۲۳	Merck
۱۳	سولفوریک اسید	H_2SO_4	۹۸	Merck
۱۴	تکنسیوم رادپواکتیو ^{99m}Tc (سدیم پرتکنیتات)	$NaTcO_4$	۱۶۹/۸۹	PARSTEC
۱۵	رده سلولی A549			انسیتو پاستور ایران
۱۶	موش (رت)			خانه حیوانات- علوم پزشکی مشهد
۱۷	باکتری استافیلوکوکوس اورئوس			سویه بالینی
۱۸	باکتری ایشرشیا کلای			سویه بالینی

Sigma-Aldrich	---	---	پودر آگار مولر هینتون (MHA)	۱۹
Biowest	---	---	سرم جنین گاو (FBS)	۲۰
Merck	---	---	محلول بافر فسفات (PBS)	۲۱
Bioidea	---	---	تریپسین-EDTA ۰/۰۵ درصد	۲۲
Sigma-Aldrich	---	---	محیط غنی LB broth	۲۳
Merck	۱۰۸/۰۹	C ₆ H ₄ O ₂	بنزوکینون	۲۴
شرکت سازنده	جرم مولکولی	فرمول مولکولی	مواد مورد نیاز	ردیف
Bioidea	---	---	Dulbecco's Modified Eagle Medium	۲۵
Merck	۴۷۹/۰۲	C ₂₈ H ₃₁ ClN ₂ O ₃	رنگ دانه رودامین بی	۲۶
Merck	۳۱۹/۸۵	C ₁₆ H ₁₈ ClN ₃ S	رنگ دانه متیلن بلو	۲۷
Alfasan	۲۳۷/۷۲	C ₁₃ H ₁₆ ClNO	کتامین ۱۰٪	۲۸
Alfasan	۲۲۰/۳۳	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ S	زایلزین ۲٪	۲۹

جدول ۲-۲: دستگاه های بکار گرفته شده در پژوهش

نام دستگاه	مدل	ساخت	ردیف
FE-SEM/EDX	TESCAN MIRA3	جمهوری چک	۱
XRD	D8-Advance Bruker	آمریکا	۲
TGA/DTA	Bahr STA 503	آلمان	۳
PL spectrophotometer	PerkinElmer	آمریکا	۴
FT-IR spectrophotometer	Rayleigh-WQF-510A	چین	۵
UV-Vis spectrophotometer	CeCil-CE9500	انگلستان	۶
TLC plate	TLC Silica gel 60 F ₂₅₄	آلمان	۷
DLS	HORIBA scientific SZ-100	آلمان	۸
Ultrasonic bath	BANDELIN	آلمان	۹
Ultrasonic probe	BANDELIN	آلمان	۱۰
⁹⁹ Mo- ^{99m} Tc Generator	PARSTEC	ایران	۱۱
Oven	Memmert	آلمان	۱۲
Electric furnace	FINETECH SEF-101P	کره جنوبی	۱۳
pH meter	WTW	آلمان	۱۴
Incubator	Memmert	آلمان	۱۵
Gamma camera	Siemens	آلمان	۱۶

Gamma counter	Delshid, DL-100	ایران	۱۷
Micro plate reader	PerkinElmer	آمریکا	۱۸
Plate reader	Biotek-EPOCH	آمریکا	۱۹
UVA lamp	متفرقه	چین	۲۰
Heater and stirrer	Heidolph	بلژیک	۲۱
96 well plate (untreated)	JetBiofil	چین	۲۲
نام دستگاه	مدل	ساخت	ردیف
6 well plate (treated)	SPL	کره جنوبی	۲۳
96 well plate (treated)	SPL	کره جنوبی	۲۴
Agar plate	SPL	کره جنوبی	۲۵
Incubator shakers	Heidolph Unimax 1010	بلژیک	۲۶
Centrifuge	Sigma	آلمان	۲۷

۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه طیف سنج زیر قرمز مدل Rayleigh-WQF-510A در دامنه $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ ، با قرص KBr مورد استفاده قرار گرفت. الگوهای پراش پرتو ایکس با دستگاه D8-Advance Bruker با استفاده از لامپ مس ($K\alpha_1$) با طول موج 0.15046 نانومتر ثبت گردید. طیف های جذبی فرابنفش با طیف سنج CECIL-UV-Vis Ce9500 ثبت گردید. تصاویر نانو ذرات با دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) مدل TESCAN MIRA3 مجهز به آنالیزگر انرژی پراکندگی اشعه ایکس (EDX) گرفته شد. آنالیز پراکندگی نور دینامیکی (DLS) با دستگاه (HORIBA scientific SZ-100) انجام گرفت. آنالیز وزن سنجی حرارتی و آنالیز حرارتی افتراقی (TGA/DTA) با دستگاه (Bahr STA 503) در جو اتمسفر انجام شد. حمام و پروب التراسونیک ساخت شرکت BANDELIN مورد استفاده قرار گرفت. برای عکس برداری مقطع نگاری با گسیل چاپ شده تک فوتونی (SPECT) از بدن موش از دوربین گاما شرکت Siemens و برای شمارش پرتوهای رادیواکتیو از دستگاه شمارنده اشعه گاما شرکت Delshid, DL-100 استفاده شد. برای قرائت میزان جذب ماده MTT از پلیت خوان شرکت Biotek-EPOCH و برای اندازه گیری نشر

رنگ DCF از میکرو پلیت خوان PerkinElmer استفاده گردید. در واکنش های فوتوکاتالیزوری و آنتی باکتریال از لامپ فلورسنت فرابنفش ۱۱ وات با حداکثر شدت تابش ۴,۴ وات بر مترمربع در طول موج ۳۶۵ نانومتر استفاده گردید.

۳-۲- تهیه نانو ذرات سریم اکسید به روش بیوسنتز

۳-۲-۱- تهیه نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی

لوله ای^۱

۳-۲-۱-۱- عصاره گیری از دانه گیاه مریم گلی

مقدار ۱۰ گرم از دانه های این گیاه وزن گردید و برای حذف گرد و غبار روی آن شستشو داده شد. سپس داخل بشر به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید و بر روی حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴ ساعت هم زده شد. مخلوط موسیلاژ بدست آمده با فیلتر صاف گردید و عصاره بدست آمده داخل یخچال نگهداری گردید.

۳-۲-۱-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره گیاهی مریم گلی

مقدار ۵ گرم از ماده سریم نیترات ۶ آبه وزن شده و در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و این محلول بصورت قطره قطره به محلول حاوی عصاره گیاه افزوده شد بطوری که حجم نهایی محلول به ۱۰۰ میلی لیتر رسید. این محلول در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۶ ساعت هم زده شد سپس محلول حاصل در داخل آون ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا محلول تبخیر گردد و ژل زرد رنگ بدست آید. بخشی از این ژل برای آنالیز TGA ارسال گردید و براساس نتایج آزمون مذکور مابقی ژل در داخل کوره الکتریکی در دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد تکلیس گردید و پودر زرد رنگ سریم اکسید بدست آمد. بازده

^۱ Salvia Macrosiphon Boiss seeds

این سنتز ۹۰ درصد بوده و به منظور بهینه سازی نسبت غلظت عصاره به غلظت سریم اکسید، مقادیر ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی لیتر از عصاره در واکنش‌های مختلف استفاده گردید در حالی که غلظت محلول سریم نیترات در تمام واکنش‌ها ثابت در نظر گرفته شد و در تمام موارد حجم نهایی محلول واکنش ۱۰۰ میلی لیتر بود. اطلاعات مشخصه یابی این ترکیبات با آنالیزهای طیف سنجی FTIR و UV-Vis و پراش پرتو ایکس (XRD) در زیر آمده است و آنالیزهای مذکور در شکل‌های ۱ تا ۹ پیوست ارائه گردیده است. لازم به ذکر است بدلیل اینکه طیف فرابنفش برای نمونه‌ای که با ۴۰ میلی لیتر عصاره سنتز گردیده بود، دارای پیک پهن و ضعیف بوده و طول موج جذب بالاتری داشت و از روندی که برای نمونه ۱۰ و ۲۰ و ۳۰ میلی لیتر وجود داشت تبعیت نکرد آنالیزهای دیگر غیر از طیف سنجی فرابنفش-مرئی برای آن انجام نگردید و این نمونه در بررسی‌های بعدی کنار گذاشته شد.

۱- سریم اکسید (۱۰ میلی لیتر عصاره)

دمای تکلیس: ۴۰۰ °C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۴۳۰ (ν O-H), ۱۶۱۴ (ν C=O), ۱۳۷۹ (ν C-H), ۱۰۵۳ (ν O-Ce-O), ۴۸۴ (ν Ce-O).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۲۱

XRD: (۱۱۱, $2\theta/5^\circ$), (۲۰۰, 33°), (۲۲۰, $47/4^\circ$), (۳۱۱, $56/2^\circ$), (۲۲۲, $58/8^\circ$), (۴۰۰, $69/4^\circ$), (۳۳۱, $76/3^\circ$), (۴۲۰, 79°), (۴۲۲, $89/2^\circ$)

۲- سریم اکسید (۲۰ میلی لیتر عصاره)

دمای تکلیس: ۴۰۰ °C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۴۳۰ (v O-H), ۱۶۱۴ (v C=O), ۱۳۷۹ (v C-H), ۱۰۵۳ (v O-Ce-O), ۴۸۴ (v Ce-O).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۱۵

XRD: (۱۱۱, $2\theta/5^\circ$), (۲۰۰, 33°), (۲۲۰, $47/4^\circ$), (۳۱۱, $56/2^\circ$), (۲۲۲, $58/8^\circ$), (۴۰۰, $69/4^\circ$), (۳۳۱, $76/3^\circ$), (۴۲۰, 79°), (۴۲۲, $89/2^\circ$)

۳- سریم اکسید (۳۰ میلی لیتر عصاره)

دمای تکلیس: 400°C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۴۳۰ (v O-H), ۱۶۱۴ (v C=O), ۱۳۷۹ (v C-H), ۱۰۵۳ (v O-Ce-O), ۴۸۴ (v Ce-O).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۰۱

XRD: (۱۱۱, $2\theta/5^\circ$), (۲۰۰, 33°), (۲۲۰, $47/4^\circ$), (۳۱۱, $56/2^\circ$), (۲۲۲, $58/8^\circ$), (۴۰۰, $69/4^\circ$), (۳۳۱, $76/3^\circ$), (۴۲۰, 79°), (۴۲۲, $89/2^\circ$)

۴- سریم اکسید (۴۰ میلی لیتر عصاره)

دمای تکلیس: 400°C

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۱۸

۲-۳-۲- تهیه نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره گیاه بامیه^۱

۲-۳-۲-۱- عصاره گیری از گیاه بامیه

مقدار ۱۰ گرم بامیه پس از شستشو و خرد کردن، به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. سپس مخلوط حاصل به مدت ۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه هم زده شد. مخلوط موسیلاژ بدست آمده جهت جدا کردن باقی مانده گیاه ابتدا توسط فیلتر درشت صاف گردید و سپس برای جداسازی قسمت های ریز باقی مانده مخلوط حاصل در دور ۲۵۰۰ دور دقیقه سانتریفیوژ گردید. عصاره موسیلاژ بدست آمده که دارای رنگ زرد کم رنگ بود داخل یخچال نگهداری گردید.

۲-۳-۲-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره گیاهی بامیه

با توجه به سنتز نمونه قبلی و یافتن شرایط بهینه برای سنتز آن، در این مرحله، سنتز سریم اکسید با عصاره گیاه بامیه با نسبت های مشابه بخش ۲-۳-۲-۱ انجام پذیرفت و مقادیر عصاره همان ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ در نظر گرفته شد. بر اساس آنالیز طیف سنجی فرابنفش نمونه حاوی ۴۰ میلی لیتر عصاره دارای پیک جذبی ضعیف تری نسبت به دیگر نمونه ها بود بعلاوه این مورد که در این آزمایش نمونه سنتز شده با ۴۰ میلی لیتر عصاره بخشی از آن به داخل کوره پاشیده شده بود (با وجود داشتن در بر روی بوتله چینی) در حالیکه چنین موردی برای نمونه های دیگر پیش نیامده و می توان گفت نسبت عصاره به غلظت سریم اکسید حائز اهمیت بوده و بروی کیفیت محصول تولیدی تاثیر معنی داری دارد که در بخش نتیجه گیری بیشتر به این مورد اشاره خواهد شد. بر اساس آنالیز TGA/DTA دمای تکلیس تمام نمونه ها ۴۰۰ درجه سانتیگراد در نظر گرفته شد.

۱- سریم اکسید (۱۰ میلی لیتر عصاره)

^۱ Abelmoschus esculentus

دمای تکلیس: ۴۰۰ °C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۳۸۰ (v O-H), ۱۶۰۴ (v C=O), ۱۳۶۹ (v C-H), ۱۰۳۵ (v O-Ce-O), ۴۴۳ (v Ce-O).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۳۳

XRD: (۱۱۱, $2\theta/5^\circ$), (۲۰۰, 33°), (۲۲۰, $47/4^\circ$), (۳۱۱, $56/2^\circ$), (۲۲۲, $58/8^\circ$), (۴۰۰, $69/4^\circ$), (۳۳۱, $76/3^\circ$), (۴۲۰, 79°), (۴۲۲, $89/2^\circ$)

۲- سریم اکسید (۲۰ میلی لیتر عصاره)

دمای تکلیس: ۴۰۰ °C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۳۸۰ (v O-H), ۱۶۱۲ (v C=O), ۱۳۷۹ (v C-H), ۱۰۲۲ (v O-Ce-O), ۴۰۱ (v Ce-O).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۳۴

XRD: (۱۱۱, $2\theta/5^\circ$), (۲۰۰, 33°), (۲۲۰, $47/4^\circ$), (۳۱۱, $56/2^\circ$), (۲۲۲, $58/8^\circ$), (۴۰۰, $69/4^\circ$), (۳۳۱, $76/3^\circ$), (۴۲۰, 79°), (۴۲۲, $89/2^\circ$)

۳- سریم اکسید (۳۰ میلی لیتر عصاره)

دمای تکلیس: ۴۰۰ °C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۴۰۰ (v O-H), ۱۶۰۴ (v C=O), ۱۳۵۳ (v C-H), ۱۰۲۰ (v O-Ce-O), ۴۲۴ (v Ce-O).

UV-Vis (H₂O, λ_{\max} (nm)): ۳۰۸

XRD: (۱۱۱, ۲۸/۵°), (۲۰۰, ۳۳°), (۲۲۰, ۴۷/۴°), (۳۱۱, ۵۶/۲°), (۲۲۲, ۵۸/۸°), (۴۰۰, ۶۹/۴°),
(۳۳۱, ۷۶/۳°), (۴۲۰, ۷۹°), (۴۲۲, ۸۹/۲°)

۴- سریم اکسید (۴۰ میلی لیتر عصاره)

دمای تکلیس: ۴۰۰ °C

UV-Vis (H₂O, λ_{\max} (nm)): ۳۱۳ (ضعیف، پهن)

۲-۳-۳- تهیه نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه کتان^۱

۲-۳-۳-۱- عصاره گیری از دانه گیاه کتان

روش عصاره گیری مشابه آنچه در بخش ۲-۳-۱-۱ برای عصاره گیری از دانه گیاه مریم گلی گفته شد انجام شد و محصول موسیلاژ و بی رنگ بدست آمده در یخچال نگهداری گردید.

۲-۳-۳-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه کتان

مقدار ۱۰ گرم سریم نیترات ۶ آبه را در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده و آن را قطره قطره به محلولی شامل ۳۰ میلی لیتر از عصاره دانه گیاه کتان (مقدار عصاره بر مبنای آنچه در دو واکنش قبل بهینه گردید تعیین گردید) و ۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. این محلول به مدت ۶ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد هم زده شد و سپس تبخیر گردید تا ژل شفاف مایل به زرد رنگی بدست آمد. بخشی از ژل

^۱ Linum usitatissimum L seeds

جهت تعیین دمای تکلیس برای آنالیز TGA/DTA ارسال گردید و باقی مانده به سه قسمت مساوی تقسیم گردید و به منظور بررسی اثر دمای تکلیس بر روی اندازه نانو ذرات در دماهای ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ درجه سانتیگراد تکلیس گردید.

۱- دمای تکلیس ۴۰۰°C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۴۶۰ (ν O-H پهن), ۱۶۱۲ (ν C=O), ۱۳۳۴ (ν C-H), ۱۰۳۱ (ν O-Ce-O), ۴۴۳ (ν Ce-O).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۰۶

XRD: (۱۱۱, $2\theta/5^\circ$), (۲۰۰, 33°), (۲۲۰, $47/4^\circ$), (۳۱۱, $56/2^\circ$), (۲۲۲, $58/8^\circ$), (۴۰۰, $69/4^\circ$), (۳۳۱, $76/3^\circ$), (۴۲۰, 79°), (۴۲۲, $89/2^\circ$)

۲- دمای تکلیس ۵۰۰°C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۴۱۳ (ν O-H), ۱۵۸۰ (ν C=O), ۱۳۰۱ (ν C-H), ۱۰۳۹ (ν O-Ce-O), ۴۷۰ (ν Ce-O).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۱۱

XRD: (۱۱۱, $2\theta/5^\circ$), (۲۰۰, 33°), (۲۲۰, $47/4^\circ$), (۳۱۱, $56/2^\circ$), (۲۲۲, $58/8^\circ$), (۴۰۰, $69/4^\circ$), (۳۳۱, $76/3^\circ$), (۴۲۰, 79°), (۴۲۲, $89/2^\circ$)

۳- دمای تکلیس 600°C

IR (KBr disc, cm^{-1}): 3419 (ν O-H), 1560 (ν C=O), 1311 (ν C-H), 1041 (ν O-Ce-O), 490 (ν Ce-O پهن).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): 323

XRD: (111 , $28/5^{\circ}$), (200 , 33°), (220 , $47/4^{\circ}$), (311 , $56/2^{\circ}$), (222 , $58/8^{\circ}$), (400 , $69/4^{\circ}$), (331 , $76/3^{\circ}$), (420 , 79°), (422 , $89/2^{\circ}$)

۲-۳-۴- تهیه نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه به^۱

۲-۳-۴-۱- عصاره گیری از دانه میوه گیاه به

عصاره گیری از دانه‌های این گیاه مشابه بخش ۲-۳-۱-۱ مشابه دانه گیاه مریم گلی انجام شد.

۲-۳-۴-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه به

روش سنتز در این قسمت کاملاً مشابه بخش ۲-۳-۳-۲ انجام پذیرفت و در این سنتز نیز اثر دمای تکلیس بر روی اندازه و کیفیت نانو ذرات تولید شده مورد بررسی قرار گرفت.

۱- دمای تکلیس 400°C

IR (KBr disc, cm^{-1}): 3400 (ν O-H), 1589 (ν C=O), 1324 (ν C-H), 1031 (ν O-Ce-O), 443 (ν Ce-O).

^۱ Cydonia oblonga miller seeds

UV-Vis (H₂O, λ_{\max} (nm)): ۳۱۵

XRD: (۱۱۱, ۲۸/۵°), (۲۰۰, ۳۳°), (۲۲۰, ۴۷/۴°), (۳۱۱, ۵۶/۲°), (۲۲۲, ۵۸/۸°), (۴۰۰, ۶۹/۴°),
(۳۳۱, ۷۶/۳°), (۴۲۰, ۷۹°), (۴۲۲, ۸۹/۲°)

۲- دمای تکلیس ۵۰۰°C

IR (KBr disc, cm⁻¹): ۳۴۰۰ (ν O-H), ۱۶۰۰ (ν C=O), ۱۲۹۰ (ν C-H), ۱۰۲۵ (ν O-Ce-O), ۴۳۳
(ν Ce-O).

UV-Vis (H₂O, λ_{\max} (nm)): ۳۲۳

XRD: (۱۱۱, ۲۸/۵°), (۲۰۰, ۳۳°), (۲۲۰, ۴۷/۴°), (۳۱۱, ۵۶/۲°), (۲۲۲, ۵۸/۸°), (۴۰۰, ۶۹/۴°),
(۳۳۱, ۷۶/۳°), (۴۲۰, ۷۹°), (۴۲۲, ۸۹/۲°)

۳- دمای تکلیس ۶۰۰°C

IR (KBr disc, cm⁻¹): ۳۴۰۰ (ν O-H), ۱۵۸۰ (ν C=O), ۱۲۸۲ (ν C-H), ۱۰۲۵ (ν O-Ce-O), ۴۳۹
(ν Ce-O پهن).

UV-Vis (H₂O, λ_{\max} (nm)): ۳۴۲

XRD: (۱۱۱, ۲۸/۵°), (۲۰۰, ۳۳°), (۲۲۰, ۴۷/۴°), (۳۱۱, ۵۶/۲°), (۲۲۲, ۵۸/۸°), (۴۰۰, ۶۹/۴°),
(۳۳۱, ۷۶/۳°), (۴۲۰, ۷۹°), (۴۲۲, ۸۹/۲°)

۲-۳-۵- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ^۱

۲-۳-۵-۱- عصاره گیری از دانه گیاه بارهنگ

عصاره گیری از دانه‌های این گیاه مشابه بخش ۲-۳-۱-۱-۱ مشابه دانه گیاه مریم گلی انجام شد.

۲-۳-۵-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ

در این سنتز میزان بهینه نسبت مقدار عصاره به سریم اکسید (۳۰ میلی لیتر) و دمای تکلیس (۴۰۰ درجه سانتیگراد) بر مبنای شرایط بهینه شده آزمایش‌های قبلی تعیین گردید. روش کار مشابه با موارد قبلی انجام گرفت با این تفاوت که در این آزمایش به منظور بررسی مدت زمان انجام واکنش بر روی کیفیت نانو ذرات، علاوه بر زمان واکنش ۶ ساعت که در موارد قبل لحاظ گردید، سنتز در مدت زمان ۳ و ۱۲ ساعت نیز انجام شد.

۱- سریم اکسید : ۳ ساعت

دمای تکلیس: ۴۰۰ °C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۴۱۹ (v O-H), ۱۶۲۸ (v C=O), ۱۳۸۳ (v C-H), ۱۰۵۰ (v O-Ce-O), ۴۳۰ (v Ce-O).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۱۷

XRD: (۱۱۱, ۲۸/۵°), (۲۰۰, ۳۳°), (۲۲۰, ۴۷/۴°), (۳۱۱, ۵۶/۲°), (۲۲۲, ۵۸/۸°), (۴۰۰, ۶۹/۴°), (۳۳۱, ۷۶/۳°), (۴۲۰, ۷۹°), (۴۲۲, ۸۹/۲°)

۲- سریم اکسید : ۶ ساعت

^۱ Plantago major L

دمای تکلیس: ۴۰۰ °C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۴۱۹ (ν O-H), ۱۶۲۰ (ν C=O), ۱۳۸۳ (ν C-H), ۱۰۵۵ (ν O-Ce-O), ۴۵۰ (ν Ce-O).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۱۷

XRD: (۱۱۱, $2\theta/5^\circ$), (۲۰۰, 33°), (۲۲۰, $47/4^\circ$), (۳۱۱, $56/2^\circ$), (۲۲۲, $58/8^\circ$), (۴۰۰, $69/4^\circ$), (۳۳۱, $76/3^\circ$), (۴۲۰, 79°), (۴۲۲, $89/2^\circ$)

۳- سریم اکسید : ۱۲ ساعت

دمای تکلیس: ۴۰۰ °C

IR (KBr disc, cm^{-1}): ۳۴۲۹ (ν O-H), ۱۶۲۲ (ν C=O), ۱۳۸۵ (ν C-H), ۱۰۵۵ (ν O-Ce-O), ۴۸۰ (ν Ce-O broad).

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۱۹

XRD: (۱۱۱, $2\theta/5^\circ$), (۲۰۰, 33°), (۲۲۰, $47/4^\circ$), (۳۱۱, $56/2^\circ$), (۲۲۲, $58/8^\circ$), (۴۰۰, $69/4^\circ$), (۳۳۱, $76/3^\circ$), (۴۲۰, 79°), (۴۲۲, $89/2^\circ$)

۲-۳-۶- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره برگ گیاه عروس انگشتی^۱

۲-۳-۶-۱- عصاره گیری از برگ گیاه عروس انگشتی

۲۰ گرم از ساقه و برگ گیاه را پس از شستشو داخل ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته و در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ ساعت هم زده شد. سپس دما تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد افزایش یافت تا محلول تبخیر گردد و حجم آن به ۱۰۰ میلی لیتر کاهش پیدا نمود، سپس صاف شده و در یخچال نگهداری گردید. رنگ این عصاره قهوه ای سوخته بود و میزان موسیلاژ بودن آن بسیار کم بود.

۲-۳-۶-۲- سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره برگ گیاه عروس

انگشتی

مقدار ۵ گرم سریم نترات ۶ آبه را در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و آن را قطره قطره به ۸۰ میلی لیتر محلول شامل ۳۰ میلی لیتر از عصاره و ۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه می نماییم. محلول حاصل در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت هم زده شد و سپس محلول تا تشکیل ژل تبخیر گردید. ژل تولید شده به سه قسمت تقسیم شد و در دماهای ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ درجه سانتیگراد در کوره قرار داده شد. بازده این سنتز نسبت به موارد دیگر بسیار کمتر بود (۳۰٪) که علت آن پاشش مواد به بیرون از بوته چینی بود و نانو ذرات حالت پفکی داشته و سبک بودند بصورتی که حتی با جریان هوای عادی محیط جا به جا می شدند و رنگ محصول برخلاف موارد قبل سفید رنگ بود که البته در مراجع سریم اکسید بصورت سفید رنگ هم گزارش گردیده است. با توجه به شرایط پیش آمده واکنش تکرار شده و نسبت مقدار عصاره به سریم مطابق روش های قبلی تغییر داده شد اما تفاوتی در نتیجه حاصل نگشت.

^۱ Falcaria Vulgaris

۱- دمای تکلیس 400°C

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۰۹

XRD: (111 , $2\lambda/5^{\circ}$), (200 , 33°), (220 , $47/4^{\circ}$), (311 , $56/2^{\circ}$), (222 , $58/8^{\circ}$), (400 , $69/4^{\circ}$),
(331 , $76/3^{\circ}$), (420 , 79°), (422 , $89/2^{\circ}$)

۲- دمای تکلیس 500°C

IR (KBr disc, cm^{-1}): 3379 (ν O-H), 2897 (ν کششی C-H), 1617 (ν C=O), 1471 , 1382 (ν خمشی C-H), 1111 (ν O-Ce-O), 860 (ν چرخشی C-H) 463 (ν Ce-O)

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۰۶

XRD: (111 , $2\lambda/5^{\circ}$), (200 , 33°), (220 , $47/4^{\circ}$), (311 , $56/2^{\circ}$), (222 , $58/8^{\circ}$), (400 , $69/4^{\circ}$),
(331 , $76/3^{\circ}$), (420 , 79°), (422 , $89/2^{\circ}$)

۳- دمای تکلیس 600°C

UV-Vis (H_2O , λ_{max} (nm)): ۳۱۳

XRD: (111 , $2\lambda/5^{\circ}$), (200 , 33°), (220 , $47/4^{\circ}$), (311 , $56/2^{\circ}$), (222 , $58/8^{\circ}$), (400 , $69/4^{\circ}$),
(331 , $76/3^{\circ}$), (420 , 79°), (422 , $89/2^{\circ}$)

۴-۲- واکنش های کاتالیزوری و فوتوکاتالیزوری

۴-۲-۱- واکنش کاتالیزوری حذف رنگ متیلن بلو با سدیم بورو هیدرید در حضور

سریم اکسید

به ۵۰ میلی لیتر محلول متیلن بلو با غلظت ۸ ppm مقدار ۰/۱ گرم سدیم بورو هیدرید اضافه گردید و این محلول بر روی همزن با سرعت زیاد هم زده شد، همزمان به محلول دیگری با شرایط مشابه ۳۰ میلی گرم از سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره عروس انگشتی اضافه گردید و در بازه‌های زمانی معین طیف جذبی هر دو نمونه اندازه گیری گردید تا زمانی که واکنش سریع تر (حاوی نانو ذره) بی رنگ گردید.

۴-۲-۲- واکنش فوتوکاتالیزوری تخریب رنگ رودامین بی در حضور نور

فرابنفش و نانو ذرات سریم اکسید

در تمام مراحل، واکنش ها در بشر ۲۵۰ میلی لیتر در دمای محیط و جو هوا انجام شده و لامپ مورد استفاده از نوع فلورسنت فرابنفش (UV-A) ۱۱ وات دارای حداکثر طول موج ۳۶۵ نانومتر و حداکثر شدت تابش ۴,۴ وات بر متر مربع بوده است. طیف های جذبی رودامین بی با طیف سنج فرابنفش-مرئی در محدوده ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر ثبت گردیدند. ابتدا برای یافتن مقدار بهینه کاتالیزور، به ۵۰ میلی لیتر محلول ۸ ppm رودامین بی در واکنش های مجزا مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم نانو ذره سریم اکسید حاصل از سنتز در بستر عصاره گیاهی مریم گلی (CeO₂-30 ml) اضافه کرده و همه واکنش ها به مدت ۱ ساعت با سرعت زیاد در دمای محیط در تاریکی هم زده شدند تا حداکثر میزان جذب/واجذب سطحی رنگ بر روی سطح نانو ذرات انجام شود. با توجه به طیف جذبی رودامین بی تغییر محسوسی در حداکثر مقدار جذب رنگ (طول موج ۵۵۴ نانومتر) مشاهده نگردید. سپس هر کدام از واکنش ها در حضور تابش نور فرابنفش تا زمان بی رنگ شدن محلول و ناپدید شدن جذب رنگ ادامه

یافت و تغییرات جذب رنگ در فواصل زمانی معین ثبت گردید به این صورت که حجم مشخصی از مخلوط واکنش برداشته شده و بوسیله‌ی سانتریفیوژ با دور ۹۰۰۰ دور در دقیقه نانو ذرات از محلول جدا گردیده و طیف جذبی محلول ثبت گردید. با توجه به اینکه مدت زمان تخریب رنگ در حضور مقادیر ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم از کاتالیزور تفاوت محسوسی نداشت میزان بهینه کاتالیزور در این فرآیند ۲۰۰ میلی گرم تعیین شد. به منظور بررسی اینکه وجود نور و نانو ذره هر دو در کنار هم باعث انجام این واکنش می شود، محلول رودامین بی در حضور ۲۰۰ میلی گرم نانو ذره به مدت ۱۲ ساعت در تاریکی همزده شد که در پایان واکنش تغییر محسوسی در جذب رنگ ایجاد نگردید، همچنین محلول رنگی رودامین بی بدون نانو ذره در حضور نور به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفت اما تفاوتی در جذب آن حاصل نگردید، بنابراین حضور نور و نانو ذره به همراه هم، شرط انجام این واکنش ها می باشد.

واکنش فوتوکاتالیزوری با شرایط مشابه و مقدار بهینه کاتالیزور برای نانو ذرات $\text{CeO}_2\text{-10}$ و $\text{CeO}_2\text{-20 ml}$ به منظور بررسی اثر اندازه نانو ذرات در فرآیند فوتوکاتالیزوری انجام پذیرفت.

به منظور بررسی مکانیسم واکنش فوتوکاتالیزوری، واکنش تخریب ۵۰ میلی لیتر رنگ رودامین بی (ppm) (۸) در شرایط بهینه (۲۰۰ میلی گرم نانو ذره سریم اکسید ($\text{CeO}_2\text{-30 ml}$)) همراه با نور فرابنفش در شرایط زیر بصورت جداگانه انجام پذیرفت:

۱. در حضور بنزوکینون با غلظت ۵ میلی مولار در محلول واکنش

۲. در حضور سدیم هیدروژن کربنات با غلظت ۰/۱ مولار در محلول واکنش

۳. در حضور ایزوپروپیل الکل با غلظت ۰/۱ مولار در محلول واکنش

۲-۴-۳- بررسی اثر نقش جایگاه‌های خالی از اکسیژن در واکنش

فوتوکاتالیزوری حذف رنگ رودامین بی

در این واکنش به ۵۰ میلی لیتر محلول ۴ ppm رودامین بی، مقدار ۱۰۰ میلی گرم از نانو ذره سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به (CeO₂-400) اضافه گردید و واکنش فوتوکاتالیزوری در زیر نور فرابنفش با شرایط مشابه بخش ۲-۴-۲ انجام پذیرفت. سپس همین واکنش در حضور نانو ذرات CeO₂-500 و CeO₂-600 انجام شد و به منظور اطمینان از تکرار پذیری این واکنش‌ها، هر کدام سه مرتبه انجام تکرار گشتند.

۲-۴-۴- بررسی اثر نقش pH در فرآیند فوتوکاتالیزوری حذف رنگ

رودامین بی

در این واکنش به ۵۰ میلی لیتر محلول ۴ ppm رودامین بی، مقدار ۱۰۰ میلی گرم از نانو ذره سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ (CeO₂-6h) اضافه گردید و واکنش فوتوکاتالیزوری در زیر نور فرابنفش با شرایط مشابه بخش ۲-۴-۲ انجام پذیرفت. این واکنش‌های فوتوکاتالیزوری در سه محیط بازی (pH=۱۱)، خنثی (pH=۷) و اسیدی (pH=۲) با شرایط یکسان انجام گرفتند. برای اسیدی و بازی نمودن محیط بترتیب از اسیدهیدروکلریک و سدیم هیدروکسید با غلظت ۰/۱ مولار استفاده گردید.

۲-۵- بررسی ویژگی سمیت سلولی و آنتی اکسیدان نانو ذرات سریم اکسید

۲-۵-۱- آزمون سمیت سلولی (MTT)

آزمون سمیت سلولی برای نانو ذرات سنتز شده در بستر عصاره های گیاهی دانه به، دانه کتان، بامیه و بارهنگ انجام پذیرفت. برای هر سنتز بهترین نانو ذره که دارای بالاترین کیفیت و اندازه کوچک تر بود انتخاب گردید که در مورد سنتز در بستر گیاهی بامیه $CeO_2-30\text{ ml}$ ، عصاره گیاهی دانه کتان و دانه به $CeO_2-400^\circ C$ و عصاره گیاهی بارهنگ CeO_2-6h انتخاب گردید. روش انجام آزمون برای تمام موارد بطور مشابه آنچه در ادامه آمده، انجام شده است. رده سلولی که مورد بررسی قرار گرفت سلول آدنوکارسینومای اپیتلیال ریوی انسانی^۱ (A549) بود. این سلول ها پس از یخ زدایی در محیط $DMEM^2$ که شامل ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) به همراه پنی سیلین با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و استرپتومایسین با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود دو مرتبه پاساژ داده شده و سپس سلول ها در ظرف کشت ۹۶ چاهک کشت داده شدند بطوری که به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محتوی سلول و محیط اضافه گردید. این سلول ها به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور انکوبه گردیدند و تعداد سلول ها در هر چاهک 10^4 عدد بود. نانو ذرات سریم اکسید در آب مقطر استریل با حمام فرا صوت برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط پراکنده گردیدند و غلظت محلول کلوییدی ابتدایی ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر بود. ۱۰۰ میکرو لیتر از این محلول کلوییدی به ۵ چاهک ابتدایی بصورت مجزا اضافه گردید و باقی چاهک ها به همین صورت براساس رقت سریالی به آنها نانو ذرات اضافه شد بطوری که بیشترین غلظت نانو ذرات در ردیف اول ظرف کشت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر و در آخرین ردیف ۱ میلی گرم بر لیتر بود، همچنین ردیف

^۱ Human lung adenocarcinoma

^۲ Dulbecco's Modified Eagle Medium

آخر در ظرف کشت دارای سلول با شرایط مشابه و فاقد نانو ذره بعنوان گروه کنترل قرار داشتند. این ظرف های کشت به مدت ۲۴ ساعت دیگر در داخل انکوباتور، انکوبه گردیدند. سپس به هر چاهک مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر اضافه گردید و ظرف های کشت مجدداً به مدت ۴ ساعت دیگر در داخل انکوباتور، انکوبه گردیدند. پس از آن، مایع رویی سلول ها کشیده شده و به هر چاهک به منظور حل نمودن بلورهای فورمازان ۱۰۰ میکرولیتر حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) اضافه گردید و پس از چند دقیقه جذب هر چاهک با دستگاه پلیت خوان در طول موج های ۶۳۰ (پس زمینه) و ۵۷۰ نانومتر قرائت شد.

۲-۵-۲- آزمون ارزیابی میزان ROS سلول های A549 در حضور نانو

ذرات سریم اکسید

این آزمون نیز مشابه آزمون MTT برای نانو ذرات سنتز شده در بستر عصاره های گیاهی دانه به $(\text{CeO}_2-400^\circ\text{C})$ ، دانه کتان $(\text{CeO}_2-400^\circ\text{C})$ ، بامیه $(\text{CeO}_2-30\text{ ml})$ و بارهنگ (CeO_2-6h) انجام پذیرفت. روش آماده سازی ظرف کشت ۹۶ چاهک و اضافه نمودن نانو ذرات مشابه بخش ۲-۵-۱ انجام شد با این تفاوت که پس از افزودن نانو ذرات به ظرف کشت و قرار دادن آن به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور، محیط مایع هر چاهک تخلیه گشته و چاهک ها با بافر فسفات شستشو داده شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول DCFDA/H₂ (با غلظت ۱۰ میلی مولار تهیه شده در محیط کشت فاقد مواد غذایی) به هر چاهک اضافه شده و ظرف های کشت به مدت ۴ ساعت داخل انکوباتور، انکوبه گردیدند. پس از آن نشر فلورسانس هر چاهک با میکروپلیت خوان قرائت گردید (طول موج برانگیختگی ۴۸۰ نانومتر و طول موج نشر ۵۳۰ نانومتر).

۲-۶- آزمون آنتی باکتریال به روش MIC^۱

این آزمون بر روی دو باکتری گرم منفی اشرشیاکلای و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس که از سویه های بالینی تامین شده بودند، انجام گرفت. این آزمون بر روی نمونه نانو ذره سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاهی بامیه (CeO₂-30) در دو شرایط متفاوت یک نمونه در تاریکی و دیگری تحت تابش نور فرابنفش (لامپ مورد استفاده در بخش فوتوکاتالیزوری) انجام گرفت.

۲-۶-۱- آماده سازی و کشت باکتری ها

نمونه های باکتری تهیه شده بر روی محیط آگار کشت داده شده بودند. یک تک کلونی از هر یک از آن ها انتخاب و وارد لوله آزمایش محتوی محیط کشت مایع مولر هینتون دارای غلظت ۱۲ گرم بر لیتر (MHB^۲) گردید تا به باکتری ها فرصت داده شود در محیط رشد کنند و غلظت آن ها به ۰/۵ مک فارلند برسد. برای این امر کدورت محیط حاوی باکتری با کدورت محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند (محلول حاصل از حل شدن ۰/۰۵ میلی لیتر از باریم کلرید ۱/۱۷۵ درصد در ۹/۹۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱ درصد) باید یکسان باشد که در اینصورت غلظت باکتری در محیط CFU ۱۰^۸ می باشد. اما بدلیل اینکه در MIC غلظت بهنیه باکتری در هر چاهک باید CFU ۵×۱۰^۵ باشد، بدین منظور از لوله حاوی باکتری با غلظت ۰/۵ مک فارلند، ۲۰۰ میکرولیتر برداشته و با ۱۹/۸ میلی لیتر محیط MHB رقیق گشت. سپس در ظرف کشت ۹۶ چاهکی، سه ردیف افقی به باکتری ایکلای و سه ردیف افقی به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اختصاص یافت و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از باکتری مورد نظر اضافه گردید. علاوه بر چاهک- های حاوی باکتری که نانو ذرات باید به آن اضافه می گردیدند، یک ردیف عمودی به گروه کنترل رشد باکتری اختصاص یافت که به چاهک های آن هر کدام ۱۰۰ میکرولیتر باکتری و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط

^۱ Minimum inhibitory concentration

^۲ Mueller Hinton Broth

کشت MHB اضافه گردید. برای بررسی عاری بودن محیط کشت از باکتری، به چاهک های ردیف عمودی دیگری، هر یک ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت MHB اضافه گردید.

۲-۶-۲- آماده سازی و افزودن نانو ذرات سریم اکسید به چاهک ها

محلول کلوییدی سریم اکسید با غلظت ۴۰۰۰ ppm تهیه گردید و سپس ۱۵ دقیقه در حمام فراصوت در دمای محیط قرار گرفت. مقدار ۲ میلی لیتر از این محلول با ۲ میلی لیتر محیط کشت MHB رقیق شده تا غلظت به ۲۰۰۰ ppm برسد. به هر چاهک حاوی باکتری (۳ چاهک برای ایکلای و ۳ چاهک برای استفیلوکوکوس) مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نانو ذره اضافه گشته و چاهک های ردیف عمودی بعدی بر اساس رقت سریالی به آن ها نانو ذره اضافه گشت، بطوریکه در چاهک های آخرین ردیف غلظت نانو ذره ۱۵ ppm بود. به منظور کنترل اینکه آیا در محیط نانو ذره بدون باکتری، امکان رشد باکتری یا آلودگی وجود دارد یا خیر، به هر یک از چاهک های ردیف عمودی دیگر ۱۰۰ میکرولیتر از محیط MHB و ۱۰۰ میکرولیتر از نانو ذره با غلظت ۲۰۰۰ ppm اضافه گردید (سه بار تکرار).

۲-۶-۳- ارزیابی اثر آنتی باکتریال نانو ذرات سریم اکسید

دو عدد ظرف کشت ۹۶ چاهکی حاوی نانو ذرات سریم اکسید و باکتری ها بر اساس آنچه در بخش های ۲-۶-۱ و ۲-۶-۲ توضیح داده شد آماده گردید. سپس یکی از ظرف های کشت با فویل آلومینیومی بطور کامل پوشانده شد (شرایط تاریک) و ظرف کشت دیگر بصورت عادی در داخل انکوباتور شیکر دار در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. ظرف های کشت در زیر نور فرابنفش ۱۱ وات به مدت ۱۸ ساعت که مدت زمان لازم برای رشد باکتری ها بود قرار گرفتند. از ابتدای فرآیند ظرف های کشت به مدت ۶ ساعت با سرعت ۶ دور بر دقیقه شیک گردیدند و پس از آن بصورت ثابت تا انتهای زمان فرآیند تحت

تابش نور فرابنفش قرار گرفتند. سپس با دستگاه پلیت خوان جذب هر چاهک در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه گیری شد.

۲-۶-۴- آزمون حداقل غلظت دارای خاصیت کشندگی باکتری (MBC^۱)

به منظور بررسی بیشتر صحت نتیجه آزمون MIC، از آزمون MBC استفاده گردید. در این آزمون بوسیله ی آنس از چاهک هایی که در آن غلظت نانو ذرات ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر بود برداشته شده و باکتری بر روی محیط جامد آگار-مولر هینتون کشت داده شد. این کار برای هر دو نوع باکتری و از هر دو ظرف کشت (شرایط با نور و بدون نور) انجام شد. سپس محیط های کشت داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸ ساعت قرار داده شدند و رشد باکتری ها بررسی گردید.

۲-۷-۷- توزیع زیستی نانو ذرات سریم اکسید

در این بخش از نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه دانه کتان که در دمای ۴۰۰ درجه تکلیس گردیده بود استفاده گردید.

۲-۷-۱- نشان دار نمودن نانو ذرات سریم اکسید با تکنسیوم ^{99m}Tc

محلول کلویید سریم اکسید در آب مقطر تهیه شده و بوسیله ی پروب فراصوت با انرژی ۱۱,۸ کیلوژول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط سونیکیت گردید. سپس محلول در محلی ساکن به مدت نیم ساعت نگه داشته شد تا ذرات سنگین تر ته نشین گردند، پس از آن، از محلول رویی برداشته و جهت تعیین غلظت برای آنالیز پلاسمای جفت شده القایی^۲ (ICP) ارسال گردید.

^۱ Minimum Bactericidal Concentration

^۲ Inductively Coupled Plasma

برای نشان دار سازی نانو ذرات سریم اکسید، مقدار ۱,۵ میلی لیتر از نانو ذره سریم اکسید با غلظت ppm ۰,۷ داخل میکروتیوب ریخته، سپس به آن ۲۰۰ میکرولیتر از محلول قلع (II) کلرید (۱ میلی گرم بر میلی لیتر) در اسید هیدروکلریک ۰,۱ نرمال، اضافه نموده و مخلوط حاصل در دمای محیط به مدت ۲ دقیقه ورتکس^۱ گردید. بعد از آن، مقدار ۰/۵ میلی لیتر از تکنسیوم با اکتیویته ۵ میلی کوری (۱۸۵ مگابکرل^۲) از ژنراتور مولیبدن - تکنسیوم دوشیده شد و به مخلوط واکنش اضافه گردید. این مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در دمای محیط انکوبه گردید و همزده شد.

۲-۷-۲- انجام آزمون کنترل کیفیت (QC) نشان دار سازی

بدین منظور نوارهای کروماتوگرافی (TLC) به ابعاد ۱۰×۱ سانتیمتر بریده شد و از متانول ۸۵ درصد و استون بعنوان فاز متحرک استفاده گردید. مقدار ۲۰ میکرولیتر از محتوی نانو ذره نشان دار شده را بر روی قسمت پایینی نوارهای کروماتوگرافی قرار داده و این نوارها در تانک های متانول و استون قرار داده شدند تا زمانی که فاز متحرک تمام نوار را آغشته نماید. سپس هر نوار به سه قسمت تقسیم شده و میزان تشعشع اشعه گاما با دستگاه شمارنده گاما برای هر قسمت تعیین گردید. این فرآیند در زمان های ۰، ۱، ۴ و ۲۴ ساعت پس از نشان دار سازی نانو ذرات سریم اکسید با تکنسیوم انجام گرفت.

همچنین برای بررسی پایداری نانوذرات سریم اکسید نشان دار شده در حضور سرم خون، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محتوی نانو ذرات نشان دار شده و ۲۰۰ میکرولیتر از سرم خونی با یکدیگر مخلوط شده و آزمون TLC با شرایط مشابه قبلی در این مرحله تکرار گردید.

^۱ Vortexed

^۲ Mega becquerel

لازم به ذکر است روش انجام آزمایش نشان دار سازی و دست یابی به نسبت های نوشته شده در بخش ۲-۷-۱ پس از چندین تکرار مرحله نشان دار سازی با نسبت های مختلف بین مواد و انجام آزمون های TLC حاصل گردید.

۲-۷-۳- بررسی توزیع زیستی برون تنی^۱ نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم

۲-۷-۳-۱- کشت سلولی

در این بخش سلول های A549 مشابه بخش ۲-۵-۱ در ظرف های کشت ۶ چاهکی کشت داده شدند. و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. سپس محیط کشت این سلول ها حذف گردید و محیط بدون سرم جنین گاوی به آن ها اضافه گردید بطوری که حجم هر چاهک برابر ۵۰۰ میکرولیتر بوده و هر چاهک دارای ۱۰^۶ سلول بود.

۲-۷-۳-۲- بررسی میزان اتصال نانوذرات نشان دار شده با تکنسیوم به سلول

A549

پس از کشت سلول ها در چاهک های ظرف کشت سلول ۶ چاهکی، نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده به گونه ای اضافه گردیدند که غلظت نانو ذرات نشان دار شده در سه گروه سه تایی (سه بار تکرار برای هر غلظت) از چاهک ها بترتیب ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی گرم بر لیتر شد. سپس ظرف های کشت به مدت ۴ ساعت در دمای محیط بدون هیچ گونه تکانی قرار داده شدند. پس از آن محلول رویی هر چاهک به داخل لوله شمارنده گاما مجزا منتقل گردید و سلول های متصل به نانوذرات سریم اکسید نشان دار شده که به کف هر چاهک چسبیده بودند بوسیله ی ماده تریپسین جدا گردیده و محتویات هر چاهک به لوله های شمارنده گاما مجزا منتقل گردیدند. با شمارش میزان پرتو گاما ساطع شده از هر لوله می توان مشخص

^۱ *In vitro*

کرد که میزان تکنسیوم رادیو اکتیو که به نانو ذرات سریم اکسید متصل بوده در آن لوله چقدر می باشد که بیانگر معیاری از میزان اتصال نانو ذرات سریم اکسید به سلول می باشد.

لازم به ذکر است بدلیل پرتو زایی تکنسیوم و کاسته شدن از عمر پرتو زایی آن در هر دو آزمون توزیع زیستی برون تنی و درون تنی^۱، نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده بطور مجزا طبق روش کار مندرج در بخش ۲-۷-۱ تهیه گردیده و در هر مورد با توجه به اینکه در آزمون TLC قبلی میزان پایداری در تمام زمان ها بعد از نشان دار سازی بالای ۹۵ درصد بود، آزمون TLC مجدد پس از (صفر ساعت) نشان دار سازی نانو ذرات با تکنسیوم انجام شد و در صورت وجود پایداری بالای ۹۵ درصد ادامه مراحل انجام می گرفت.

۲-۷-۳-۳- بررسی توزیع زیستی نانو ذرات در بدن موش

سه دسته سه تایی موش نر با وزن تقریبی ۲۵۰ گرم انتخاب گردیدند. و هر سه عدد در گروه های ۱، ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق سریم اکسید نشان دار به آن ها دسته بندی گردیدند.

در این بخش نانو ذرات سریم اکسید با تکنسیوم رادیو اکتیو نشان دار شده مشابه آنچه در بخش ۲-۷-۱ آورده شد انجام پذیرفت با این تفاوت که هنگام تهیه نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده برای موش های ۱ و ۴ ساعت، میزان اکتیویته تکنسیوم دوشیده شده بجای ۵ میکرو کوری برابر ۱/۸ بود و آزمون TLC در لحظه صفر برای همه موارد انجام پذیرفت.

مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از نانو ذرات نشان دار شده به هر کدام از موش های ۱ و ۴ ساعت از طریق رگ دمی آن ها تزریق گردید، و به هر یک از موش های ۲۴ ساعت نیز ۲۰۰ میکرولیتر از سریم اکسید نشان دار شده با اکتیویته ۵۰۰ میکرو کوری تزریق گردید.

^۱ *In vivo*

علت تفاوت اکتیویته های تزریقی به موش ۲۴ ساعت، بدلیل ضعیف شدن پرتو زایی تکنسیوم پس از گذشت ۶ ساعت بود که در مدت ۲۴ ساعت ۴ نیمه عمر از اکتیویته تکنسیوم کاسته می شد. در موش های ۴ و ۱۰ ساعت ۲۰۰ میکرو لیتر تزریق شده دارای اکتیویته ۲۰۰ میکرو کوری بوده و مقدار نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده در آن ۱۴۰ میکرو گرم بود. درحالیکه در موش ۲۴ ساعت، ۲۰۰ میکرو لیتر محصول با اکتیویته ۵۰۰ میکرو کوری حاوی ۱۴۰ میکرو گرم نانو ذره سریم اکسید نشان دار شده تزریق گردید.

پس از گذشت ۱ ساعت از تزریق، موش های گروه ۱ ساعت توسط تزریق داخل حفره شکمی ماده بیهوشی شامل مخلوط ۲۳۰ میکرو لیتر کتامین و ۱۳۰ میکرو لیتر زایلازین بیهوش گردیده و با سرنگ از قلب آن ها خون تازه گرفته شد و به همراه باقی اندام شامل کبد، طحال، کلیه، روده، معده، تیروئید، مغز، بخشی از عضله، ریه، قلب و دم پس توزین به لوله شمارنده گاما منتقل گشته و اکتیویته آن اندازه گیری گردید. سپس این کار برای موش های ۴ و ۲۴ ساعت نیز مانند موش های ۱ ساعت انجام گردید.

به منظور گرفتن عکس از بدن موش زنده، در زمان های ۶ و ۲۴ ساعت پس از تزریق، یک عدد از موش های گروه ۲۴ ساعت با تزریق ماده بیهوشی، بیهوش گردیده و در زیر دوربین گاما قرار داده شد و تصاویر قدامی^۱ و خلفی^۲ در زمان های گفته شده از بدن آن (5 min, counts 250000, zoom factor of 2) ثبت گردید.

^۱ Anterior

^۲ Posterior

فصل سوم بحث و نتیجه گیری

۳-۱- پیشگفتار

در این پژوهش نانو ذرات سریم اکسید در شش بستر گیاهی جدید سنتز گردیدند که در این بخش به تفسیر و توضیح موارد زیر پرداخته می شود.

