

Міністерство освіти і науки України  
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
Фізичний факультет  
Кафедра фізики кристалів

«Допущено до захисту»

Оцінка «\_\_\_\_\_»

В.о. зав. кафедри фізики кристалів  
Академік НАН України,  
д-р т. наук, проф.  
Гриньов Б.В. \_\_\_\_\_  
12 червня 2025 р.

Голова ЕК:  
член-кореспондент НАН України,  
д-р фіз.-мат. наук,  
Сорокін О. В. \_\_\_\_\_  
19 червня 2025 р.

Браїлко Анна Русланівна

**Детектування перекису водню нанокристаллами  $\text{CeO}_{2-x}$  та  
комплексами  $\text{CeO}_{2-x}$  - FBS**

Кваліфікаційна робота  
на здобуття освітнього ступеня  
«Бакалавр» за спеціальністю  
104 Фізика та астрономія  
освітньо-професійна програма «фізика»

Науковий керівник – проф. кафедри фізики  
кристалів, д-р фіз.-мат. наук  
Бойко Ю. І.

Консультант – зав. лабораторії наноструктурних  
органічних матеріалів  
Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН  
України, д-р фіз.-мат. наук  
Семінько В.В.

Рецензент – чл.-кор. НАН України, заступник  
директора Інституту сцинтиляційних матеріалів  
НАН України, д-р фіз.-мат. наук, Сорокін О. В.

**Харків 2025**

## АНОТАЦІЯ

Брайло А. Р. Детектування перекису водню нанокристаллами  $\text{CeO}_{2-x}$  та комплексами  $\text{CeO}_{2-x}$  - FBS. – Рукопис.

Дипломна робота на здобуття освітньо-кваліфікаційного рівня «Бакалавр» за спеціальністю 104 Фізика та астрономія. – Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2025. – 40 ст., 13 рис., 47 джерел, 1 табл..

Дана дипломна робота присвячена дослідженню детектування перекису водню за допомогою нанокристалів оксиду церію та їх комплексів з фетальною бичачою сироваткою (FBS). Нанокристал оксиду церію є відомим завдяки своїм антиоксидантним, каталітичним та люмінесцентним властивостям, обумовленим співіснуванням іонів церію у двох валентних станах –  $\text{Ce}^{3+}$  та  $\text{Ce}^{4+}$ . Перекис водню є однією з найбільш розповсюджених форм активних форм кисню та його надлишкове накопичення може приводити до негативного впливу на клітини, тому детектування перекису водню є важливим для біомедичних застосувань.

У цій роботі ми проводимо аналіз можливостей використання люмінесцентних властивостей наночастинок оксиду церію для детектування концентрації перекису водню у водних розчинах. Показано, що використання комплексів  $\text{CeO}_{2-x}$  - FBS підвищує ефективність детектування перекису водню, значно розширюючи динамічний діапазон концентрацій, придатних до детектування.

Актуальність цієї роботи пов'язана з необхідністю розробки нових сенсорів для точного і швидкого визначення перекису водню у біологічних системах. Отримані результати допоможуть удосконалити методи у діагностиці та відкриють нові можливості для контролю рівню оксидативного стресу у біологічних системах.

Ключові слова: оксид церію, нанокристал, люмінесценція, перекис водню, сенсор.

# ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....	4
ВСТУП .....	6
1. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ДЖЕРЕЛ .....	7
1.1. Активні форми кисню та необхідність їх детектування.....	7
1.2. Рідкісноземельні іони, що використовуються для люмінесцентних сенсорів перекису водню.....	9
1.2.1. Сенсори на основі іонів $\text{Eu}^{3+}$ .....	9
1.2.2. Сенсори на основі іонів $\text{Tb}^{3+}$ .....	10
1.2.3. Сенсори на основі іонів $\text{Ce}^{3+}$ .....	12
1.3. Методи люмінесцентного детектування перекису водню за допомогою наночастинок, активованих іонами рідкісноземельних елементів .....	13
1.3.1. Зміна інтенсивності люмінесценції рідкісноземельних іонів .....	13
1.3.2. Співвідношення інтенсивностей смуг люмінесценції (ратіометрія) .....	14
1.4. Механізми гасіння люмінесценції, що забезпечують детектування перекису водню .....	16
1.4.1. Динамічне гасіння.....	16
1.4.2. Окисно-відновні процеси .....	17
1.4.3. Продукти розкладання АФК як гасники.....	18
1.5. Удосконалення чутливості та оборотності люмінесцентних сенсорів на базі наночастинок.....	20
1.5.1. Сенсibilізація люмінесценції наночастинок співактивами та органічними молекулами.....	20
1.5.2. Оборотність люмінесцентних сенсорів на базі наночастинок .....	21
1.6. Біомедичне застосування сенсорів перекису водню на основі рідкісноземельних іонів.....	23
2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	26
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ .....	28
ВИСНОВКИ.....	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	38

## СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

**Amplex Red (Invitrogen)** – назва флуоресцентного реагенту для визначення перекису водню.

**BBDC (5-Boronobenzene-1,3-dicarboxylic acid)** – 5-боронобензол-1,3-дикарбонова кислота.

**BSA (Bovine Serum Albumin)** – альбумін бичачої сироватки.

**C199 (Medium 199 with Earles' salts)** – середовище 199 з солями Ерла.

**ChOx (Cholesterol Oxidase)** – холестериноксидаза.

**CPBA (Carboxyphenylboronic Acid)** – карбоксифенілборова кислота.

**CPNPs (Coordination Polymer Nanoparticles)** – наночастинки координаційних полімерів.

**DLS (Dynamic Light Scattering)** – динамічне світлорозсіювання.

**DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)** – модифіковане середовище Ігла за Дульбекко.

**DMEM/F-12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12)** – модифіковане середовище Ігла Дульбекко/живильна суміш F-12.

**ET-1 (Endothelin-1)** – ендотелін-1.

**FBS (Fetal Bovine Serum)** – фетальна бичача сироватка.

**GDP (Guanosine Diphosphate)** – гуанозиндифосфат (ГДФ)

**Gox (Glucose Oxidase)** – глюкозооксидаза.

**Hamamatsu R9110 PMT – Photomultiplier Tube** – фотопомножувач Hamamatsu R9110.

**He-Cd laser (Helium-Cadmium Laser)** – гелій-кадмієвий лазер.

**НМТА (Hexamethylenetetramine)** – гексаметилентетрамін (ГМТА).

**HP (Hydrogen Peroxide)** – перекис водню.

**HRTEM (High-Resolution Transmission Electron Microscopy)** – трансмісійна електронна мікроскопія високої роздільної здатності.

**ICDD (International Centre for Diffraction Data)** – Міжнародний центр дифракційних даних.

**LaB6 (Lanthanum Hexaboride)** – гексаборид лантану.

**LOD (Limit of Detection)** – межа виявлення.

**MOF (Metal-Organic Frameworks)** – метал-органічні каркаси.

**NO<sub>x</sub> (Nitric Oxide Synthases)** – фермент, що бере участь у метаболізмі оксидів азоту.

**NPs (Nanoparticles)** – наночастинки (НЧ).

**OPD (o-Phenylenediamine)** – О-фенілендіамін.

**PDGF (Platelet-Derived Growth Factor)** – фактор росту, що походить від тромбоцитів.

**PMT (Photomultiplier Tube)** – фотопомножувач.

**RE (Rare Earth)** – іони рідкісноземельних елементів.

**SDL (Diffraction Grating Monochromator)** – гратчастий монохроматор.

**TA (terephthalic acid)** – терефталева кислота (ТФА).

**TEM (Transmission Electron Microscopy)** – трансмісійна електронна мікроскопія.

**XRD (X-ray Diffraction)** – рентгенівська дифракція.

**TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine)** – 3,3',5,5'-тетраметилбензидин.

**ZetaPALS/BI-MAS analyzer** – аналізатор дзета-потенціалу й динамічного світлорозсіювання.

**АФК** – активні форми кисню.

**СОД** – супероксиддисмутаза.

**УФ** – ультрафіолетове випромінювання.

## ВСТУП

Протягом останніх десятиліть нанокристали оксиду церію викликають значний інтерес з боку науковців, завдяки своїм вираженим антиоксидантним, каталітичним та люмінесцентним властивостям, що знайшли широке застосування у біомедичній галузі. Ключовим фактором, що обумовлює властивості нанокристалів оксиду церію є здатність до оборотної зміни валентності іонів церію ( $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$ ), що визначає їх ефективність щодо нейтралізації активних форм кисню (АФК), перш за все, перекису водню.

Перекис водню має важливу роль у багатьох біологічних процесах, але його надмірне накопичення може призводити до підшкоджень клітин, як наслідок, призводячи до розвитку різних патологій, наприклад, серцево-судинних та автоімунних захворювань. У зв'язку з цим, розробка нових методів детектування перекису водню є важливою для контролю рівню оксидативного стресу в організмі.