۱- بررسی اثر غلظت پیش ماده ها در سنتز نانو ذرات

۲- بررسی اثر دمای تکلیس در سنتز نانو ذرات

۳- بررسی اثر مدت زمان انجام سنتز بر روی نانو ذرات

۴- تفسیر و توضیح آنالیزهای FTIR, XRD, UV-Vis, DLS, TGA/DTA, FESEM/EDX و PL

۵- بررسی فرآیند کاتالیزوری حذف رنگ متیلن بلو

۶- بررسی فرآیند فوتوکاتالیزوری حذف رنگ رودامین بی به همراه بهینه سازی شرایط فرآیند، تعیین مکانیسم واکنش، ارزیابی اثرات ساختاری نانو ذرات در این فرآیند و بررسی اثر تغییر pH بر روی تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ

۷- بررسی آزمون سمیت سلولی نانو ذرات

۸- بررسی اثر آنتی اکسیدان نانو ذرات

۹- بررسی اثر آنتی باکتریال نانو ذرات

۱۰- بررسی فرآیند نشان دار سازی نانو ذرات با تکنسیوم رادیواکتیو

۱۱- بررسی میزان پایداری و اتصال نانو ذرات نشان دار شده به سلول

۱۲- بررسی توزیع زیستی نانو ذرات نشان دار شده در بدن موش و تعیین میزان تجمع آن در بافت های مختلف

۳-۲- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله‌ای

۳-۲-۱- آنالیز TGA

همانطور که در فصل ۲ اشاره شد، آنالیز حرارتی برای ژل بدست آمده و تعیین دمای تکلیس تا دمای ۱۰۰۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۰ درجه بر دقیقه در جو هوا انجام گردید (شکل ۱ پیوست). در منحنی TGA/DTG اولین کاهش وزن در منحنی آنالیز حرارتی به مقدار ۳۴ درصد در دمای حدود ۱۴۵ درجه سانتیگراد مربوط به حذف فیزیکی آب جذب شده بر روی سطح و حفرات نانو ذرات می باشد. کاهش وزنی دیگر به مقدار ۳۰ درصد در دمای بین ۲۰۰ تا ۴۰۰ درجه سانتیگراد که با یک پیک در دمای ۲۳۰ درجه سانتیگراد در نمودار DTG همراه است مربوط به تجزیه و حذف ترکیبات آلی بجا مانده از عصاره گیاهی مریم گلی لوله ای می باشد. مقدار کل کاهش وزن در این آنالیز برابر ۶۴ درصد تا دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد می باشد و از دمای ۴۰۰ بالاتر تغییر محسوسی در تغییر وزن دیده نمی شود. با توجه به عدم تغییر وزن در دماهای بالای ۴۰۰ درجه سانتیگراد این دما برای تکلیس ژل بدست آمده از سنتز انتخاب گردید و تمام نمونه در این دما داخل کوره تکلیس گردیدند.

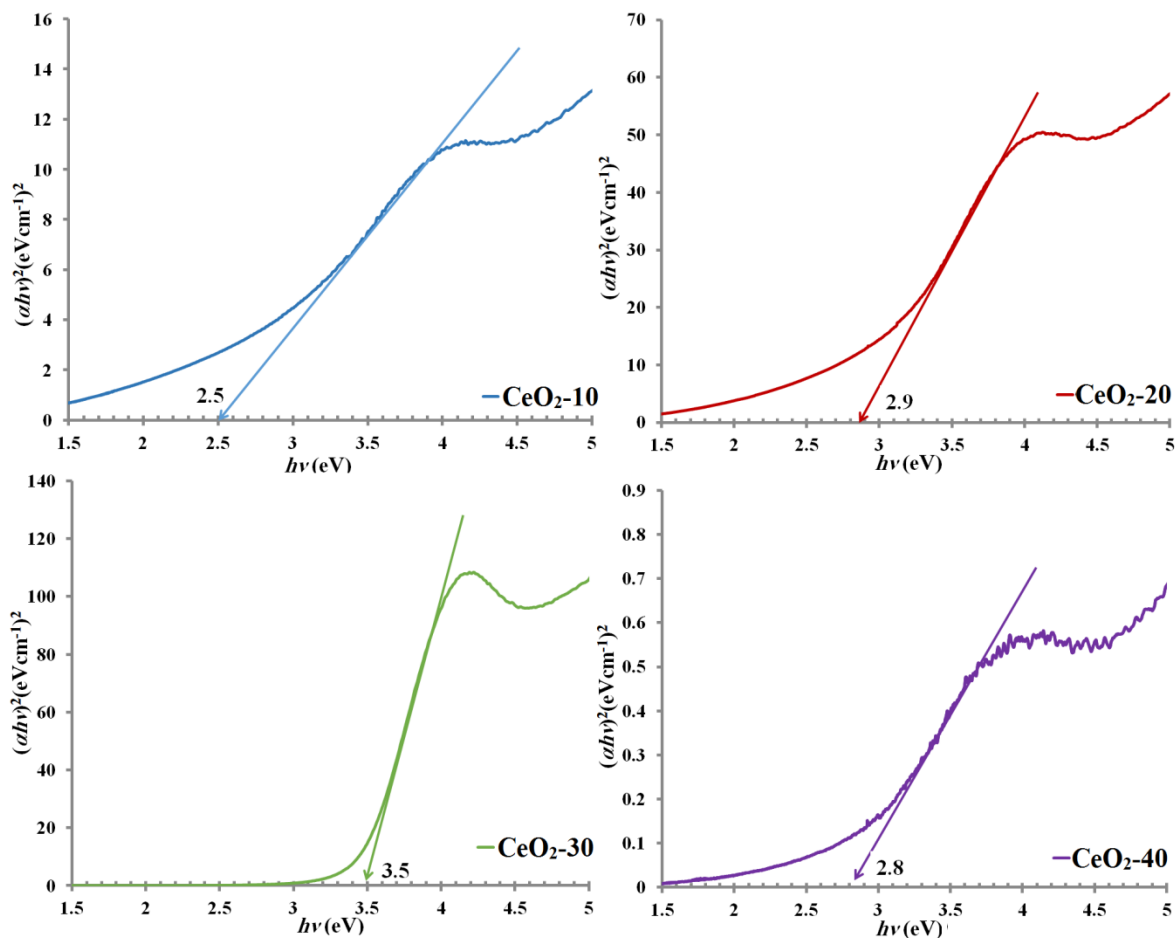
۳-۲-۲- آنالیز UV-Vis

تمام نمونه های سنتز شده CeO_2-10 ، CeO_2-20 ، CeO_2-30 و CeO_2-40 در آب مقطر با حمام فرا صوت پراکنده گشته و طیف UV-Vis آن ها در طول موج ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر با طیف سنج UV-Vis ثبت گردید. در تمام نمونه‌ها پیک جذبی در ناحیه بین ۳۰۰ تا ۳۳۰ نانومتر مشاهده شد (شکل ۲ پیوست). این پیک جذبی ناشی از انتقال الکترون از اوربیتال 2p اتم اکسیژن به اوربیتال 4f سریم می باشد [۲۳، ۳۷، ۷۳]. با توجه به شکل با افزایش غلظت عصاره گیاهی پیک جذبی تیزتر می شود اما در مورد CeO_2-40

که از سنتز با ۴۰ میلی لیتر عصاره گیاهی حاصل شده، پیک جذبی پهن تر و شدت آن نسبت به نمونه های دیگر بسیار کاهش می یابد. انرژی باند گپ (E_g) بر اساس معادله ۱-۳ محاسبه گردید.

$$(\alpha h\nu)^n = B(h\nu - E_g) \quad \text{معادله ۱-۳}$$

در این معادله α ضریب جذب، B عددی ثابت که به نوع ماده بستگی دارد، n برای انتقالات مستقیم برابر ۲ و انتقالات غیر مستقیم ۰/۵ می باشد و با توجه به اینکه انتقال در سریم اکسید مستقیم است در اینجا ۲ لحاظ می شود [۷۴]. با رسم نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ (شکل ۱-۳) و امتداد قسمت عمودی نمودار تا برخورد آن به محور افقی نمودار مطابق شکل گپ انرژی بدست می آید، مقادیر باند گپ و حداکثر طول موج جذب (λ_{max}) در جدول ۱-۳ آمده است. با افزایش غلظت عصاره گیاهی تا ۳۰ میلی لیتر طول موج جذب کاهش می یابد و بیانگر ریزتر شدن ذرات می باشد زیرا در نیمه هادی ها با انتقال بار مستقیم افزایش گپ انرژی با کوچکتر شدن اندازه ذرات نسبت مستقیم دارد [۷۴, ۷۵]. این کاهش اندازه می تواند بدلیل قابلیت احاطه کنندگی بیشتر مولکول های عصاره گیاهی در غلظت های بالاتر باشد که از تجمع ذرات جلوگیری می کنند اما این نتیجه برای مقدار ۴۰ میلی لیتر از عصاره گیاهی معکوس می شود و روندی که برای مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی لیتر بدست آمد، حاصل نشد بنابراین آنالیز های تکمیلی برای نمونه سنتز شده در ۴۰ میلی لیتر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای انجام نشد.



شکل ۳-۱: نمودار $(\alpha hv)^2$ بر حسب hv برای نمونه های سنتز شده در بستر گیاه مریم گلی لوله ای

جدول ۳-۱: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی

لوله ای

نمونه	غلظت (g/L) / حجم محلول سریم (ml)	حجم عصاره گیاهی (ml)	حجم آب اضافه شده (ml)	λ_{max} (nm)	E_g (eV) ^a	اندازه کریستالی (nm)	
						محاسبه شده ^b	مشاهده شده ^c
CeO ₂ -10	۲۰/۲۵۰	۱۰	۷۰	۳۲۱/۲	۲/۶	۱۱	۴۷ ± ۱۲
CeO ₂ -20	۲۰/۲۵۰	۲۰	۶۰	۳۱۴/۶	۲/۹	۱۰	۲۰ ± ۶
CeO ₂ -30	۲۰/۲۵۰	۳۰	۵۰	۳۰۱/۳	۳/۵	۹	۲۰ ± ۶
CeO ₂ -40	۲۰/۲۵۰	۴۰	۴۰	۳۱۷/۹	۲/۸	--	--

^a محاسبه شده بر اساس معادله ۳-۱

^b محاسبه شده از داده های آنالیز XRD بر اساس معادله شرر (۳-۲)

^c مشاهده شده بر اساس عکس های FESEM

۳-۲-۳- آنالیز FTIR

طیف های مادون قرمز در بازه عدد موج 4000 تا 400 cm^{-1} در شکل ۳ پیوست ارائه گردیده است. در تمام موارد دو پیک در ناحیه 484 و 1053 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند های Ce-O و O-Ce-O مشاهده می شود [۷۶]. دو پیک دیگر در ناحیه 1379 و 1614 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی C-H و کششی C=O است که مربوط به ترکیبات احتمالی باقی مانده از عصاره گیاهی (گروه-های کربوکسیل، استری، الکی و اتری) می شود. پیک در ناحیه 3500 cm^{-1} به ارتعاش کششی پیوند O-H مولکول های آب جذب شده بر روی سطح نانو ذرات است.

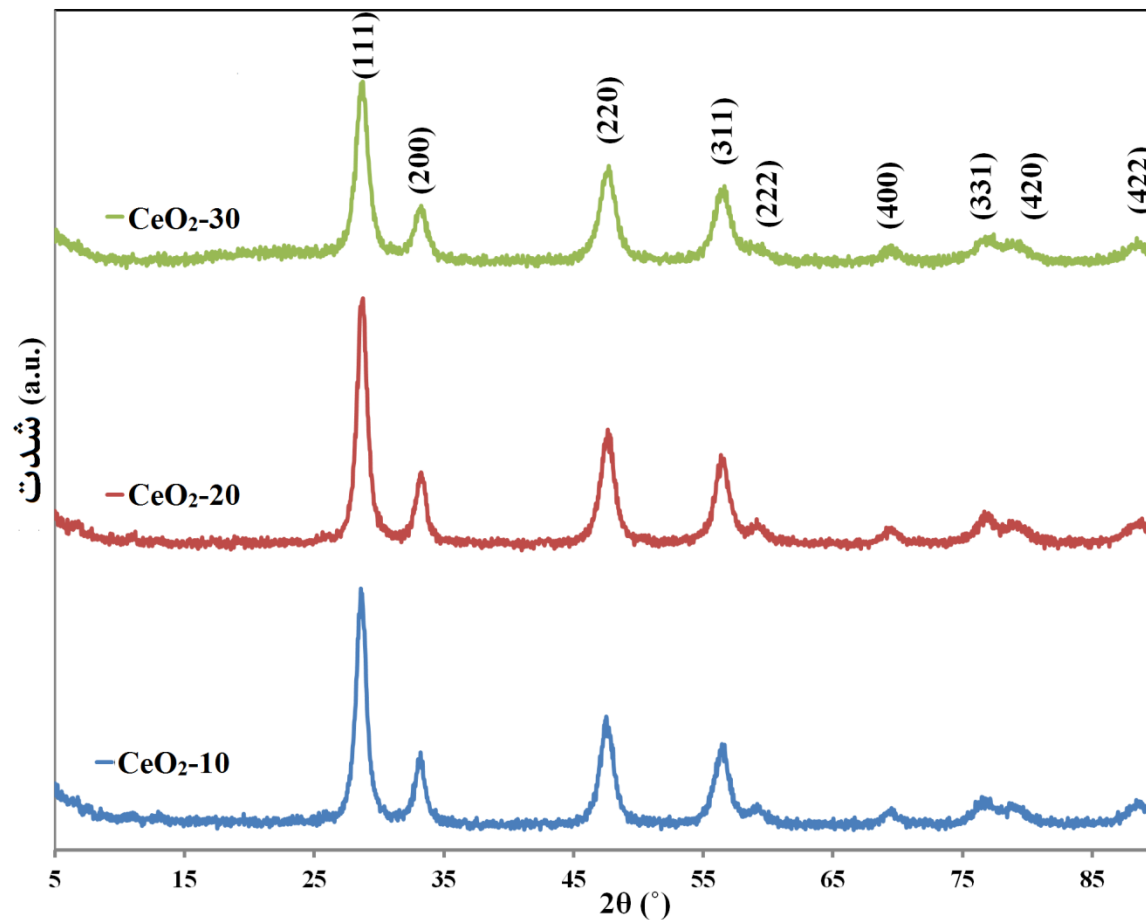
۳-۲-۴- آنالیز XRD

در این سنتز آنالیز XRD بر روی نمونه های CeO_2-10 ، CeO_2-20 و CeO_2-30 انجام پذیرفت (شکل ۴ تا ۶ پیوست). تمام الگوهای پراش مشاهده شده به سریم اکسید تعلق داشته و با داده های مرجع کریستالوگرافی (JCPDS No: 34-0394) مطابقت دارند. عدم وجود پیک اضافی در الگوهای پراش، خلوص بالای ترکیب سنتز شده را در شبکه مکعبی وجوه مرکز پر فلوریت تایید می کند. بر اساس شکل ۲-۳ که مقایسه الگوهای پراش را در این ترکیبات نشان می دهد با افزایش غلظت عصاره گیاهی از ۱۰ به ۳۰ میلی لیتر پهنای پیکها افزایش یافته است که بیانگر اندازه کوچک تر نانو ذرات می باشد و همانطور که مشاهده می شود نتایج آنالیز XRD در مورد اندازه ذرات با نتایج آنالیز UV-Vis مطابقت دارد. اندازه کریستالی هر یک از نانو ذرات سنتز شده بر اساس پهنای پیکها در نیمه ی ارتفاع (FWHM) برای پیک های مربوط به صفحات (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۲۲۲) و (۴۲۲) بر اساس معادله ۲-۳ (شرر^۱) محاسبه گردیده و اندازه میانگین در جدول ۱-۳ ارائه گردیده است.

^۱ Scherer equation

$$D = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos\theta}$$

معادله ۲-۳:



شکل ۲-۳: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سربیم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای

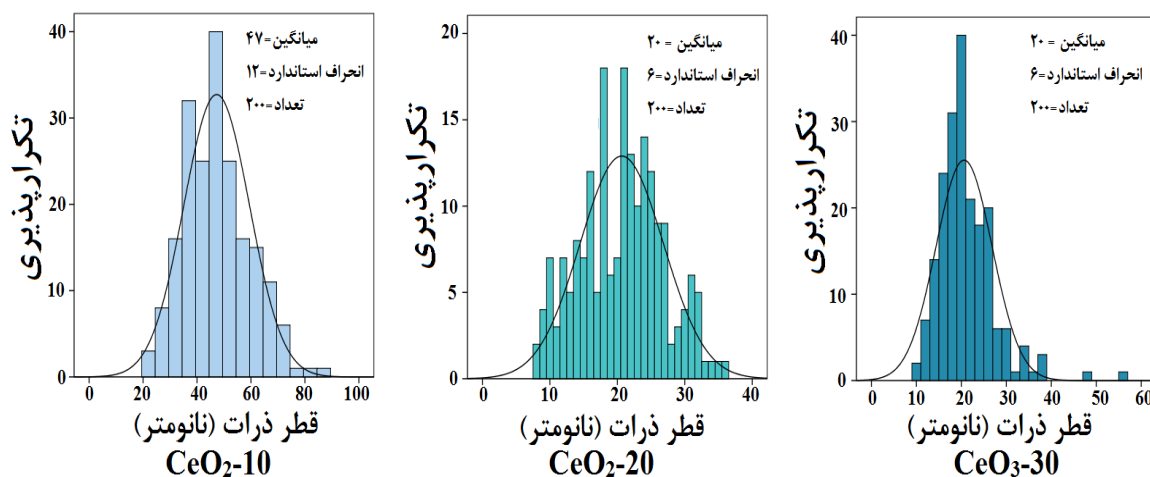
در این معادله، λ برابر طول موج لامپ مس ($\text{Cu}/k\alpha = 0.15046 \text{ nm}$)، β (FWHM) برابر پهنای پیک در نیمه ارتفاع برحسب درجه ($^\circ$) و θ برابر با زاویه براگ است. اندازه کریستالی نانو ذرات برای $\text{CeO}_2\text{-10}$ ، $\text{CeO}_2\text{-20}$ و $\text{CeO}_2\text{-30}$ در جدول ۱-۳ آمده است.

۳-۲-۵- آنالیز FESEM/EDX

تصاویر FESEM در شکل های ۷ تا ۹ پیوست آورده شده است. تمام نمونه ها بی شکل و به صورت متراکم هستند. همانطور که مشاهده می شود با افزایش غلظت عصاره گیاهی اندازه ذرات کوچکتر شده و

ذرات یکنواخت تر هستند. میانگین اندازه ذرات با رسم منحنی هستیوگرام توزیع اندازه ذرات (شکل ۳-۳) بدست آمده و در جدول ۱-۳ آورده شده است، بر اساس منحنی تابع نرمال، این منحنی برای CeO_2-30 پهنای کمتری دارد که نشان دهنده یکنواخت تر بودن ذرات از نظر اندازه نسبت به نمونه های دیگر می باشد. روند مشاهده شده برای اندازه ذرات در آنالیز UV-Vis و XRD با روند آنالیز FESEM کاملا مطابقت دارد. علت تفاوت در اندازه ذرات محاسبه شده از آنالیز XRD و مشاهده شده از تصاویر FESEM بدلیل این است که معادله شرر اندازه اولیه ذرات را می دهد اما FESEM اندازه ثانویه ذرات که در اثر برهم کنش های واندروالس متراکم شده اند را نشان می دهد [۷۷]. اندازه ذرات بدست آمده در این سنتز با آنچه پیشتر در بستر عصاره های پوست درخت چوب تلخ^۱ [۷۶]، گیاه گز روغنی^۲ [۷۸]، برگ آکالیفا هندی^۳ [۷۹] و گیاه لیموترش [۳۴] گزارش شده قابل مقایسه است.

آنالیز EDX (شکل ۱۰ پیوست) حضور اتم های اکسیژن و سریم را بر روی سطح نانو ذرات تایید می نماید.



^۱ Picrasma quassioides stem bark extract

^۲ Moringa oleifera peel extract

^۳ Acalypha indica leaves extract

شکل ۳-۳: منحنی هیستوگرام توزیع اندازه ذرات برای سرب اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه مریم گلی لوله ای

۳-۳- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سرب اکسید سنتز

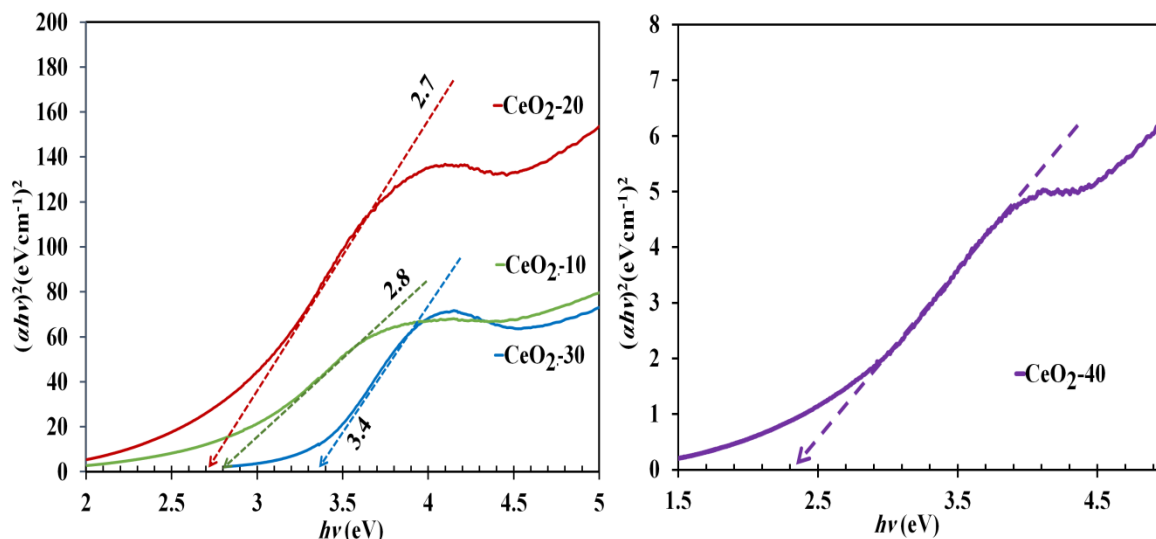
شده در عصاره گیاه بامیه

۳-۳-۱- آنالیز TGA/DTA

آنالیز حرارتی بر روی ژل بدست آمده برای تعیین دمای تکلیس تا دمای ۷۰۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۰ درجه بر دقیقه در جو هوا انجام گردید (شکل ۱۱ پیوست). در منحنی TGA/DTA اولین کاهش وزن در منحنی آنالیز حرارتی به مقدار ۲۵ درصد در دمای حدود ۱۲۰ درجه سانتیگراد مربوط به حذف فیزیکی آب جذب شده بر روی سطح و حفرات نانو ذرات می باشد و این فرآیند دارای یک پیک گرماگیر در دمای ۱۱۷ درجه سانتیگراد در منحنی DTA می باشد. کاهش وزنی دیگر به مقدار ۱۲ درصد در دمای بین ۱۶۰ تا ۱۸۰ درجه سانتیگراد که با یک پیک گرمازا در دمای ۱۷۵ درجه سانتیگراد در نمودار DTA همراه است که مربوط به سوختن ترکیبات آلی بجا مانده از عصاره گیاهی بامیه می باشد [۳۴]. مرحله سوم کاهش وزن به مقدار ۲۳ درصد در محدوده ۲۲۰ تا ۲۶۰ درجه سانتیگراد که با یک پیک گرماگیر در دمای ۲۳۸ درجه سانتیگراد همراه است می تواند به تجزیه ترکیبات آلی بجا مانده از عصاره گیاهی که در اکسیژن نسوخته است و تبدیل $CeOX$ ($X=H, R$) به کریستال های CeO_2 باشد [۸۰، ۸۱]. مقدار کل کاهش وزن در این آنالیز برابر ۵۸ درصد تا دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد می باشد و از دمای ۴۰۰ بالاتر تغییر محسوسی در تغییر وزن دیده نمی شود. با توجه به عدم تغییر وزن در دماهای بالای ۴۰۰ درجه سانتیگراد این دما برای تکلیس ژل بدست آمده از سنتز انتخاب گردید و تمام نمونه در این دما داخل کوره تکلیس گردیدند.

۳-۲-۳- آنالیز UV-Vis

تمام نمونه های سنتز شده CeO_2-10 ، CeO_2-20 ، CeO_2-30 و CeO_2-40 در آب مقطر با حمام فرا صوت پراکنده گشته و طیف UV-Vis آن ها در طول موج ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر با طیف سنج UV-Vis ثبت گردید. در تمام نمونه ها پیک جذبی در ناحیه بین ۳۰۵ تا ۳۲۵ نانومتر مشاهده شد (شکل ۱۲ پیوست). این پیک جذبی به سبب انتقال الکترون از اوربیتال 2p اتم اکسیژن به اوربیتال 4f سریم است. در این سنتز نیز مانند بخش ۳-۲-۲ با افزایش غلظت عصاره گیاهی پیک جذبی تیزتر می شود اما در مورد CeO_2-40 که از سنتز با ۴۰ میلی لیتر عصاره گیاهی حاصل شده، پیک جذبی پهن تر و شدت آن نسبت به نمونه های دیگر بسیار کاهش می باید. مقدار انرژی باند گپ (E_g) بر اساس معادله ۳-۱ محاسبه گردید. شکل ۳-۴ نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ را نشان می دهد که مقادیر باند گپ بر اساس توضیحات گفته شده در بخش ۳-۲-۲ محاسبه گردیده و در جدول ۳-۲ آورده شده است. در این بخش نیز مانند سنتز در بخش ۳-۲-۲ با افزایش غلظت عصاره گیاهی تا ۳۰ میلی لیتر طول موج جذب کاهش می یابد که نشان دهنده کاهش اندازه ذرات است که بدلیل قابلیت احاطه کنندگی بیشتر مولکول های عصاره گیاهی در غلظت های بالاتر است که از تجمع ذرات جلوگیری می کنند اما این نتیجه برای مقدار ۴۰ میلی لیتر از عصاره گیاهی معکوس می شود و روندی که برای مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی لیتر بدست آمد، حاصل نشد بنابراین آنالیزهای تکمیلی برای نمونه سنتز شده در ۴۰ میلی لیتر عصاره دانه گیاه بامیه انجام نشد.



شکل ۳-۴: نمودار $(ahv)^2$ بر حسب hv برای نمونه های سنتز شده در بستر گیاه بامیه

جدول ۳-۲: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره گیاه بامیه

نمونه	غلظت / حجم (g/L) / محلول سریم (ml)	حجم عصاره گیاهی (ml)	حجم آب اضافه شده (ml)	λ_{max} (nm)	E_g (eV) ^a	اندازه کریستالی (nm) ^b
CeO ₂ -10	۲۰/۲۵۰	۱۰	۷۰	۳۳۴	۲/۸	۹/۳
CeO ₂ -20	۲۰/۲۵۰	۲۰	۶۰	۳۲۳	۲/۷	۸/۵
CeO ₂ -30	۲۰/۲۵۰	۳۰	۵۰	۳۰۸	۳/۴	۷/۵
CeO ₂ -40	۲۰/۲۵۰	۴۰	۴۰	۳۲۴	۲/۴	--

^a محاسبه شده بر اساس معادله ۱-۳

^b محاسبه شده از داده های آنالیز XRD بر اساس معادله شرر (۲-۳)

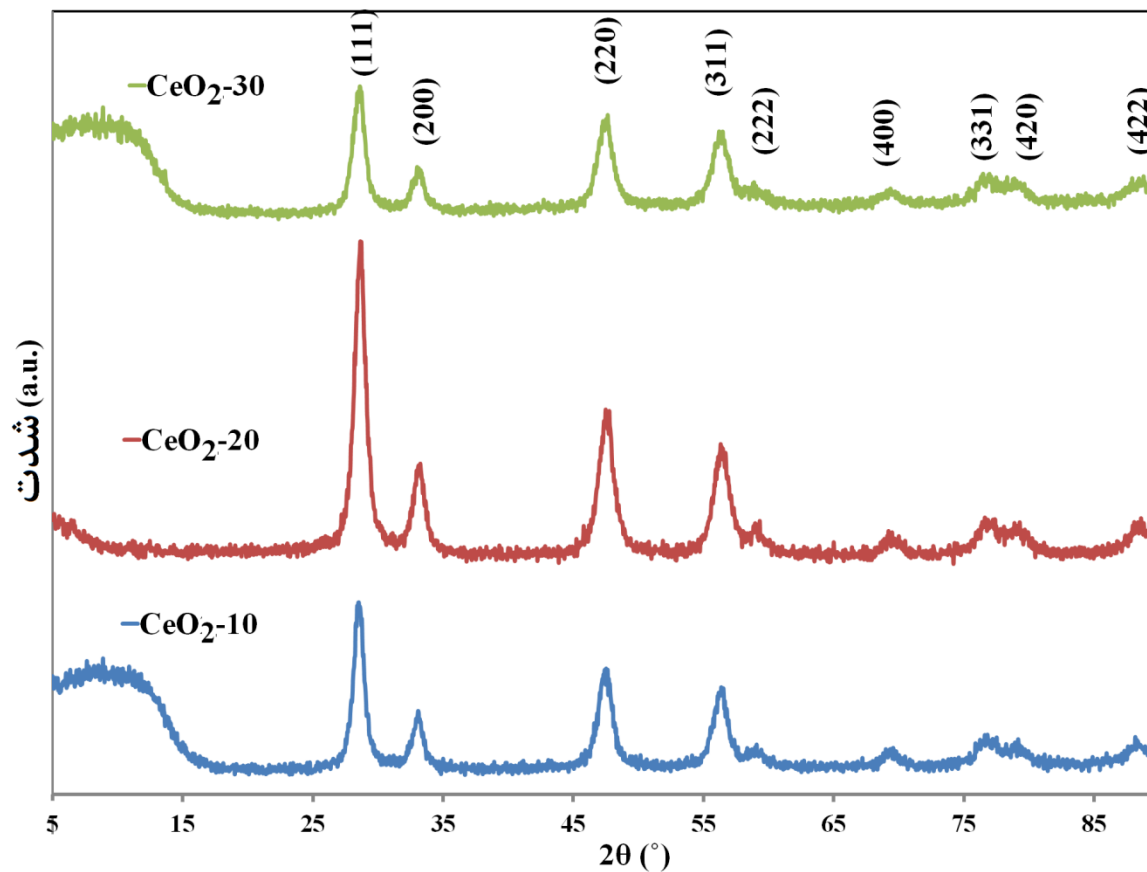
۳-۳-۳- آنالیز FTIR

طیف های مادون قرمز در بازه عدد موج 4000 تا 400 cm^{-1} در شکل ۱۳ پیوست ارائه گردیده است. در تمام موارد دو پیک در ناحیه 450 و 1025 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند های Ce-O و O-Ce-O مشاهده می شود [۷۶]. دو پیک دیگر در ناحیه 1355 و 1600 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C-H و C=O می شود که مربوط به ترکیبات احتمالی باقی مانده از عصاره گیاهی (گروه های کربوکسیل، استری، الکی و اتری) می شود. پیک ناحیه 3390 cm^{-1} به ارتعاش کششی پیوند O-H مولکول های آب جذب شده بر روی سطح نانو ذرات مربوط است.

۳-۳-۴- آنالیز XRD

در این سنتز آنالیز XRD بر روی نمونه های $\text{CeO}_2\text{-10}$ ، $\text{CeO}_2\text{-20}$ و $\text{CeO}_2\text{-30}$ انجام پذیرفت (شکل ۱۴ تا ۱۶ پیوست). تمام الگوهای پراش مشاهده شده به سریم اکسید تعلق داشته و با داده های مرجع کریستالوگرافی (JCPDS No: 34-0394) مطابقت دارند. عدم وجود پیک اضافی در الگوهای پراش، خلوص بالای ترکیب سنتز شده را در شبکه مکعبی وجوه مرکز پر فلوریت تایید می کند. بر اساس شکل ۳-۵ که مقایسه الگوهای پراش را در این ترکیبات نشان می دهد با افزایش غلظت عصاره گیاهی از ۱۰ به ۳۰ میلی لیتر پهنای پیکها افزایش یافته است که بیانگر اندازه کوچک تر نانو ذرات می باشد و همانطور که مشاهده می شود نتایج آنالیز XRD در مورد اندازه ذرات با نتایج آنالیز UV-Vis مطابقت دارد. اندازه کریستالی هر یک از نانو ذرات سنتز شده بر اساس پهنای پیک ها در نیمه ی ارتفاع (FWHM) برای پیک های مربوط به صفحات (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۲۲۲) و (۴۲۲) بر اساس معادله ۳-۲ (شرر^۱) محاسبه گردیده و اندازه میانگین در جدول ۳-۲ ارائه گردیده است.

^۱ Scherer equation



شکل ۳-۵: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره گیاه بامیه

۳-۳-۵- آنالیز FESEM/EDX

تصاویر FESEM در شکل‌های ۱۷ تا ۱۹ پیوست آورده شده است. تمام نمونه‌ها بی شکل و به صورت متراکم هستند. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت عصاره گیاهی اندازه ذرات کوچکتر شده و ذرات یکنواخت‌تر هستند، بخصوص در $\text{CeO}_2\text{-30}$ میزان تجمع آن‌ها کاهش یافته است. روند مشاهده شده برای اندازه ذرات در آنالیز UV-Vis و XRD با روند آنالیز FESEM کاملاً مطابقت دارد.

آنالیز EDX (شکل ۲۰ پیوست) حضور اتم‌های اکسیژن و سریم را بر روی سطح نانو ذرات تایید می‌نماید.

۳-۴- بررسی اثر غلظت عصاره گیاهی در سنتز نانو ذرات

همانطور که ملاحظه شد در هر دو سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله‌ای و عصاره گیاه بامیه، با افزایش غلظت عصاره گیاهی ذرات کوچکتر و یکنواخت تر بدست آمد که مقدار بهینه آن در هر دو سنتز ۳۰ میلی لیتر از عصاره تهیه شده در واکنش با سریم نیترات بود. این امر بدلیل خاصیت احاطه کنندگی بهتر اتم های سریم بوسیله ی ترکیبات موجود در عصاره گیاهی می باشد که با افزایش غلظت عصاره قدرت احاطه کنندگی افزایش یافته و از تجمع هسته های نانو ذرات جلوگیری می کند. هر دو عصاره دارای مواد موسیلاژ هستند که باعث تولید ژل می گردد، در عصاره گیاهی مریم گلی ترکیبات فلاونیدی مانند اوپاتورین^۱، سالویگنین^۲، ۱۳- اپی مانویلوکساید^۳ و سیتوسترول^۴ و در عصاره گیاهی بامیه ترکیبات پلی ساکارید، پکتین^۵، فلاونید و پروتئین های شکر ویسکوز وجود دارند که تمام این ترکیبات از طریق گروه های عاملی الکلی به اتم سریم متصل می گردند و هنگام حرارت در کوره تجزیه شده و سبب تولید ذرات سریم اکسید در اندازه نانو می شوند. همانطور که مشاهده شد افزایش غلظت عصاره محدودیت دارد و مقادیر زیاد آن باعث ایجاد نتیجه عکس می گردد. بر اساس مشاهدات کیفی، زمانی که غلظت از مقدار بهینه بیشتر می گردد ذرات در داخل کوره به بیرون پاشیده می شوند که می تواند بدلیل شدت واکنش تجزیه یا سوختن ترکیبات عصاره که با سریم واکنش نداده اند اتفاق افتاده باشد و این امر باعث برهم زدن یکنواختی حرارت و روند تشکیل ذرات CeO_2 می گردد و بر روی کیفیت ذرات تاثیر می گذارد. حتی در کروزه مقدار کمی از ژل (یک پنجم مقدار کل) سنتز شده قرار داده شد اما

^۱ Eupatorin

^۲ Salvigenin

^۳ 13-epi-manoyloxiide

^۴ Sitosterol

^۵ Pectin

نتایج تفاوتی نداشت و باز هم ذرات به بیرون پاشیده شدند. به همین دلیل آنالیز بیشتر روی این دو نمونه انجام نشد.

۳-۵- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره دانه گیاه کتان

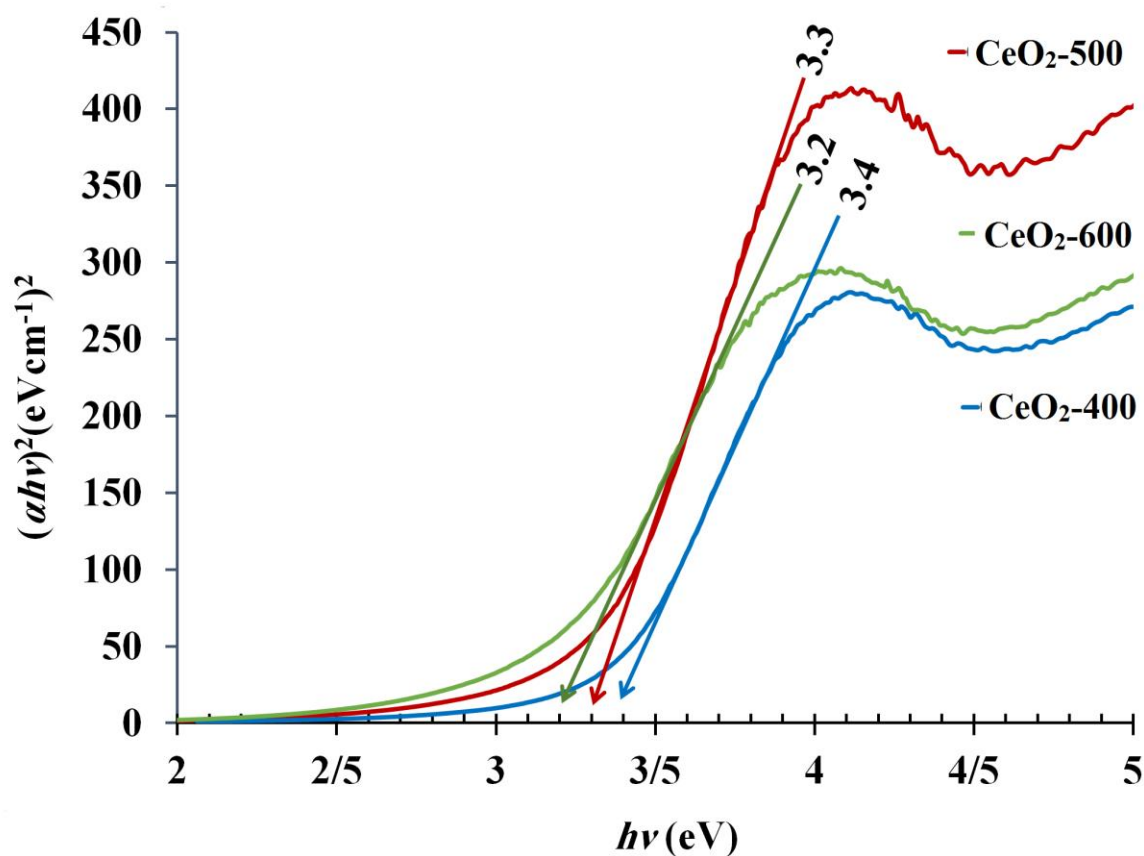
۳-۵-۱- آنالیز TGA/DTA

آنالیز حرارتی بر روی ژل بدست آمده برای تعیین دمای تکلیس تا دمای ۹۰۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۰ درجه بر دقیقه در جو هوا انجام گردید (شکل ۲۱ پیوست). کاهش وزن در منحنی آنالیز حرارتی در دمای حدود ۱۲۰ درجه سانتیگراد که با یک پیک گرماگیر در منحنی DTA همراه است مربوط به حذف فیزیکی آب جذب شده بر روی سطح و حفرات نانو ذرات می باشد. کاهش وزنی دیگر در محدوده ۱۸۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد که با یک پیک گرماگیر در نمودار DTA همراه است، مربوط به تجزیه ترکیبات آلی بجا مانده از عصاره گیاهی کتان و تبدیل $CeOX$ ($X=H, R$) به کریستال های CeO_2 باشد [۸۰، ۸۱]. مقدار کل کاهش وزن در این آنالیز برابر ۵۰ درصد تا دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد می باشد و بالاتر از دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد تغییر محسوسی در وزن دیده نمی شود. با توجه به عدم تغییر وزن در دماهای بالای ۴۰۰ درجه سانتیگراد این دما یعنی کمترین دما می بایست برای تکلیس ژل بدست آمده انتخاب گردد اما به منظور بررسی اثر دمای تکلیس بر روی اندازه ذرات سنتز شده، بخشی از ژل در دمای ۵۰۰ و ۶۰۰ درجه سانتیگراد نیز تکلیس گردید.

۳-۵-۲- آنالیز UV-Vis

تمام نمونه های سنتز شده CeO_2-400 ، CeO_2-500 و CeO_2-600 در آب مقطر با حمام فرا صوت پراکنده گشته و طیف UV-Vis آن ها در طول موج ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر با طیف سنج UV-Vis ثبت گردید. در

تمام نمونه‌ها پیک جذبی در ناحیه بین ۳۰۶ تا ۳۲۳ نانومتر مشاهده شد (شکل ۲۲ پیوست). این پیک جذبی ناشی از انتقال الکترون از اوربیتال 2p اتم اکسیژن به اوربیتال 4f سریم می باشد. مقدار انرژی باند گپ (E_g) بر اساس معادله ۱-۳ محاسبه گردید. شکل ۳-۶ نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ را نشان می دهد. مقادیر باند گپ در جدول ۳-۳ آورده شده است. با کاهش دمای کوره طول موج جذب کاهش یافته (مقادیر باند گپ افزایش می یابد) و پهنای پیک جذبی کمتر می شود که بیانگر کوچکتر بودن و یکنواختی اندازه ذرات در دمای تکلیس پایین تر است.



شکل ۳-۶: نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه های سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان

جدول ۳-۳: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان

نمونه	غلظت (g/L) / حجم محلول سریم (ml)	حجم عصاره گیاهی / حجم آب (ml)	دمای تکلیس (C°)	λ_{max} (nm)	E_g (eV) ^a	اندازه کریستالی (nm)	
						محاسبه شده ^b	مشاهده شده ^c
CeO ₂ -400	۲۰/۲۵۰	۷۰/۳۰	۴۰۰	۳۰۶	۳/۴	۷/۸	۲۱ ± ۵
CeO ₂ -500	۲۰/۲۵۰	۷۰/۳۰	۵۰۰	۳۱۱	۳/۳	۹/۳	۲۷ ± ۵
CeO ₂ -600	۲۰/۲۵۰	۷۰/۳۰	۶۰۰	۳۲۳	۳/۲	۱۴/۳	۳۲ ± ۹

^a محاسبه شده بر اساس معادله ۱-۳^b محاسبه شده از داده های آنالیز XRD بر اساس معادله شرر (۲-۳)^c مشاهده شده بر اساس عکس های FESEM

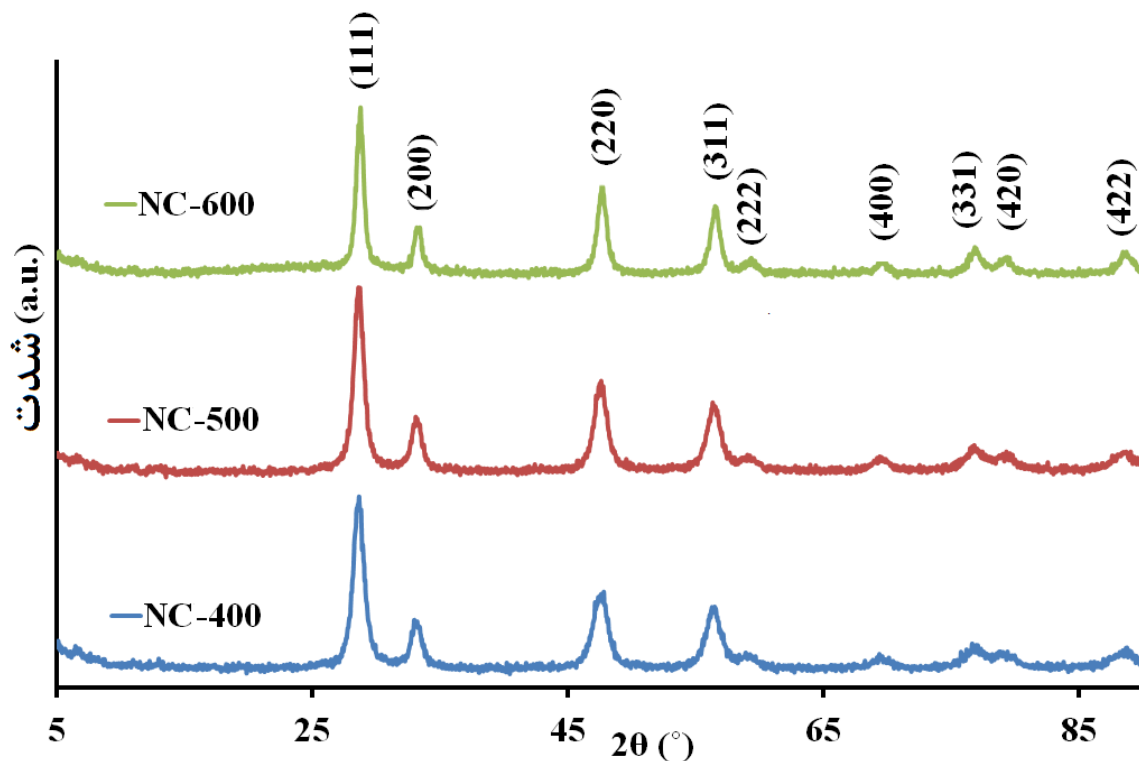
۳-۵-۳- آنالیز FTIR

طیف های مادون قرمز در بازه عدد موج 4000 تا 400 cm^{-1} در شکل ۲۳ پیوست ارائه گردیده است. پیک های ناحیه 500 و 1040 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند های $Ce-O$ و $O-Ce-O$ می باشد [۷۶]. دو پیک دیگر در ناحیه 1300 و 1600 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی $C-H$ و $C=O$ می شود که مربوط به ترکیبات احتمالی باقی مانده از عصاره گیاهی (گروه های کربوکسیل، استری، الکیلی و اتری) می شود. پیک پهن در ناحیه 3400 cm^{-1} به ارتعاش کششی پیوند $O-H$ مولکول های آب جذب شده بر روی سطح نانو ذرات مرتبط است.

۳-۵-۴- آنالیز XRD

در این سنتز آنالیز XRD بر روی نمونه های CeO_2-400 ، CeO_2-500 و CeO_2-600 انجام پذیرفت (شکل ۲۴ تا ۲۶ پیوست). تمام الگوهای پراش مشاهده شده به سریم اکسید تعلق داشته و با داده های مرجع کریستالوگرافی (JCPDS No: 34-0394) مطابقت دارند. عدم وجود پیک اضافی در الگوهای پراش، خلوص بالای ترکیب سنتز شده را در شبکه مکعبی وجوه مرکز پر فلوریت تایید می کند. بر اساس شکل ۳-۷ که مقایسه الگوهای پراش را در این ترکیبات نشان می دهد با افزایش دمای تکلیس از 400 به 600

درجه سانتیگراد پهنای پیک‌ها کاهش داشته است. اندازه ذرات بر اساس معادله شرر ۲-۳ برای پیک‌های مربوط به صفحات (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۲۲۲) و (۴۲۲) محاسبه گردید و در جدول ۳-۳ ارائه گردیده است. همانطور که مشاهده می‌شود افزایش دمای تکلیس باعث افزایش اندازه ذرات و تجمع آن‌ها می‌گردد. نتایج آنالیز XRD در مورد اندازه ذرات با نتایج آنالیز UV-Vis مطابقت دارد.



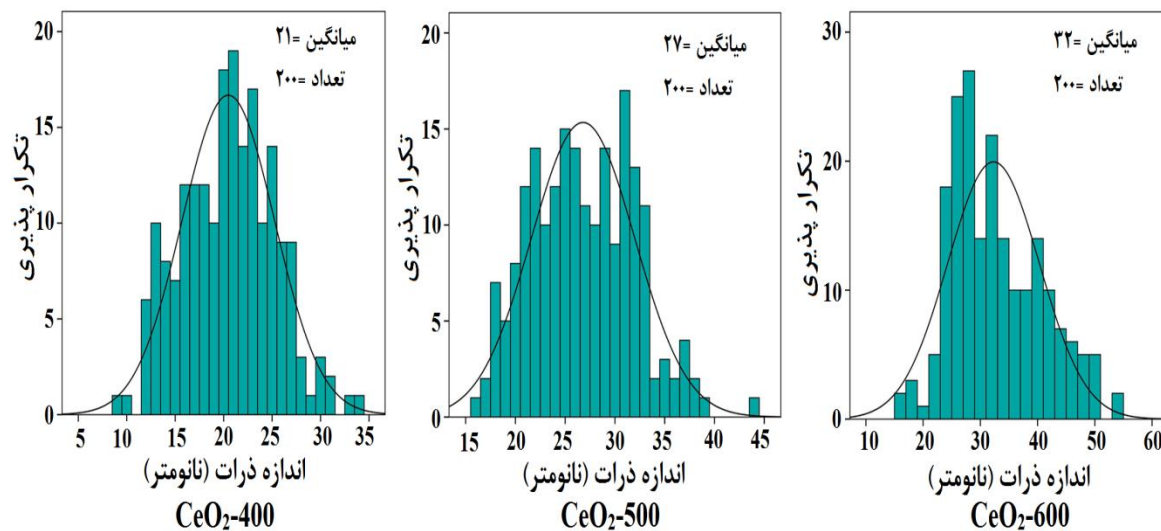
شکل ۳-۷: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سرب اکسید در بستر عصاره دانه گیاه کتان

۳-۵-۵- آنالیز FESEM/EDX

تصاویر FESEM در شکل‌های ۲۷ تا ۲۹ پیوست آورده شده است. شکل تمام نمونه‌ها نامنظم و متراکم می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش دمای تکلیس اندازه ذرات افزایش و یکنواختی آن‌ها کاهش یافته است. میانگین اندازه ذرات بر اساس رسم منحنی توزیع نرمال (شکل ۳-۸) در جدول ۳-۳

آورده شده است. روند مشاهده شده برای اندازه ذرات در آنالیز UV-Vis و XRD با روند آنالیز FESEM کاملاً مطابقت دارد.

آنالیز EDX (شکل ۳۰ پیوست) حضور اتم های اکسیژن و سریم را بر روی سطح نانو ذرات تایید می نماید.



شکل ۳-۸: منحنی هیستوگرام توزیع اندازه ذرات برای سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان

۳-۶- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز

شده در عصاره دانه گیاه به

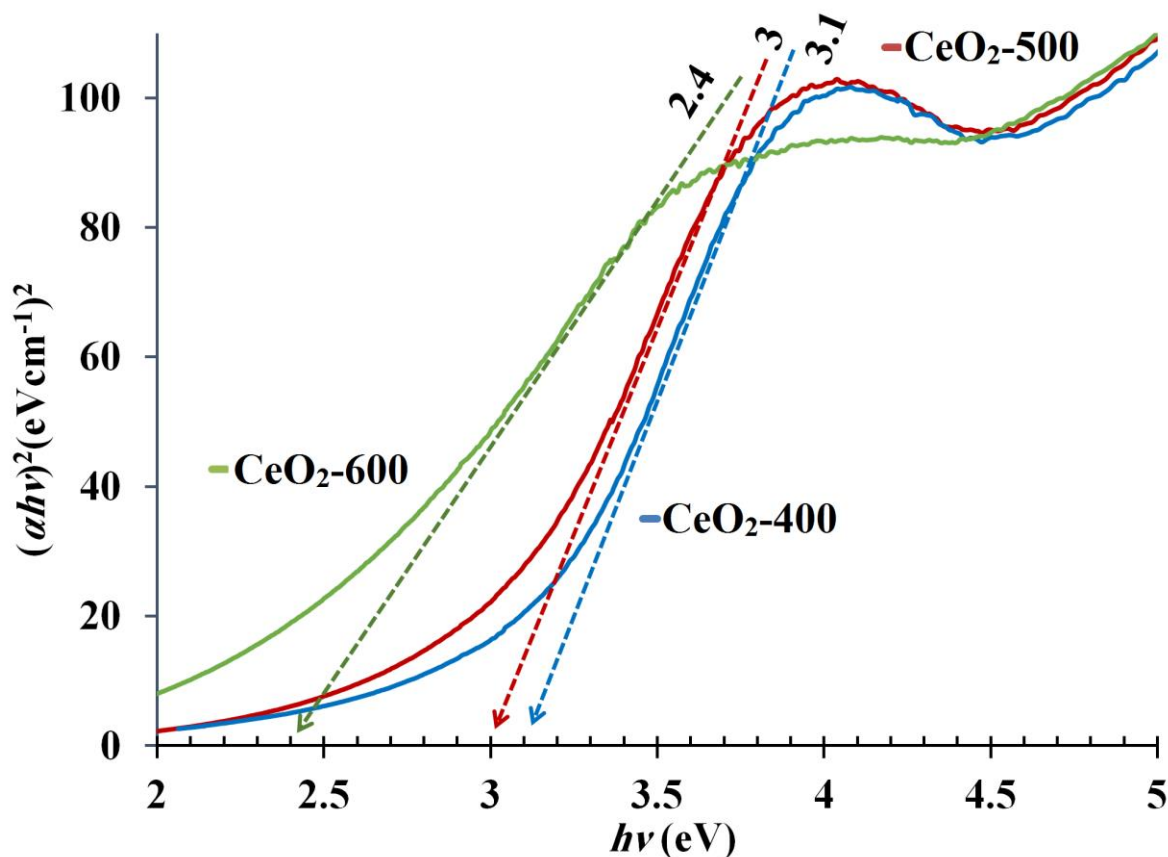
۳-۶-۱- آنالیز TGA/DTA

آنالیز حرارتی بر روی ژل بدست آمده تا دمای ۷۰۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۰ درجه بر دقیقه در جو هوا انجام گردید (شکل ۳۱ پیوست). سه مرحله کاهش وزن در نمودار TGA نشان داده شده که تمام آن ها دارای پیک های گرماگیر در منحنی DTA هستند. در مرحله اول ۲۰ درصد کاهش وزن در منحنی آنالیز حرارتی در دمای زیر ۱۱۰ درجه سانتیگراد مشاهده می گردد که به حذف فیزیکی آب جذب شده

بر روی سطح و حفرات نانو ذرات مربوط بوده و دارای دو پیک گرماگیر در منحنی DTA می باشد. دو مرحله کاهش وزنی دیگر در محدوده ۱۶۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد به مقدار ۴۵ درصد می تواند به تجزیه ترکیبات آلی بجا مانده از عصاره گیاهی [۲۴] و تبدیل $CeOX$ ($X=H, R$) به کریستال های CeO_2 در دمای حدود ۳۰۰ درجه سانتیگراد باشد [۸۰، ۸۱]. مقدار کل کاهش وزن در این آنالیز برابر ۶۵ درصد بوده و در دماهای بالاتر تغییر محسوسی در تغییر وزن دیده نمی شود. با توجه به نمودار آنالیز حرارتی به منظور اطمینان از سوختن و تجزیه ترکیبات آلی بجا مانده از عصاره دانه گیاه به، ژل بدست آمده در دمای ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ درجه سانتیگراد تکلیس گردید. در این سنتز مانند بخش ۳-۵ هدف از تغییر دمای تکلیس، بررسی این عامل بر روی اندازه و کیفیت ذرات می باشد.

۳-۶-۲- آنالیز UV-Vis

تمام نمونه های سنتز شده CeO_2-400 ، CeO_2-500 و CeO_2-600 در آب مقطر با حمام فرا صوت پراکنده گشته و طیف UV-Vis آن ها در طول موج ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر با طیف سنج UV-Vis ثبت گردید. در تمام نمونه ها پیک جذبی در ناحیه بین ۳۱۵ تا ۳۴۲ نانومتر مشاهده شد (شکل ۳۲ پیوست). این پیک جذبی به سبب انتقال الکترون از اوربیتال 2p اتم اکسیژن به اوربیتال 4f سریم می باشد. مقدار انرژی باند گپ (E_g) بر اساس معادله ۱-۳ محاسبه گردید. شکل ۳-۹ نمودار $(ah\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ را نشان می دهد. مقادیر باند گپ در جدول ۳-۴ آورده شده است. با کاهش دمای کوره طول موج جذب کاهش یافته (مقادیر باند گپ افزایش می یابد) و پهنای پیک جذبی کمتر می شود که بیانگر کوچکتر بودن و یکنواختی اندازه ذرات در دمای تکلیس پایین تر است.



شکل ۳-۹: نمودار $(\alpha hv)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه های سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به

جدول ۳-۴: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به

نمونه	غلظت / حجم (g/L) / محلول سریم (ml)	حجم عصاره گیاهی / حجم آب (ml)	دمای تکلیس (C°)	λ_{max} (nm)	E_g (eV) ^a	اندازه کریستالی ^b (nm)
CeO ₂ -400	۲۰/۲۵۰	۷۰/۳۰	۴۰۰	۳۱۵	۳/۱	۹
CeO ₂ -500	۲۰/۲۵۰	۷۰/۳۰	۵۰۰	۳۲۳	۳	۹/۵
CeO ₂ -600	۲۰/۲۵۰	۷۰/۳۰	۶۰۰	۳۴۲	۲/۴	۱۱/۸

^a محاسبه شده بر اساس معادله ۱-۳

^b محاسبه شده از داده های آنالیز XRD بر اساس معادله شرر (۲-۳)

۳-۶-۳- آنالیز FTIR

طیف های مادون قرمز در بازه عدد موج 4000 تا 400 cm^{-1} در شکل ۳۳ پیوست ارائه گردیده است. در تمام موارد یک پیک واضح در ناحیه 400 cm^{-1} و یک پیک ضعیف در ناحیه 1050 cm^{-1} مشاهده می شود

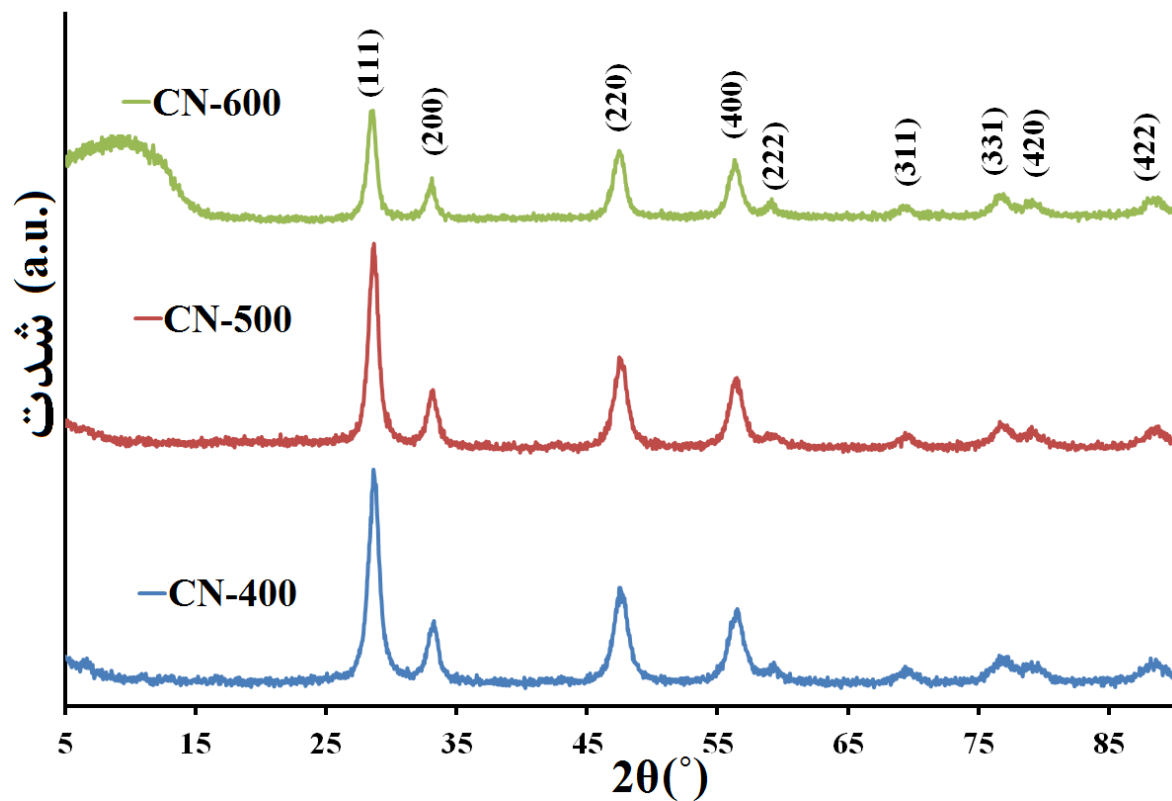
که بترتیب به ارتعاش کششی پیوند های $Ce-O$ و $O-Ce-O$ مربوط می شوند [۷۶]. پیک های ضعیف در ناحیه cm^{-1} ۱۳۰۰ و ۱۵۰۰ بترتیب به ارتعاش کششی $C-H$ و $C=O$ ترکیبات احتمالی باقی مانده از عصاره گیاهی (گروه های کربوکسیل، استری، الکی و اتری) مربوط می شود. پیک در ناحیه cm^{-1} ۳۴۰۰ به ارتعاش کششی پیوند $O-H$ مولکول های آب جذب شده بر روی سطح نانو ذرات مربوط است.

۳-۶-۴- آنالیز XRD

در این سنتز آنالیز XRD بر روی نمونه های CeO_2-400 ، CeO_2-500 و CeO_2-600 انجام پذیرفت (شکل ۳۴ تا ۳۶ پیوست). تمام الگوهای پراش مشاهده شده به سریم اکسید تعلق داشته و با داده های مرجع کریستالوگرافی (JCPDS No: 34-0394) مطابقت دارند. عدم وجود پیک اضافی در الگوهای پراش، خلوص بالای ترکیب سنتز شده را در شبکه مکعبی وجوه مرکز پر فلوریت تایید می کند. بر اساس شکل ۳-۱۰ که مقایسه الگوهای پراش را در این ترکیبات نشان می دهد، مشابه با سنتز بخش ۳-۵، با افزایش دمای تکلیس از ۴۰۰ به ۶۰۰ درجه سانتیگراد پهنای پیک ها کاهش داشته است. اندازه ذرات بر اساس معادله شرر ۳-۲ برای پیک های مربوط به صفحات (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۲۲۲) و (۴۲۲) محاسبه گردید و در جدول ۳-۴ ارائه گردیده است. همانطور که مشاهده می شود افزایش دمای تکلیس باعث افزایش اندازه ذرات و تجمع آن ها می گردد.

۳-۶-۵- آنالیز FESEM/EDX

تصاویر FESEM در شکل های ۳۷ تا ۳۹ پیوست آورده شده است. نمونه ها بدون شکل مشخص هندسی و متراکم می باشند. همانطور که مشاهده می شود با افزایش دمای تکلیس اندازه ذرات بزرگتر شده و یکنواختی آن ها کاهش می یابد. آنالیز EDX (شکل ۴۰ پیوست) حضور اتم های اکسیژن و سریم را بر روی سطح نانو ذرات تایید می نماید.



شکل ۳-۱۰: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه به

۳-۷- بررسی اثر دمای تکلیس در سنتز نانو ذرات

همانطور که ملاحظه شد در هر دو سنتز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه کتان و دانه گیاه به، افزایش دمای تکلیس باعث افزایش اندازه ذرات و به هم چسبیدگی آن ها گردید. همانطور که اشاره شد در فرایند تکلیس، عصاره گیاهی که نقش احاطه کنندگی را دارد، در دمای بالاتر از 300°C درجه سانتیگراد کاملاً تجزیه شده و نانو ذرات سریم اکسید تشکیل می شوند و سپس با افزایش دمای تکلیس اندازه این ذرات بیشتر می شود.

۳-۸- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره دانه گیاه بارهنگ

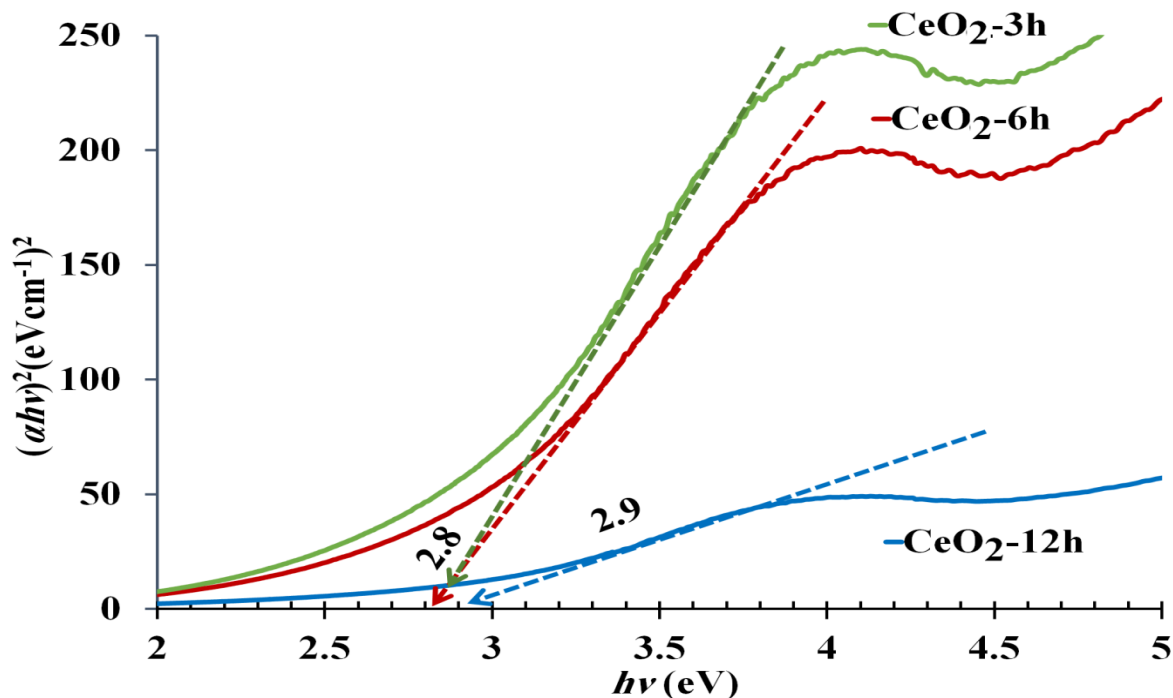
۳-۸-۱- آنالیز TGA/DTA

آنالیز حرارتی بر روی ژل بدست آمده تا دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۰ درجه بر دقیقه در جو هوا انجام گردید (شکل ۴۱ پیوست). دو مرحله کاهش وزن در نمودار TGA نشان داده شده که تمام آن ها دارای پیک های گرماگیر در منحنی DTA هستند. در مرحله اول ۳۲ درصد کاهش وزن در منحنی آنالیز حرارتی در محدوده دمایی ۱۱۵ تا ۱۸۵ درجه سانتیگراد مشاهده می گردد که به حذف فیزیکی آب جذب شده بر روی سطح و حفرات نانو ذرات مربوط می باشد، همچنین با توجه به اینکه کاهش وزن تا دمای ۱۸۵ درجه سانتیگراد ادامه داشته است، بخشی از ترکیبات آلی باقی مانده از عصاره گیاهی در این مرحله تجزیه می گردند [۲۴] و کاهش وزن دیگر که آن نیز به همراه یک پیک گرماگیر است می تواند به تجزیه ترکیبات آلی باقی مانده از تجزیه مرحله اول و تبدیل $CeOX$ ($X=H, R$) به کریستال های CeO_2 در دمای حدود ۳۰۰ درجه سانتیگراد باشد [۸۰, ۸۱]. مقدار کل کاهش وزن در این آنالیز برابر ۶۰ درصد بوده و در دماهای بالاتر تغییر محسوسی در تغییر وزن دیده نمی شود. بر اساس نمودار آنالیز حرارتی تمام نمونه ها در دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد تکلیس گردیدند.

۳-۸-۲- آنالیز UV-Vis

تمام نمونه های سنتز شده در آب مقطر با حمام فرا صوت پراکنده گشته و طیف UV-Vis آن ها در طول موج ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر با طیف سنج UV-Vis ثبت گردید. در تمام نمونه ها پیک جذبی در ناحیه بین ۳۱۷ تا ۳۲۰ نانومتر مشاهده شد (شکل ۴۲ پیوست). این پیک جذبی ناشی از انتقال الکترون از اوربیتال $2p$ اتم اکسیژن به اوربیتال $4f$ سریم می باشد. مقدار انرژی باند گپ (E_g) بر اساس معادله ۳-۱ محاسبه

گردید. شکل ۳-۱۱ نمودار $(ah\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ را نشان می دهد. مقادیر باند گپ در جدول ۳-۵ آورده شده است. در این سنتز تفاوت محسوسی در طیف UV-Vis بین نمونه ها مشاهده نمی شود.



شکل ۳-۱۱: نمودار $(ah\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه های سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ

جدول ۳-۵: روش سنتز، ویژگی های نوری و فیزیکی نانوذرات سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ

نمونه	غلظت / حجم (g/L) / محلول سریم (ml)	حجم عصاره گیاهی / حجم آب (ml)	مدت زمان سنتز (h)	λ_{max} (nm)	E_g (eV) ^a	اندازه کریستالی ^b (nm)
CeO ₂ -3h	۲۵۰/۲۰	۳۰/۷۰	۳	۳۱۷	۲/۸	۱۱/۹
CeO ₂ -6h	۲۵۰/۲۰	۷۰/۳۰	۶	۳۱۷	۲/۸	۱۲/۶
CeO ₂ -12h	۲۵۰/۲۰	۷۰/۳۰	۱۲	۳۲۰	۲/۹	۱۱/۸

^a محاسبه شده بر اساس معادله ۳-۱

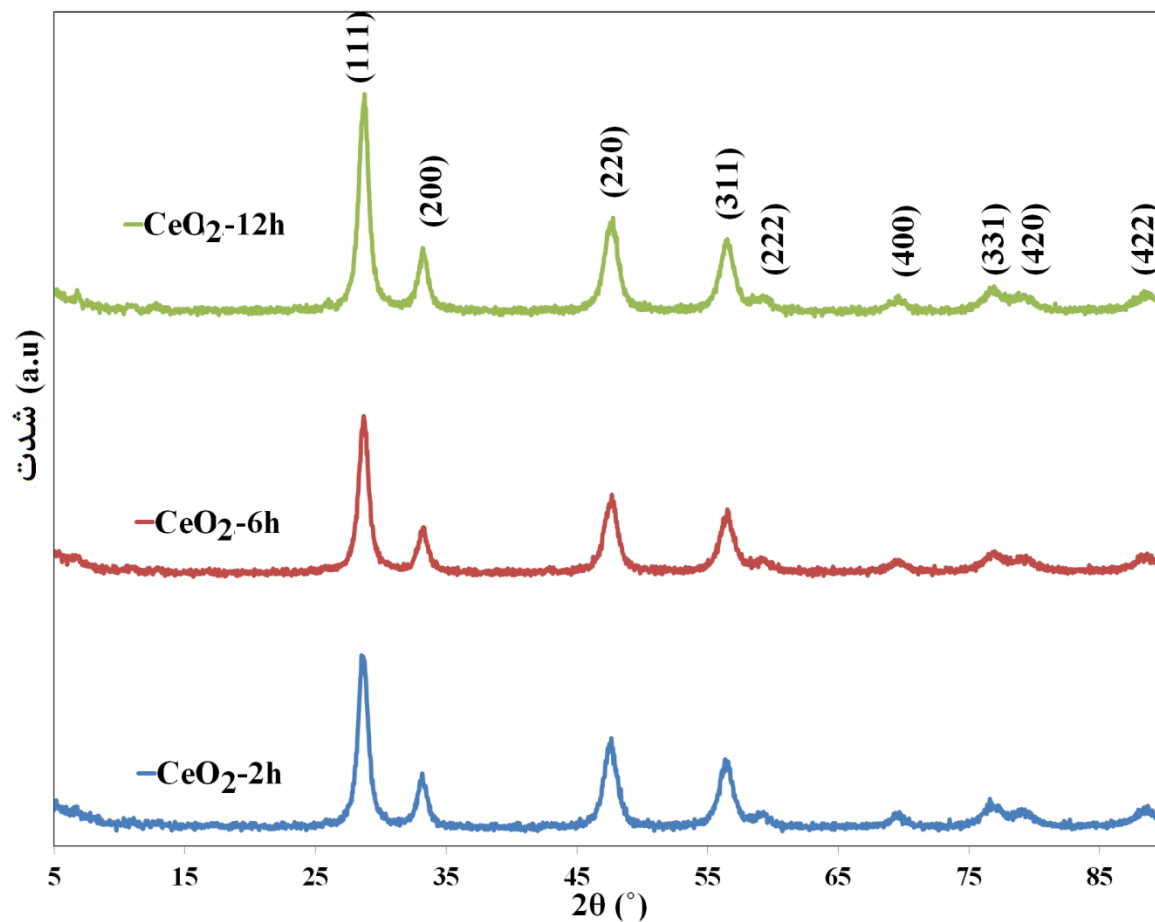
^b محاسبه شده از داده های آنالیز XRD بر اساس معادله شرر (۳-۲)

۳-۸-۳- آنالیز FTIR

طیف های مادون قرمز در بازه عدد موج 4000 تا 400 cm^{-1} در شکل ۴۳ پیوست ارائه گردیده است. در تمام موارد یک پیک واضح در ناحیه 400 cm^{-1} و یک پیک ضعیف در ناحیه 1050 cm^{-1} مشاهده می شود که بترتیب به ارتعاش کششی پیوند های Ce-O و O-Ce-O مربوط می شوند [۷۶]. پیک های ضعیف در ناحیه 1370 و 1610 بترتیب به ارتعاش کششی C-H و C=O ترکیبات احتمالی باقی مانده از عصاره گیاهی (گروه های کربوکسیل، استری، الکی و اتری) مربوط می شود. پیک در ناحیه 3380 cm^{-1} به ارتعاش کششی پیوند O-H مولکول های آب جذب شده بر روی سطح نانو ذرات مربوط است.

۳-۸-۴- آنالیز XRD

در این سنتز آنالیز XRD بر روی نمونه های $\text{CeO}_2\text{-3h}$ ، $\text{CeO}_2\text{-6h}$ و $\text{CeO}_2\text{-12h}$ انجام پذیرفت (شکل ۴۴ تا ۴۶ پیوست). تمام الگوهای پراش مشاهده شده به سریم اکسید تعلق داشته و با داده های مرجع کریستالوگرافی (JCPDS No: 34-0394) مطابقت دارند. عدم وجود پیک اضافی در الگوهای پراش، خلوص بالای ترکیب سنتز شده را در شبکه مکعبی وجوه مرکز پر فلوریت تایید می کند. شکل ۳-۱۲ مقایسه الگوهای پراش را در این ترکیبات نشان می دهد و اندازه ذرات با معادله شرر (۳-۲) برای پیک های مربوط به صفحات (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۲۲۲) و (۴۲۲) محاسبه گردید و در جدول ۳-۵ ارائه گردیده است. تفاوت محسوسی در نتایج وجود ندارد و روند خاصی مشاهده نمی گردد. با توجه به نتایج آنالیز UV-Vis و XRD تغییر مدت زمان سنتز از ۳ تا ۱۲ ساعت تفاوت محسوسی بر روی ویژگی نانو ذرات سنتز شده ایجاد نمی کند.



شکل ۳-۱۲: الگوهای پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ

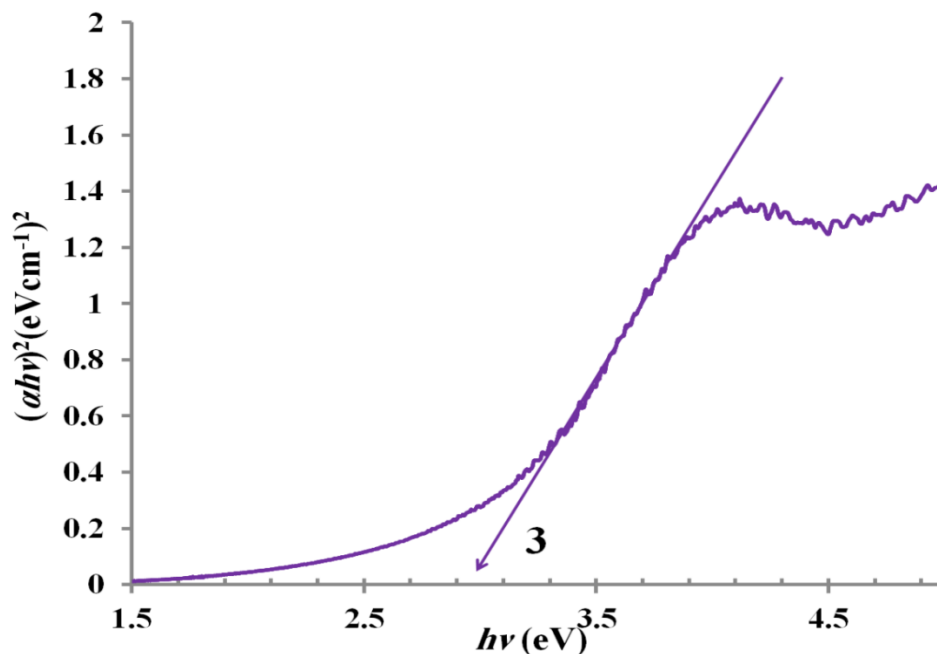
۳-۸-۵- آنالیز FESEM/EDX

تصاویر FESEM در شکل‌های ۴۷ تا ۴۹ پیوست آورده شده است. مورفولوژی نمونه‌ها بصورت متراکم و لایه لایه هستند. در عکس‌ها نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین نمونه‌ها دیده نمی‌شود. آنالیز EDX (شکل ۵۰ پیوست) حضور اتم‌های اکسیژن و سریم را بر روی سطح نانو ذرات تایید می‌نماید. با توجه به نتایج این سنتز می‌توان گفت تغییر در مدت زمان انجام سنتز تاثیری بر روی کیفیت و اندازه نانو ذرات نداشته است.

۳-۹- بررسی آنالیزهای انجام شده بر روی سریم اکسید سنتز شده در عصاره گیاه عروس انگشتی

۳-۹-۱- آنالیز UV-Vis

نانو ذرات در آب مقطر با حمام فرا صوت پراکنده گشته و طیف UV-Vis آنها در طول موج ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر با طیف سنج UV-Vis ثبت گردید. پیک جذبی در طول موج ۳۱۰ نانومتر ناشی از انتقال الکترون از اوربیتال 2p اتم اکسیژن به اوربیتال 4f سریم می باشد (شکل ۵۱ پیوست). مقدار انرژی باند گپ (E_g) بر اساس معادله ۳-۱ محاسبه گردید. شکل ۳-۱۳ نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ را نشان می دهد. مقدار باند گپ برابر ۳ الکترون ولت می باشد.



شکل ۳-۱۳: نمودار $(\alpha h\nu)^2$ بر حسب $h\nu$ برای نمونه های سنتز شده در بستر عصاره گیاه عروس انگشتی

۳-۹-۲- آنالیز FTIR

طیف‌های مادون قرمز در بازه عدد موج 4000 تا 400 cm^{-1} در شکل ۵۲ پیوست ارائه گردیده است. پیک‌های ناحیه 463 cm^{-1} و 1111 cm^{-1} بترتیب به ارتعاش کششی پیوند های Ce-O و O-Ce-O مربوط می‌شوند [۷۶]. پیک‌های ناحیه 2897 ، 1471 و 1382 به ترتیب به ارتعاش های کششی، خمشی و چرخشی پیوند C-H و ناحیه 1617 cm^{-1} به ارتعاش کششی پیوند C=O که به ترکیبات آلی احتمالی باقی مانده از عصاره گیاهی (گروه‌های کربوکسیل، استری، الکی و اتری) مربوط می‌باشند. پیک در ناحیه 3400 cm^{-1} به ارتعاش کششی پیوند O-H مولکول های آب جذب شده بر روی سطح نانو ذرات مربوط است.

۳-۹-۳- آنالیز XRD

الگوی پراش پرتو ایکس در شکل ۵۳ پیوست نشان داده شده است. الگوی پراش به سریم اکسید تعلق داشته و با داده های مرجع کریستالوگرافی (JCPDS No: 34-0394) مطابقت دارد. عدم وجود پیک اضافی در الگوی پراش، خلوص بالای ترکیب سنتز شده را در شبکه مکعبی وجوه مرکز پر فلوریت تایید می‌کند. اندازه ذرات با معادله شرر (۲-۳) برای پیک های مربوط به صفحات (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۲۲۲) و (۴۲۲) محاسبه گردیده و مقدار میانگین آن $19/5$ نانومتر بدست آمد.

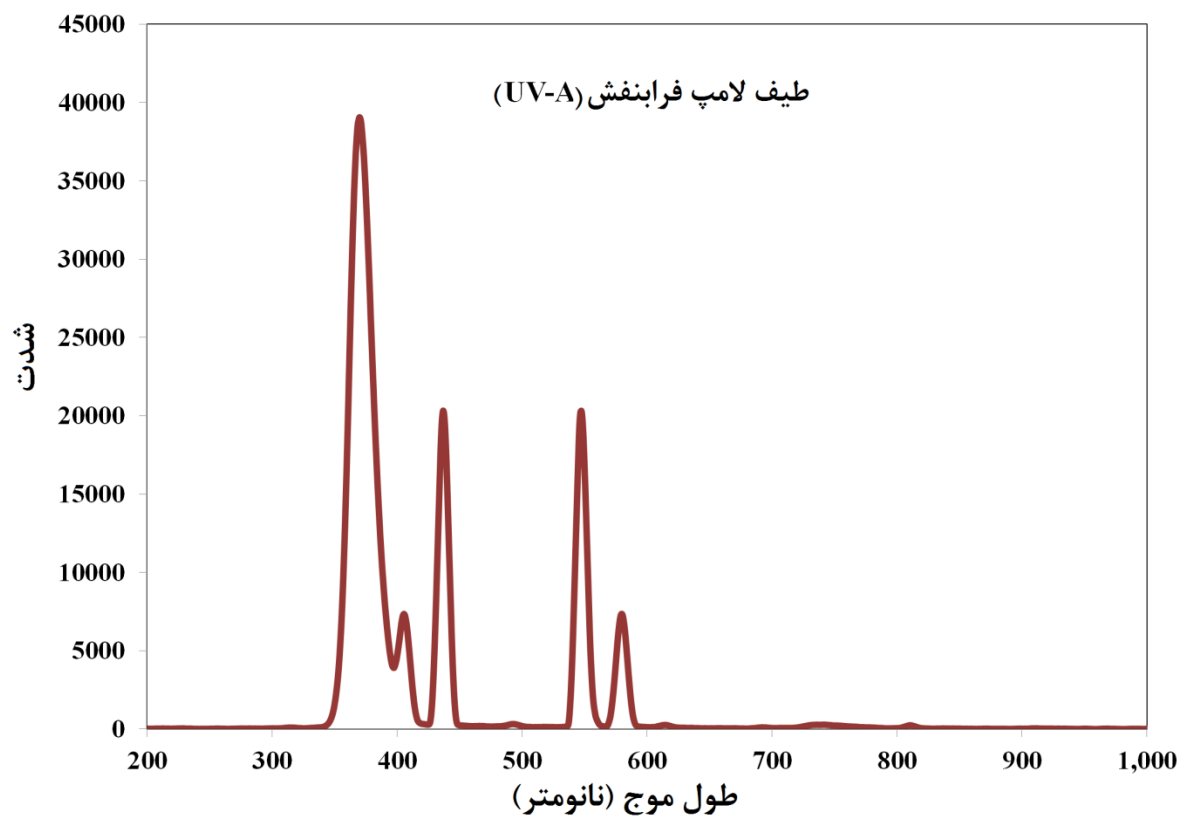
۳-۹-۴- آنالیز FESEM

تصاویر FESEM در شکل ۵۴ پیوست آورده شده است. مورفولوژی نمونه بصورت متراکم بوده و حفراتی در بین ساختار مشاهده می‌شود که بیانگر متخلخل بودن نانو ذرات می‌باشد. آنالیز EDX (شکل ۵۵ پیوست) حضور اتم های اکسیژن و سریم را بر روی سطح نانو ذرات تایید می‌نماید.

۳-۱۰- واکنش های فوتوکاتالیزوری و کاتالیزوری

۳-۱۰-۱- تخریب رنگ رودامین بی با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای در حضور نور فرابنفش

تخریب رنگ رودامین بی به حجم ۵۰ میلی لیتر با غلظت ۸ میلی گرم بر لیتر تحت تابش نور فرابنفش لامپ فلورسنت ۱۱ وات انجام گردید. بر اساس آنالیز انجام شده حداکثر طول موج این لامپ ۳۶۵ نانومتر می باشد (شکل ۳-۱۴) و شدت آن برابر ۴/۴ وات بر متر مربع است.



شکل ۳-۱۴: میزان شدت نور لامپ فرابنفش در طول موج های مختلف

۳-۱۰-۱-۱- بهینه سازی مقدار کاتالیزور

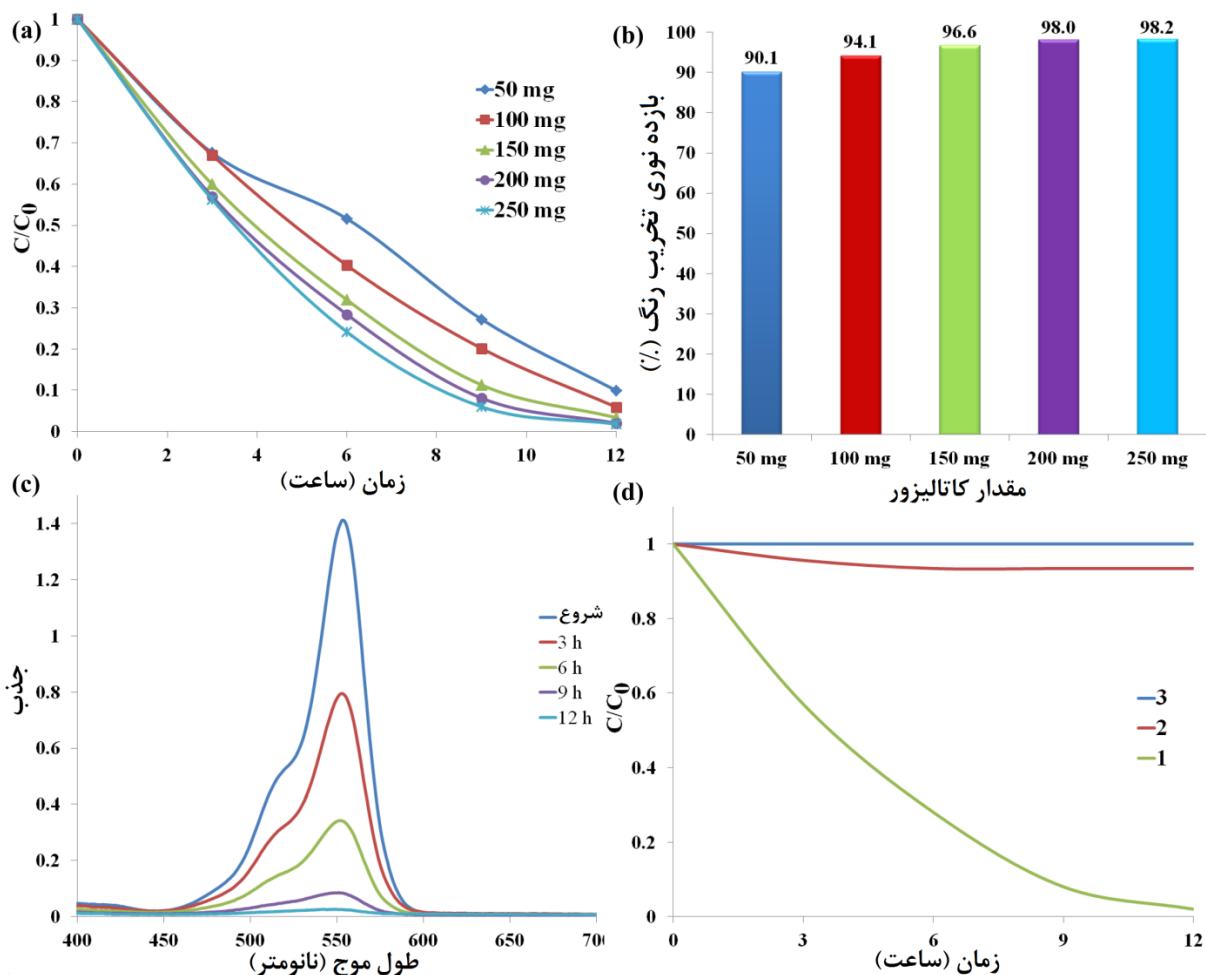
با توجه به توضیحات بخش ۳-۲ در بین نمونه های سنتز شده CeO_2-30 بهترین ویژگی و مشخصات را داشت بنابراین بهینه سازی مقدار کاتالیزور در واکنش فوتوکاتالیزوری برای این کاتالیزور انجام شد. واکنش فوتوکاتالیزوری با مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم از کاتالیزور انجام شد تا تاثیر مقدار کاتالیزور که یکی از عوامل مهم در واکنش یادشده است بررسی گردد. نتایج شکل ۳-۱۵ a و b نشان می دهد که افزایش مقدار کاتالیزور تا ۲۰۰ میلی گرم بطور مشهودی سرعت تخریب رنگ رودامین بی را افزایش می دهد و پس از آن با افزایش مقدار کاتالیزور به ۲۵۰ میلی گرم تفاوت محسوسی در سرعت تخریب رنگ مشاهده نمی گردد، بنابراین مقدار بهینه کاتالیزور در این واکنش ۲۰۰ میلی گرم می باشد. شکل ۳-۱۵ c نشان می دهد که غلظت رنگ رودامین بی در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور پس از ۱۲ ساعت به کمترین حد خود و تقریبا به صفر رسیده است. این واکنش همچنین در شرایط بدون نور و بدون کاتالیزور انجام شد (شکل ۳-۱۵ d) و نتایج نشان داد حضور همزمان کاتالیزور و نور فرابنفش برای انجام این واکنش ضروری است.

۳-۱۰-۱-۲- بررسی سنتیک واکنش فوتوکاتالیزوری و اثر اندازه ذرات روی واکنش

به منظور بررسی تاثیر اندازه ذرات بر روی واکنش فوتوکاتالیزوری، واکنش تخریب نوری رنگ رودامین بی برای دیگر نمونه های بدست آمده از سنتز بخش ۲-۳-۱ (CeO_2-10 و CeO_2-20) با شرایط بهینه شده برای CeO_2-30 انجام شد. شکل ۳-۱۶ a تایید کننده این است که فعالیت کاتالیزوری CeO_2-30 بیشتر از CeO_2-10 و CeO_2-20 است که این امر بدلیل اندازه کریستالی کوچکتر ذرات و یکنواخت تر بودن آن ها در مقایسه با دو نمونه دیگر می باشد. سنتیک تخریب رنگ در این واکنش ها بر اساس معادله ۳-۳ بررسی گردید.

$$\ln \frac{C}{C_0} = -kt$$

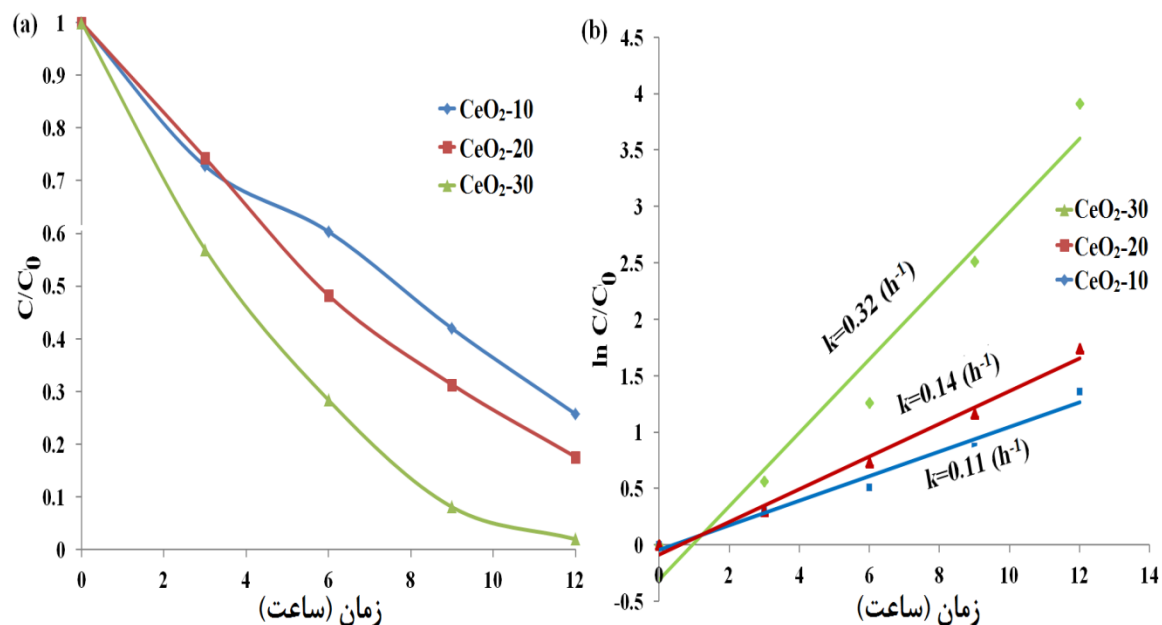
معادله ۳-۳



شکل ۳-۱۵: (a): بازده تخریب رنگ رودامین بی برای مقادیر متفاوت از کاتالیزور در مدت ۱۲ ساعت (b): درصد تخریب رنگ در حضور مقادیر متفاوت کاتالیزور در مدت ۱۲ ساعت (c): تغییرات جذب رنگ رودامین بی در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور و نور فرابنفش در زمان های مختلف (d): مقایسه بازده تخریب نوری رنگ رودامین بی در مدت زمان ۱۲ ساعت (۱) در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور و نور فرابنفش (۲) در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور در تاریکی (۳) در حضور نور فرابنفش بدون کاتالیزور

در این معادله k ثابت سرعت، C و C_0 بترتیب غلظت در زمان t و زمان شروع ($t=0$) می باشد. نمودار $-\ln C/C_0$ نسبت به زمان برای تمام نمونه ها بصورت خط راست مشاهده گردید (شکل ۳-۱۶ b) که بیانگر این است که تخریب رنگ رودامین بی با حضور کاتالیزور سریم اکسید از سرعت شبه مرتبه اول تبعیت

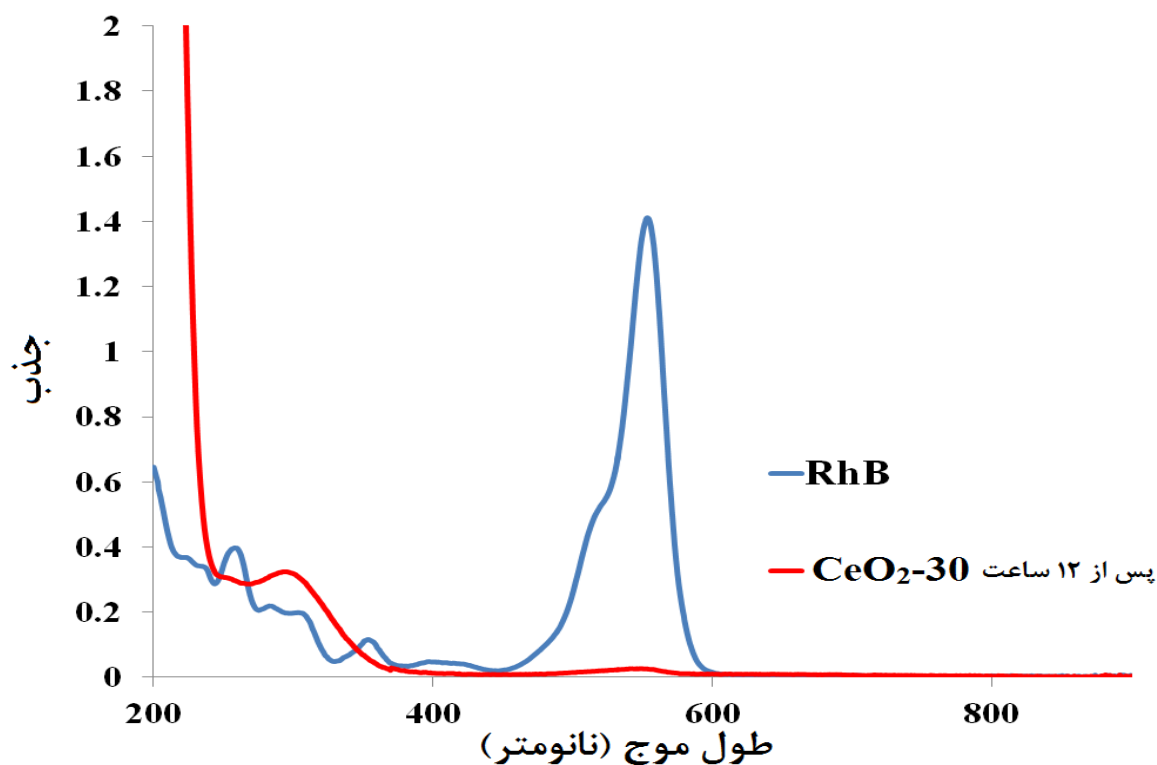
می کند و $\text{CeO}_2\text{-30}$ با ثابت سرعت 0.32 h^{-1} فعالیت بهتری نسبت به $\text{CeO}_2\text{-10}$ و $\text{CeO}_2\text{-20}$ با ثابت های سرعت 0.11 h^{-1} و 0.14 h^{-1} نشان داد.



شکل ۳-۱۶: (a) مقایسه بازده تخریب رنگ بین $\text{CeO}_2\text{-10}$ ، $\text{CeO}_2\text{-20}$ و $\text{CeO}_2\text{-30}$: نمودار $\ln C/C_0$ نسبت به زمان تابش نور برای $\text{CeO}_2\text{-10}$ ، $\text{CeO}_2\text{-20}$ و $\text{CeO}_2\text{-30}$

۳-۱-۱۰-۳- بررسی مکانیسم واکنش کاتالیزوری

طیف فرابنفش-مرئی محلول رودامین بی در حضور $\text{CeO}_2\text{-30}$ پس از تابش اشعه فرابنفش بطور کامل تغییر کرد. شکل ۳-۱۷ نشان می دهد که شدت تمام پیک ها بخصوص پیک 540 نانومتر پس از مدت 12 ساعت کاهش پیدا کرده که بیانگر تخریب حلقه های آروماتیک در مولکول رودامین بی در طول فرآیند واکنش می باشد. پیک باقی مانده در 301 نانومتر مربوط به سریم اکسید در محلول می باشد.

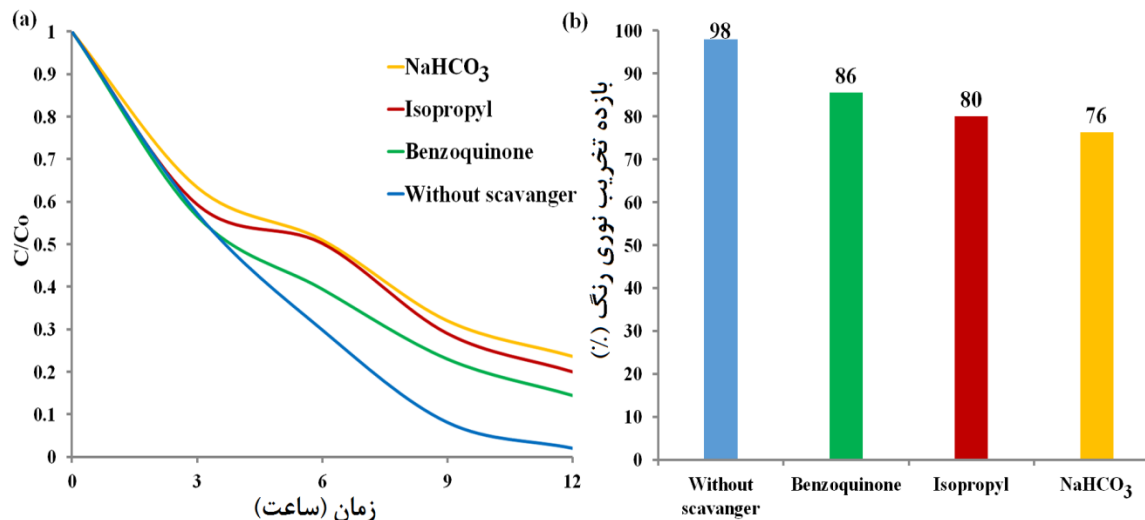


شکل ۳-۱۷: طیف فرابنفش-مرئی محلول رودامین بی (۵۰ میلی لیتر با غلظت ۸ میلی گرم بر لیتر) قبل از فرآیند تخریب در مقایسه با محلول باقی مانده پس از فرآیند تخریب نوری با ۲۰۰ میلی گرم $\text{CeO}_2\text{-30}$ تحت تابش نور UV-A پس از ۱۲ ساعت

بر اساس مطالعات گزارش شده که رادیکال هیدروکسیل (OH^\bullet)، رادیکال سوپر اکسید ($\text{O}_2^{\bullet-}$) و حفره‌ها (h^+) گونه‌های فعال اصلی هستند که در فرآیند فوتوکاتالیزوری تخریب رنگ‌های آلی نقش دارند [۸۲-۸۴]. برای یافتن مکانیسم فرآیند تخریب رنگ رودامین بی با $\text{CeO}_2\text{-30}$ ، ایزوپروپیل الکل (IPA) [۸۳]، بنزوکینون (BQ) و سدیم هیدروژن کربنات (NaHCO_3) [۲۲] هر یک به ترتیب بصورت مجزا برای به دام انداختن رادیکال هیدروکسید، رادیکال سوپر اکسید و حفره به مخلوط واکنش اضافه گردیدند. شکل ۳-۱۸ اثر گونه‌های محصور کننده^۱ را بر روی فعالیت فوتوکاتالیزوری $\text{CeO}_2\text{-30}$ نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود هر سه محصور کننده IPA، BQ و NaHCO_3 سرعت واکنش تخریب را کاهش می‌دهند که ترتیب اثر آن‌ها بر روی کاهش سرعت بصورت $\text{O}_2^{\bullet-} > \text{OH}^\bullet > h^+$ است. با توجه به اینکه بدام

^۱ Scavanger

انداختن حفره ها بیشترین کاهش را در سرعت فرآیند فوتوکاتالیزوری نشان داده است می توان گفت مکانسیم واکنش فوتوکاتالیزوری بیشتر از طریق h^+ و پس از آن $^{\bullet}OH$ پیش می رود.