Аналіз впливу біологічних середовищ на сенсорні властивості та агрегативну стійкість нанокристалів оксиду церію, а також можливостей покращення цих властивостей при використанні нанокристалів у комплексі з фетальною бичачою сироваткою (FBS) стало основною темою цієї роботи.

Отримані результати дозволять більш широко оцінити потенціал нанокристалів оксиду церію в розробці нових технологій для контролю рівню перекису водню у біологічних системах, що може у подальшому знайти широке біомедичне застосування.

# 1. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ДЖЕРЕЛ

## 1.1. Активні форми кисню та необхідність їх детектування

Активні форми кисню, такі як перекис водню, синглетний кисень, гідроксил-радикали, супероксиданіони та оксид азоту, незамінні в біологічних системах як клітинні сигнальні молекули та імунні агенти [1-4]. Вільні радикали (АФК з неспареним електроном, таким як синглетний кисень, гідроксильні радикали або супероксиданіони) мають високу реакційну здатність і дуже короткоживучі, що робить можливим вимірювання їх рівнів тільки непрямими методами, тобто шляхом оцінки продуктів взаємодії АФК і сенсора. Сенсори, що застосовуються для виявлення вільних радикалів, варіюються від спінових пасток [5, 6] до флуоресцентних барвників [7].

Перекис водню ( $H_2O_2$ ) є найбільш стабільним видом АФК. До методів виявлення перекису водню відносяться титриметрія, електрохімічні методи, хроматографія і спектроскопія (фотометрія, хемілюмінесценція, флуоресценція і фосфоресценція) [8-10]. Найбільш широко використовуються електрохімічні методи (які можуть бути значно вдосконалені шляхом використання іммобілізованих ферментів та/або наночастинок [11, 12]) і флуоресцентні сенсори різних видів (переважно на основі органічних молекул [13, 14]). Нещодавній прогрес в отриманні наночастинок різних видів дозволив запропонувати їх як альтернативу органічним люмінесцентним сенсорам. Список наночастинок, успішно застосованих для детектування перекису водню, включає наночастинки золота [15], полімерні наночастинки з вбудованими ферментами [16], квантові точки [17], наноматеріали на основі вуглецю [18] та РЗ-активовані нанокристали. Ці наночастинки мають перевагу за рахунок більш високої стабільності та оборотності, тому, на відміну від більшості органічних сенсорів перекису водню, вони здатні до багаторазового використання. Ще однією перевагою сенсорів перекису водню на основі РЗ-

активованих наночастинок порівняно з сенсорами, заснованими на люмінесценції органічних молекул (таких як дихлордигідрофлуоресцеїн діацетат, дігідрородамін та Amplex Red (Invitrogen)) є здатність до вимірювань з роздільною здатністю в часі, оскільки органічні сенсори є необоротними і тому можуть виявляти загальну кількість перекису водню, але не зміну концентрації перекису у динаміці.

## 1.2. Рідкісноземельні іони, що використовуються для люмінесцентних сенсорів перекису водню

### 1.2.1. Сенсори на основі іонів $\text{Eu}^{3+}$

Іони  $\text{Eu}^{3+}$  найбільш широко використовуються в складі люмінесцентних метало-органічних каркасів (MOF) або органічно-неорганічних комплексів і іонів-активаторів для неорганічних наночастинок завдяки високому значенню поглинання переходів  $\text{Eu}^{3+}-\text{O}^{2-}$  і вузьким смугам люмінесценції від 560 нм до 700 нм, що відповідають електродипольним і магнітодипольним  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_J$  ( $J = 0, 1, 2, 3, 4$ ) переходам іонів  $\text{Eu}^{3+}$  (рис. 1). Крім того, червоне випромінювання іонів європію має менше перекриття з автофлуоресценцією біологічних тканин, що визначає широке використання люмінесцентних сенсорів на основі  $\text{Eu}^{3+}$  для біологічних застосувань.

Органічно-неорганічні комплекси на основі  $\text{Eu}^{3+}$  були запропоновані в якості сенсорів перекису водню в 2002 році [19]. Комплекс  $\text{Eu}^{3+}$ -тетрациклін зв'язує перекис водню, утворюючи сильно флуоресцентний комплекс ( $[\text{Eu}(\text{hp})(\text{tc})]$ ) з 15-кратним збільшенням інтенсивності світіння  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$  після додавання перекису водню. Ці сенсори були здатні виявляти перекис водню з межею виявлення (LOD) 1,8 мкМ. Іншим підходом є використання металоорганічних каркасів з іонами рідкісноземельних елементів для сенсорів перекису водню. MOF являють собою пористі структури, що складаються з іонів металів і органічних лінкерів, що забезпечують велику кількість ділянок для взаємодії з перекисом водню. Як приклад MOF на основі  $\text{Eu}^{3+}$  для детектування перекису водню можна вказати  $\text{Eu-MOF}$ , як сенсори з високою селективністю до перекису водню завдяки взаємодії перекису водню з борною групою MOF (LOD = 33,5 нМ) [20].

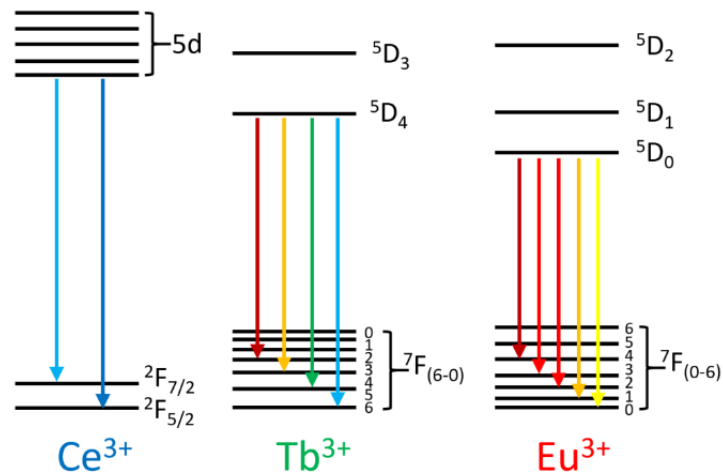


Рисунок 1. Рівні енергії іонів рідкоземельних елементів, які можуть використовуватись для детектування перекису водню (Eu<sup>3+</sup>, Tb<sup>3+</sup>, Ce<sup>3+</sup>).

Активовані іонами Eu<sup>3+</sup> наночастинки також широко використовуються як сенсори перекису водню з 2009 року, коли наночастинки YVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> були запропоновані як сенсори перекису водню, оборотність яких досягалася відновленням іонів Eu<sup>3+</sup> → Eu<sup>2+</sup> під дією УФ опромінювання після окиснення іонів Eu<sup>2+</sup> перекисом водню [21]. Сенсори перекису водню на основі наночастинок YVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> також були отримані у вигляді плівок, що можуть бути сприятливим для деяких застосувань [22]. У іншій роботі [23] було отримано наночастинки CeO<sub>2</sub>:Eu<sup>3+</sup> з каталазоподібною активністю та високою чутливістю до перекису водню (LOD = 0,15 мкМ), а також опосередкованою здатністю до детектування концентрації етанолу у розчинах (за рівнем перекису водню, що утворюється внаслідок активності відповідного ферменту).

### 1.2.2. Сенсори на основі іонів Tb<sup>3+</sup>

Сенсори перекису водню на базі Tb<sup>3+</sup> також широко представлені в літературі. Іони Tb<sup>3+</sup> мають вузькі смуги 5D<sub>4</sub> → 7F<sub>J</sub> люмінесценції в зеленій частині спектру, інтенсивність яких змінюється при взаємодії з перекисом водню (рис. 1).

У 2014 році [24] були отримані функціоналізовані координаційні полімерні наночастинки (Phe/Tb-CPBA наночастинки координаційних полімерів), засновані на хімічній координації 4-карбоксифенілборової кислоти (CPBA) з молекулами фенілаланіну, що діють як зв'язуючі ліганди, та іонами тербію. Селективна взаємодія перекису водню з борними групами CPBA забезпечила утворення 4-оксоаніонів, а УФ-індуковане внутрішньомолекулярне перенесення заряду від утвореного 4-оксо-аніону до іона тербію забезпечувало сенсibiliзацію Tb<sup>3+</sup> люмінесценції. Більш складні координаційні полімерні наночастинки складаються з гуанідифосфату (GDP), терефталевої кислоти (ТА), іонів Tb<sup>3+</sup> і Cu<sup>2+</sup> [25]. У присутності іонів перекису водню іони Cu<sup>2+</sup> каталізували окислення терефталевої кислоти, утворюючи новий флуоресцентний продукт синього кольору, а флуоресценція Tb<sup>3+</sup> використовувалася як додатковий канал детектування зміни концентрації перекису. В якості сенсорів перекису водню також були запропоновані люмінесцентні метало-органічні каркаси (MOF) з іонами Tb<sup>3+</sup>. Сенсор Tb-GMP@MIL-53(Fe) був отриманий [26] шляхом постсинтетичної модифікації MIL-53(Fe) і забезпечував ефективне детектування перекису водню з LOD = 0,18 мкМ.