شکل ۳-۱۸: اثر محصور کننده های مختلف بر روی بازده تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ رودامین بی با CeO_2-30 تحت تابش نور UV-A (a): با گذشت زمان (b): پس از ۱۲ ساعت

۳-۱۰-۲- تخریب رنگ رودامین بی با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده

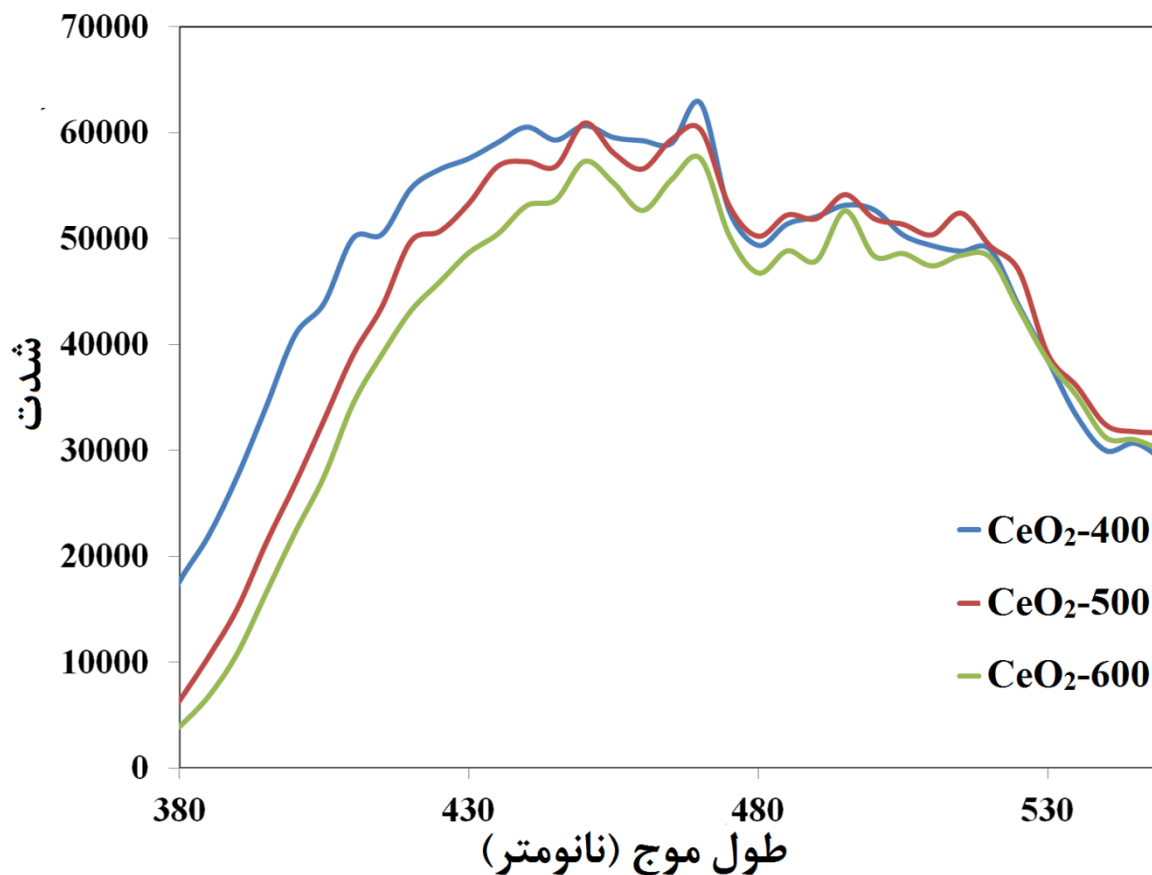
در بستر عصاره دانه گیاه به در حضور نور فرابنفش

همانطور که در فصل دوم توضیح داده شد نمونه های بدست آمده از سنتز ۲-۳-۴ در دماهای ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ درجه سانتیگراد تکلیس گردیدند. باتوجه به اینکه تغییر دمای تکلیس باعث تغییر اندازه ذرات و تغییر فضاهای خالی از اکسیژن می شود و جایگاه های خالی از اکسیژن بر روی فرآیند فوتوکاتالیزوری نقش بسزایی دارند در این بخش به بررسی نتایج حاصل از این فرآیند پرداخته می شود.

۳-۱۰-۲-۱- طیف فوتولومینسانس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر دانه

گیاه به

شکل ۳-۱۹ طیف فوتولومینسانس نانو ذرات سنتز شده در بخش ۲-۳-۴ (CeO₂-400, CeO₂-500 و CeO₂-600) را نشان می دهد. تمام این نمونه ها در آب مقطر پراکنده شدند و در طول موج ۲۰۰ نانومتر برانگیخته گردیدند. باندهای محدوده ۴۲۰ تا ۵۲۰ نانومتر به نقص های ساختاری سطح نانو ذرات سریم اکسید شامل فضاهای خالی اکسیژن مربوط می شود [۴۱, ۴۲]. باند نشری آبی-سبز در ۴۷۰ نانومتر حداکثر شدت را نسبت به باندهای دیگر شامل باندهای آبی در ۴۴۰ تا ۴۵۰ نانومتر، باند های آبی-سبز در ۴۸۵ و ۴۹۵ نانومتر و باند سبز در ۵۱۵ نانومتر نشان می دهد. شدت بیشتر باندها برای CeO₂-400 نسبت به CeO₂-500 و CeO₂-600 می تواند به مورفولوژی ذرات، طول موج برانگیختگی و فضاهای خالی از اکسیژن مرتبط باشد [۳۴, ۳۷, ۴۲]. نقص های ساختاری شامل فضاهای خالی اکسیژن با افزایش دمای تکلیس در جو هوا کاهش می یابند و منجر به کاهش شدت پیک های فوتولومینسانس می شوند [۸۵, ۸۶]. بر این اساس میزان نقص های اکسیژنی سطحی برای CeO₂-400 نسبت به دو گونه دیگر بیشتر است.

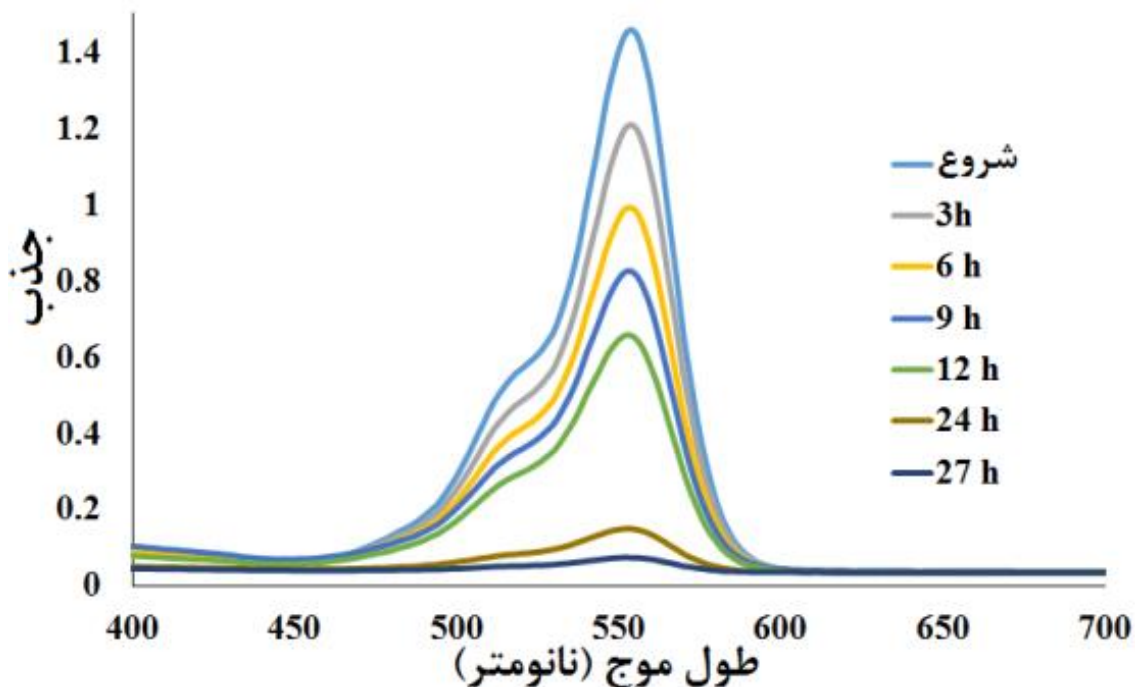


شکل ۳-۱۹: نشر فوتولومینسانس نمونه های سربیم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به

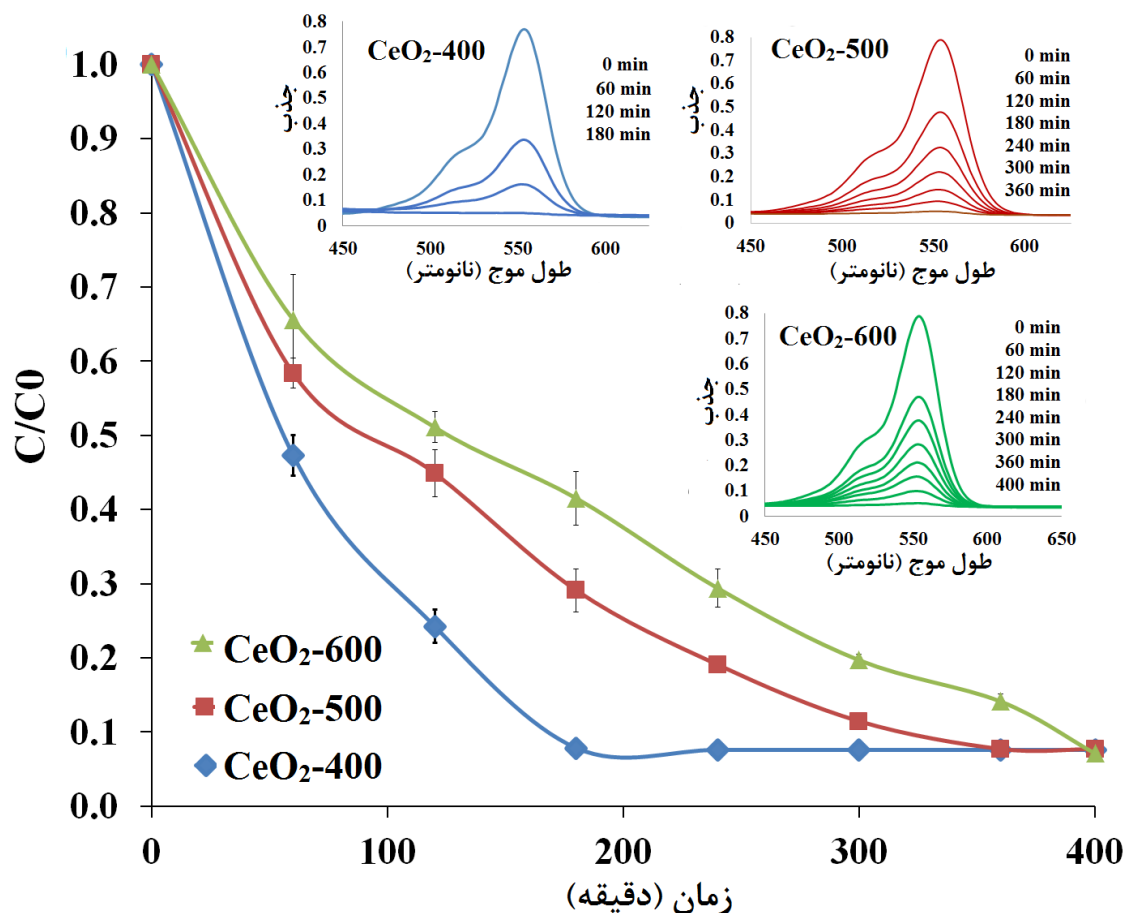
۳-۱۰-۲-۲- تاثیر جایگاه های خالی از اکسیژن بر روی واکنش فوتوکاتالیزوری

واکنش فوتوکاتالیزوری تخریب رنگ رودامین بی با شرایط مشابه بخش ۳-۱۰-۱-۱ و مقدار بهینه کاتالیزور ۲۰۰ میلی گرم $\text{CeO}_2\text{-400}$ انجام گردید، همانطور که در شکل ۳-۲۰ مشاهده می گردد زمان تخریب کامل رنگ مدت ۲۷ ساعت بود که بیانگر کمتر بودن فعالیت کاتالیزوری نمونه سربیم اکسید سنتز شده در بستر دانه گیاه به نسبت به سربیم اکسید سنتز شده در بستر دانه گیاه مریم گلی لوله ای می باشد. با توجه به اینکه در این بخش هدف واکنش فوتوکاتالیزوری بررسی اثر دمای تکلیس بر روی فعالیت کاتالیزوری نانوذرات می باشد بنابراین واکنش فوتوکاتالیزوری برای تمام نمونه ها $\text{CeO}_2\text{-400}$ ، $\text{CeO}_2\text{-500}$ و

CeO₂-600 با شرایط ذکر شده در بخش ۲-۴-۴ شامل محلول رودامین بی با غلظت ۴ میلی گرم بر لیتر (حجم کل ۵۰ میلی لیتر) و مقدار کاتالیزور ۱۰۰ میلی گرم انجام گردید.



شکل ۳-۲: تغییرات جذب ۵۰ میلی لیتر رنگ رودامین بی با غلظت ۸ میلی گرم بر لیتر در زمان های مختلف در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاهی دانه به و نور فرابنفش در تمام موارد از لامپ UV-A با شدت ۴/۴ وات بر متر مربع استفاده گردید و محلول با سرعت زیاد هم زده شد. در این آزمایش نیز مانند مورد قبل تمام واکنش ها در تاریکی انجام گردیدند تا از نقش نور فرابنفش در این فرآیند اطمینان حاصل گردد. نتایج شکل ۳-۲۱ نشان می دهد که CeO₂-400 توانست رنگ را به میزان تقریبی ۹۲ درصد در مدت زمان کمتری نسبت به دو نمونه دیگر تخریب کند. در این بخش به منظور اطمینان از تکرار پذیری واکنش ها، هر یک از آنها سه مرتبه تکرار گردیدند و نتایج میانگین به همراه انحراف استاندارد در نمودار شکل ۳-۲۱ مشخص شده است.

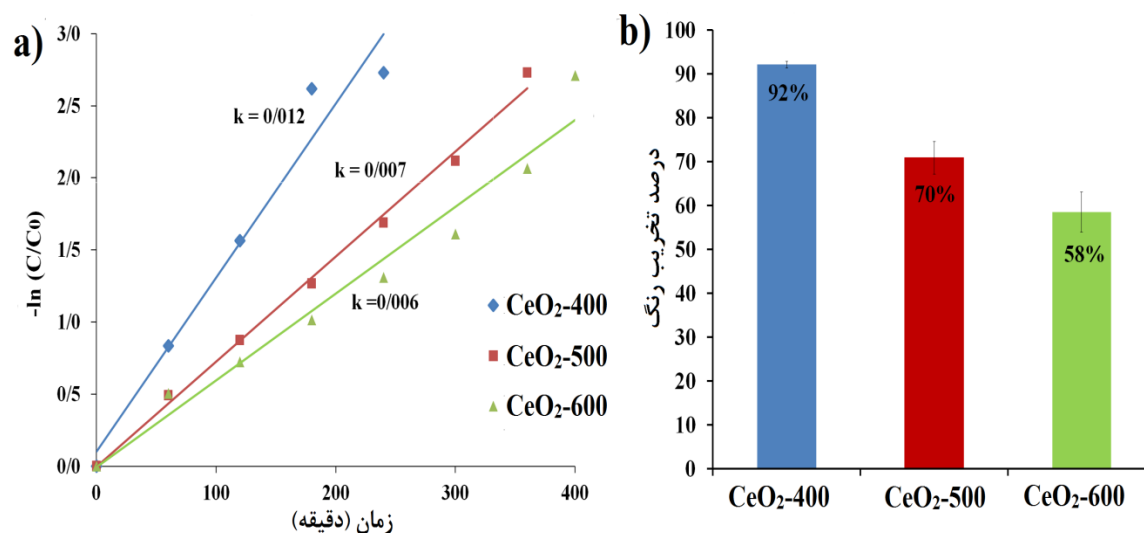


شکل ۳-۲۱: مقایسه توانایی تخریب رنگ رودامین بی (۵۰ میلی لیتر با غلظت ۴ میلی گرم بر لیتر) بین CeO_2-400 ، CeO_2-500 و CeO_2-600 نسبت به زمان به همراه تغییرات جذب این رنگ در زمان مختلف تابش نور فرابنفش (UV-A)

نتایج نشان می دهد تخریب رنگ رودامین بی در حضور سریم اکسید و نور UV-A با صحت بیشتر از ۹۴ درصد تکرار پذیری دارد. با توجه به نتایج، افزایش دمای تکلیس بر روی قدرت کاتالیزوری سریم اکسید تاثیر معکوس دارد که این امر با بیشتر بودن فضاهای خالی از اکسیژن در نانو ذرات تکلیس شده در دمای پایین تر مطابقت دارد که در بخش طیف فوتولومینسانس به آن پرداخته شد. جایگاه های خالی از اکسیژن سطح با به دام انداختن الکترون آزاد شده از باند هدایت به کاهش ترکیب الکترون-حفره کمک می کنند در نتیجه حفره های فعال با مولکول های رنگ واکنش داده و سریع تر آن ها را اکسید می کنند

[۳۷، ۸۷]. اگر نقص های اکسیژنی تراز های جذب در ناحیه مرئی داشته باشند این عامل باعث می شود ساختارهای الکترون-حفره بیشتری تولید شده و سرعت فرآیند فوتوکاتالیزوری را بهبود بخشد، اما در این مطالعه سریم اکسید هیچ گونه اثر فوتوکاتالیزوری در ناحیه مرئی از خود نشان نداد بنابراین نقص های اکسیژنی در این فرآیند در نقش محصور کننده ی الکترون هستند و حفره های فعال را افزایش می دهند. همچنین در بخش ۳-۱۰-۳-۱ گفته شد که نقش حفره ها در مکانیسم تخریب رنگ رودامین بی نسبت به رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن بیشتر است بنابراین با افزایش تعداد حفره ها که در پی افزایش نقص های اکسیژنی حاصل می شود سرعت فرآیند فوتوکاتالیزوری نیز افزایش می یابد.

سرعت واکنش فوتوکاتالیزوری بر اساس معادله ۳-۳ محاسبه گردید. شکل ۳-۲۲ a نمودار $\ln C/C_0$ نسبت به زمان را نشان می دهد و با توجه به خط راست بدست آمده برای تمام موارد می توان گفت سرعت واکنش شبه مرتبه اول است و CeO_2-400 با ثابت سرعت 0.12 min^{-1} دارای فعالیت کاتالیزوری بیشتری نسبت به CeO_2-500 و CeO_2-600 با ثابت سرعت بترتیب 0.07 min^{-1} و 0.06 min^{-1} می باشد. درصد تخریب رنگ پس از ۳ ساعت برای CeO_2-400 ، CeO_2-500 و CeO_2-600 در شکل ۳-۲۲ b نشان داده شده است. بر این اساس CeO_2-400 بیشترین فعالیت کاتالیزوری و بازدهی را از خود نشان داد.



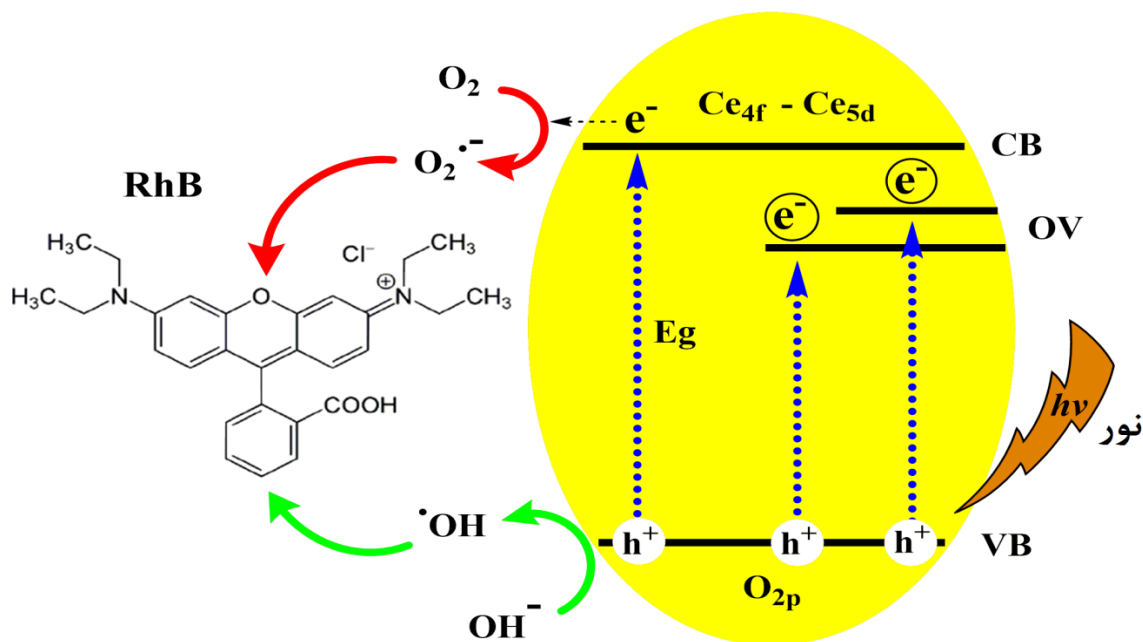
شکل ۳-۲۲: (a) نمودار $\ln C/C_0$ نسبت به زمان تابش نور برای CeO_2-400 ، CeO_2-500 و CeO_2-600 (b) بازده تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ پس از ۱۸۰ دقیقه برای تمام نمونه ها

بطور کلی واکنش هایی که در سطح کاتالیزور سریم اکسید می تواند اتفاق بیافتد در جدول ۳-۶ آورده شده است و مکانیسم کلی تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ رودامین بی با نانو ذرات سریم اکسید همراه با تابش نور UV-A در شکل ۳-۲۳ نشان داده شده است.

جدول ۳-۶: واکنش های اکسایش و کاهش در سطح کاتالیزور

واکنش	شرح فرآیند
$CeO_2 + h\nu \rightarrow e^- + h^+$	تحریک کاتالیزور با نور
$e^-_{CB} + h\nu \rightarrow e^-_{TR} \uparrow$	به دام افتادن الکترون در باند هدایت
$h\nu_{VB} \rightarrow h^+_{TR} \uparrow$	به دام افتادن حفره ها در باند ظرفیت
$e^-_{TR} + h\nu_{VB} (h^+_{TR}) \rightarrow e^-_{CB} + h$	ترکیب مجدد الکترون-حفره
$(O_2) + e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$	کاهش اکسیژن با الکترون های به دام افتاده در باند هدایت
$OH^- + h^+ \rightarrow \cdot OH$	اکسایش هیدروکسیل ها با حفرات باند ظرفیت
$R-H + \cdot OH \rightarrow R\cdot + H_2O$	تجزیه ترکیبات آلاینده با رادیکال های هیدروکسیل
$R + h^+ \rightarrow R^{\cdot +} \rightarrow$ محصولات میانی و نهایی	اکسایش مستقیم با حفرات
$O_2^{\cdot -} + \cdot OH \rightarrow \cdot OOH$	اضافه شدن اتم هیدروژن به یون سوپراکسید
$\cdot OOH + e^- \rightarrow HO_2^-$	واکنش دیگر الکترون e^-
$OOH^- + H^+ \rightarrow H_2O_2$	تشکیل هیدروژن پراکسید

¹ Trapped electron



$h^+ + \text{RhB} \longrightarrow$ محصولات حاصل از اکسایش

$\text{HO}^\bullet + \text{RhB} \longrightarrow$ محصولات حاصل از اکسایش

$\text{O}_2^{\bullet-} + \text{RhB} \longrightarrow$ محصولات حاصل از کاهش

VB= باند ظرفیت OV= فضای خالی اکسیژنی CB= باند هدایت Eg= شکاف انرژی

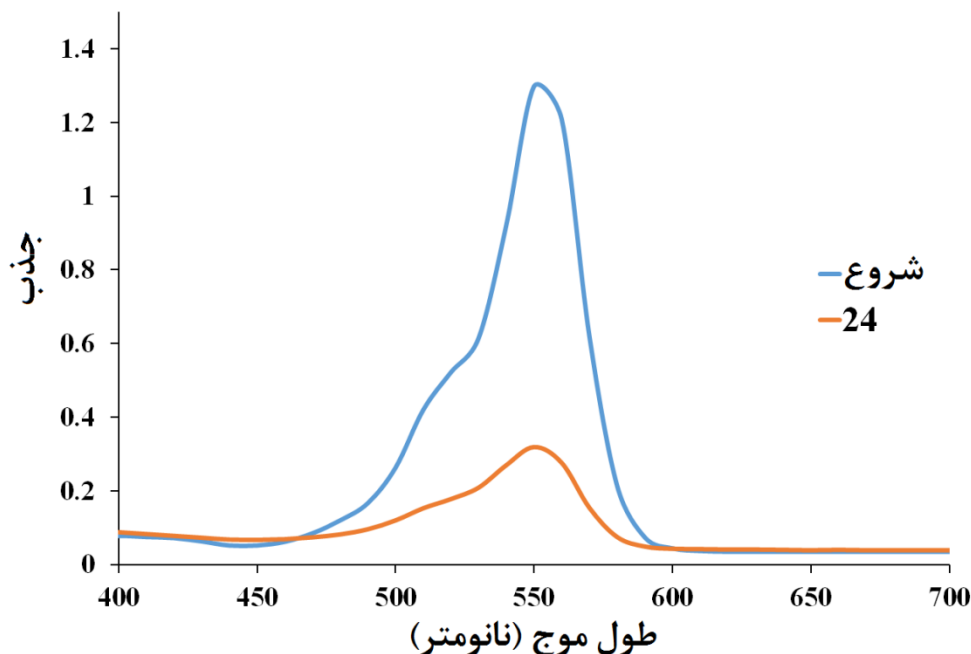
شکل ۳-۲۳: مکانیسم فوتوکاتالیزوری تخریب رنگ رودامین بی در حضور نانو ذرات سربیم اکسید تحت تابش نور UV-A

۳-۱۰-۳- تخریب رنگ رودامین بی با نانو ذرات سربیم اکسید سنتز شده

در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ

با توجه به توضیحات داده شده و اینکه مدت زمان سنتز تاثیر معنی داری بر روی کیفیت نانوذرات سنتز شده نداشت و به جهت شباهت شرایط سنتز از نظر مدت زمان با سنتز های دیگر، واکنش فوتوکاتالیزوری با نانو ذرات سربیم اکسید سنتز شده در مدت زمان ۶ ساعت ($\text{CeO}_2\text{-6h}$) انجام گردید. ابتدا مقدار ۲۰۰ میلی گرم از کاتالیزور به ۵۰ میلی لیتر محلول رودامین بی با غلظت ۸ ppm اضافه گردید و واکنش

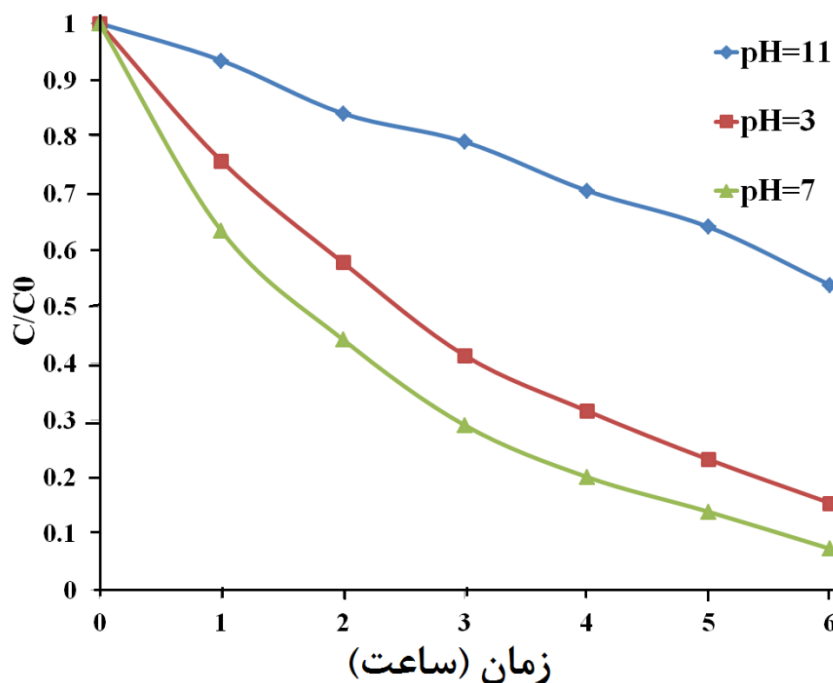
فوتوکاتالیزروی انجام گردید اما نتایج نشان داد سرعت این واکنش حتی نسبت به واکنش رنگ زدایی با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاهی دانه به کمتر بود (شکل ۳-۲۴).



شکل ۳-۲۴: تغییرات جذب محلول رنگی رودامین بی (۵۰ میلی لیتر با غلظت ۸ میلی گرم بر لیتر) در زمان های مختلف در حضور ۲۰۰ میلی گرم کاتالیزور سریم اکسید سنتز شده در عصاره دانه گیاه بارهنگ و نور فرابنفش

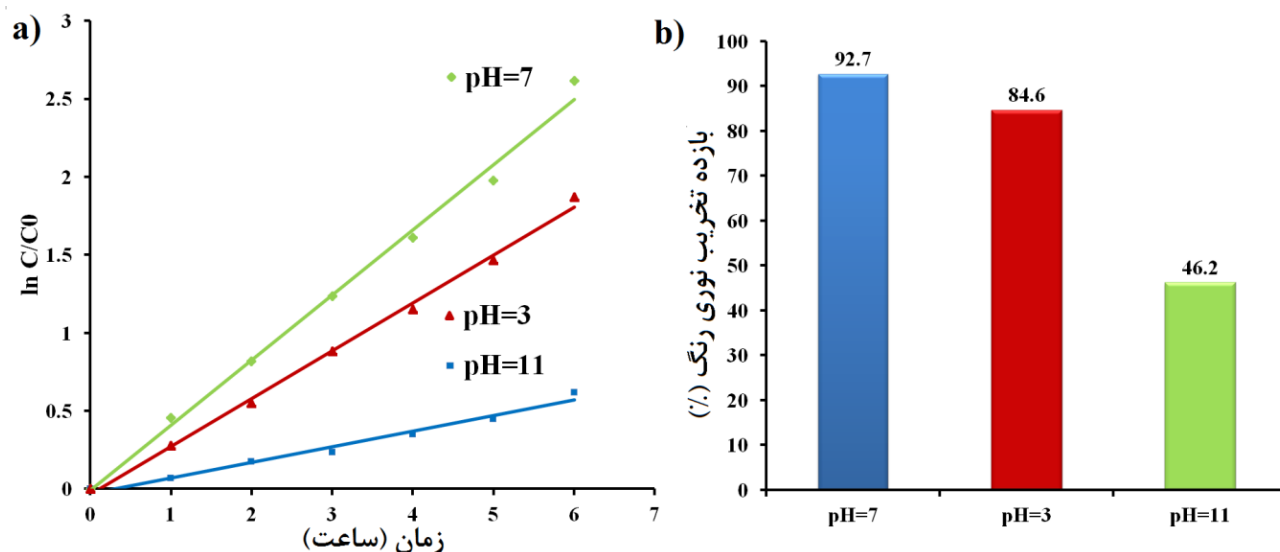
بنابراین شرایط مانند بخش ۳-۱۰-۲ تعیین گشت و مقدار ۱۰۰ میلی گرم از کاتالیزور به ۵۰ میلی لیتر محلول رودامین بی ۴ ppm اضافه گردید و به منظور بررسی اثر pH محیط بر روی قدرت تخریب رنگ، این واکنش در pH های ۳، ۷ و ۱۱ انجام پذیرفت. در این واکنش ها نیز مانند واکنش های قبل از لامپ فرابنفش ۱۱ وات برای ایجاد ساختار الکترون-حفره در سطح کاتالیزور استفاده گردید. pH محلول آبی می تواند نقش کلیدی بروی سرعت واکنش فوتوکاتالیزوری داشته باشد بدلیل اینکه pH بار سطحی کاتالیزور و مولکول های آلی را تحت تاثیر قرار می دهد و بر این اساس میزان جذب مولکول های رنگ بر روی سطح نانو ذرات تغییر می کند [۸۸]. شکل ۳-۲۵ بازده تخریب رنگ را برای محیط های اسیدی، خنثی و

بازی نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود بازده تخریب رنگ در محیط بازی بسیار کاهش می یابد و بهترین نتیجه در محیط خنثی نشان داده شد. با توجه به ساختار رودامین بی (شکل ۳-۲۳) در محیط های بازی قوی هیدروژن اسیدی گروه کربوکسیلیک اسید گرفته می شود که این امر باعث افزایش بار منفی ساختار گشته و با توجه به اینکه نانو ذرات سریم اکسید در این ناحیه بار سطحی منفی دارند این امر باعث دفعه بین این دو گشته و از جذب رنگ بر روی سطح کاتالیزور که یکی از عوامل تاثیر گذار در سرعت واکنش است می کاهد [۸۹، ۹۰]. در pH های پایین بار سطح نانو ذرات نیز مثبت شده و با توجه به مثبت بودن بار مولکول رودامین بی باز هم دفعه بین این دو موجب کاهش برهمکنش بین آن ها و کاهش بازدهی تخریب فوتوکاتالیزوری می شود [۸۹، ۹۰]، با این تفاوت که در محیط اسیدی میزان کاهش بازدهی به اندازه محیط بازی نبوده که این امر به ساختار رنگ و میزان بار سطحی کاتالیزور بستگی دارد.



شکل ۳-۲۵: مقایسه توانایی تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ رودامین بی (حجم ۵۰ میلی لیتر با غلظت ۴ میلی گرم بر لیتر) با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر دانه گیاه بارهنگ در pH های مختلف نسبت به زمان

سرعت واکنش فوتوکاتالیزوری بر اساس معادله ۳-۳ محاسبه گردید. شکل ۳-۲۶ نمودار $\ln C/C_0$ نسبت به زمان را نشان می دهد و با توجه به خط راست بدست آمده برای تمام موارد می توان گفت سرعت واکنش شبه مرتبه اول است و تخریب فوتوکاتالیزوری در محیط خنثی با ثابت سرعت 0.42 h^{-1} سریعتر از محیط اسیدی و بازی با ثابت های سرعت بترتیب 0.31 h^{-1} و 0.10 h^{-1} می باشد. شکل ۳-۲۶ بازدهی تخریب رنگ رودامین بی در مدت ۶ ساعت در pH های ۳، ۷ و ۱۱ را نشان می دهد که محیط خنثی با ۹۲ درصد بازدهی بهترین شرایط برای تخریب رنگ با نانو ذرات سریم اکسید است.



شکل ۳-۲۶: (a) نمودار $\ln C/C_0$ نسبت به زمان تابش نور در حضور نانو ذرات سریم اکسید در pH های مختلف (b) بازده تخریب فوتوکاتالیزوری رنگ پس از ۶ ساعت در pH های مختلف

۳-۱۰-۴- واکنش کاهش رنگ متیلن بلو با سدیم بور هیدرید در حضور

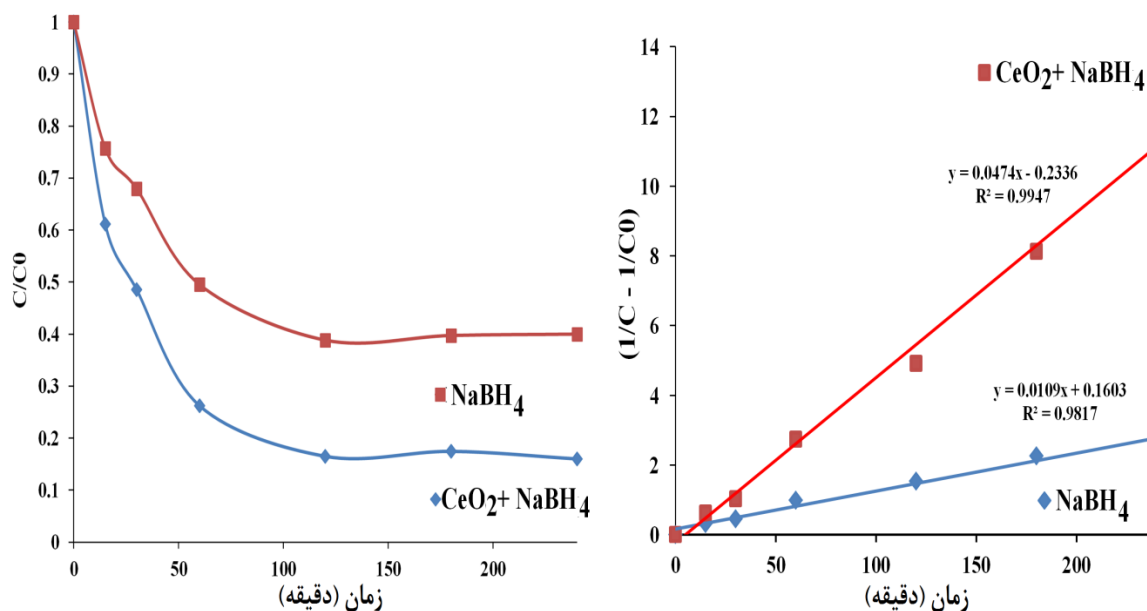
کاتالیزور سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه عروس انگشتی

۵۰ میلی لیتر رنگ متیلن بلو با غلظت ۸ ppm با و بدون حضور کاتالیزور سریم اکسید با سدیم بورو هیدرید کاهش یافت. همانطور که شکل ۳-۲۷ نشان می دهد کاتالیزور سرعت واکنش را تسریع می بخشد بطوریکه از زمان ۱۲۰ دقیقه به بعد در هر دو مورد غلظت رنگ تقریباً ثابت می ماند و حضور

کاتالیزور باعث افزایش حدود ۳۰ درصدی رنگبری می شود. برای بررسی سنتیک واکنش از معادله ۳-۴ استفاده شده است.

$$1/C - 1/C_0 = kt \quad \text{معادله ۳-۴}$$

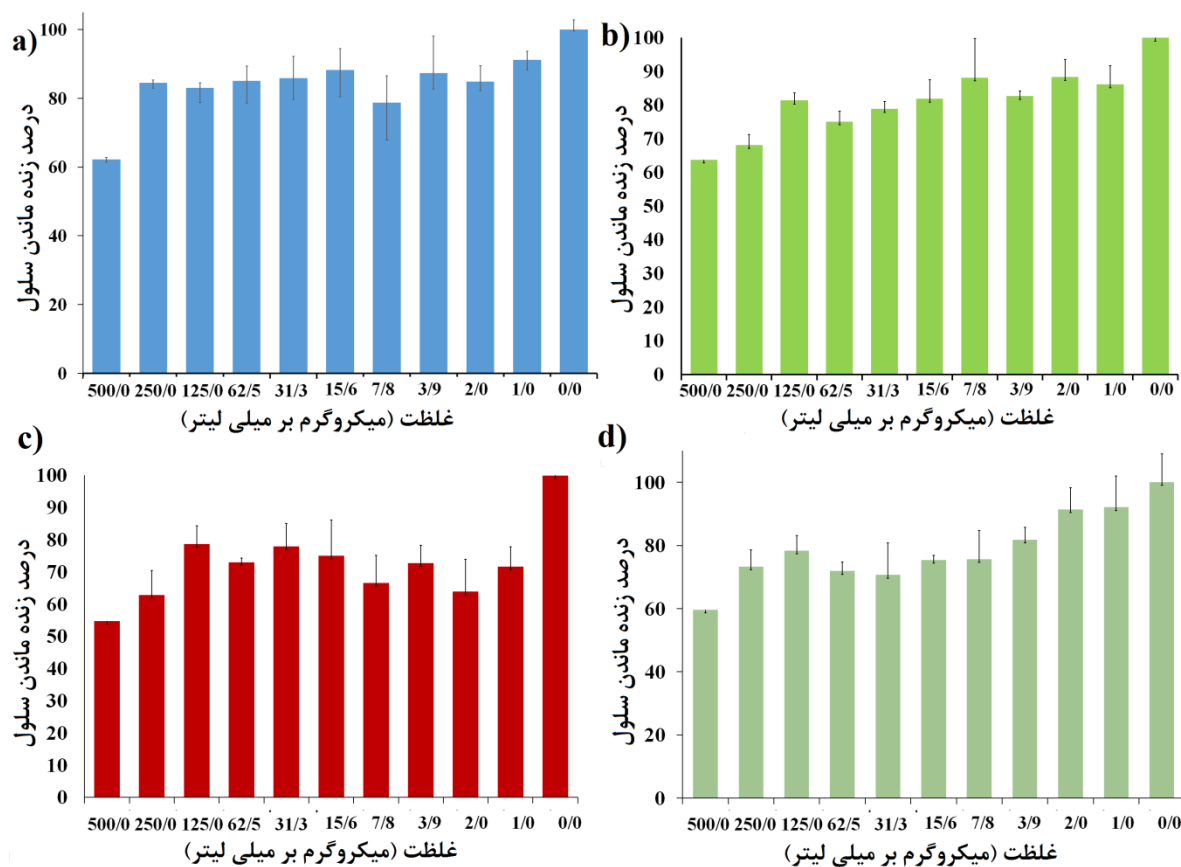
که در این معادله C_0 و C به ترتیب بیانگر غلظت در زمان t و زمان آغازین ($t=0$) می باشد و k ثابت سرعت می باشد. رسم نمودار $1/C - 1/C_0$ نسبت به زمان مطابق شکل ۳-۲۷ خط راست می دهد که بیانگر اینست که این واکنش از نوع مرتبه دوم می باشد و مقدار ثابت سرعت برای واکنش بدون کاتالیزور $0.1 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ و با کاتالیزور $0.5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ می باشد. دلیل افزایش سرعت واکنش، تسریع انتقال الکترون و تجزیه سدیم بور هیدرید در سطح کاتالیزور می باشد.



شکل ۳-۲۷: مقایسه قدرت کاهش رنگ متیلن بلو با سدیم بور هیدرید با و بدون حضور کاتالیزور نسبت به زمان و نمودار $1/C - 1/C_0$ نسبت به زمان واکنش

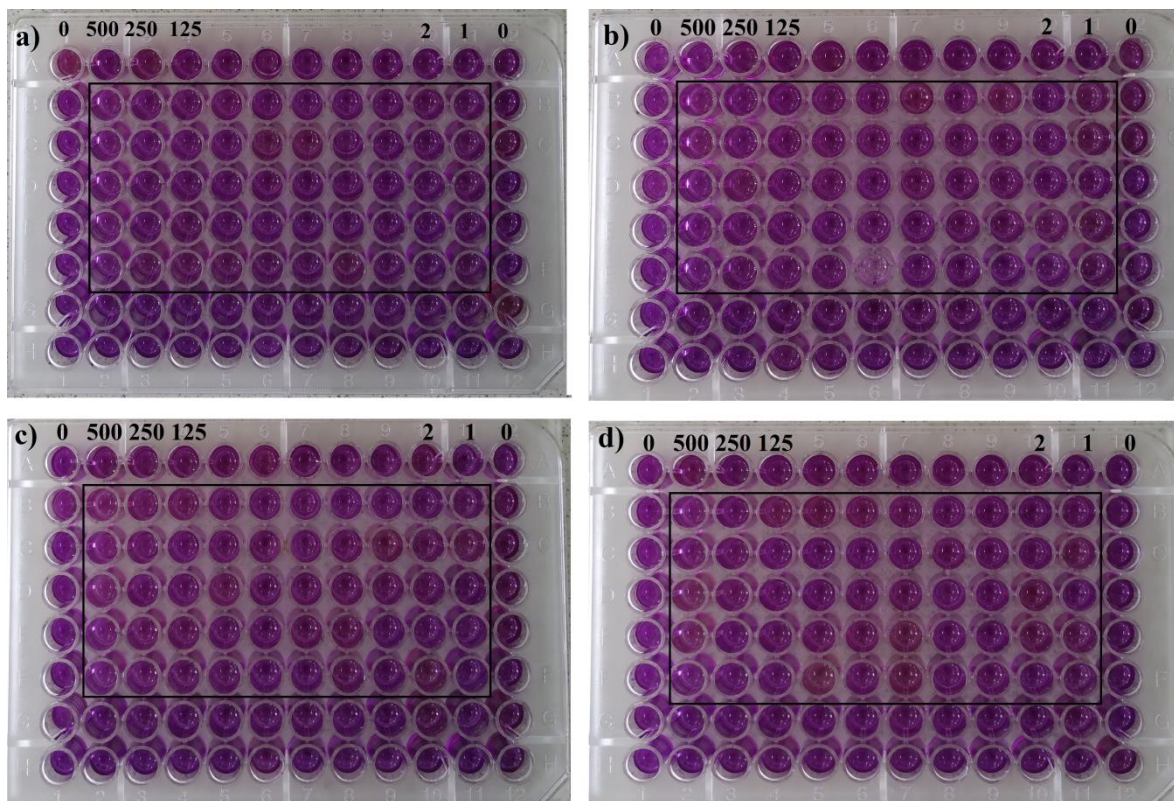
۳-۱۱- بررسی سمیت سلولی نانو ذرات سریم اکسید

آزمون MTT بر روی نمونه‌ای که دارای بهترین مشخصات فیزیکی و شیمیایی از هر یک از سنتزهای انجام شده در بستر عصاره های گیاهی بامیه (CeO_2-30)، دانه کتان (CeO_2-400)، دانه بارهنگ (CeO_2- 6h) و دانه به (CeO_2-400) بودند به منظور بررسی اثر سمیت آن ها بر روی سلول سرطانی ریه (A549) انجام گرفت. در تمام موارد سلول های آماده شده در بخش ۲-۵-۱ در ظرف های کشت ۹۶ چاهکی با نانو ذرات سریم اکسید ذکر شده که در آب مقطر با غلظت های ۲ تا ۵۰۰ میلی گرم در لیتر پراکنده گشته بودند مخلوط گشته و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور انکوبه گردیدند. شکل ۳-۲۸ درصد زنده ماندن سلول ها را نشان می دهد.



شکل ۳-۲۸: درصد زنده ماندن سلول A549 در تماس با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بسترهای عصاره های گیاهی (a) دانه به (b) دانه کتان (c) دانه بارهنگ (d) بامیه

همانطور که ملاحظه می شود در تمام نمونه ها با افزایش غلظت سریم اکسید میزان مرگ سلول ها افزایش می یابد اما در بالاترین غلظت باز هم میزان زنده ماندن سلول ها بالای ۵۰ درصد می باشد که بیانگر اینست که سریم اکسید های سنتز شده حتی در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر سمیت معنی داری نشان نداده اند. نتایج نشان می دهد سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاهی دانه کتان نسبت به موارد دیگر کمترین میزان سمیت را نشان داده در حالیکه سریم اکسید سنتز شده در بستر دانه گیاه بارهنگ سمیت بیشتری در تماس با سلول ها نشان می دهد. سمیت سلولی به عوامل مختلفی مانند روش سنتز، اندازه و شکل نانو ذرات و نوع سلول بستگی دارد [۹۱، ۹۲]. بطور مثال در یک مطالعه که نانو ذرات سریم اکسید به روش هسته زایی هموزن سنتز گردید اثر سمیت ($viability < 50\%$) بر روی رده سلولی A549 در غلظت های بالای ۲۳ میلی گرم بر لیتر گزارش گردید در حالی که میزان زنده ماندن سلول ها در تماس با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر های گیاهی این پژوهش در غلظت های پایین تر از ۱۲۵ میلی گرم بر لیتر از ۸۰ درصد بیشتر است که این نتیجه بسیار قابل توجه می باشد و بیانگر سمیت پایین این نانو ذرات و مناسب بودن استفاده آن ها در مطالعات بیولوژیکی می باشد. شکل ۳-۲۹ ظرف های کشت را پس از اضافه کردن ماده MTT برای تمام نمونه ها نشان می دهد. نتایج بررسی کیفی نیز نشان می دهد رنگ چاهک ها بنفش است که بیانگر میزان زنده ماندن بالای سلول هاست (هر چه رنگ بنفش کم رنگ تر باشد بیانگر کشندگی بالاتر سلول ها است). کادر مشکی رنگ شامل چاهک هایی است که نانو ذرات سریم اکسید با غلظت مشخص به آن اضافه گردیده و بقیه چاهک ها بعنوان گروه شاهد و بدون نانو ذره هستند.

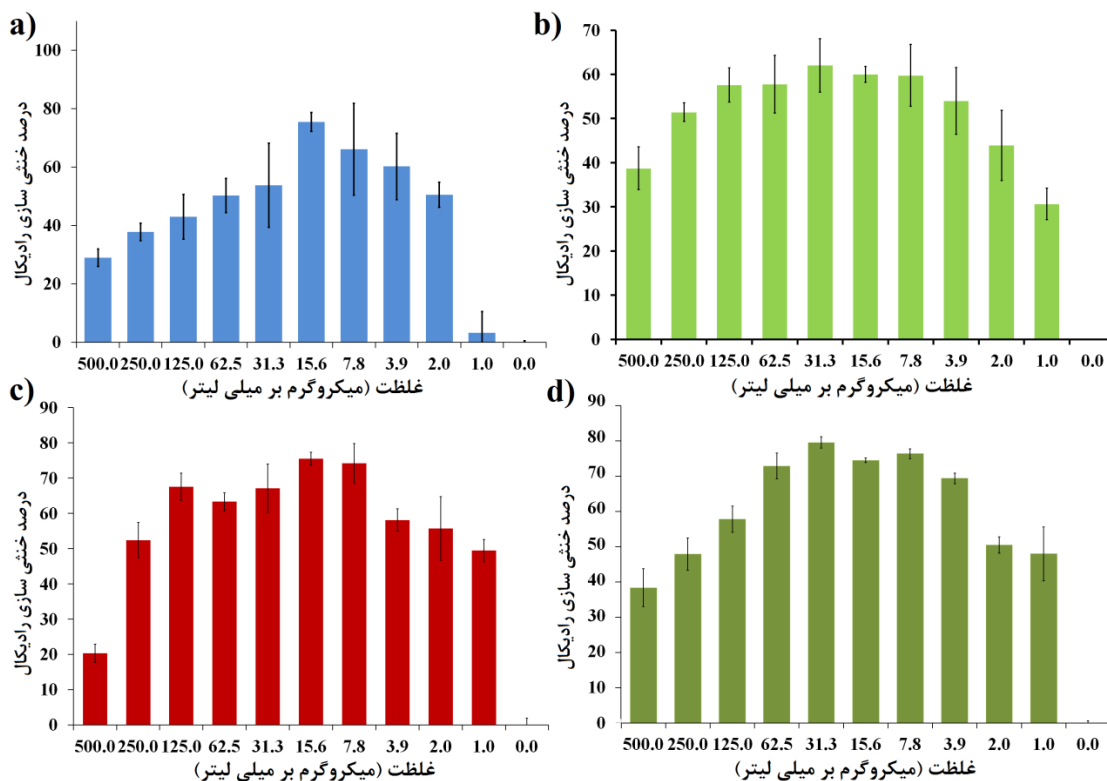


شکل ۳-۲۹: ظرف های کشت ۹۶ چاهکی پس از افزودن ماده MTT شامل سلول A549 و نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بسترهای عصاره های گیاهی (a) دانه به (b) دانه کتان (c) دانه بارهنگ (d) بامیه

۳-۱۲- بررسی اثر آنتی اکسیدانی نانو ذرات سریم اکسید

برای سنجش میزان خنثی سازی گونه اکسیژن واکنش پذیر (ROS) آزمون DCFDA/H₂ بر روی نمونه-ای که دارای بهترین مشخصات فیزیکی و شیمیایی از هر یک از سنتزهای انجام شده در بستر عصاره های گیاهی بامیه (CeO₂-30)، دانه کتان (CeO₂-400)، دانه بارهنگ (CeO₂-6h) و دانه به (CeO₂-400) بودند انجام شد. پس از افزودن ماده DCFDA/H₂ و انکوبه نمودن سلول ها، نشر ماده DCF تشکیل شده در ۵۳۰ نانومتر با دستگاه میکرو پللیت خوان قرائت گردید. شکل ۳-۳۰ میزان توانایی نانو ذرات سریم اکسید در خنثی سازی ROS حاصل از متابولیسم سلولی را نشان می دهد غلظت صفر بیانگر گروه شاهد که فاقد نانو ذره می باشد. همانطور که ملاحظه می شود تمام نمونه ها خاصیت آنتی اکسیدان خوبی نشان داده اند. نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاهی دانه کتان در غلظت های مختلف

خاصیت آنتی اکسیدان بهتری نسبت به سایر نمونه ها نشان داده اند. همانطور که ملاحظه می شود برای تمام نمونه ها خاصیت آنتی اکسیدان برای غلظت های میانی سریم اکسید (مقادیر بین ۱۵ تا ۶۰ میلی گرم در لیتر) بیشترین مقدار است زیرا همانطور که نتایج MTT نشان داد در غلظت های بالا سریم اکسید مقدراری سمیت دارد که خود باعث مرگ بیشتر سلول ها و افزایش میزان ROS می شود. از طرف دیگر غلظت بسیار پایین بدلیل تعداد ناچیز نانو ذرات، ظرفیت پائینی تری در خنثی سازی ROS دارند. همانطور که پیش تر گفته شد الکترون آزاد شده از تبدیل Ce^{3+} به Ce^{4+} ، گونه های ROS را کاهش داده و خنثی می کند [۹۳]. توانایی خنثی سازی بیشتر از ۶۰ درصد ROS تولید شده با نانو ذرات سریم اکسید در غلظت های میانی بیانگر خاصیت قوی آنتی اکسیدانی این نانو ذرات بوده و مطالعه بر روی تاثیر این نانو ذرات در کاهش عوارض مربوط به بیماری های التهابی پیشنهاد می گردد.



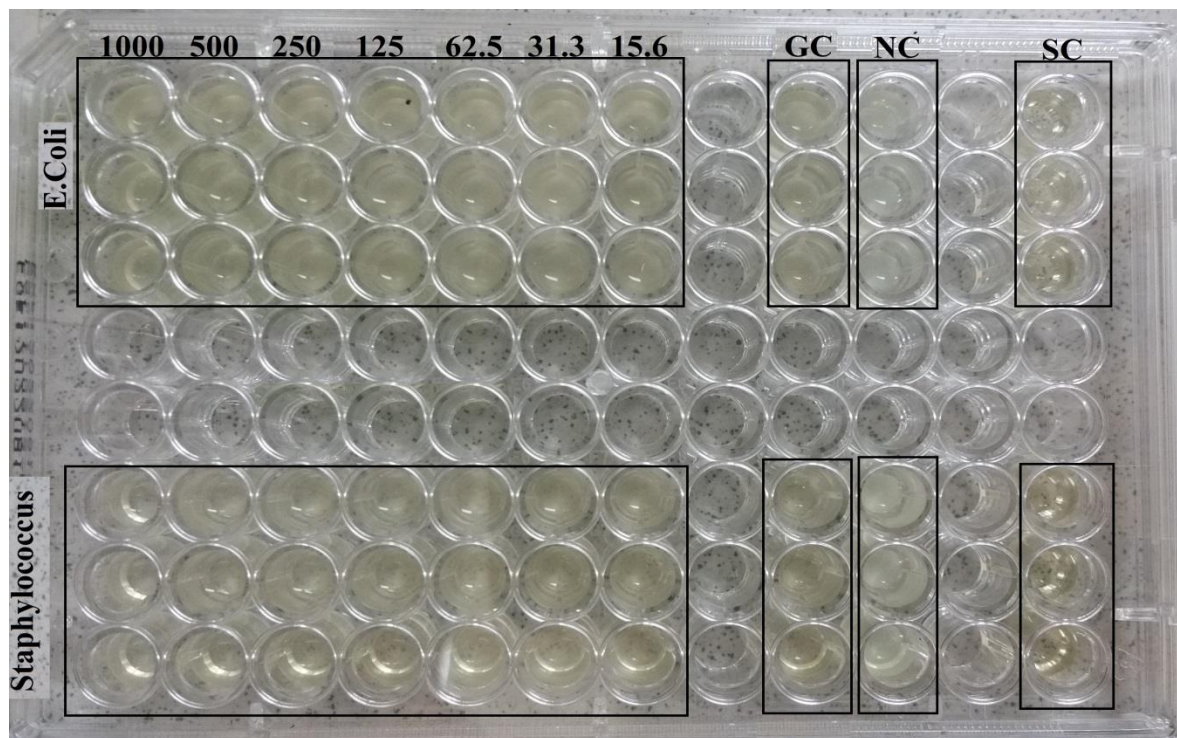
شکل ۳-۳: درصد خنثی سازی ROS حاصل از متابولیسم سلول های A549 با نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بسترهای عصاره های گیاهی (a) دانه په (b) دانه کتان (c) دانه بارهنگ (d) بامیه

۳-۱۳- بررسی اثر آنتی باکتریال نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در

بستر عصاره گیاهی بامیه

دو ظرف کشت حاوی نانو ذرات سریم اکسید (CeO_2-30) و باکتری های گرم منفی (اشرشیاکلائی) و گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس) مطابق توضیحات داده شده در فصل دوم (بخش ۲-۶) آماده گردید. غلظت نانو ذرات در داخل چاهک ها از محدوده ۱۰۰۰ تا ۱۵ میلی گرم بر لیتر بصورت رقیق سازی سریالی انجام شد. به منظور بررسی دقیق تر نتایج، چاهک هایی شامل باکتری و محیط کشت (گروه کنترل رشد باکتری (GC) به منظور اطمینان از قابلیت رشد باکتری)، نانو ذره و محیط کشت (گروه کنترل آلودگی نانو ذره (NC) به منظور اطمینان از اینکه نانو ذرات خود باعث آلودگی نشوند) و محیط کشت به تنهایی (گروه کنترل استریلیته محیط کشت (SC)) در ظرف کشت در نظر گرفته شدند. تمام نتایج بدست آمده به منظور حصول اطمینان از صحت آن ها سه مرتبه تکرار شدند. شکل ۳-۳۱ ظرف کشت ۹۶ چاهکی را که آزمون مذکور برای آن انجام گرفته است نشان می دهد.

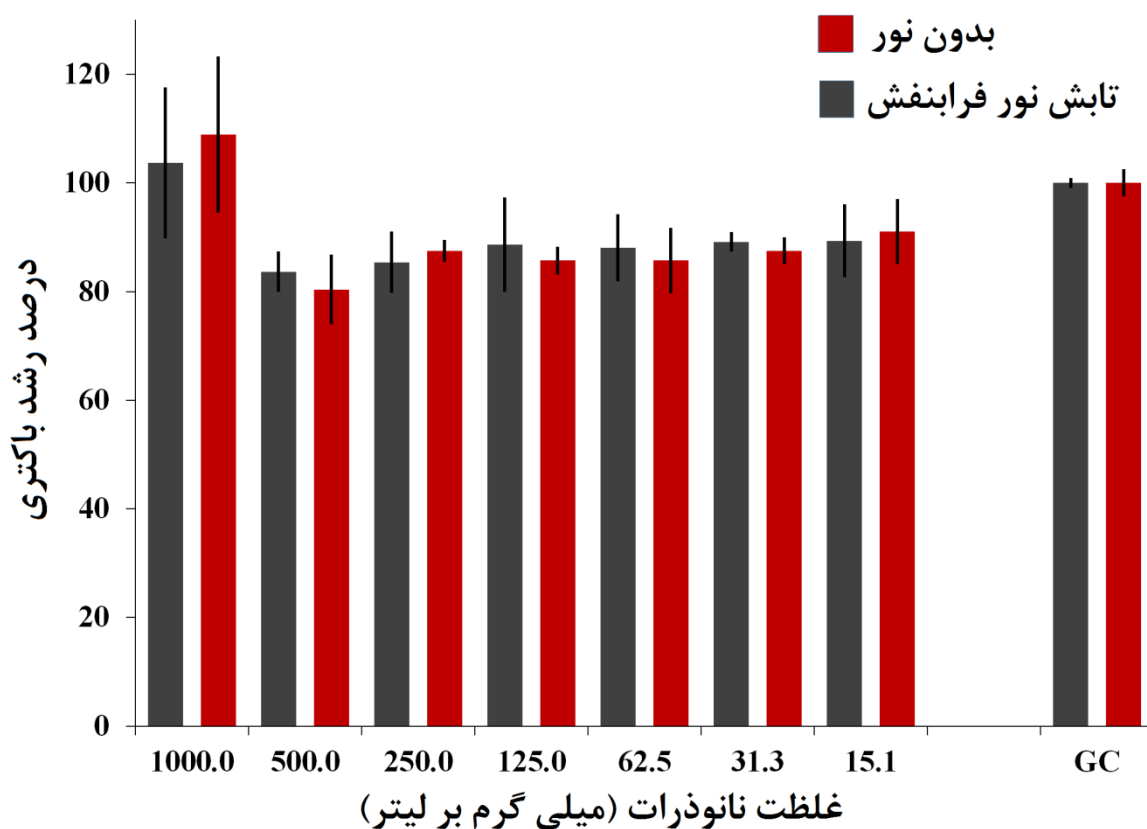
دو ظرف کشت با شرایط ذکر شده تهیه گردید و به منظور بررسی اینکه آیا تابش نور فرابنفش اثری بر روی قدرت آنتی باکتریال سریم اکسید دارد یا خیر، یک ظرف کشت در تاریکی و دیگری تحت تابش لامپ فرابنفش ۱۱ وات به مدت ۱۸ ساعت (مدت زمان لازم برای رشد باکتری) درون انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از مدت ۱۸ ساعت، جذب هر چاهک ظرف های کشت با پیلِت خوان در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. از آنجایی که میزان جذب خوانده شده، تابع میزان کدورت محلول داخل چاهک ها است (هر چه غلظت باکتری بیشتر باشد کدورت و میزان جذب بیشتر است) و خود محلول کلوییدی نانوذرات هم کدر است، برای بدست آوردن میزان دقیق کدورت ایجاد شده بوسیله باکتری در هر چاهک، جذب نانو ذرات با همان غلظت، بدون باکتری نیز گرفته شد و از جذب چاهک های شامل باکتری و نانو ذره کسر گردید.



شکل ۳-۳۱: ظرف کشت ۹۶ چاهکی شامل گروه کنترل باکتری GC، گروه کنترل نانوذرات NC، گروه کنترل محیط کشت SC و چاهک های حاوی باکتری و نانو ذرات سریم اکسید

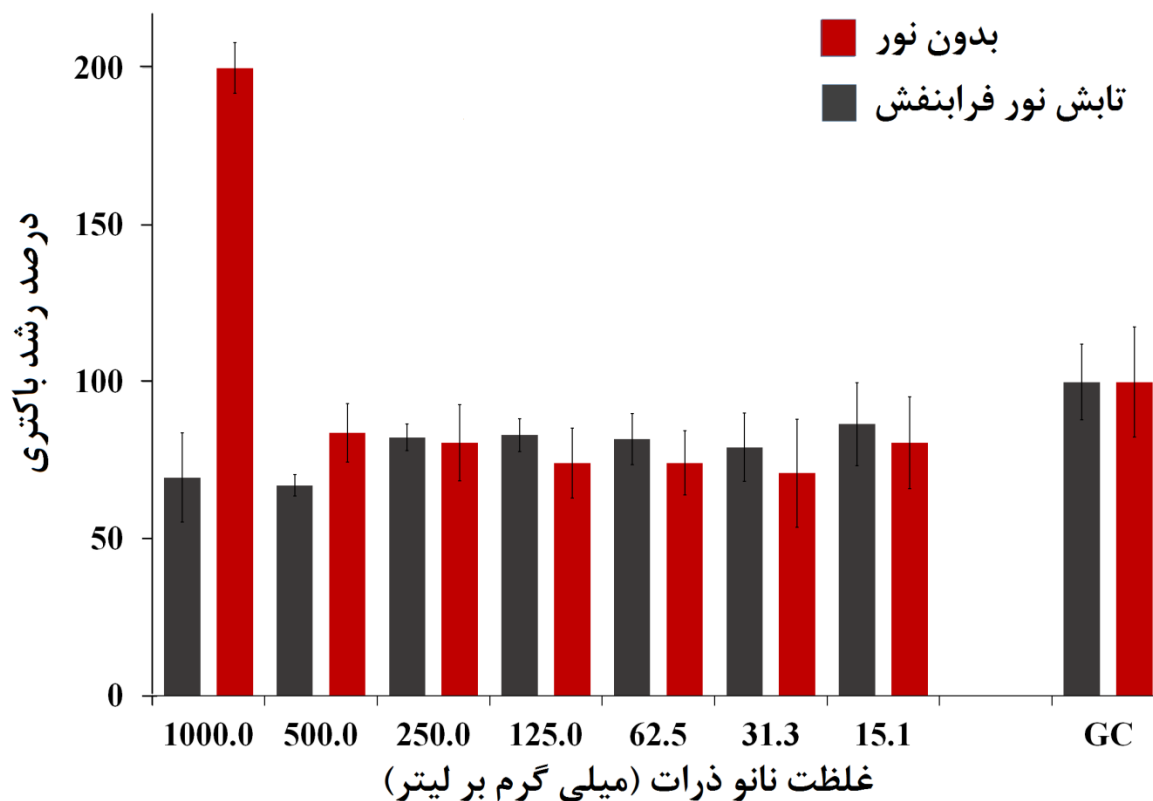
در شکل ۳-۳۲ میزان رشد باکتری اشرشیاکلای در چاهک های حاوی نانو ذرات سریم اکسید نسبت به گروه کنترل رشد باکتری (GC) در شرایط تابش نور و تاریکی بر حسب درصد بیان شده است. همانطور که مشاهده می شود تفاوتی در میزان رشد بین گروه کنترل رشد در تاریکی و شرایط با نور مشاهده نمی شود از این رو می توان اطمینان حاصل کرد که نور فرابنفش استفاده شده به تنهایی نقشی در این آزمون نداشته است. داده های مربوط به چاهک های حاوی نانو ذرات سریم اکسید (NC) و محیط کشت (SC) هیچ گونه رشد باکتری را نشان ندادند و چون مقدار آن ها صفر بود در نمودار آورده نشده اند. با توجه به شکل ۳-۳۲ در بازه غلظتی ۱۵ تا ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر از نانو ذرات در هر دو شرایط تاریکی و نور فرابنفش حدود ۱۵ درصد رشد باکتری کاهش داشته است. در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از نانو ذره رشد باکتری نسبت به گروه کنترل نیز مقداری بیشتر شده که می تواند بدلیل اثر آنتی اکسیدانی نانو ذرات باشد. بر اساس نتایج بدست آمده برای باکتری اشرشیاکلای نمی توان MIC در نظر گرفت چون در

هیچ غلظتی از نانو ذره باکتری ها بطور کامل از بین نرفته اند و در مورد باکتری اشرشیاکلای می توان گفت نانو ذرات سریم اکسید در شرایط با نور و بدون نور در غلظت های پایین تر از ۵۰۰ میلی گرم در لیتر حدود ۱۵ درصد در رشد باکتری اختلال ایجاد می کنند در حالی که غلظت های بالای این نانو ذرات بدلیل اثر آنتی اکسیدانی قوی به رشد باکتری نیز کمک می کنند.



شکل ۳-۳۲: میزان رشد باکتری اشرشیاکلای در محیط بدون نانو ذره (GC) و در تماس با غلظت های مختلف نانو ذرات در شرایط تاریکی و تابش نور UV-A

شکل ۳-۳۳: میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در چاهک های حاوی نانو ذرات سریم اکسید نسبت به گروه کنترل رشد باکتری فاقد نانوذره در شرایط تابش نور و تاریکی بر حسب درصد بیان شده است. در اینجا نیز همانطور که ملاحظه می شود نور فرابنفش تاثیری بر روی رشد باکتری نداشته است.



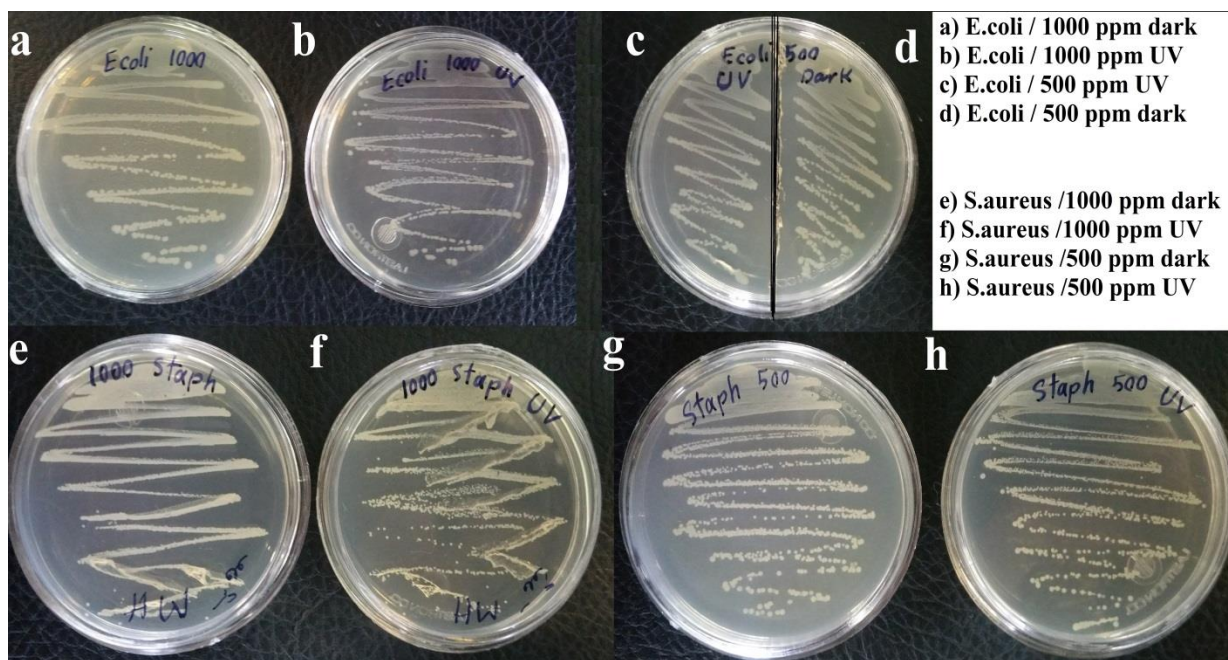
شکل ۳-۳: میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در محیط بدون نانو ذره (GC) و در تماس با غلظت های مختلف نانو ذرات در شرایط تاریکی و تابش نور UV-A

در بازه غلظتی ۱۵ تا ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر تفاوت کمی (حدود ۱۵ درصد) در رشد میان باکتری های بدون نانو ذره و مخلوط با نانو ذره وجود داشته و باکتری های حاوی نانو ذره کمتر رشد داشته اند. همچنین نور فرابنفش تاثیر معنی داری بین دو گروه در این بازه غلظتی نشان نمی دهد. در حالی که در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر باکتری های در معرض نور فرابنفش، به میزان ۱۷ درصد نسبت به آن هایی که در تاریکی قرار داشته اند کاهش رشد داشته اند که این اختلاف در مورد غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از نانو ذره بسیار زیاد است. در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس غلظت بالای نانو ذره در تاریکی مانند ایکلای باعث رشد نانو ذره می شود اما در اینجا میزان رشد باکتری دو برابر گروه کنترل می باشد در واقع سریم اکسید در بالاترین غلظت نقش بسزایی در رشد باکتری استافیلوکوکوس داشته که این امر بدلیل خاصیت بالای آنتی اکسیدانی این ماده است اما در شرایط نور فرابنفش این مکانیسم عکس شده و

نه تنها رشدی اتفاق نیافتاده است بلکه تا ۳۰ درصد رشد باکتری نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده است. بدین ترتیب می توان نتیجه گرفت نور فرابنفش در صورت حضور سریم اکسید در غلظت های بالای ۵۰۰ میلی گرم به میزان ۳۰ درصد در رشد باکتری اختلال ایجاد می کند. با توجه به مکانیسم های ارائه شده در فصل اول (مقدمه) و بدلیل اینکه این نانو ذرات خاصیت آنتی اکسیدانی خوبی نشان داده اند بنابراین دور از انتظار نیست که بصورت عادی از نظر آنتی باکتریال نتایج قابل توجهی نداشته باشند. افزون بر این که در غلظت بالا به رشد هر دو گونه باکتری در تاریکی کمک کرده اند. اما همانطور که گفته شد تابش نور فرابنفش به سطح نانو ذرات با ایجاد ساختارهای الکترون-حفره تولید ROS می کند که در رشد باکتری تداخل ایجاد می کند و این امر در مورد باکتری استافیلوکوکوس کاملا صدق می کند اما به هر حال نمی توان MIC برای آن تعیین کرد زیرا باکتری بطور کامل از بین نرفته و صرفا می توان گفت نور فرابنفش در غلظت بالای نانو ذرات نقش موثر در کشندگی باکتری ها با نانو ذرات سریم اکسید دارد. این بدان معنی است که چنانچه بتوان شرایط را بگونه ای کنترل کرد که خاصیت آنتی اکسیدانی کاهش یابد (نسبت سریم ۳+ به ۴+ کاهش یابد) ویژگی آنتی باکتریال نیز افزایش خواهد یافت. مطالعات انجام شده بر روی سریم اکسید بیشتر از روش انتشار دیسک است که نسبت به MIC مخصوصا برای نانو ذرات که محلول نیستند خطای بیشتری دارد و نتایج در برخی مطالعات نانو ذرات سریم اکسید را فاقد اثر آنتی باکتریال نشان داده است [۴۸]، همچنین برای نانو ذرات اکسید آهن (Fe_2O_3) که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی نیز هست مانند این مطالعه گزارش شده که نانو ذرات به رشد باکتری نیز کمک کرده اند [۹۴].

به منظور بررسی صحت نتایج بدست آمده از آزمون آنتی باکتریال، آزمون MBC انجام شد. بوسیله آنس از چاهک های هر دو ظرف کشت (شرایط تاریکی و با نور در غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم از نانو ذرات) کلونی باکتری برداشته شد و بر روی محیط کشت جامد کشت داده شد. شکل ۳-۳۴ ظرف های کشت حاوی باکتری های کشت داده شده پس از ۱۸ ساعت را نشان می دهد همانطور که مشاهده می شود

برای غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر از نانو ذرات اختلافی بین شرایط با نور و بدون نور در رشد هر دو نوع باکتری بر روی ظرف های کشت مشاهده نمی شود در صورتی که برای غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از نانو ذره، رشد باکتری استافیلوکوکوس که در تاریکی قرار داشت بیشتر از نمونه ی در معرض نور می باشد. که این امر نتایج حاصل از MIC را کاملا تایید می نماید.



شکل ۳-۳۴: ظرف های کشت باکتری برای آزمون MBC

۳-۱۴- نشان دار سازی نانوذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر

دانه گیاه کتان و بررسی توزیع زیستی آن در موش

بهترین نمونه از این سنتز از نظر مشخصات فیزیکی و شیمیایی (CeO_2 -400) که آزمون MTT و DCFDAH2 روی آن انجام شد جهت بررسی توزیع زیستی در بدن موش انتخاب گردید چرا که این نمونه از نظر خواص آنتی اکسیدانی و میزان سمیت در وضعیت مطلوبی قرار داشت. به علاوه پس از پراکنده شدن در آب مقطر، نانو ذرات کلوییدی سریم اکسید کمتر ته نشین شده و نسبت به نمونه های دیگر پایدار تر بودند. برای تعیین میزان سریم اکسید موجود در محلول کلوییدی پس از استفاده از پروب

فراصوت، محلول کلوییدی در داخل فالكون ساكن مانده تا ذرات درشت تر و ناپایدارتر ته نشین گردند (حدود ۳۰ دقیقه). سپس محلول کلوییدی رویی را آهسته برداشته و غلظت آن با آنالیز ICP برابر ۶۸۰ میلی گرم بر لیتر تعیین گردید که این محلول کلوییدی کاملاً پایدار بوده به گونه ای که تا مدت یک ماه ته نشین نگردید.

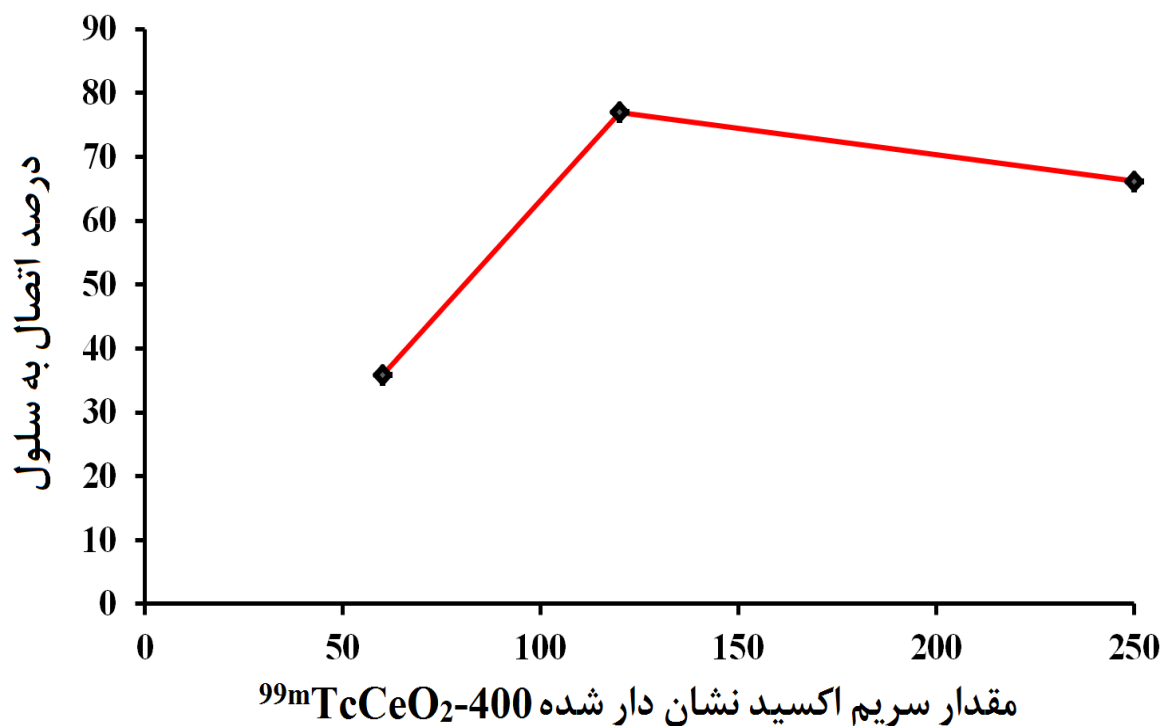
۳-۱۴-۱- تهیه و آزمون کنترل کیفیت (QC) نانوذرات نشان دار شده

سریم اکسید با تکنسیوم (^{99m}Tc)

نشان دار سازی نانو ذرات سریم اکسید با اضافه نمودن سدیم پرتکنیتات به نانو ذرات سریم اکسید ($\text{CeO}_2\text{-400}$) در حضور قلع (II) کلرید (عامل کاهنده) و انکوبه نمودن مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه انجام پذیرفت. آنالیز ITLC برای بررسی پایداری محصول نشان دار شده انجام گرفت. نتایج این آنالیز نشان داد که نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده در زمان های ۰، ۱، ۴ و ۲۴ ساعت پس از نشان دار سازی در محیط بافر فسفات (PBS) و سرم خون انسانی با خلوص رادیو شیمیایی بیشتر از ۹۵ درصد پایدار بودند. مقدار آنیون پرتکنیتات (TcO_4^-) آزاد در تمام زمان های ذکر شده کمتر از ۵ درصد بوده که دارای اهمیت نبوده و بازده نشان دار سازی رادیویی برای مطالعه درون تنی مناسب بود. اندازه ثانویه ذرات برای نانو ذرات سریم اکسید و سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم (پس از گذشت یک هفته بمنظور کاهش تشعشع رادیو اکتیو) با آنالیز پراکندگی نور دینامیکی (DLS) بترتیب ۱۷۱ ($PI=0.4$) و ۱۴۳ ($PI=0.2$) نانومتر تعیین گردید. همچنین پتانسیل زتا از $-27/6$ به $+28/1$ میلی ولت پس از نشان دار سازی تغییر نمود. که دلیل این امر کاهش عدد اکسایش تکنسیوم با قلع (II) کلرید از $+7$ در آنیون پرتکنیتات به $+4$ یا $+5$ در TcO_2 یا TcO_3^+ است [۶۸، ۹۵]. مقدار پتانسیل زتا برابر $+28/1$ نشان دهنده پایداری ذرات کلوییدی می باشد.

۳-۱۴-۲- مطالعه میزان اتصال سلولی

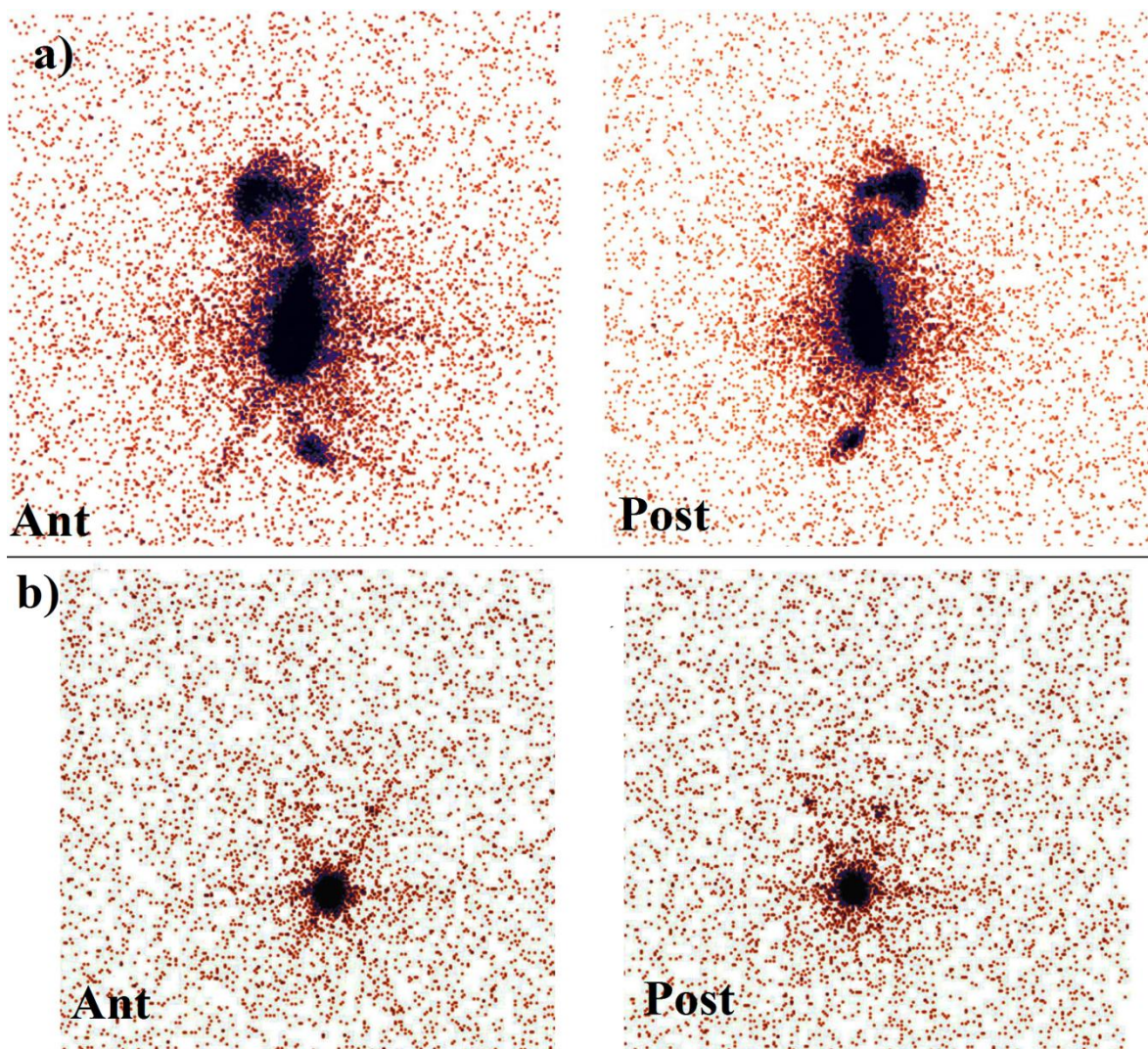
درصد اتصال نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده به سلول های A549 که در ظرف های کشت ۶ چاهکی با مقدار 10^6 سلول در هر چاهک کشت داده شده بودند، تعیین گردید. مقدار پراکند شده نانو ذرات نشان دار شده در هر چاهک برابر $62/5$ ، 125 و 250 میلی گرم بر لیتر بود که نانو ذرات در مقدار 125 میلی گرم بر لیتر بیشترین اتصال را به سلول ها داشتند (شکل ۳-۳۵). اتصال کم به سلول ها در غلظت $62/5$ میلی گرم بر لیتر بدلیل کمتر بودن تعداد ذرات در محیط بوده و از طرف دیگر غلظت 250 میلی گرم بر لیتر بدلیل داشتن سمیت بیشتر نسبت به 125 میلی گرم بر لیتر می تواند دلیل میزان اتصال کمتر نانو ذرات به سلول ها باشد.



شکل ۳-۳۵: میزان اتصال نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم در غلظت های مختلف به سلول های A549

۳-۱۴-۳- توزیع زیستی درون تنی نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم

توزیع زیستی نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم در موش ها در بازه های زمانی ۱، ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق داخل رگی آن ها بررسی گردید و تصاویر دوبعدی خلفی^۱ و قدامی^۲ در زمان ۶ و ۲۴ ساعت پس از تزریق ثبت گردید (شکل ۳-۳۶).



شکل ۳-۳۶: تصویر دوبعدی قدامی و خلفی از موش (a) ۶ ساعت (b) ۲۴ ساعت پس از تزریق $^{99m}\text{Tc}-\text{CeO}_2-400$

^۱ Posterior

^۲ Anterior

همانطور که در شکل ۳-۳۶a نشان داده شده است نانو ذرات نشان دار شده در ناحیه حفره شکمی و دم تجمع یافته اند. تجمع این نانو ذرات در ناحیه دم بدلیل تزریق از این ناحیه می باشد و این احتمال وجود دارد که مقداری از محتوای تزریقی از رگ پس زده شود و در فضای دم باقی بماند. همچنین حرکت نانو ذرات از سمت دم به داخل حفره شکمی در عکس ها کاملا مشهود می باشد. ۲۴ ساعت پس از تزریق باقی مانده تشعشع ماده رادیو اکتیو از دم و کلیه ها مشاهده می شود (شکل ۳-۳۶b).

به منظور تعیین درصد دوز تزریقی بر گرم ($\%ID/g$) در بافت های مختلف بدن موش، شمارش رادیو ایزوتوپی هر بافت همراه با وزن آن سپس $\%ID/g$ در تمام زمان های ذکر شده محاسبه گردید (جدول ۳-۷). همانطور که مشاهده می شود بیشترین میزان تجمع نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده در کلیه ($\%ID/g$ 0.77 ± 0.94 ، $1\ h$: $\%ID/g$ 1.095 ± 0.99 ، $4\ h$: $\%ID/g$ 0.36 ± 0.94 ، $24\ h$: $\%ID/g$ 0.34 ± 0.2) و مقداری کمتر از آن ($\%ID/g$ 0.63 ± 0.2 ، $1\ h$: $\%ID/g$ 0.23 ± 0.94 ، $4\ h$: $\%ID/g$ 0.34 ± 0.2 ، $24\ h$: $\%ID/g$ 0.34 ± 0.2) در کبد می باشد. جذب ناچیز در معده و تیروئید بیانگر پایداری خوب نانو ذرات نشان دار شده در محیط درون بدن می باشد بدلیل اینکه این دو بافت محل تجمع تکنسیوم آزاد هستند [۹۶]. محل تجمع نانو ذرات در بافت های مختلف بدن به برخی موارد از قبیل اندازه ذرات، شکل، گروه های عاملی و شرایط سنتز بستگی دارد. مطالعه ای که اخیرا بر روی توزیع زیستی نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر کیتوزان به روش سل ژل در محیط بدن انجام شد، نشان داد که این نانو ذرات در کبد و ریه ها تجمع یافتند [۹۷]. اگرچه در این مطالعه میزان اتصال به سلول های کبد در زمان ۴ ساعت کم ($\%ID/g$ 0.94) بوده است که این امر نشان دهنده مسیر متابولیسمی جایگزین برای نانو ذرات سریم اکسید می باشد.

جدول ۳-۷: توزیع زیستی نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر دانه گیاه کتان در بافت های مختلف بدن موش در زمان های مختلف پس از تزریق نانو ذرات سریم اکسید نشان دار شده با تکنسیوم

اندام	%ID/g		
	1 h	4 h	24 h
عضله	0/11 ± 0/01	0/20 ± 0/04	0/02 ± 0/00
معه	0/48 ± 0/02	0/45 ± 0/31	0/16 ± 0/07
روده	0/52 ± 0/15	0/54 ± 0/22	0/13 ± 0/01
قلب	0/27 ± 0/01	0/24 ± 0/14	0/05 ± 0/01
ریه	0/38 ± 0/03	0/39 ± 0/23	0/10 ± 0/01
خون	0/48 ± 0/01	0/27 ± 0/19	0/07 ± 0/00
طحال	0/27 ± 0/08	0/31 ± 0/12	0/16 ± 0/08
کلیه	5/94 ± 0/77	10/95 ± 5/99	7/94 ± 0/36
کبد	0/63 ± 0/02	0/94 ± 0/23	0/34 ± 0/20
مغز	0/17 ± 0/11	0/10 ± 0/03	0/01 ± 0/00
تیروئید	0/28 ± 0/04	0/27 ± 0/14	0/04 ± 0/01

مقادیر داده شده میانگین دوز تزریق شده بر وزن بافت است (%ID/g ± SD)، n=3

۳-۱۵- نتیجه گیری

در این پژوهش سنتزهای سبز نانو ذرات سریم اکسید در بستر عصاره های گیاهی جدید انجام گردیدند. همانطور که اشاره شد این عصاره ها حاوی مولکول های آلی هستند که نقش احاطه کننده داشته و از تجمع ذرات جلوگیری می کنند. تمام نمونه های سریم اکسید سنتز شده دارای اندازه های زیر ۳۰ نانومتر بودند که نشان دهنده قابلیت احاطه کنندگی مناسب این بسترها می باشد. نانو ذرات سنتز شده از نظر شکل تقریبا مشابه بودند اما بسترهای متفاوت تاثیر معنی داری بر روی اندازه و ویژگی های فیزیکی و شیمیایی نانو ذرات داشتند. اندازه ذرات در این سنتزها با افزایش دمای تکلیس افزایش یافت، همچنین نتایج نشان داد نسبت بهینه عصاره به پیش ماده سریم نیترات نقش موثری در تعیین اندازه ذرات و ویژگی های نوری آن ها دارد، در حالیکه مدت زمان سنتز نقش معنی داری بر روی کیفیت نانو ذرات سنتز شده نداشت. با توجه به اینکه از بسترهای طبیعی در این سنتز استفاده گردید تمام نانو ذرات سنتز

شده در تماس با سلول های A549 دارای سمیت سلولی پایینی بودند که این امر بیانگر مناسب بودن بکارگیری آن ها در مطالعه های بیولوژیکی می باشد. نانو ذرات سنتز شده توانستند گونه های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) حاصل از متابولیسم سلول های A549 را بطور قابل ملاحظه ای کاهش دهند که بیانگر ویژگی آنتی اکسیدانی خوب نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده بوده و همانطور که مشاهده گردید نانو ذرات سنتز شده در بسترهای مختلف ویژگی آنتی اکسیدانی متفاوتی داشتند که این امر بدلیل تفاوت در اندازه ذرات، ویژگی نوری آن ها و یکنواخت بودن ذرات می باشد. همچنین تفاوت در نوع مولکول های احاطه کننده بستر های گیاهی استفاده شده می تواند نسبت سریم $+3$ به $+4$ در ساختار سریم اکسید را تحت تاثیر قرار دهد که این امر نیز نقش بسزایی در خاصیت آنتی اکسیدان این نانو ذرات دارد. از نانو ذرات سریم اکسید برای تخریب رنگ رودامین بی در حضور نور فرابنفش با انرژی پایین ۱۱ وات استفاده گردید و سریم اکسید توانست رنگ را بطور کامل تخریب نماید. واکنش های فوتوکاتالیزوری نشان دادند مقدار کاتالیزور و اندازه ذرات نقش بسزایی در سرعت تخریب رنگ دارند چرا که نانو ذرات سنتز شده در بسترهای متفاوت، فعالیت کاتالیزوری متفاوتی را نشان دادند. همچنین نتایج بررسی مکانیسم نشان داد واکنش فوتوکاتالیزوری تخریب رنگ رودامین بی با نانو ذرات سریم اکسید بیشتر از طریق تشکیل حفره ها (h^+) انجام می گیرد. به علاوه تولید نانو ذرات در دمای تکلیس پایین تر بدلیل وجود نقص های اکسیژنی بیشتر در ساختار از ترکیب مجدد الکترون-حفره جلوگیری کرده و با افزایش تعداد حفره های فعال سرعت واکنش فوتوکاتالیزوری را افزایش می دهند. نانو ذرات در محیط خنثی فعالیت فوتوکاتالیزوری بیشتری نسبت به محیط اسیدی و بازی نشان دادند که این امر بدلیل تغییر بار سطحی کاتالیزور و مولکول های آلی رنگ در محیط بازی و اسیدی است که باعث می شود جذب رنگ بر روی سطح کاتالیزور بدلیل همنام بودن بار سطحی آن ها کاهش یابد. در این پژوهش ویژگی آنتی باکتریال نانو ذرات سریم اکسید نیز بررسی گردید و مشاهده شد این نانو ذرات بدلیل سمیت پایین و اثر آنتی اکسیدانی

مناسب، ویژگی کشندگی معنی داری در آزمون آنتی باکتریال نشان ندارند بلکه در مقادیر زیاد از نانو ذرات باعث رشد باکتری نیز شدند، اما زمانی که نور فرابنفش به آن ها تابیده شد بدلیل ایجاد ساختار الکترون-حفره و تولید مواد ROS توانستند حدود ۳۰ درصد از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری کنند. در حالی که در عدم حضور نور باعث رشد دو برابری این باکتری نسبت به گروه کنترل شده بودند. به منظور بررسی توزیع زیستی نانو ذرات سریم اکسید در بدن موش این نانو ذرات با تکنسیوم رادیواکتیو (^{99m}Tc) نشان دار گردیدند. نتایج نشان داد که بازده واکنش نشان دار سازی بالای ۹۵ درصد است و این نانو ذرات نشان دار شده در محیط برون تنی و درون تنی پایداری مناسبی داشتند. نتایج حاصل از آنالیزها و عکس برداری ها نشان داد نانو ذرات سریم اکسید بیشتر در ناحیه کلیه و مقداری در کبد موش تجمع پیدا می کنند که این نتیجه می تواند نوید بخش استفاده از این نانو ذرات در مطالعات بیولوژیکی آینده باشد.

۳-۱۶- پیشنهادها

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش موارد زیر جهت مطالعات آینده پیشنهاد می گردد:

(۱) بررسی و یافتن عصاره های گیاهی جدید دارای خصلت موسیلاژ برای سنتز نانو ذرات سریم

اکسید

(۲) بررسی عواملی که می توانند بر نسبت سریم ۳+ به ۴+ در ساختار سریم اکسید تاثیر گذارند

مانند دما و عامل احاطه کننده

(۳) کوپل نمودن سریم اکسید با آهن، سلنیوم، نقره و روی به منظور بهبود ویژگی

فوتوکاتالیزوری این ماده

۴) بکار بردن اکسید های فلزی که ویژگی فوتوکاتالیزوری برتری نسبت به سریم اکسید دارند به

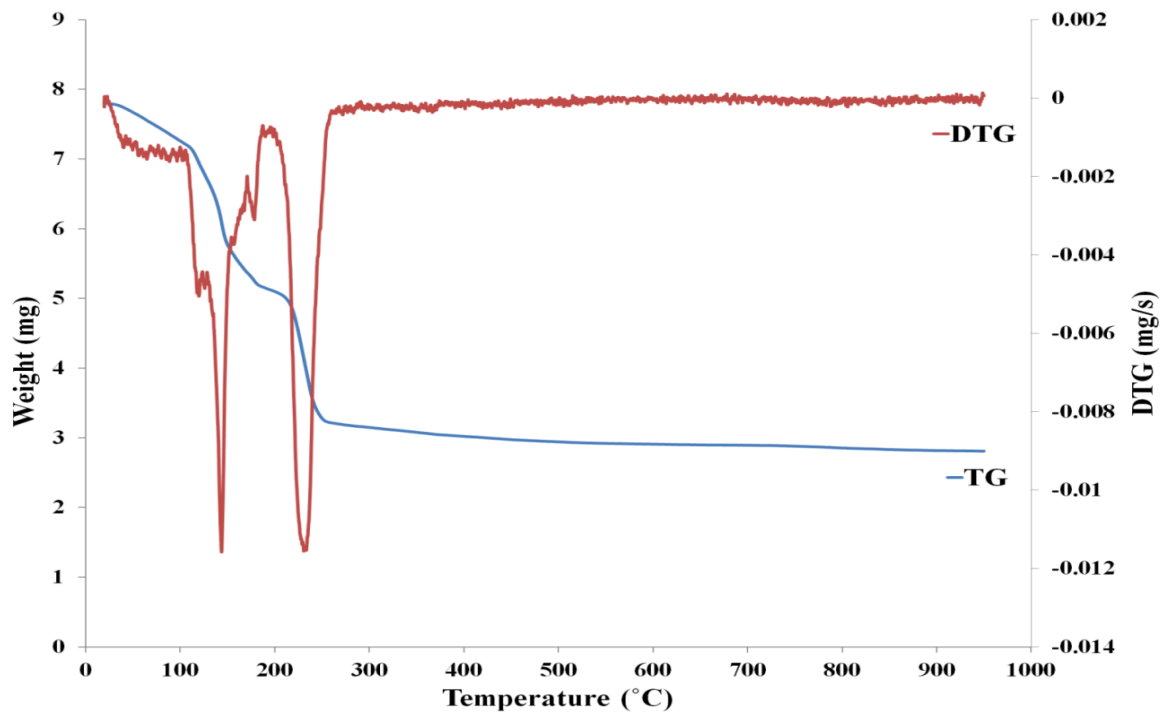
منظور بررسی اثر آنتی باکتریال آن ها در شرایط تابش نور

۵) بررسی و انجام آزمایش های تکمیلی در توزیع زیستی این نانو ذرات و بکار گیری آن ها

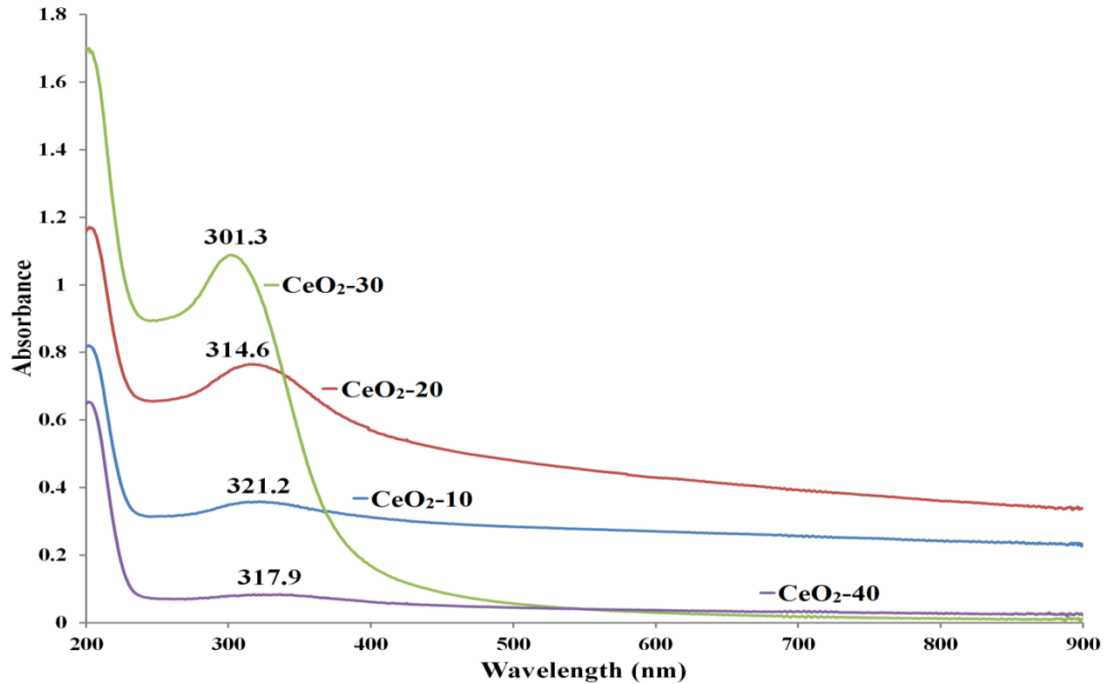
بعنوان حامل داروهای ضد سرطان یا جهت اقدامات تشخیصی. همچنین با توجه به ویژگی

آنتی اکسیدان این نانو ذرات می توان از این ماده در بیماری های التهابی استفاده نمود

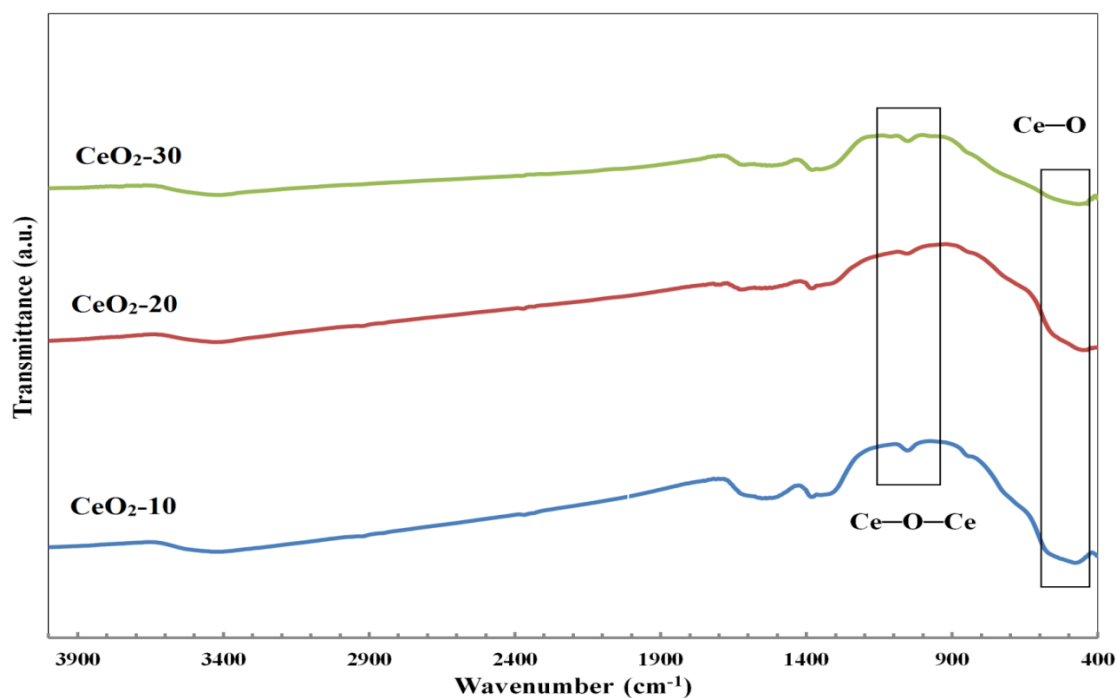
پوست



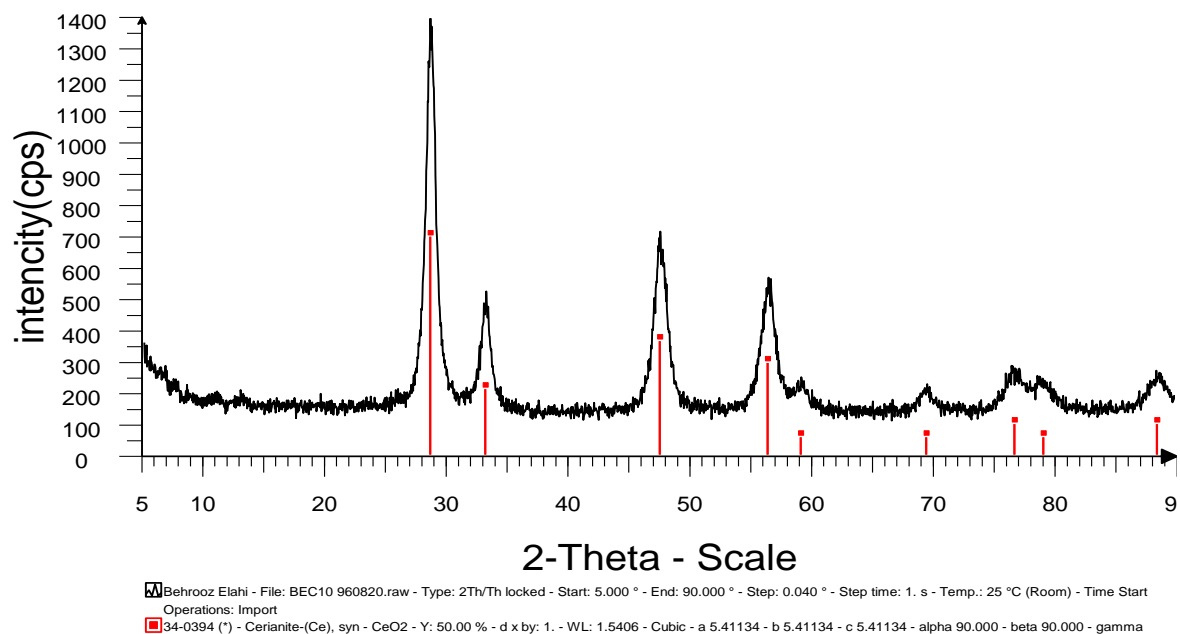
شکل ۱: نمودار TGA/DTG سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای



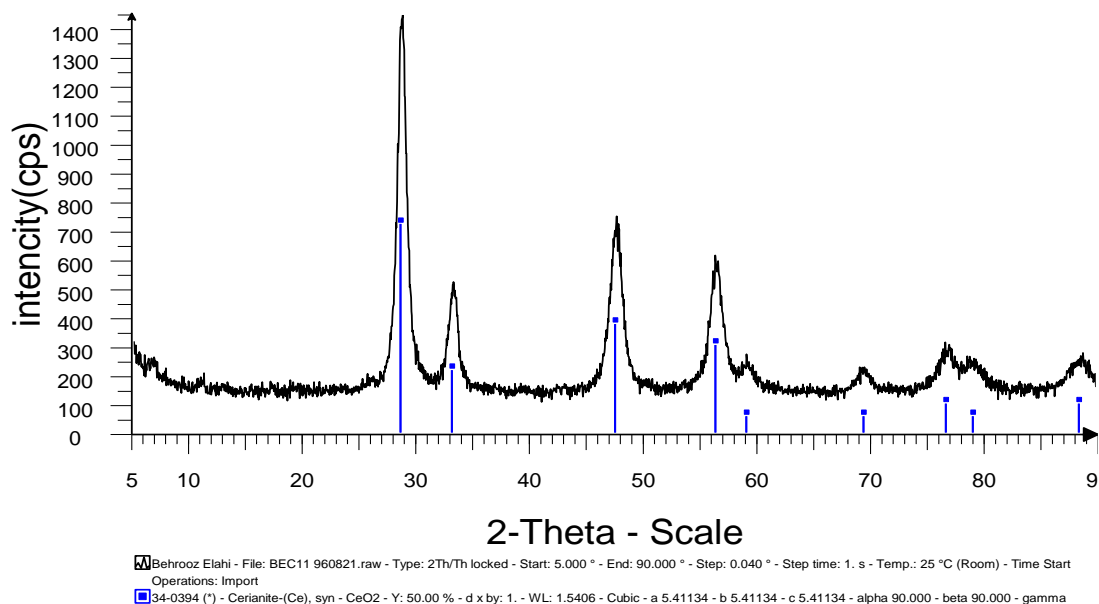
شکل ۲: طیف فرابنفش-مرئی نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای



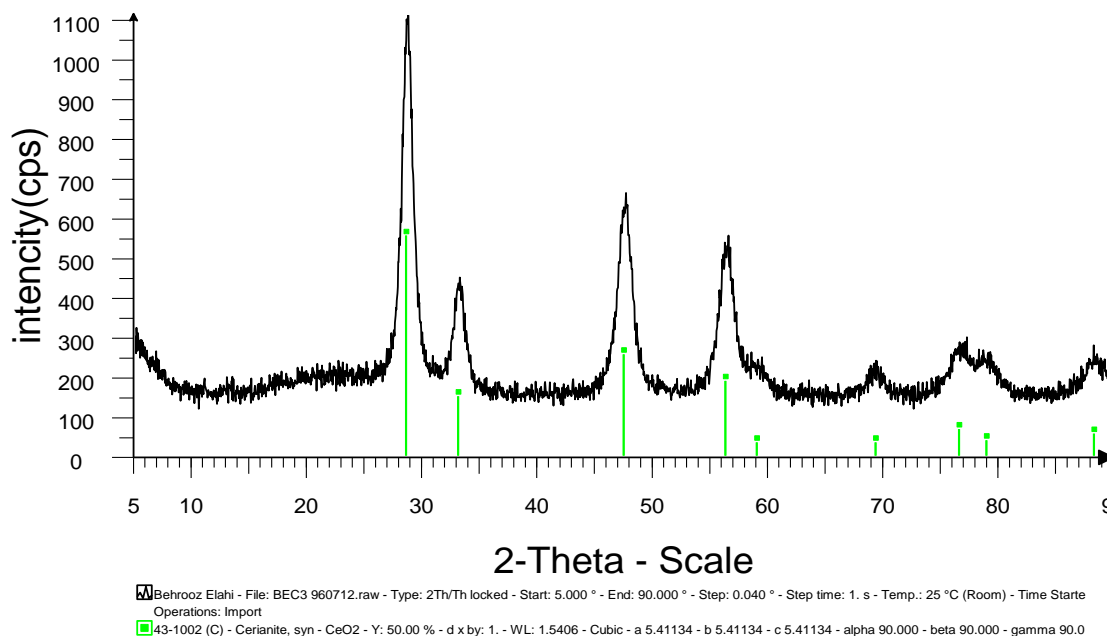
شکل ۳: طیف مادون قرمز نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای



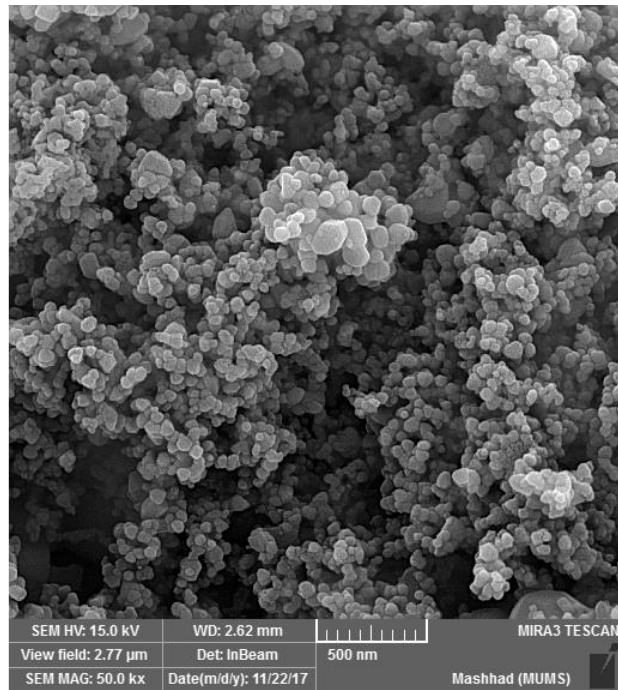
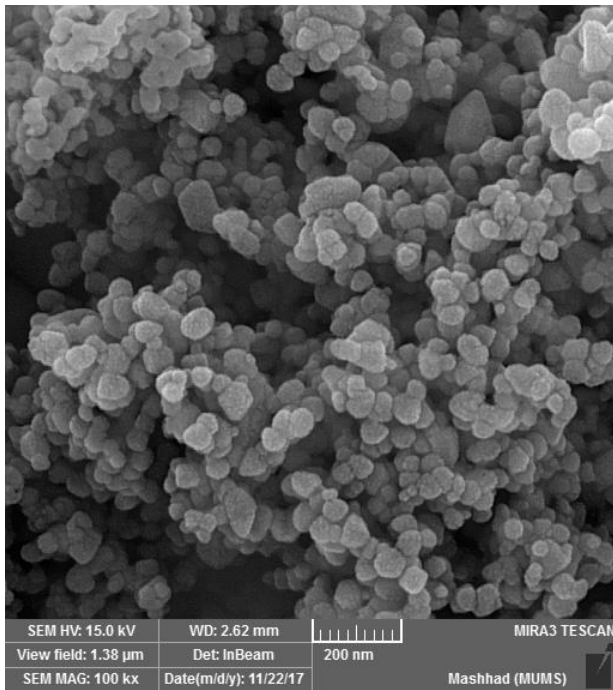
شکل ۴: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۱۰ میلی لیتر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای (CeO₂-10)



شکل ۵: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۲۰ میلی لیتر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای (CeO₂-20)

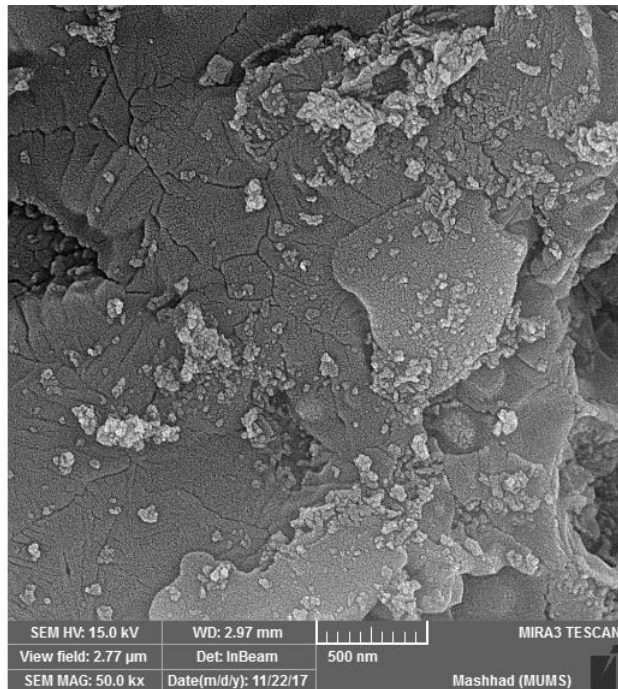
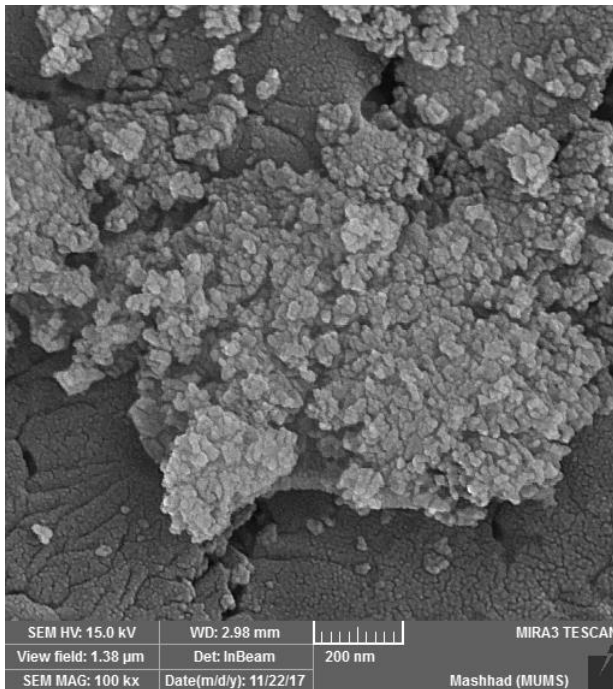


شکل ۶: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۳۰ میلی لیتر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای (CeO₂-30)



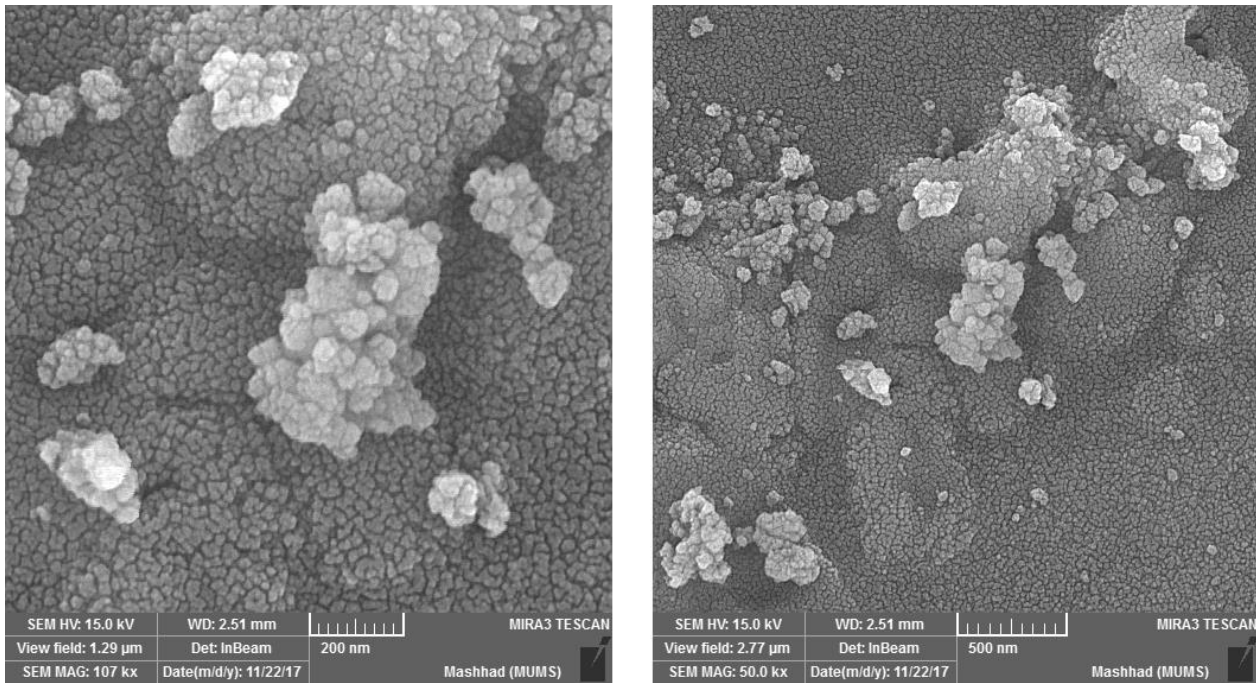
شکل ۷: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۱۰ میلی لیتر عصاره دانه گیاه مریم گلی

لوله ای (CeO₂-10) زوم ۱۰۰ و ۵۰

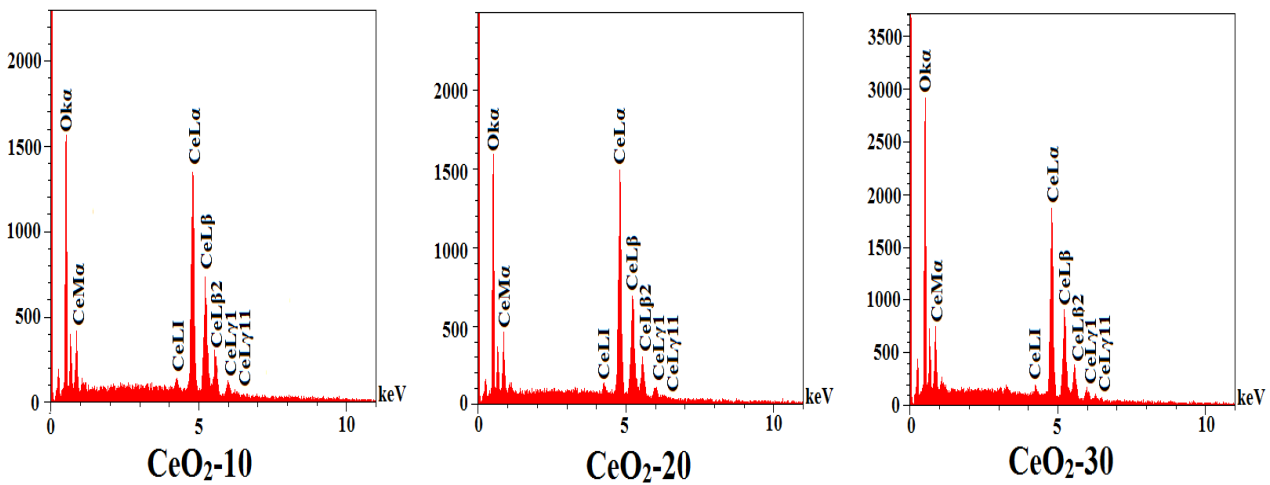


شکل ۸: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۲۰ میلی لیتر عصاره دانه گیاه مریم گلی

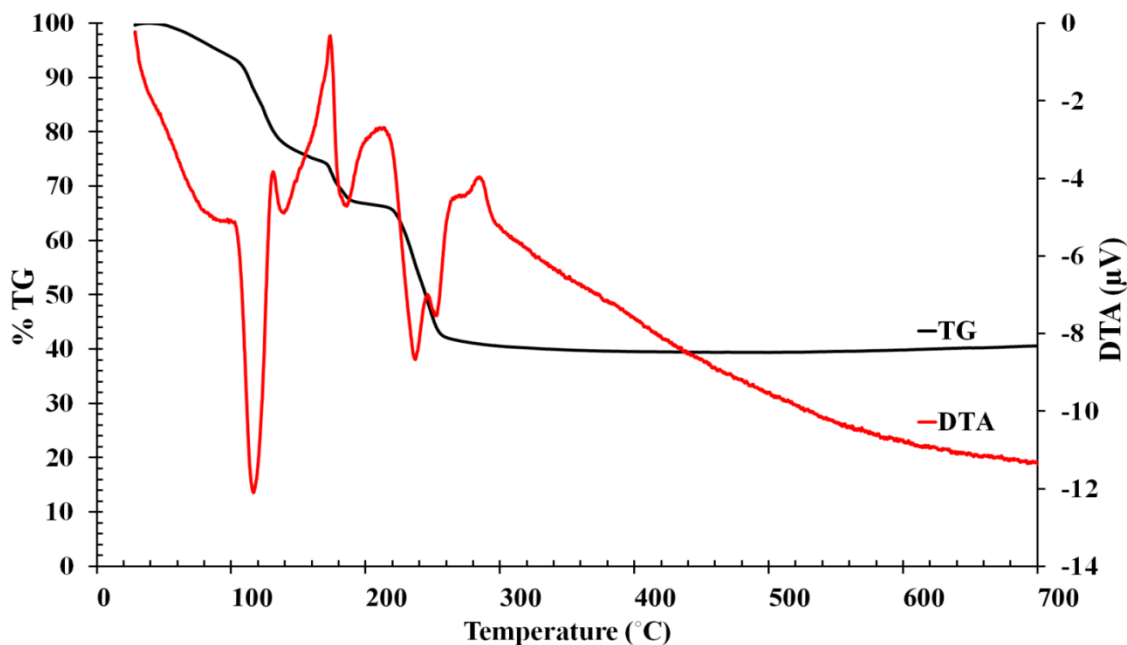
لوله ای (CeO₂-20) زوم ۱۰۰ و ۵۰



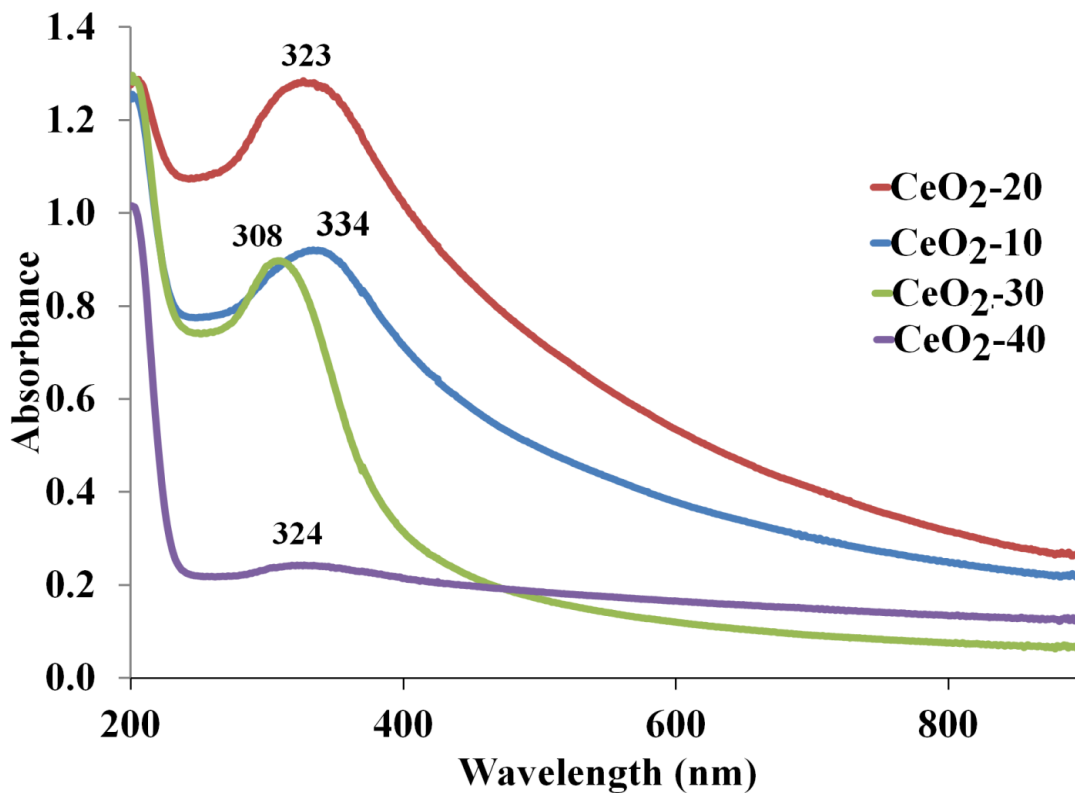
شکل ۹: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۳۰ میلی لیتر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای (CeO₂-30) زوم ۱۰۰ و ۵۰



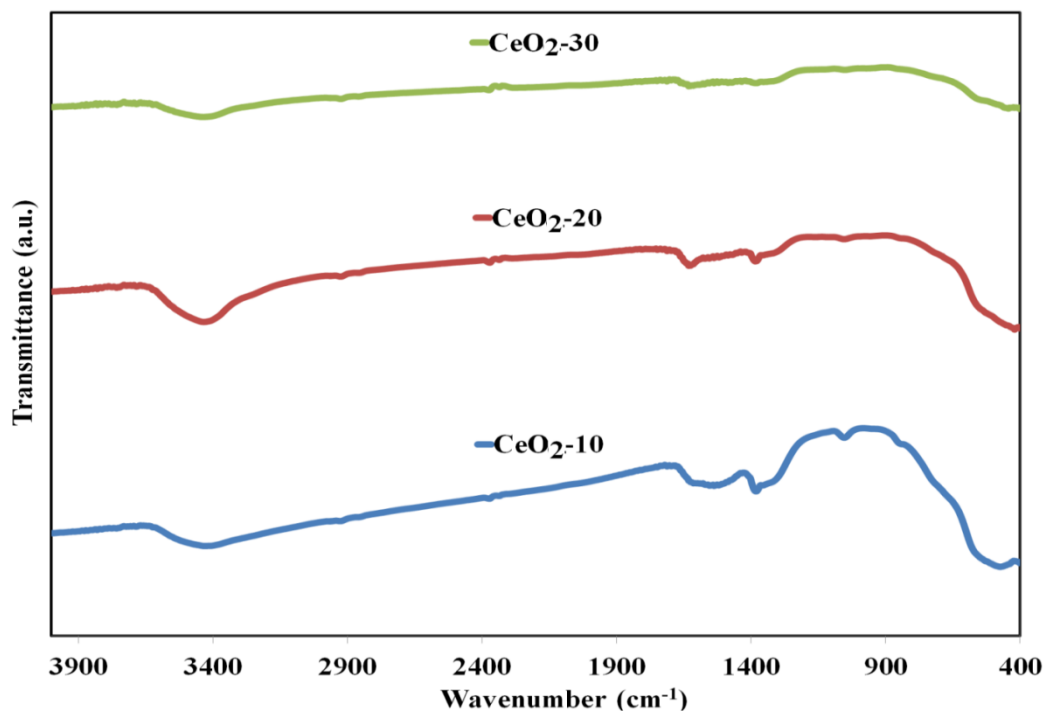
شکل ۱۰: طیف EDX نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه مریم گلی لوله ای



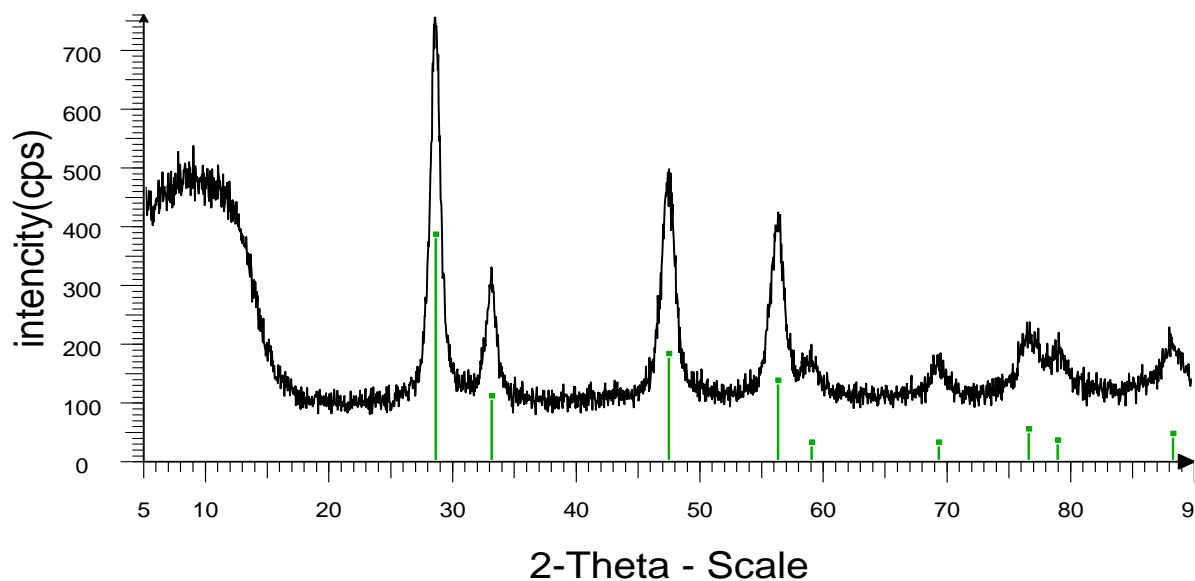
شکل ۱۱: نمودار TGA/DTA سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه بامیه



شکل ۱۲: طیف فرابنفش-مرئی نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه بامیه



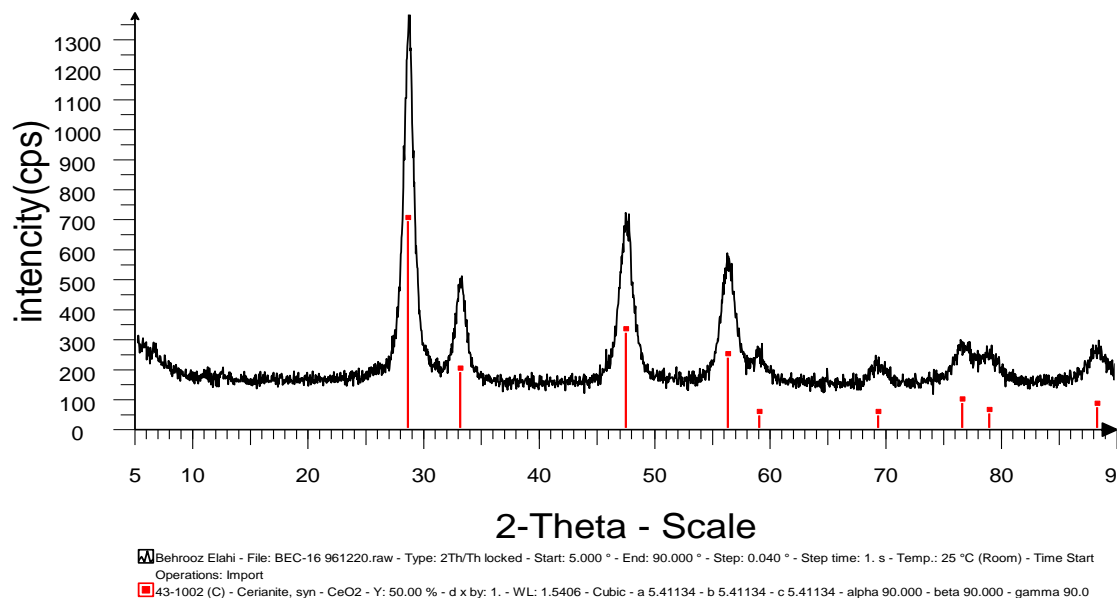
شکل ۱۳: طیف مادون قرمز نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه بامیه



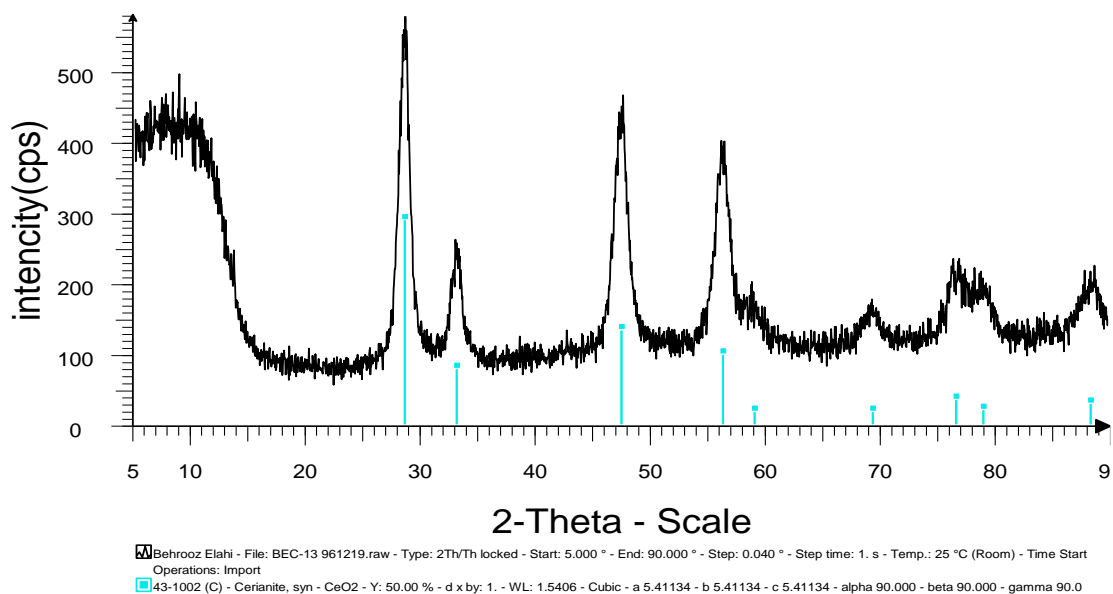
Behrooz Elahi - File: BEC-12 961219.raw - Type: 2Th/Th locked - Start: 5.000 ° - End: 90.000 ° - Step: 0.040 ° - Step time: 1. s - Temp.: 25 °C (Room) - Time Start
Operations: Import
43-1002 (C) - Cerianite, syn - CeO2 - Y: 50.00 % - d x by: 1. - WL: 1.5406 - Cubic - a 5.41134 - b 5.41134 - c 5.41134 - alpha 90.000 - beta 90.000 - gamma 90.0

شکل ۱۴: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۱۰ میلی لیتر عصاره گیاه بامیه

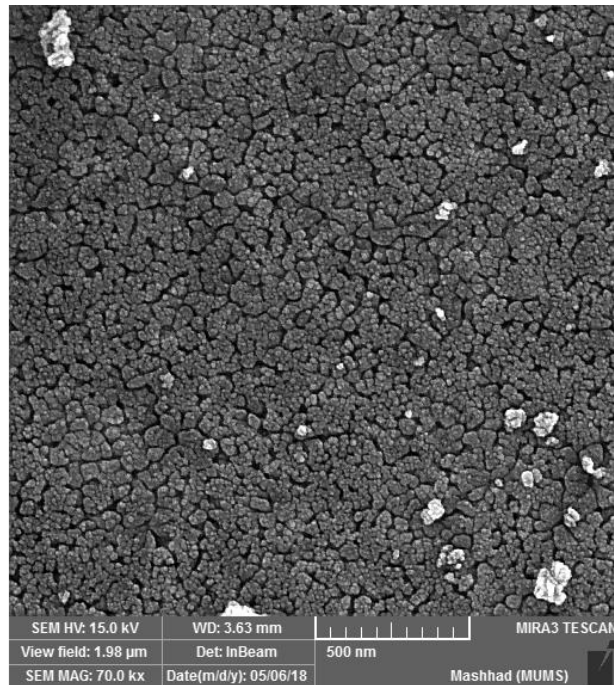
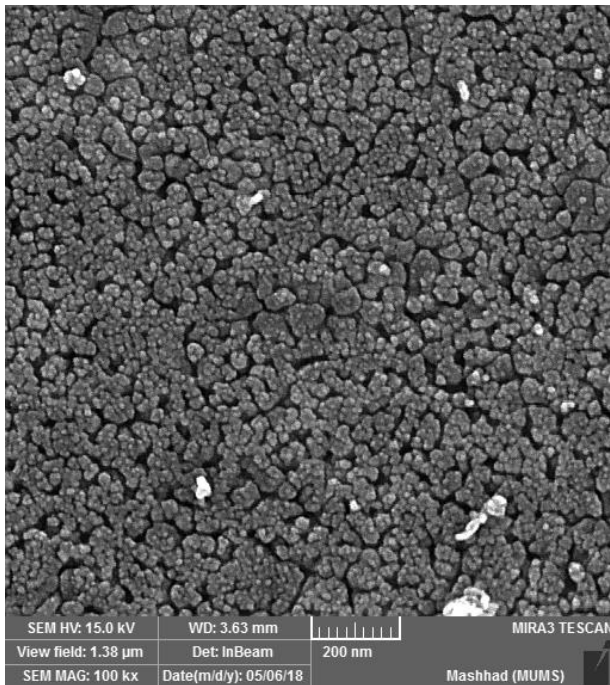
(CeO₂-10)



شکل ۱۵: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۲۰ میلی لیتر عصاره گیاه بامیه (CeO₂-20)

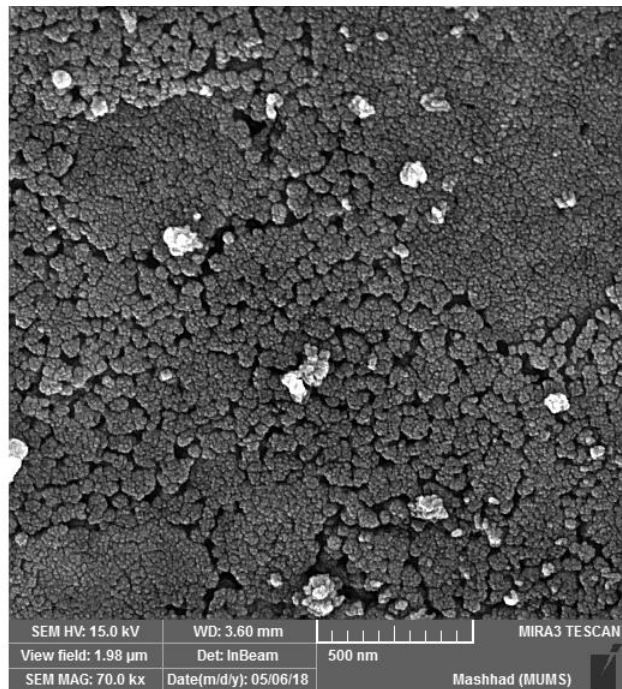
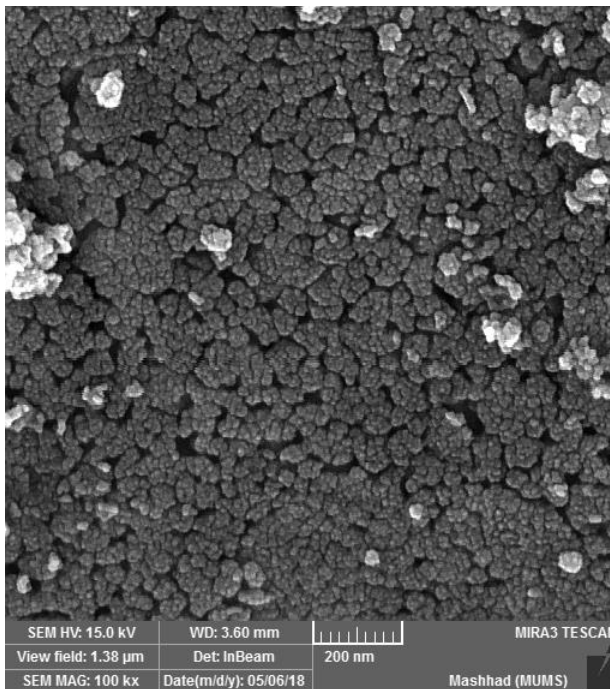


شکل ۱۶: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۳۰ میلی لیتر عصاره گیاه بامیه (CeO₂-30)



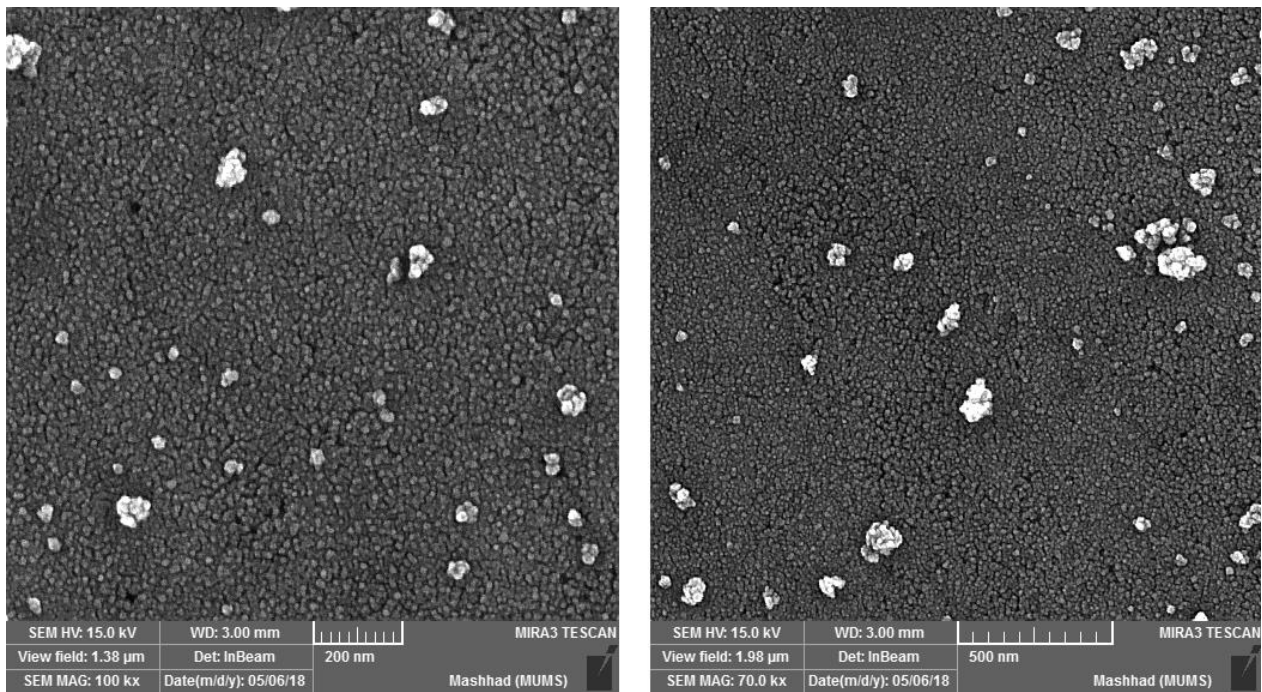
شکل ۱۷: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۱۰ میلی لیتر عصاره گیاه بامیه (CeO_2 -)

(10) زوم ۱۰۰ و ۷۰



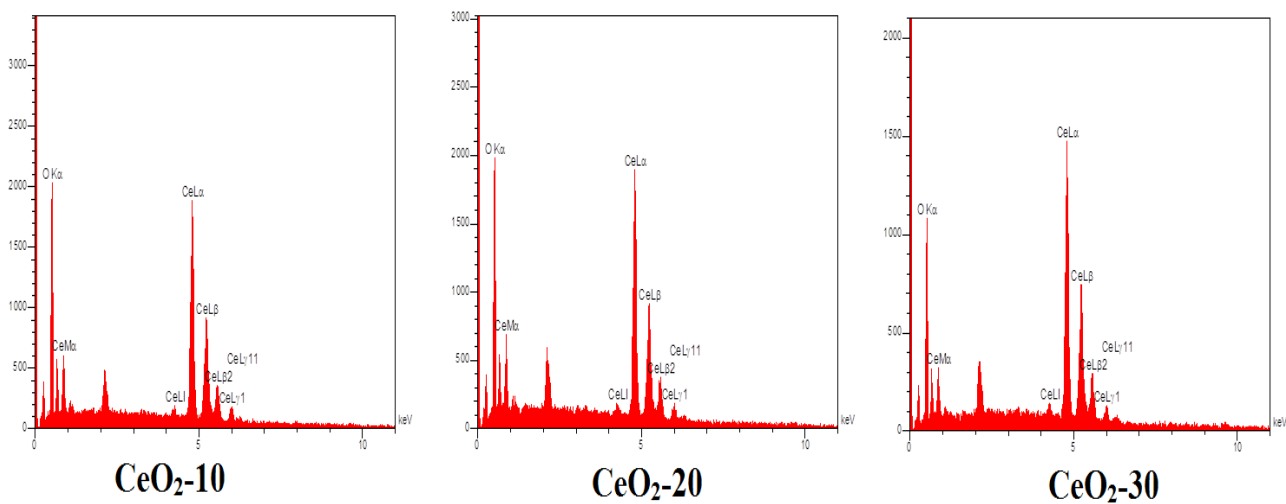
شکل ۱۸: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۲۰ میلی لیتر عصاره گیاه بامیه (CeO_2 -)

(20) زوم ۱۰۰ و ۷۰

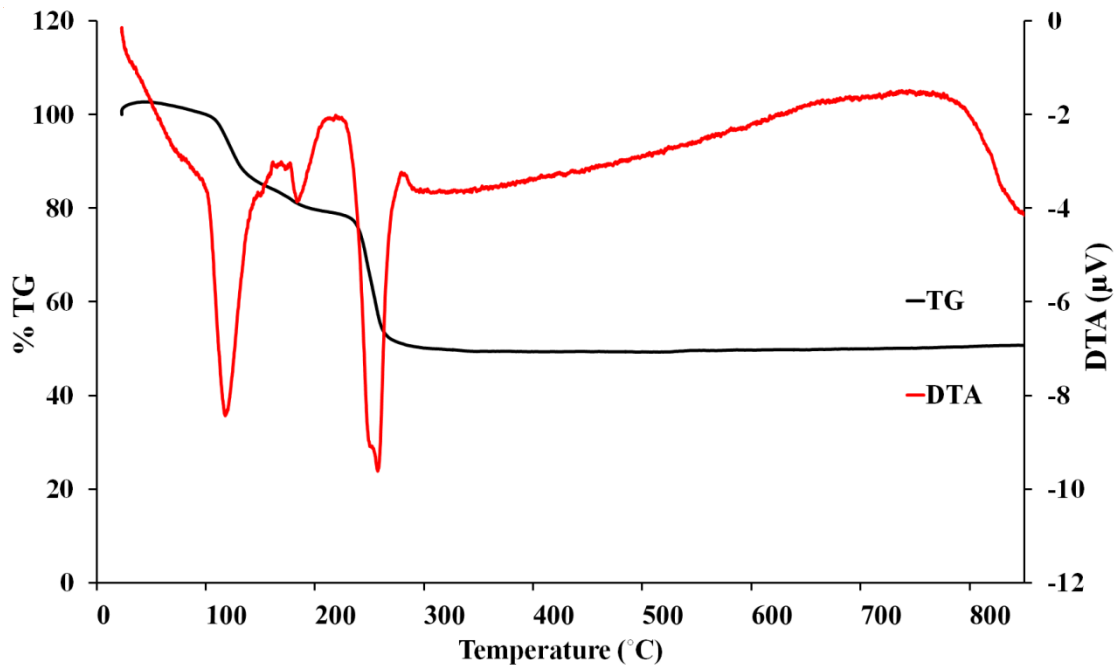


شکل ۱۹: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده با ۳۰ میلی لیتر عصاره گیاه بامیه (CeO_2)

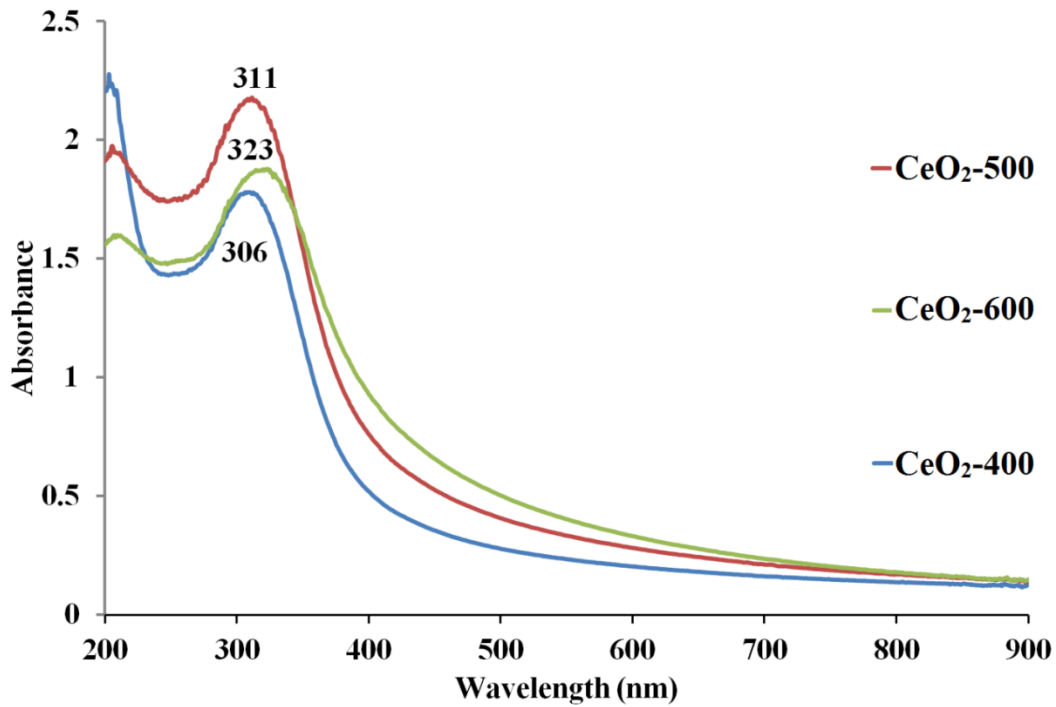
(30) زوم ۱۰۰ و ۷۰



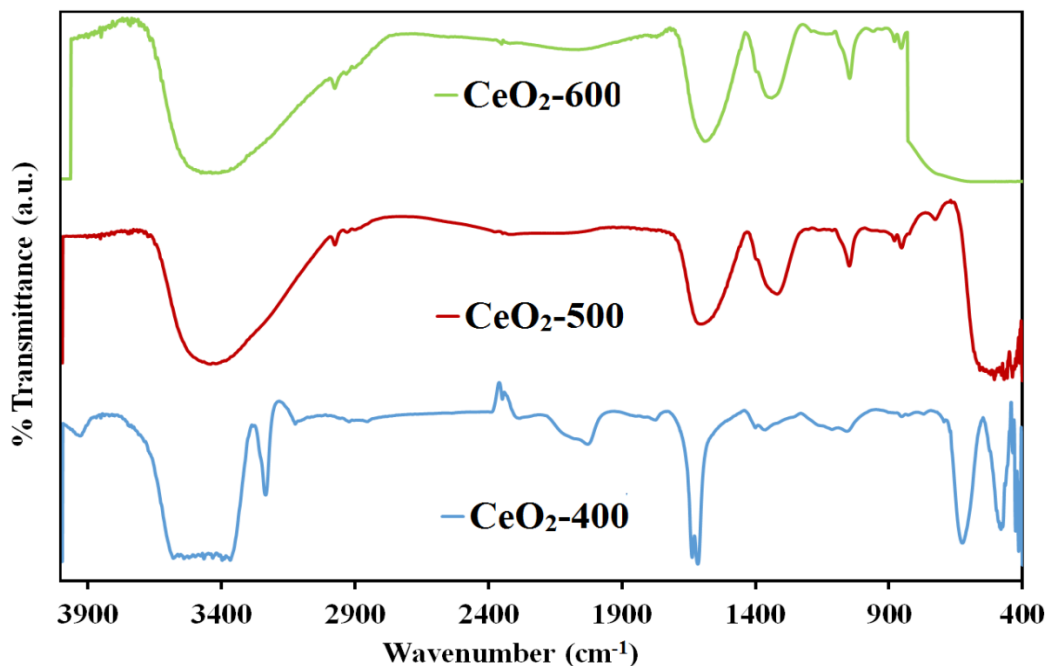
شکل ۲۰: طیف EDX نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه بامیه



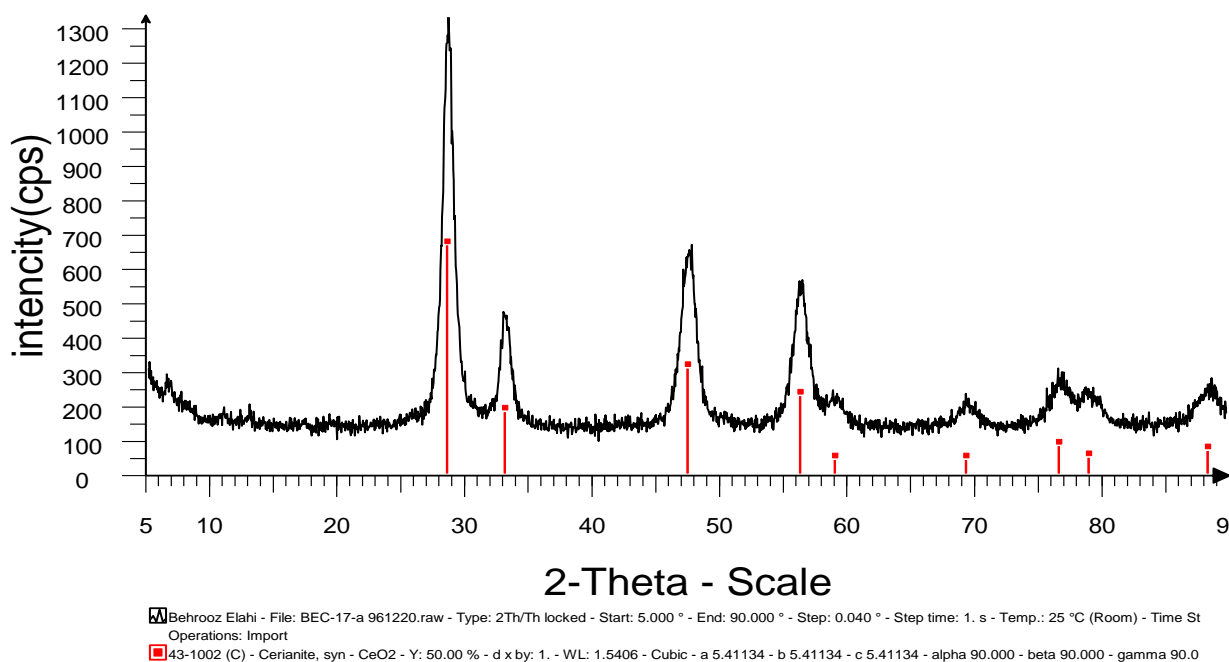
شکل ۲۱: نمودار TGA/DTA سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان



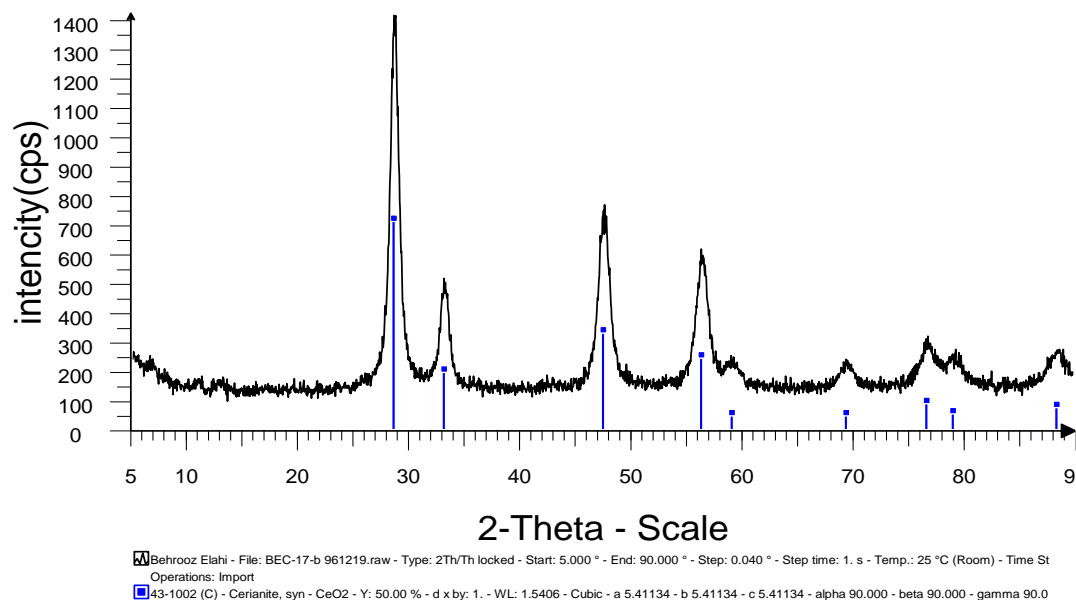
شکل ۲۲: طیف فرابنفش-مرئی نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان



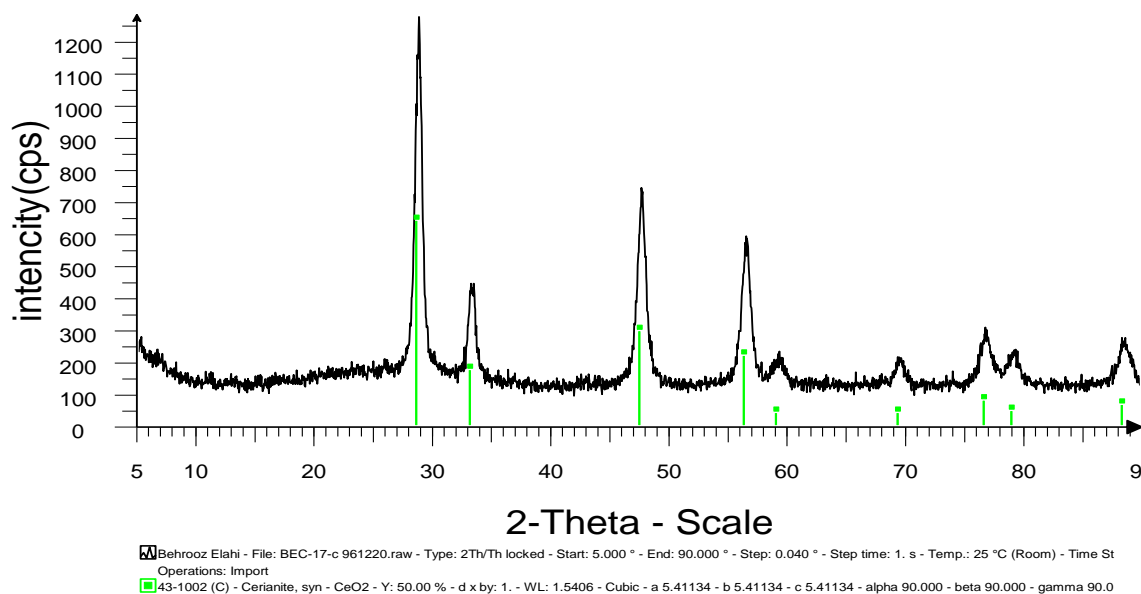
شکل ۲۳: طیف مادون قرمز نانو ذرات سربیم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان



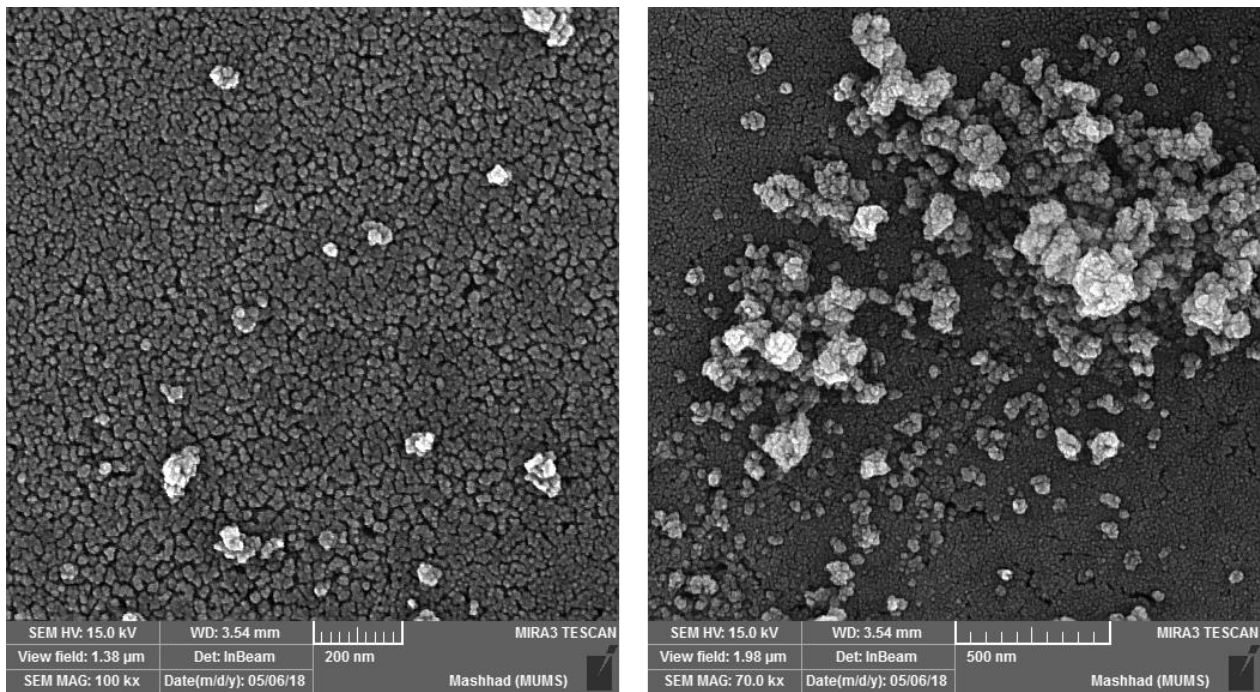
شکل ۲۴: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سربیم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان در دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد (CeO₂-400)



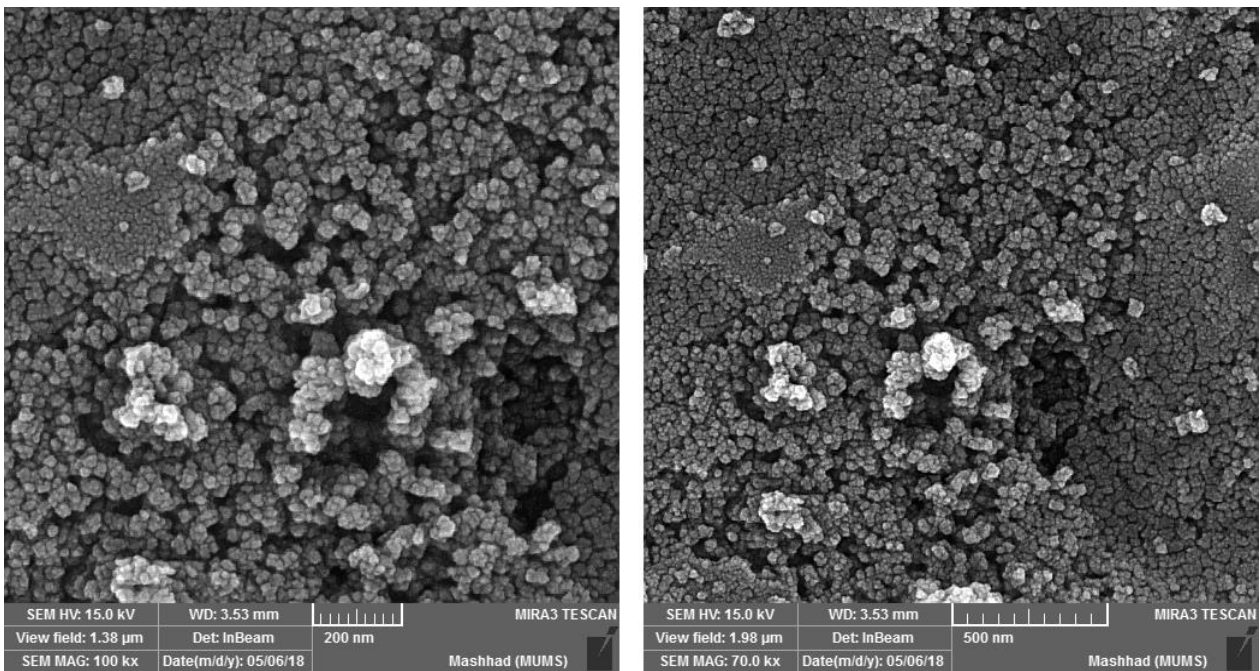
شکل ۲۵: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان در دمای ۵۰۰ درجه سانتیگراد (CeO₂-500)



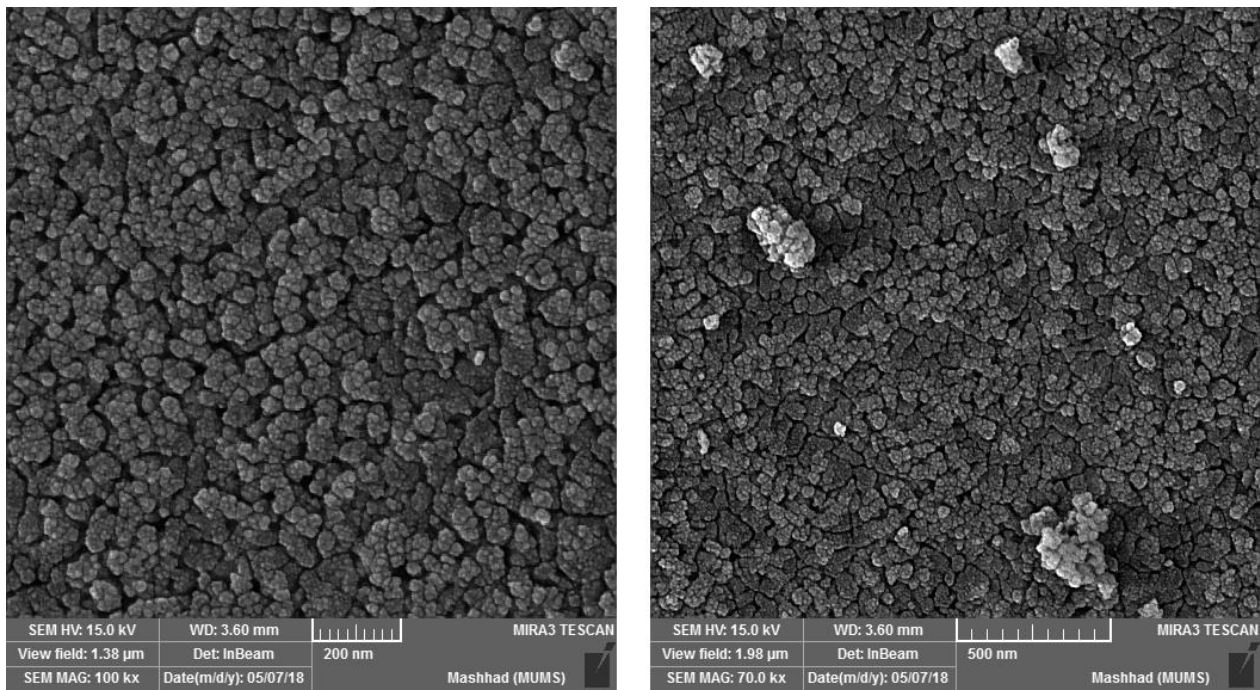
شکل ۲۶: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان در دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد (CeO₂-600)



شکل ۲۷: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان در دمای ۴۰۰ سانتیگراد ($\text{CeO}_2\text{-400}$) زوم ۱۰۰ و ۷۰

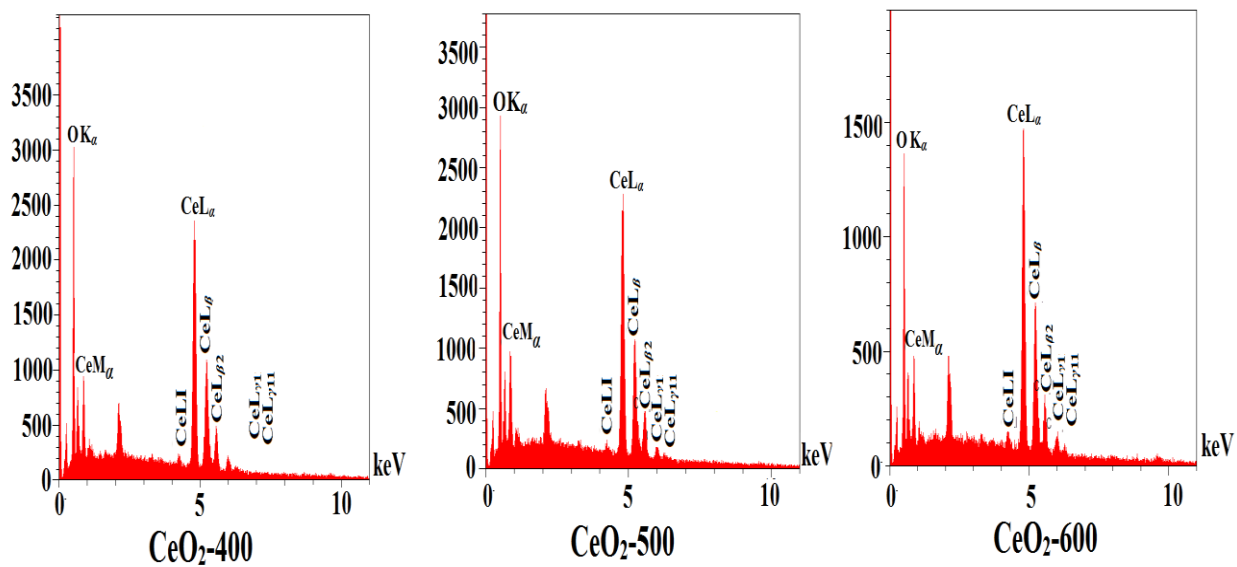


شکل ۲۸: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان در دمای ۵۰۰ سانتیگراد ($\text{CeO}_2\text{-500}$) زوم ۱۰۰ و ۷۰

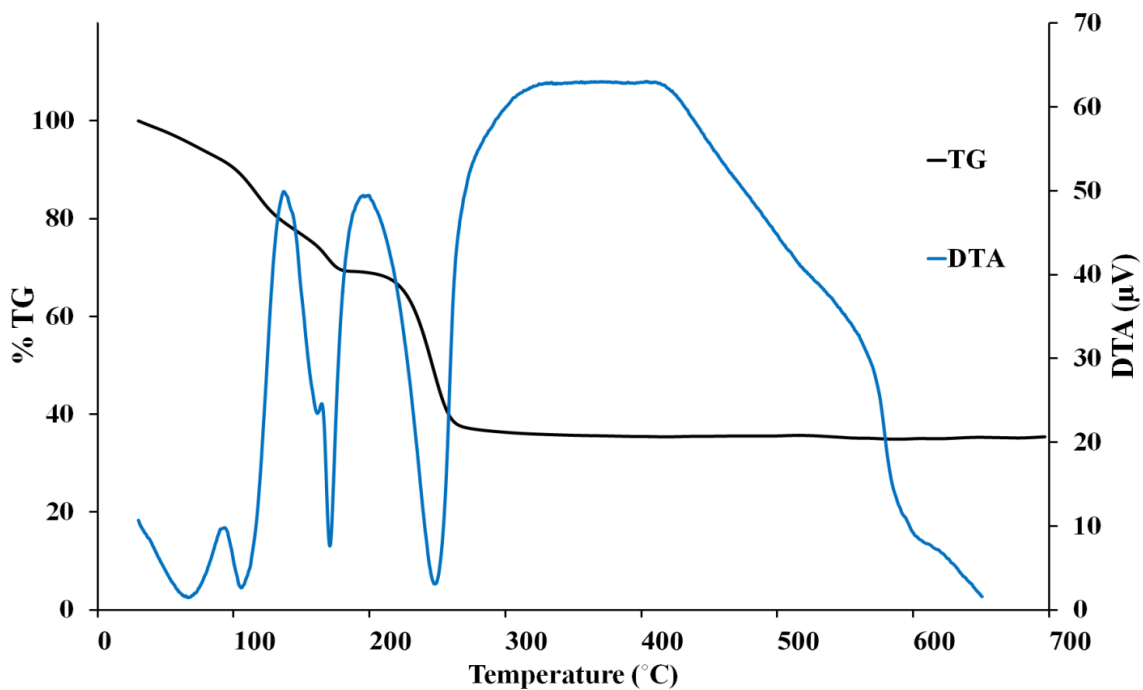


شکل ۲۹: تصاویر FESEM نانو ذرات سربیم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان در دمای

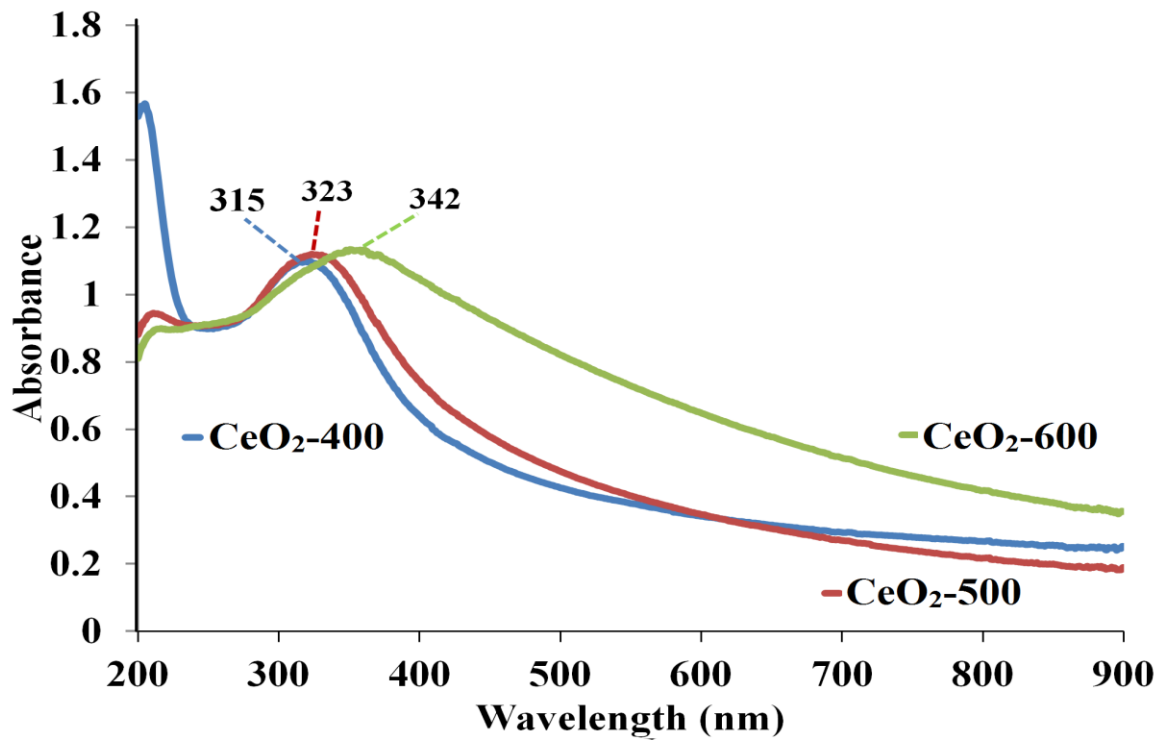
۶۰۰ سانتیگراد (CeO_2 -600) زوم ۱۰۰ و ۷۰



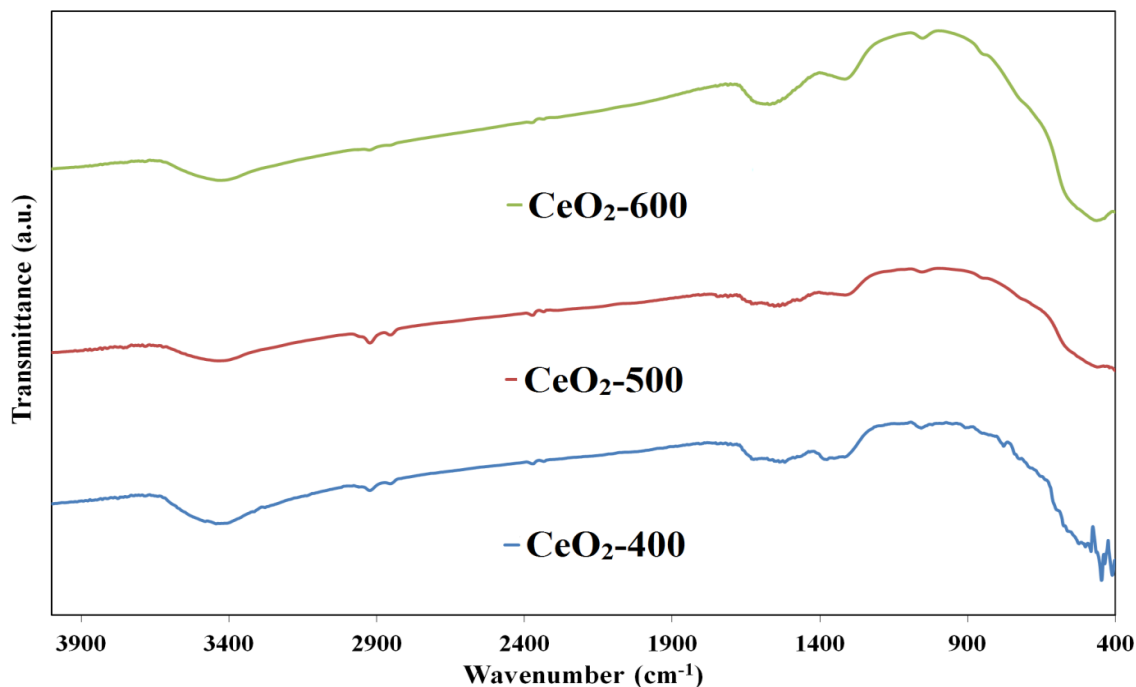
شکل ۳۰: طیف EDX نانو ذرات سربیم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه کتان



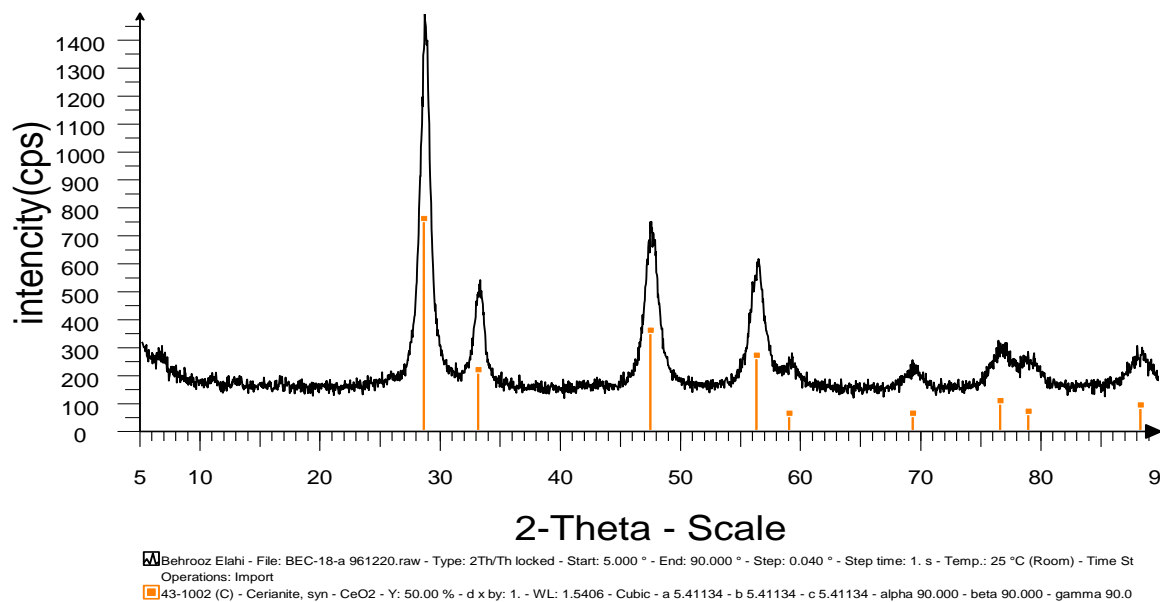
شکل ۳۱: نمودار TGA/DTA سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به



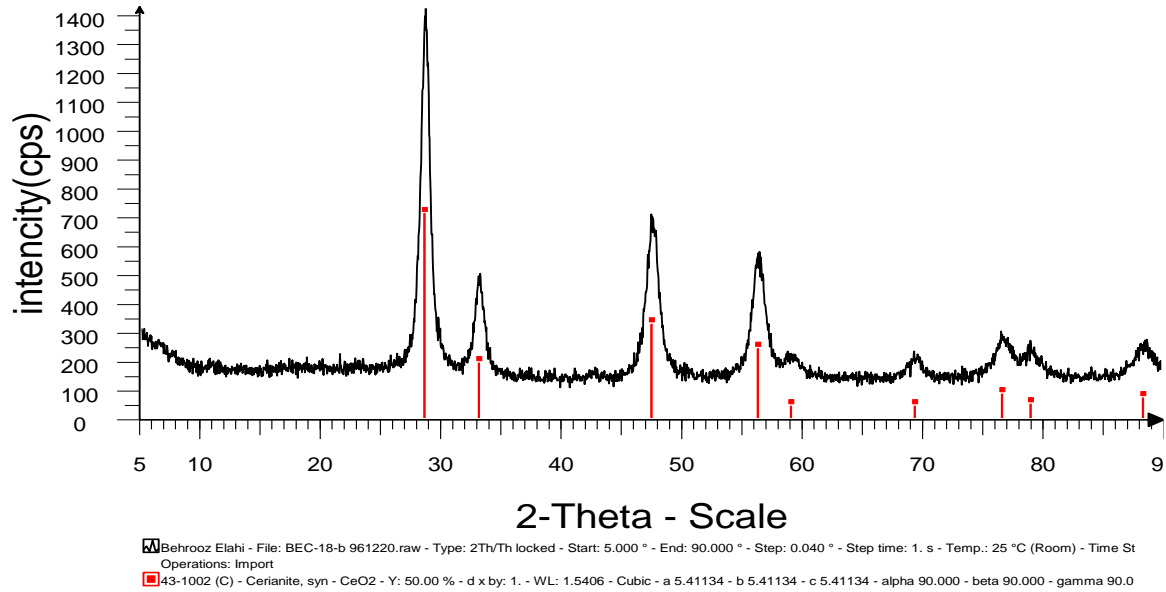
شکل ۳۲: طیف فرابنفش-مرئی نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به



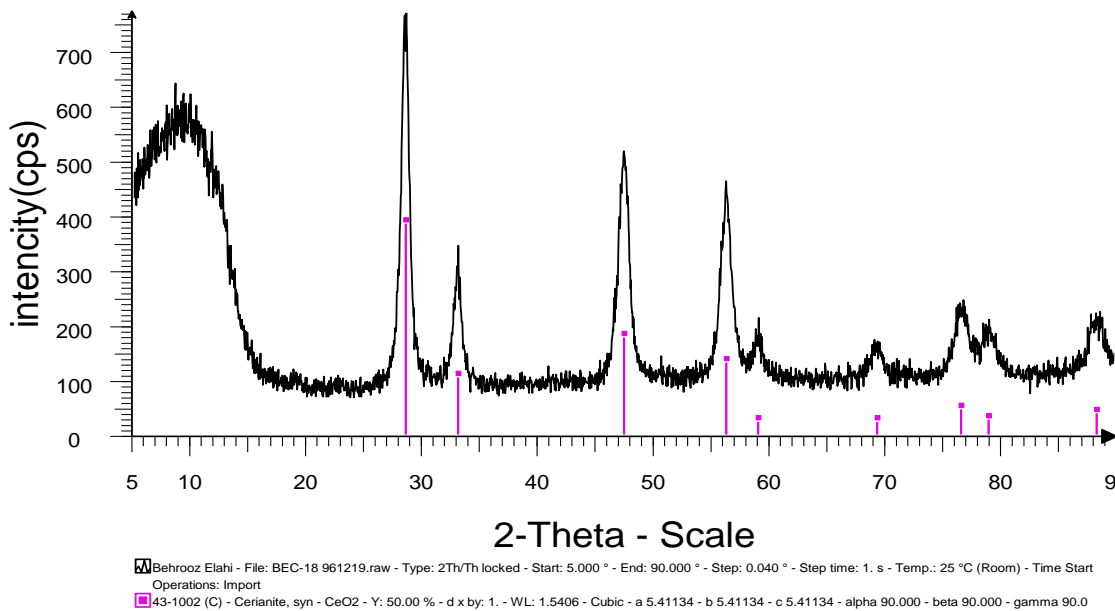
شکل ۳۳: طیف مادون قرمز نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به



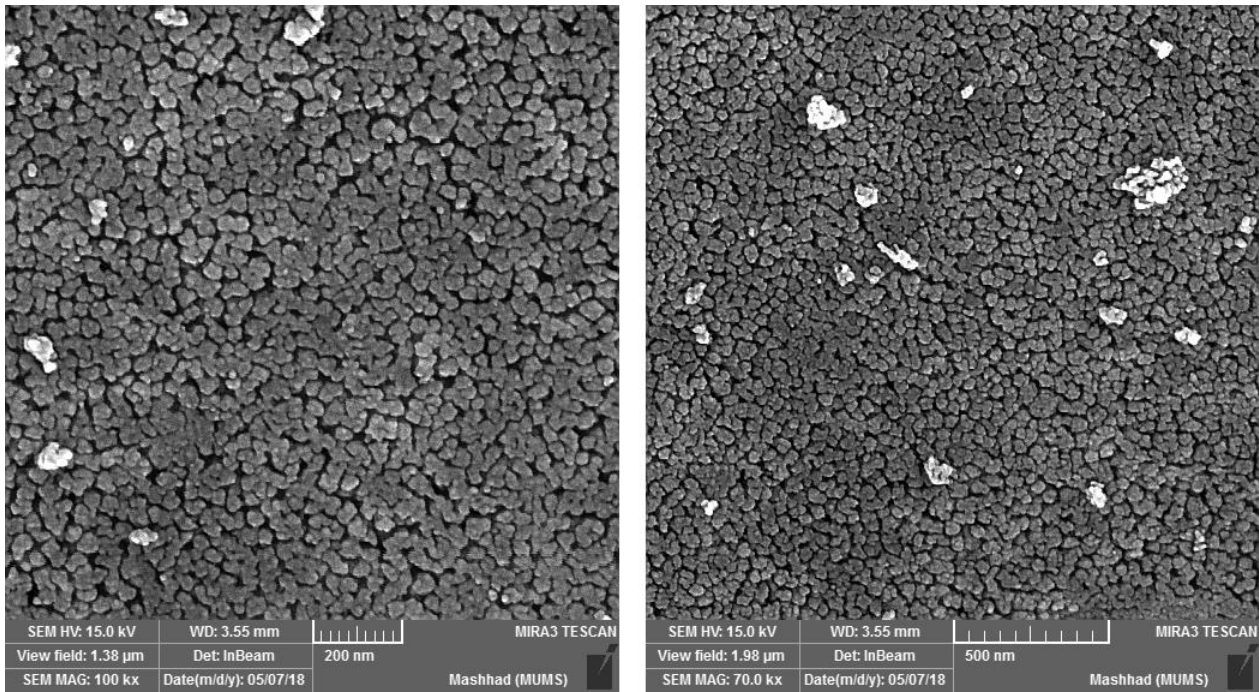
شکل ۳۴: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به در دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد ($\text{CeO}_2\text{-400}$)



شکل ۳۵: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به در دمای ۵۰۰ درجه سانتیگراد (CeO₂-500)

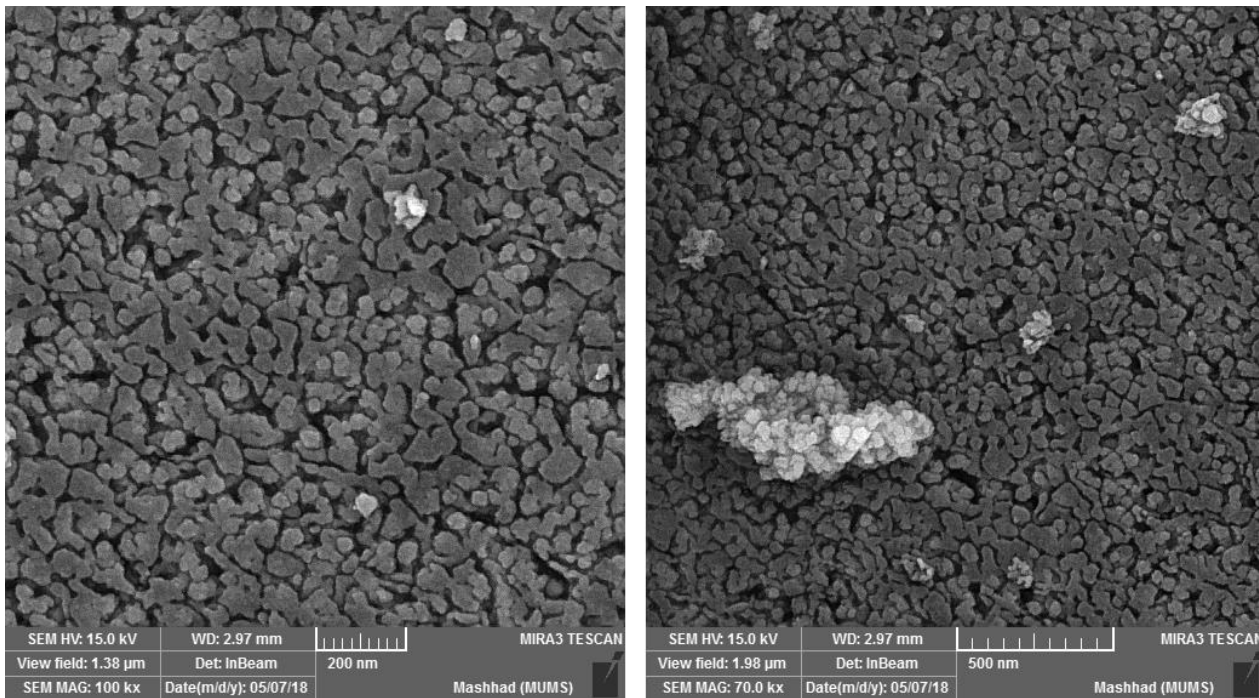


شکل ۳۶: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه به در دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد (CeO₂-600)



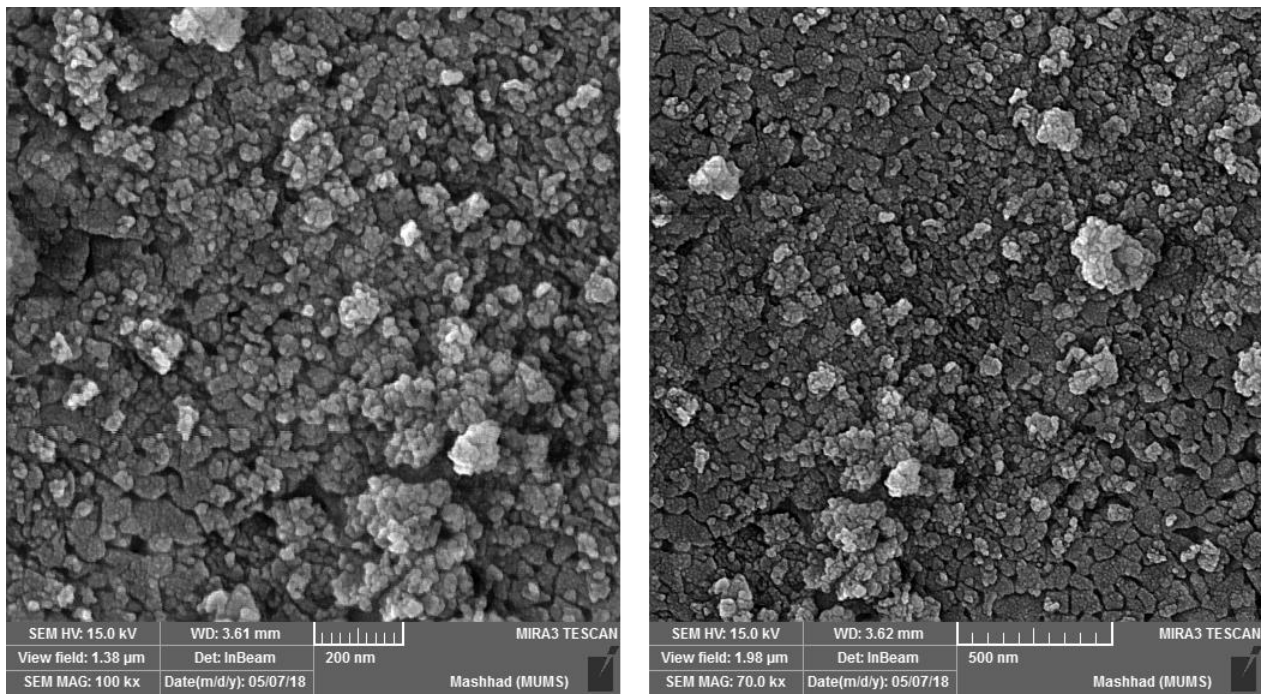
شکل ۳۷: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه په در دمای ۴۰۰

سانتیگراد ($\text{CeO}_2\text{-400}$) زوم ۷۰ و ۱۰۰



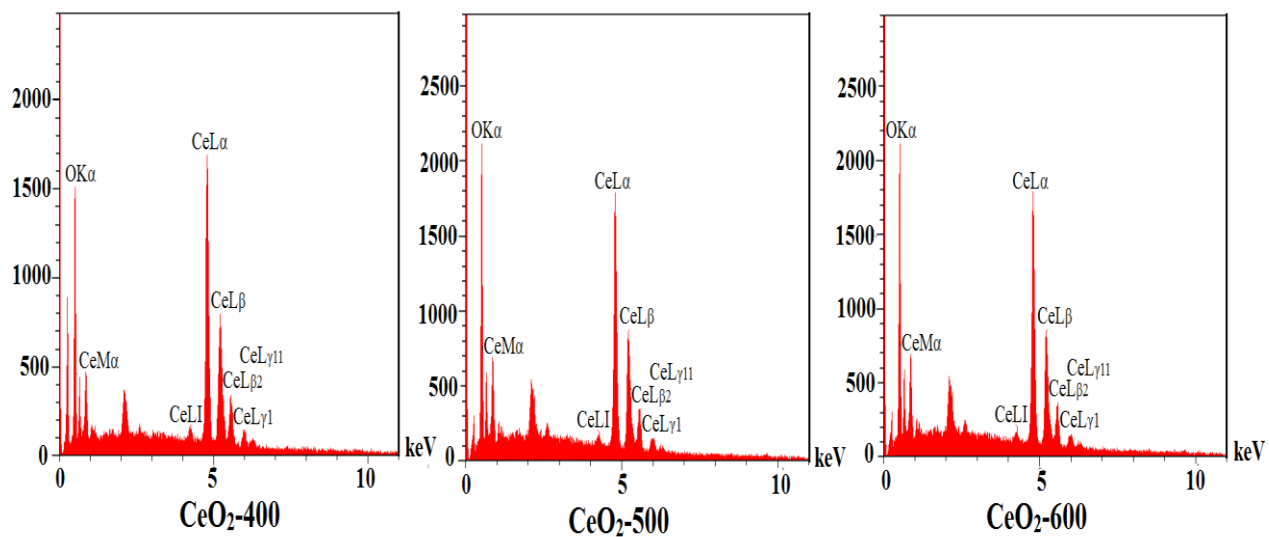
شکل ۳۸: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه په در دمای ۵۰۰

سانتیگراد ($\text{CeO}_2\text{-500}$) زوم ۷۰ و ۱۰۰

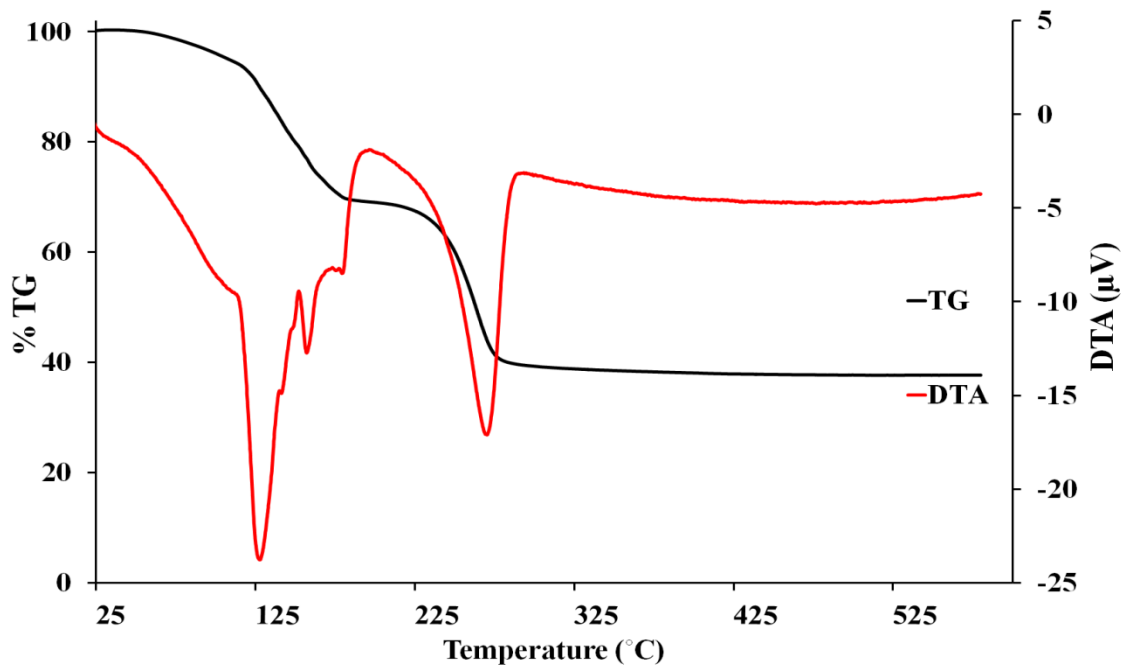


شکل ۳۹: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه په در دمای ۶۰۰

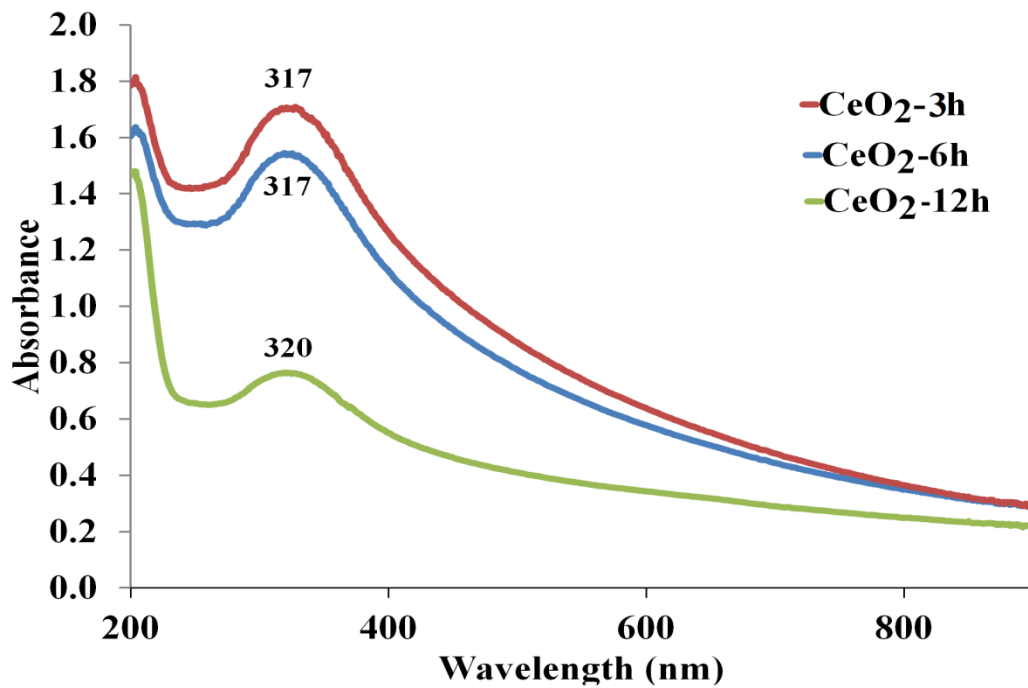
سانتیگراد (CeO_2 -600) زوم ۷۰ و ۱۰۰



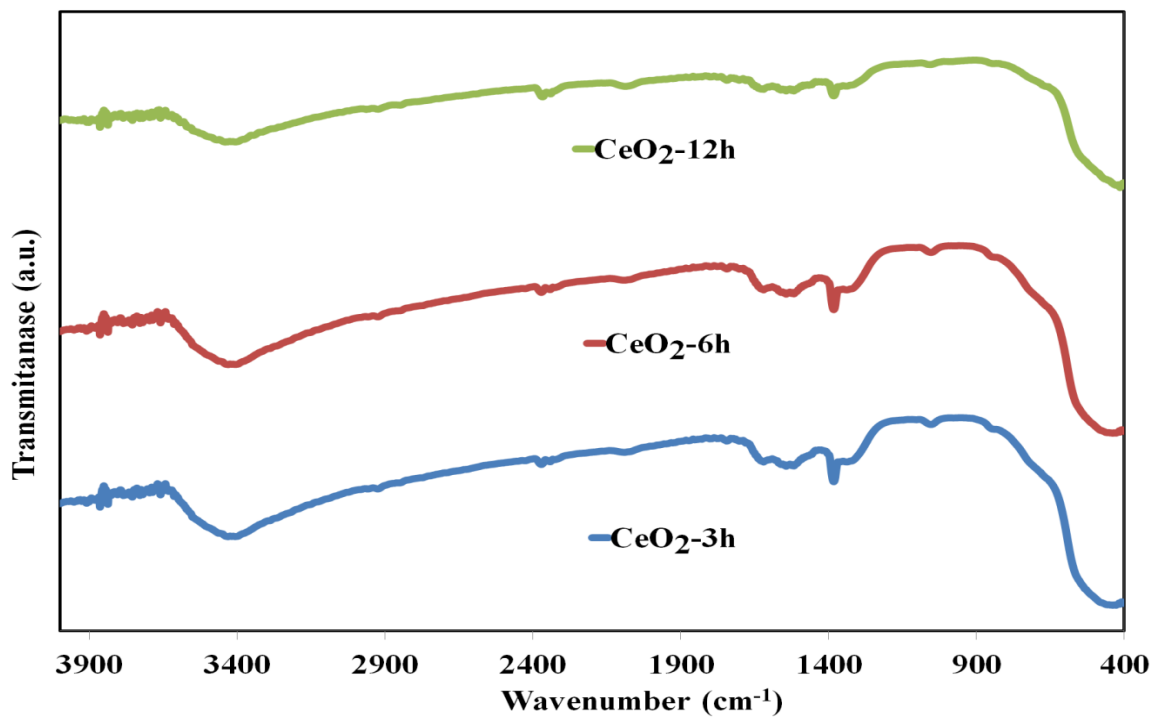
شکل ۴۰: طیف EDX نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه په



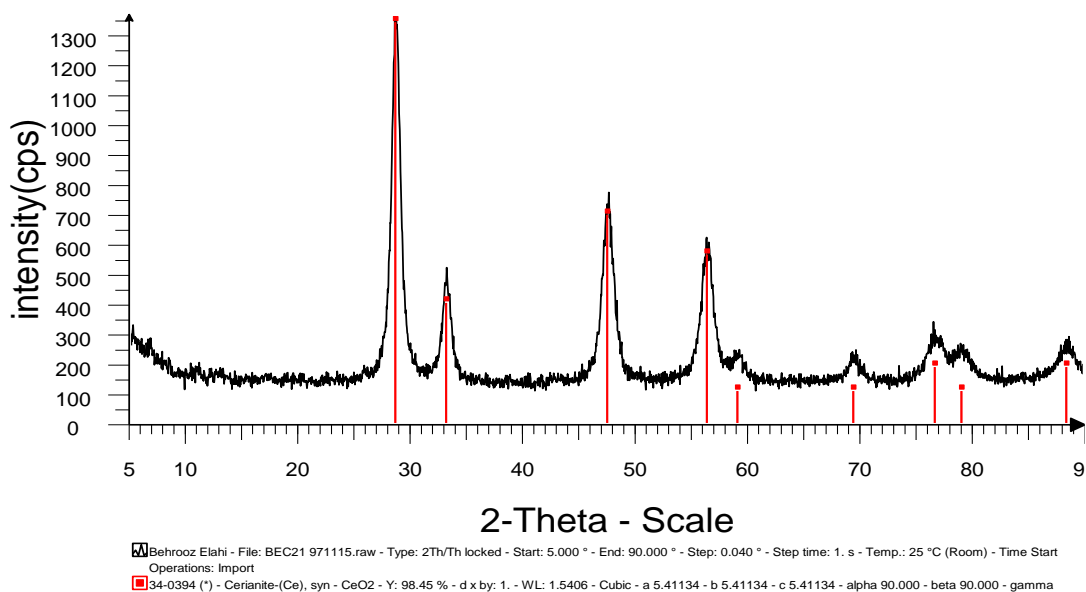
شکل ۴۱: نمودار TGA/DTA سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ



شکل ۴۲: طیف فرابنفش-مرئی نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ

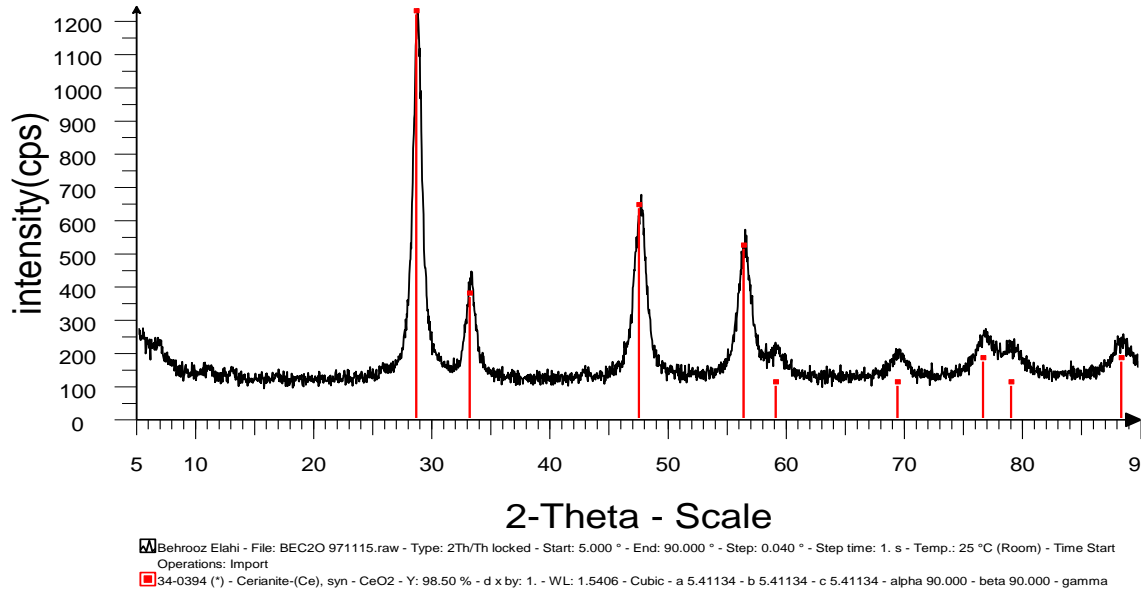


شکل ۴۳: طیف مادون قرمز ذرات سربیم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ

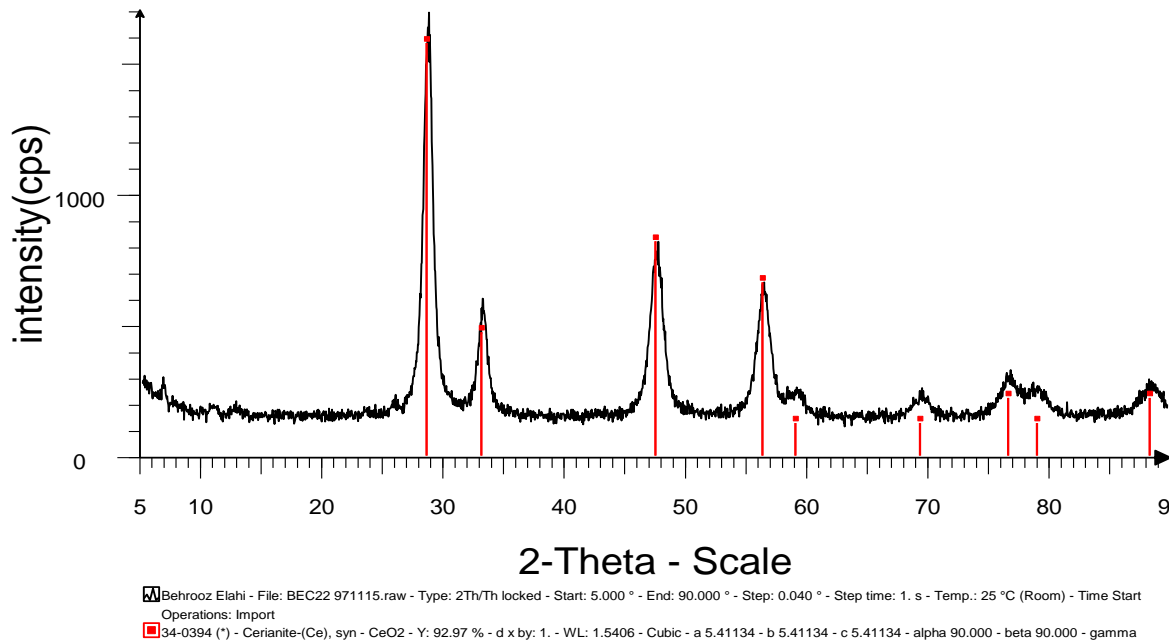


شکل ۴۴: الگوی پراش پرتو ایکس ذرات سربیم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ در

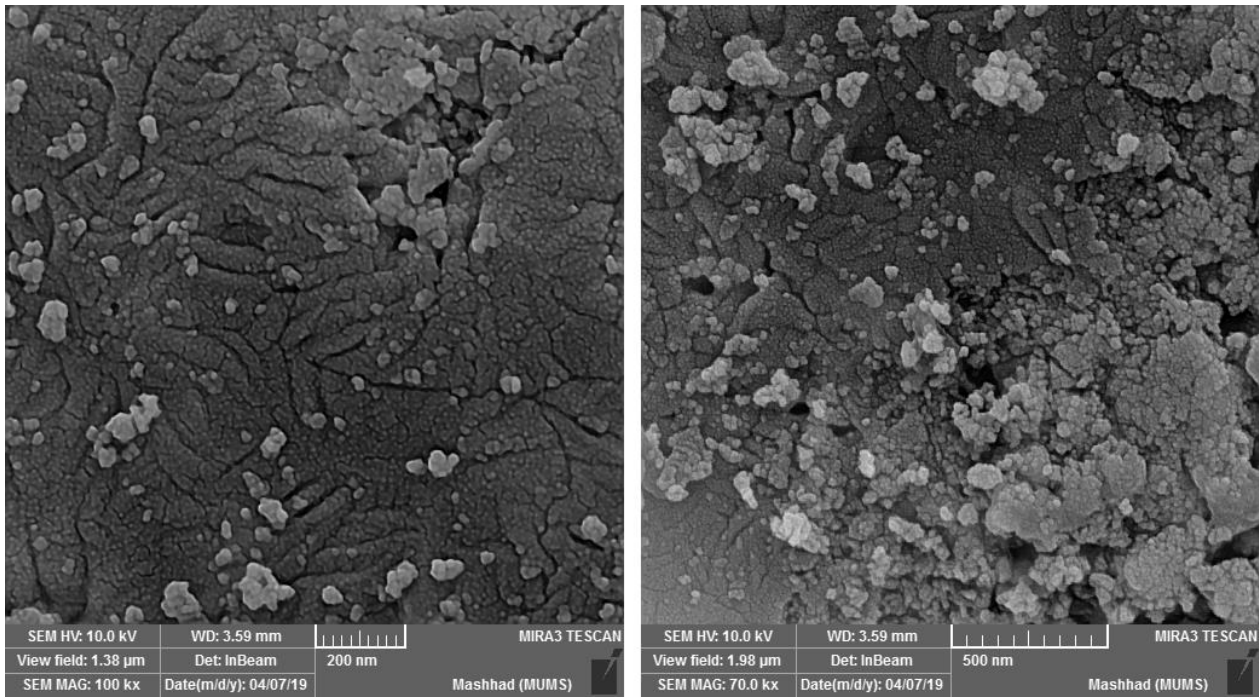
مدت زمان ۳ ساعت ($\text{CeO}_2\text{-3h}$)



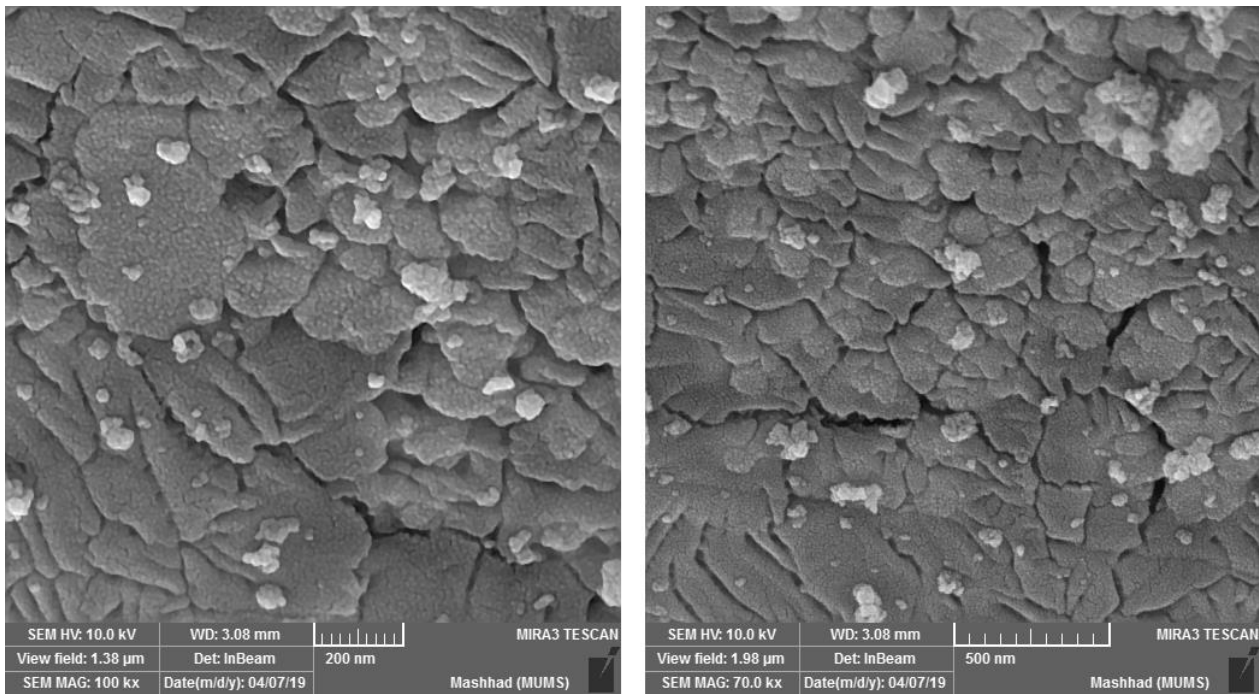
شکل ۴۵: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ در مدت زمان ۶ ساعت (CeO₂-6h)



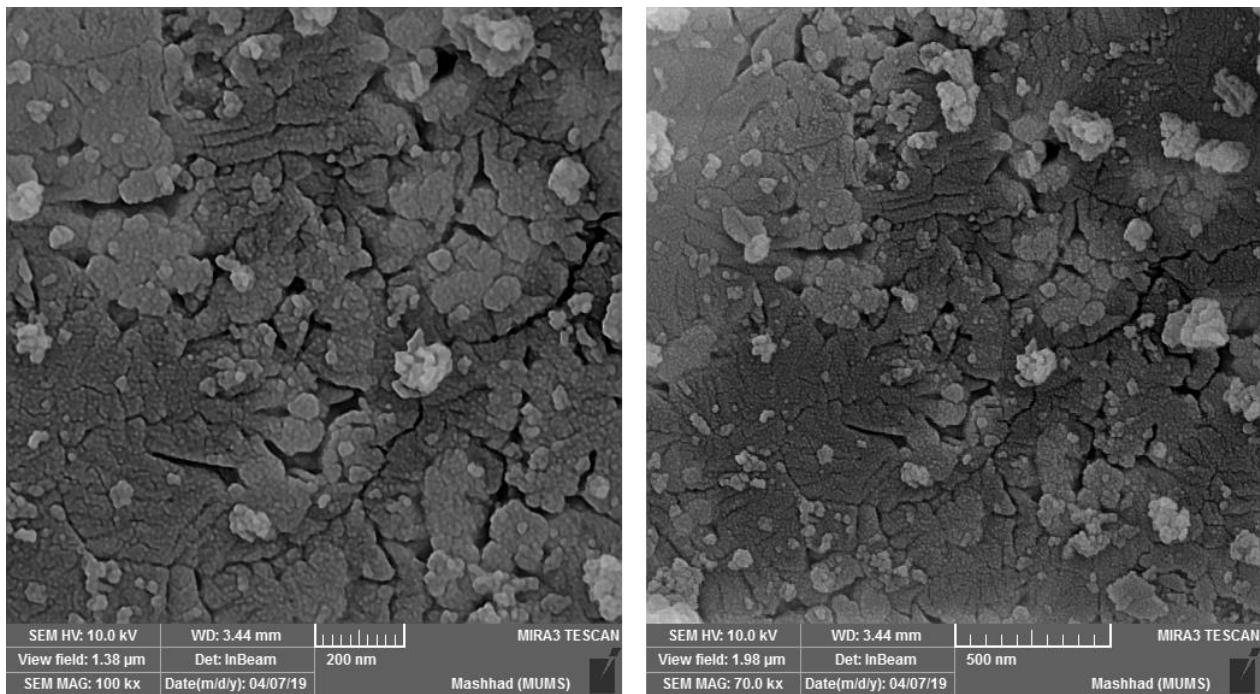
شکل ۴۶: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ در مدت زمان ۱۲ ساعت (CeO₂-12h)



شکل ۴۷: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ در مدت زمان ۳ ساعت ($\text{CeO}_2\text{-3h}$) زوم ۱۰۰ و ۷۰

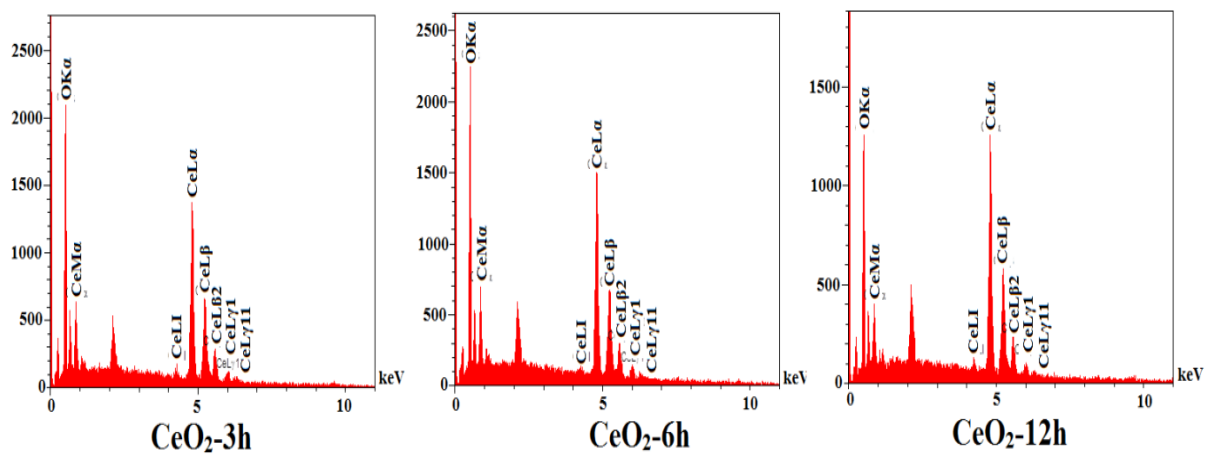


شکل ۴۸: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ در مدت زمان ۶ ساعت ($\text{CeO}_2\text{-6h}$) زوم ۱۰۰ و ۷۰

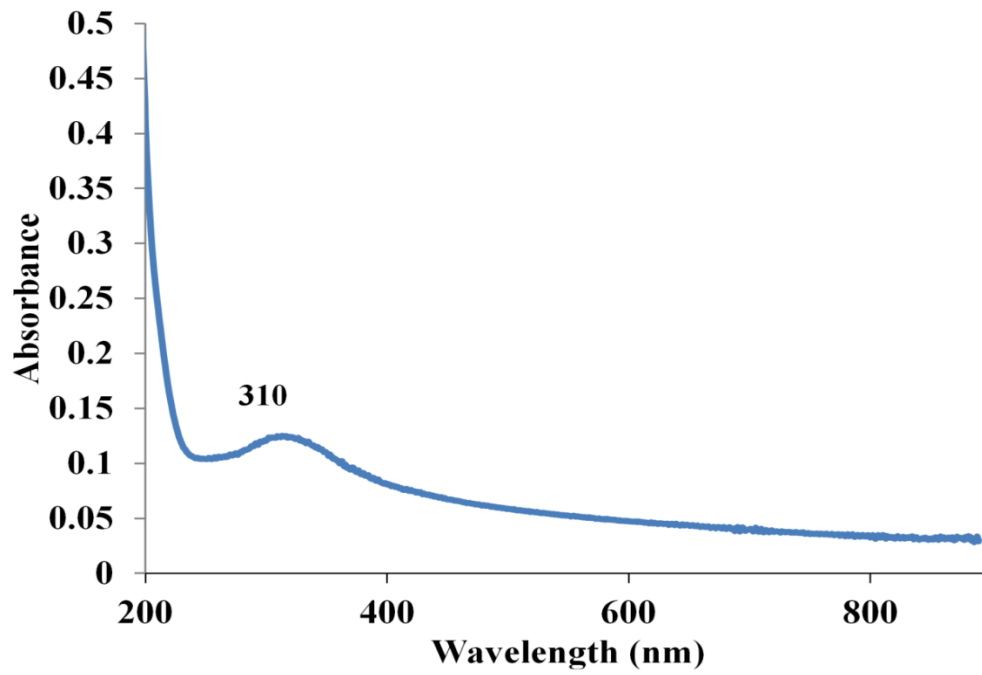


شکل ۴۹: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ در مدت

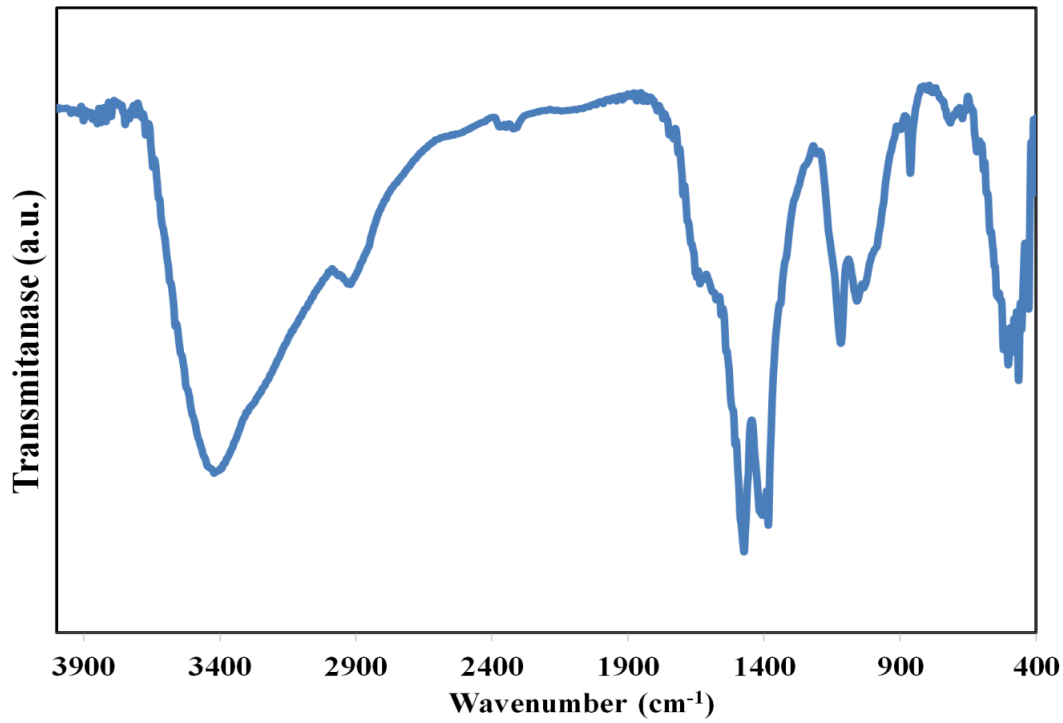
زمان ۱۲ ساعت (CeO_2-12h) زوم ۷۰ و ۱۰۰



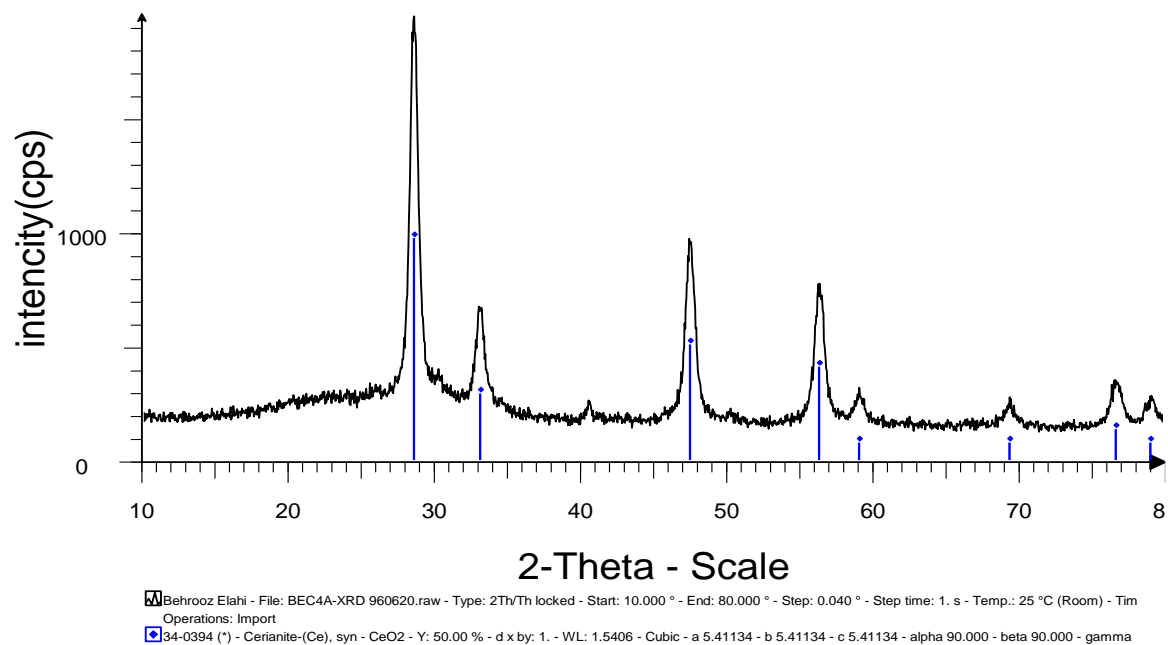
شکل ۵۰: طیف EDX نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره دانه گیاه بارهنگ



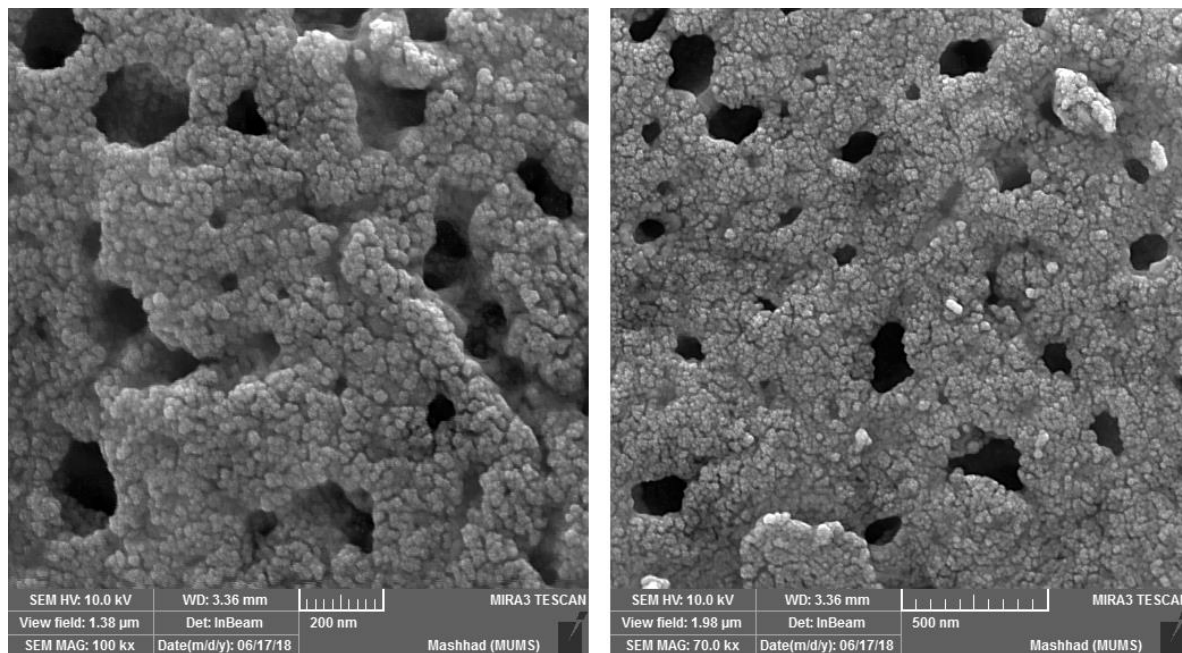
شکل ۵۱: طیف فرابنفش-مرئی نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه عروس انگشتی



شکل ۵۲: طیف مادون قرمز نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه عروس انگشتی

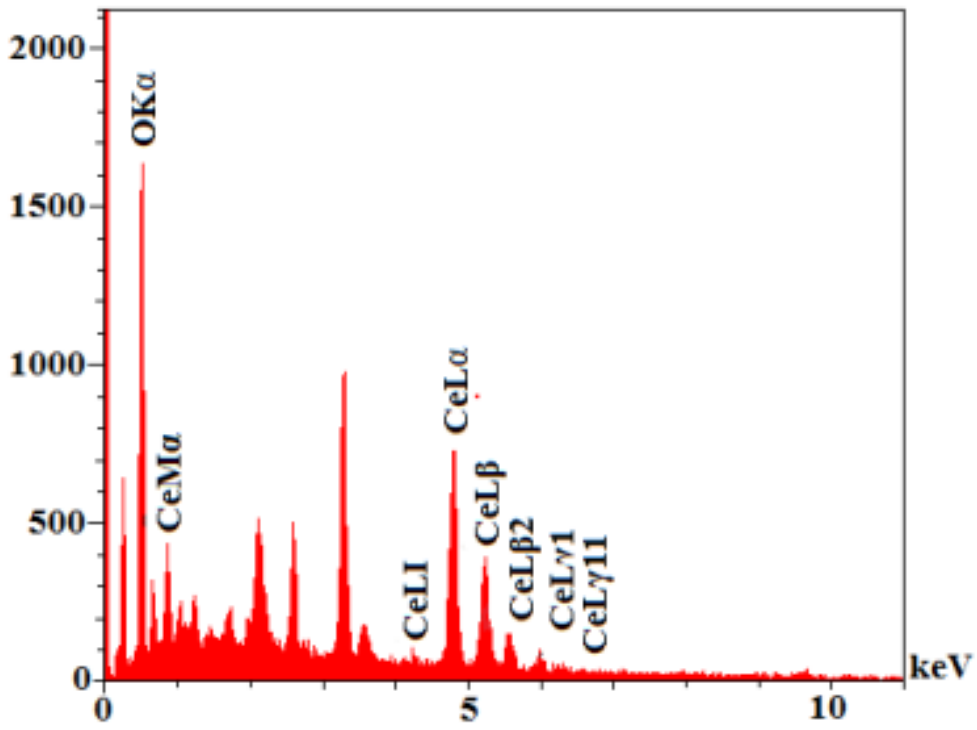


شکل ۵۳: الگوی پراش پرتو ایکس نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه عروس انگشتی



شکل ۵۴: تصاویر FESEM نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه عروس انگشتی زوم

۷۰ و ۱۰۰



شکل ۵۵: طیف EDX نانو ذرات سریم اکسید سنتز شده در بستر عصاره گیاه عروس انگشی

مراج

[١]A. Arumugam, C. Karthikeyan, A.S.H. Hameed, K. Gopinath, S. Gowri, V. Karthika, Synthesis of cerium oxide nanoparticles using *Gloriosa superba* L. leaf extract and their structural, optical and antibacterial properties, *Materials Science and Engineering: C*, 49 (2015) 408-415.

[٢]P. Mukherjee, A. Ahmad, D. Mandal, S. Senapati, S.R. Sainkar, M.I. Khan, R. Parishcha, P. Ajaykumar, M. Alam, R. Kumar, Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis, *Nano Letters*, 1 (2001) 515-519.

[٣]P. Mohanpuria, N.K. Rana, S.K. Yadav, Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications, *Journal of nanoparticle research*, 10 (2008) 507-517.

[٤]G.S. Dhillon, S.K. Brar, S. Kaur, M. Verma, Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications, *Critical reviews in biotechnology*, 32 (2012) 49-73.

[٥]S. Singh, S. Mishra, R. Srivastava, R. Gopal, Optical properties of selenium quantum dots produced with laser irradiation of water suspended Se nanoparticles, *The Journal of Physical Chemistry C*, 114 (2010) 17374-17384.

[٦]I. Hussain, N. Singh, A. Singh, H. Singh, S. Singh, Green synthesis of nanoparticles and its potential application, *Biotechnology letters*, 38 (2016) 545-560.

[٧]K. Gopinath, V. Karthika, S. Gowri, V. Senthilkumar, S. Kumaresan, A. Arumugam, Antibacterial activity of ruthenium nanoparticles synthesized using *Gloriosa superba* L. leaf extract, *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 4 (2014) 83.

- [٨] S.A. Aromal, V. Vidhu, D. Philip, Green synthesis of well-dispersed gold nanoparticles using *Macrotyloma uniflorum*, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 85 (2012) 99-104.
- [٩] M. Gericke, A. Pinches, Biological synthesis of metal nanoparticles, *Hydrometallurgy*, 83 (2006) 132-140.
- [١٠] T.J. Ahrens, *Global earth physics: a handbook of physical constants*, American Geophysical Union 1995.
- [١١] D.R. Lide, *CRC handbook of chemistry and physics*, CRC press 2004.
- [١٢] Q. Fu, H. Saltsburg, M. Flytzani-Stephanopoulos, Active nonmetallic Au and Pt species on ceria-based water-gas shift catalysts, *Science*, 301 (2003) 935-938.
- [١٣] P. Jasinski, T. Suzuki, H.U. Anderson, Nanocrystalline undoped ceria oxygen sensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 95 (2003) 73-77.
- [١٤] D.G. Shchukin, R.A. Caruso, Template synthesis and photocatalytic properties of porous metal oxide spheres formed by nanoparticle infiltration, *Chemistry of Materials*, 16 (20.٢٢٩٢-٢٢٨٧ (٠٤
- [١٥] A. Martínez-Arias, A.B. Hungría, M. Fernandez-Garcia, A. Iglesias-Juez, J. Conesa, G.C. Mather, G. Munuera, Cerium-terbium mixed oxides as potential materials for anodes in solid oxide fuel cells, *Journal of power sources*, 151 (2005) 4.٥١-٣
- [١٦] S. Yabe, T. Sato, Cerium oxide for sunscreen cosmetics, *Journal of Solid State Chemistry*, 171 (2003) 7-11.
- [١٧] R. Li, S. Yabe, M. Yamashita, S. Momose, S. Yoshida, S. Yin, T. Sato, Synthesis and UV-shielding properties of ZnO-and CaO-doped CeO₂ via soft solution chemical process, *Solid State Ionics*, 151 (2002) 235-241.
- [١٨] H. Yahiro, Y. Baba, K. Eguchi, H. Arai, High Temperature Fuel Cell with Ceria-Yttria Solid Electrolyte, *Journal of the Electrochemical Society*, 135 (1988) 2077-2080.
- [١٩] P. Zhang, Y. Ma, Z. Zhang, X. He, J. Zhang, Z. Guo, R. Tai, Y. Zhao, Z. Chai, Biotransformation of ceria nanoparticles in cucumber plants, *ACS nano*, 6 (2012) 9943-9950.
- [٢٠] F. Goubin, X. Rocquefelte, M.-H. Whangbo, Y. Montardi, R. Brec, S. Jobic, Experimental and theoretical characterization of the optical properties of CeO₂, SrCeO₃, and Sr₂CeO₄ containing Ce⁴⁺ (f₀) ions, *Chemistry of Materials*, 16 (2004) 662-669.
- [٢١] S. Patil, A. Sandberg, E. Heckert, W. Self, S. Seal, Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential, *Biomaterials*, 28 (2007) 4600-4607.
- [٢٢] F. Czerwinski, J. Szpunar, The nanocrystalline ceria sol-gel coatings for high temperature applications, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*-١٠٣ (١٩٩٧) ٩ , ١١٤
- [٢٣] M. Darroudi, M. Hakimi, M. Sarani, R.K. Oskuee, A.K. Zak, L. Gholami, Facile synthesis, characterization, and evaluation of neurotoxicity effect of cerium oxide nanoparticles, *Ceramics International*, 39 (2013) 6917-6921.

- [٢٤] M. Darroudi, S.J. Hoseini, R.K. Oskuee, H.A. Hosseini, L. Gholami, S. Gerayli, Food-directed synthesis of cerium oxide nanoparticles and their neurotoxicity effects, *Ceramics International*, 40 (2014) 7425-7430.
- [٢٥] F. Zhang, S.-W. Chan, J.E. Spanier, E. Apak, Q. Jin, R.D. Robinson, I.P. Herman, Cerium oxide nanoparticles: size-selective formation and structure analysis, *Applied physics letters*, 80 (2002) 127-129.
- [٢٦] C. Sun, H. Li, H. Zhang, Z. Wang, L. Chen, Controlled synthesis of CeO₂ nanorods by a solvothermal method, *Nanotechnology*, 16 (2005) 1454.
- [٢٧] X.-H. Liao, J.-M. Zhu, J.-J. Zhu, J.-Z. Xu, H.-Y. Chen, Preparation of monodispersed nanocrystalline CeO₂ powders by microwave irradiation, *Chemical Communications*, (2001) 937-938.
- [٢٨] H. Wang, J.-J. Zhu, J.-M. Zhu, X.-H. Liao, S. Xu, T. Ding, H.-Y. Chen, Preparation of nanocrystalline ceria particles by sonochemical and microwave assisted heating methods, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 4 (2002) 3794-3799.
- [٢٩] J.-d. Hu, Y.-x. Li, X.-z. Zhou, M.-x. Cai, Preparation and characterization of ceria nanoparticles using crystalline hydrate cerium propionate as precursor, *Materials Letters*, 28 (2007) 4989-4992.
- [٣٠] T. Yadav, O. Srivastava, Synthesis of nanocrystalline cerium oxide by high energy ball milling, *Ceramics International*, 38 (2012) 5783-5789.
- [٣١] Y. Wang, T. Mori, J.G. Li, T. Ikegami, Low-temperature synthesis of praseodymium-doped ceria nanopowders, *Journal of the American Ceramic Society*, 85 (2002) 3105-3107.
- [٣٢] S.-Y. Yao, Z.-H. Xie, Deagglomeration treatment in the synthesis of doped-ceria nanoparticles via coprecipitation route, *Journal of materials processing technology*, 186 (2007) 54-59.
- [٣٣] P. Bunpo, K. Kataoka, H. Arimochi, H. Nakayama, T. Kuwahara, Y. Bando, K. Izumi, U. Vinitketkumnuen, Y. Ohnishi, Inhibitory effects of *Centella asiatica* on azoxymethane-induced aberrant crypt focus formation and carcinogenesis in the intestines of F344 rats, *Food and Chemical Toxicology*, 42 (2004) 1987-1997.
- [٣٤] S. Maensiri, C. Masingboon, P. Laokul, W. Jareonboon, V. Promarak, P.L. Anderson, S. Seraphin, Egg white synthesis and photoluminescence of platelike clusters of CeO₂ nanoparticles, *Crystal growth & design*, 7 (2007) 950-955.
- [٣٥] V. Sankar, P. SalinRaj, R. Athira, R.S. Soumya, K.G. Raghu, Cerium nanoparticles synthesized using aqueous extract of *Centella asiatica*: characterization, determination of free radical scavenging activity and evaluation of efficacy against cardiomyoblast hypertrophy, *RSC Advances*, 5 (2015) 21074-21083.
- [٣٦] S. Deshpande, S. Patil, S.V. Kuchibhatla, S. Seal, Size dependency variation in lattice parameter and valency states in nanocrystalline cerium oxide, *Applied Physics Letters*, 87 (2005) 133113.
- [٣٧] J. Malleshappa, H. Nagabhushana, S. Sharma, Y. Vidya, K. Anantharaju, S. Prashantha, B.D. Prasad, H.R. Naika, K. Lingaraju, B. Surendra, *Leucas aspera* mediated multifunctional CeO₂ nanoparticles: Structural, photoluminescent, photocatalytic and

antibacterial properties, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 149 (2015) 452-462.

[٣٨] Q. Maqbool, M. Nazar, S. Naz, T. Hussain, N. Jabeen, R. Kausar, S. Anwaar, F. Abbas, T. Jan, Antimicrobial potential of green synthesized CeO₂ nanoparticles from *Olea europaea* leaf extract, *International journal of nanomedicine*, 11 (2016) 5015.

[٣٩] O. Benavente-Garcia, J. Castillo, J. Lorente, A. Ortuno, J. Del Rio, Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves, *Food chemistry*, 68 (2000) 457-462.

[٤٠] T. Sreekanth, G. Dillip, Y.R. Lee, *Picrasma quassioides* mediated cerium oxide nanostructures and their post-annealing treatment on the microstructural, morphological and enhanced catalytic performance, *Ceramics International*, 42 (2016) 6610-6618.

[٤١] M. Palard, J. Balencie, A. Maguer, J.-F. Hochepeid, Effect of hydrothermal ripening on the photoluminescence properties of pure and doped cerium oxide nanoparticles, *Materials Chemistry and Physics*, 120 (2010) 79-88.

[٤٢] T.N. Ravishankar, T. Ramakrishnappa, G. Nagaraju, H. Rajanaika, Synthesis and characterization of CeO₂ nanoparticles via solution combustion method for photocatalytic and antibacterial activity studies, *ChemistryOpen*, 4 (2015) 146-154.

[٤٣] J. Conesa, A. Martínez-Arias, M. Fernández-García, J. Soria, Surface structure and redox chemistry of ceria-containing automotive catalytic systems, *Research on Chemical Intermediates*, 26 (2000) 103-111.

[٤٤] U.I. Gaya, A.H. Abdullah, Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: a review of fundamentals, progress and problems, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 9 (2008) 1-12.

[٤٥] L.R. Yadav, K. Manjunath, B. Archana, C. Madhu, H.R. Naika, H. Nagabhushana, C. Kavitha, G. Nagaraju, Fruit juice extract mediated synthesis of CeO₂ nanoparticles for antibacterial and photocatalytic activities, *The European Physical Journal Plus*, 131 (2016) 154.

[٤٦] A. Morshed, M. Moussa, S. Bedair, R. Leonard, S. Liu, N. El-Masry, Violet/blue emission from epitaxial cerium oxide films on silicon substrates, *Applied physics letters*, 70 (1997) 1647-1649.

[٤٧] A. Asati, S. Santra, C. Kaittanis, S. Nath, J.M. Perez, Oxidase-like activity of polymer-coated cerium oxide nanoparticles, *Angewandte Chemie International Edition*, 48, ٢٣١٢-٢٣٠٨ (٢٠٠٩)

[٤٨] M. Zhang, C. Zhang, X. Zhai, F. Luo, Y. Du, C. Yan, Antibacterial mechanism and activity of cerium oxide nanoparticles, *Science China Materials*, (2019) 1-13.

[٤٩] T. Xia, M. Kovoichich, J. Brant, M. Hotze, J. Sempf, T. Oberley, C. Sioutas, J.I. Yeh, M.R. Wiesner, A.E. Nel, Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm, *Nano letters*, 6 (2006) 1794-1807.

[٥٠] H.-F. Lin, S.-C. Liao, S.-W. Hung, The dc thermal plasma synthesis of ZnO nanoparticles for visible-light photocatalyst, *Journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry*, 174 (2005) 82-87.

[٥١] J. Du, J.M. Gebicki, Proteins are major initial cell targets of hydroxyl free radicals, *The international journal of biochemistry & cell biology*, 36 (2004) 2334-2343.

[٥٢] S. Wang, R. Gao, F. Zhou, M. Selke, Nanomaterials and singlet oxygen photosensitizers: potential applications in photodynamic therapy, *Journal of Materials Chemistry*, 14 (2004) 493-487.

[٥٣] S.V. Kuchibhatla, A.S. Karakoti, D.R. Baer, S. Samudrala, M.H. Engelhard, J.E. Amonette, S. Thevuthasan, S. Seal, Influence of aging and environment on nanoparticle chemistry: implication to confinement effects in nanocerium, *The Journal of Physical Chemistry C*, 116 (2012) 14108-14114.

[٥٤] C. Xu, X. Qu, Cerium oxide nanoparticle: a remarkably versatile rare earth nanomaterial for biological applications, *NPG Asia Materials*, 6 (2014) e90.

[٥٥] A.S. Karakoti, P. Munusamy, K. Hostetler, V. Kodali, S. Kuchibhatla, G. Orr, J.G. Pounds, J.G. Teeguarden, B.D. Thrall, D.R. Baer, Preparation and characterization challenges to understanding environmental and biological impacts of ceria nanoparticles, *Surface and Interface Analysis*, 44 (2012) 882-889.

[٥٦] F. Pittella, R. Dutra, D. Junior, M.T. Lopes, N. Barbosa, Antioxidant and cytotoxic activities of *Centella asiatica* (L) Urb, *International journal of molecular sciences*, 10 (2009) 3713-3721.

[٥٧] D. Dutta, R. Mukherjee, M. Patra, M. Banik, R. Dasgupta, M. Mukherjee, T. Basu, Green synthesized cerium oxide nanoparticle: a prospective drug against oxidative harm, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 147 (2016) 45-53.

[٥٨] A. Arya, A. Gangwar, S.K. Singh, M. Roy, M. Das, N.K. Sethy, K. Bhargava, Cerium oxide nanoparticles promote neurogenesis and abrogate hypoxia-induced memory impairment through AMPK–PKC–CBP signaling cascade, *International journal of nanomedicine*, 11 (2016) 1159.

[٥٩] L. Fiorani, M. Passacantando, S. Santucci, S. Di Marco, S. Bisti, R. Maccarone, Cerium Oxide Nanoparticles Reduce Microglial Activation and Neurodegenerative Events in Light Damaged Retina, *PloS one*, 10 (2015) e0140387.

[٦٠] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *Journal of immunological methods*, 65 (1983) 55-63.

[٦١] L. Zhang, H. Jiang, M. Selke, X. Wang, Selective Cytotoxicity Effect of Cerium Oxide Nanoparticles Under UV Irradiation, *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 10 (2016) 286-298.

[٦٢] S. Khan, A.A. Ansari, C. Rolfo, A. Coelho, M. Abdulla, K. Al-Khayal, R. Ahmad, Evaluation of in vitro cytotoxicity, biocompatibility, and changes in the expression of apoptosis regulatory proteins induced by cerium oxide nanocrystals, *Science and Technology of advanced Materials*, 18 (2017) 364-373.

- [٦٣]L. Hasanzadeh, R.K. Oskuee, K. Sadri, E. Nourmohammadi, M. Mohajeri, Z. Mardani, A. Hashemzadeh, M. Darroudi, Green synthesis of labeled CeO₂ nanoparticles with ^{99m}Tc and its biodistribution evaluation in mice, *Life sciences*, 212 (2018) 233-240.
- [٦٤]E. Nourmohammadi, H. Khoshdel-sarkarizi, R. Nedaeinia, H.R. Sadeghnia, L. Hasanzadeh, M. Darroudi, R. Kazemi oskuee, Evaluation of anticancer effects of cerium oxide nanoparticles on mouse fibrosarcoma cell line, *Journal of cellular physiology*, 234 (2019) 4987-4996.
- [٦٥]F.S. Sangsefidi, M. Nejati, J. Verdi, M. Salavati-Niasari, Green synthesis and characterization of cerium oxide nanostructures in the presence carbohydrate sugars as a capping agent and investigation of their cytotoxicity on the mesenchymal stem cell, *Journal of cleaner production*, 156 (2017) 741-749.
- [٦٦]V. Carroll, D.W. Demoin, T.J. Hoffman, S.S. Jurisson, Inorganic chemistry in nuclear imaging and radiotherapy: current and future directions, *Radiochimica acta*, 100 (2012) 653-667.
- [٦٧]M.J. Welch, C.S. Redvanly, *Handbook of radiopharmaceuticals: radiochemistry and applications*, John Wiley & Sons 2003.
- [٦٨]E. Deutsch, M. Nicolini, H.N. Wagner, *Technetium in chemistry and nuclear medicine*, (1983).
- [٦٩]S. Roosenburg, P. Laverman, L. Joosten, M. Cooper, P. Kolenc-Peitzl, J. Foster, C. Hudson, J. Leyton, J. Burnet, W. Oyen, PET and SPECT imaging of a radiolabeled minigastrin analogue conjugated with DOTA, NOTA, and NODAGA and labeled with ⁶⁴Cu, ⁶⁸Ga, and ¹¹¹In, *Molecular pharmaceutics*, 11 (2014) 3930-3937.
- [٧٠]S. Same, A. Aghanejad, S.A. Nakhjavani, J. Barar, Y. Omid, Radiolabeled theranostics: magnetic and gold nanoparticles, *BioImpacts: BI*, 6 (2016) 169.
- [٧١]A.-Y. Wang, C.-L. Kuo, J.-L. Lin, C.-M. Fu, Y.-F. Wang, Study of magnetic ferrite nanoparticles labeled with ^{99m}Tc-pertechnetate, *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 284 (2010) 405-413.
- [٧٢]B.E. Ocampo-García, F.d.M. Ramírez, G. Ferro-Flores, L.M. De León-Rodríguez, C.L. Santos-Cuevas, E. Morales-Avila, C.A. de Murphy, M. Pedraza-López, L.A. Medina, M.A. Camacho-López, ^{99m}Tc-labelled gold nanoparticles capped with HYNIC-peptide/mannose for sentinel lymph node detection, *Nuclear medicine and biology*, 38 (2011) 111-119.
- [٧٣]E.K. Goharshadi, S. Samiee, P. Nancarrow, Fabrication of cerium oxide nanoparticles: characterization and optical properties, *Journal of colloid and interface science*, 356 (2011) 473-480.
- [٧٤]H. Gu, M.D. Soucek, Preparation and Characterization of Monodisperse Cerium Oxide Nanoparticles in Hydrocarbon Solvents, *Chemistry of Materials*, 19 (2007) 1103-1110.
- [٧٥]L. Brus, Electronic wave functions in semiconductor clusters: experiment and theory, *The Journal of Physical Chemistry*, 90 (1986) 2560-2565 (٦

[٧٦] T.V.M. Sreekanth, G.R. Dillip, Y.R. Lee, Picrasma quassioides mediated cerium oxide nanostructures and their post-annealing treatment on the microstructural, morphological and enhanced catalytic performance, *Ceramics International*, 42 (٢٠١٦) ٦٦١٨-٦٦١٠.

[٧٧] H. Lin, C.P. Huang, W. Li, C. Ni, S.I. Shah, Y.-H. Tseng, Size dependency of nanocrystalline TiO₂ on its optical property and photocatalytic reactivity exemplified by 2-chlorophenol, *Applied Catalysis B: Environmental*, 68 (2006) 1-11.

[٧٨] T.V. Surendra, S.M. Roopan, Photocatalytic and antibacterial properties of phytosynthesized CeO₂ NPs using *Moringa oleifera* peel extract, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 161 (2016) 122-128.

[٧٩] S. Kannan, M. Sundrarajan, A green approach for the synthesis of a cerium oxide nanoparticle: characterization and antibacterial activity, *International journal of nanoscience*, 13 (2014) 1450018.

[٨٠] Y.T. Chung, M.M. Ba-Abbad, A.W. Mohammad, A. Benamor, Functionalization of zinc oxide (ZnO) nanoparticles and its effects on polysulfone-ZnO membranes, *Desalination and Water Treatment*, 57 (2016) 7801-7811.

[٨١] A.A. Baqer, K.A. Matori, N.M. Al-Hada, A.H. Shaari, E. Saion, J.L.Y. Chyi, Effect of polyvinylpyrrolidone on cerium oxide nanoparticle characteristics prepared by a facile heat treatment technique, *Results in physics*, 7 (2017) 611-619.

[٨٢] W. Jiang, C. An, J. Liu, S. Wang, L. Zhao, W. Guo, J. Liu, Facile aqueous synthesis of β -AgI nanoplates as efficient visible-light-responsive photocatalyst, *Dalton Transactions*, 43 (2014) 300-305.

[٨٣] X. Wang, X. Wan, X. Xu, X. Chen, Facile fabrication of highly efficient AgI/ZnO heterojunction and its application of methylene blue and rhodamine B solutions degradation under natural sunlight, *Applied Surface Science*, 321 (2014) 10-18.

[٨٤] L. Nadjia, E. Abdelkader, B. Naceur, B. Ahmed, CeO₂ nanoscale particles: Synthesis, characterization and photocatalytic activity under UVA light irradiation, *Journal of Rare Earths*, 36 (2018) 575-587.

[٨٥] B. Choudhury, P. Chetri, A. Choudhury, Annealing temperature and oxygen-vacancy-dependent variation of lattice strain, band gap and luminescence properties of CeO₂ nanoparticles, *Journal of Experimental Nanoscience*, 10 (2015) 103-114.

[٨٦] X. Pan, M.-Q. Yang, X. Fu, N. Zhang, Y.-J. Xu, Defective TiO₂ with oxygen vacancies: synthesis, properties and photocatalytic applications, *Nanoscale*, 5 (2013) 3601-3614.

[٨٧] C.T. Campbell, C.H. Peden, Oxygen vacancies and catalysis on ceria surfaces, *Science*, 309 (20٠٥) ٧١٤-٧١٣ (٠٥).

[٨٨] F. Azeez, E. Al-Hetlani, M. Arafa, Y. Abdelmonem, A.A. Nazeer, M.O. Amin, M. Madkour, The effect of surface charge on photocatalytic degradation of methylene blue dye using chargeable titania nanoparticles, *Scientific reports*, 8 (2018) 7.١٠٤

- [^{٨٩}]S. Singh, S.-L. Lo, Single-phase cerium oxide nanospheres: an efficient photocatalyst for the abatement of rhodamine B dye, *Environmental Science and Pollution Research*, 25 (2018) 6532-6544.
- [^{٩٠}]G. Magesh, B. Viswanathan, R. Viswanath, T. Varadarajan, Photocatalytic behavior of CeO₂-TiO₂ system for the degradation of methylene blue, (2009).
- [^{٩١}]G. Ciofani, G.G. Genchi, B. Mazzolai, V. Mattoli, Transcriptional profile of genes involved in oxidative stress and antioxidant defense in PC12 cells following treatment with cerium oxide nanoparticles, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840 (2014) 495-506.
- [^{٩٢}]A. Clark, A. Zhu, K. Sun, H.R. Petty, Cerium oxide and platinum nanoparticles protect cells from oxidant-mediated apoptosis, *Journal of Nanoparticle Research*, 13 (2011) 5547.
- [^{٩٣}]S.S. Lee, W. Song, M. Cho, H.L. Puppala, P. Nguyen, H. Zhu, L. Segatori, V.L. Colvin, Antioxidant properties of cerium oxide nanocrystals as a function of nanocrystal diameter and surface coating, *ACS nano*, 7 (2013) 9693-9703.
- [^{٩٤}]S. He, Y. Feng, N. Gu, Y. Zhang, X. Lin, The effect of γ -Fe₂O₃ nanoparticles on *Escherichia coli* genome, *Environmental pollution*, 159 (2011) 3468-3473.
- [^{٩٥}]N.M. Saied, N. Mejri, R.E. Aissi, E. Benoist, M. Saidi, Preparation and biodistribution of 1-((2-methoxyphenyl) piperazine)ferrocenecarboxamide labeled with technetium-99m as a potential brain receptor imaging agent, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97 (2015) 280-288.
- [^{٩٦}]S. Vallabhajosula, R.P. Killeen, J.R. Osborne, Altered Biodistribution of Radiopharmaceuticals: Role of Radiochemical/Pharmaceutical Purity, Physiological, and Pharmacologic Factors, *Seminars in Nuclear Medicine*, 40 (2010) 220-241.
- [^{٩٧}]L. Hasanzadeh, R. Kazemi Oskuee, K. Sadri, E. Nourmohammadi, M. Mohajeri, Z. Mardani, A. Hashemzadeh, M. Darroudi, Green synthesis of labeled CeO₂ nanoparticles with ^{99m}Tc and its biodistribution evaluation in mice, *Life Sciences*, 212 (2018) 233-240.

Abstract

In this study, cerium oxide nanoparticles were prepared by biosynthesis method in the new plant extracts media from cerium nitrate hexahydrate as precursor. In these syntheses, organic molecules of plant extracts as capping agent prevent the growth and agglomeration of particles. The obtained products were characterized by various physical and chemical methods such as TGA/DTA, FESEM equipped with an energy dispersive X-ray spectrophotometer (EDX), XRD, FTIR and UV-Vis spectroscopy. Results showed the morphology of particles was spherical or uniform agglomerated which their size was below 30 nm. The change in calcination temperature and ratio of plant extract to cerium precursor had significant effect on the size and morphology of particles. Cerium oxide nanoparticles could degrade Rhodamine B dye solution under irradiation of 11 W UV light. This photocatalyst reaction accelerated in neutral conditions in comparison to acidic and basic environment. Investigation of the degradation process mechanism showed that holes are more effective than hydroxyl radical and oxygen radical anions. Cellular toxicity (MTT) test for cerium oxide nanoparticles in all concentration showed no significant toxicity on Human lung adenocarcinoma epithelial (A549) cell line. Antioxidant property of cerium oxide nanoparticles was investigated by 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFDAH2) test. Results demonstrated that these nanoparticles effectively decreased reactive oxygen species (ROS) produced by cellular metabolism. Also, type of plant extract used in the synthesis process of nanoparticles due to effect on particles size and ratio of cerium +3 to +4 can affect antioxidant property. Antibacterial property of cerium oxide nanoparticles on negative gram (*Escherichia coli*) and positive gram (*Staphylococcus aureus*) bacteria was investigated by minimum inhibitory concentration (MIC) method. Results showed that these nanoparticles had no noticeable antibacterial effect; moreover, in high concentrations they improved the growth of bacteria while in presence of UV light, cerium oxide nanoparticles not only prevented the growth of bacteria but also decreased it at about 30%. Due to evaluate bio-distribution of cerium oxide nanoparticles in rat's body, nanoparticles were labeled by radioactive Technetium (^{99m}Tc). The results of thin layer chromatography test showed that labeled nanoparticles were stable with chemical purity more than 95% in phosphate buffer (PBS) and blood serum; therefore, they were proper for *in vivo* bio-distribution studies. Bio-distribution of labeled nanoparticles in rat during 24 h shown the most accumulation of labeled nanoparticles was in kidneys and a little less in the liver.

Keywords: Green synthesis, Cerium oxide nanoparticles, Catalyst, Antibacterial, Antioxidant, Labeling, Biodistribution



**Shahrood University of
Technology**

Faculty of Chemistry

Ph.D. Thesis in inorganic chemistry

Preparation of Cerium (IV) oxide in natural substrates and investigation of their catalytic properties, cellular toxicity, and bio-distribution

By: Behrouz Elahi

Supervisors:

Dr. Mahdi Mirzaee

Dr. Majid Darroudi

Advisors:

Dr. Reza Kazemi Oskuee

Dr. Kayvan Sadri

January, 2020