Також розглядалося використання наночастинок, активованих іонами Tb<sup>3+</sup>, в якості сенсорів перекису водню [27, 28]. Були отримані [28] люмінесцентні наночастинки CePO<sub>4</sub>:Tb<sup>3+</sup> з LOD = 1,03 мкМ з люмінесцентним детектуванням перекису водню. Наночастинки CeO<sub>2</sub>: Tb<sup>3+</sup>, Ce<sup>3+</sup> [27], самоактивовані іонами Ce<sup>3+</sup> і співативовані іонами Tb<sup>3+</sup> були запропоновані як сенсори перекису водню. Іони Ce<sup>3+</sup> відігравали роль сенсibiliзаторів люмінесценції Tb<sup>3+</sup>, а отже додавання перекису водню, що призводило до окиснення Ce<sup>3+</sup> → Ce<sup>4+</sup>, знижувало інтенсивність люмінесценції іонів Tb<sup>3+</sup>, що було застосовано як механізм визначення концентрації перекису водню. Зниження ефективності перенесення енергії між іонами Ce<sup>3+</sup> і Tb<sup>3+</sup> було запропоновано як причину

індукованого перекисом водню гасіння люмінесценції домішкових іонів Tb<sup>3+</sup> і в мікростержнях NaYF<sub>4</sub>:Ce<sup>3+</sup>/Tb<sup>3+</sup> [29], але не за рахунок окиснення Ce<sup>3+</sup>→Ce<sup>4+</sup>, а в результаті сильного поглинання випромінювання Ce<sup>3+</sup> продуктом окиснення (пара-фенілендіаміном).

### 1.2.3. Сенсори на основі іонів Ce<sup>3+</sup>

Іони Ce<sup>3+</sup> можуть використовуватися не тільки як сенсори люмінесценції Tb<sup>3+</sup> в сенсорах перекису водню [29], але і як люмінесцентні зонди самі по собі. Внутрішньоконфігураційна 5d-4f люмінесценція рідкісноземельних іонів відрізняється від міжконфігураційної 4f-4f люмінесценції та характеризується широкими інтенсивними смуги з коротким часом загасання. Ce<sup>3+</sup> є єдиним рідкісноземельним іоном з 5d-4f люмінесценцією у видимому діапазоні (рис. 1).

Використання іонів Ce<sup>3+</sup> для люмінесцентного детектування перекису водню засноване на окисненні перекисом водню іонів церію (Ce<sup>3+</sup>→Ce<sup>4+</sup>). Додавання перекису водню до флуоресцентних координаційних полімерних наночастинок АТР-Ce(III)-Tris гасить їхню флуоресценцію, що дозволило застосовувати їх для детектування перекису водню з межею виявлення до 0,6 нМ [30]. Було виявлено наявність 5d-4f люмінесценції іонів Ce<sup>3+</sup> у наночастинок CeO<sub>2-x</sub> розмірами 2 нм і 10 нм, інтенсивність якої залежала від концентрації перекису водню в водних розчинах [31]. Цей факт дозволив запропонувати наночастинок CeO<sub>2-x</sub> в якості сенсорів перекису водню у водних розчинах та біологічних об'єктах.

### 1.3. Методи люмінесцентного детектування перекису водню за допомогою наночастинок, активованих іонами рідкісноземельних елементів

#### 1.3.1. Зміна інтенсивності люмінесценції рідкісноземельних іонів

Принципи люмінесцентного детектування перекису водню для більшості сенсорів на основі РЗ-активованих нанокристалів пов'язані зі зміною інтенсивності люмінесценції рідкісноземельних іонів після додавання перекису водню. Більш поширеним є гасіння смуг люмінесценції іонів рідкісноземельних елементів або самим перекисом водню, або продуктами його реакції з сенсором. Однак в деяких випадках може спостерігатися підвищення інтенсивності люмінесценції. Прикладами перших є колоїдні наночастинки  $\text{CeO}_{2-x}$  [31] і  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  [32], спектри люмінесценції яких після додавання різних концентрацій перекису водню показані на рисунку 2а і 2б, відповідно.

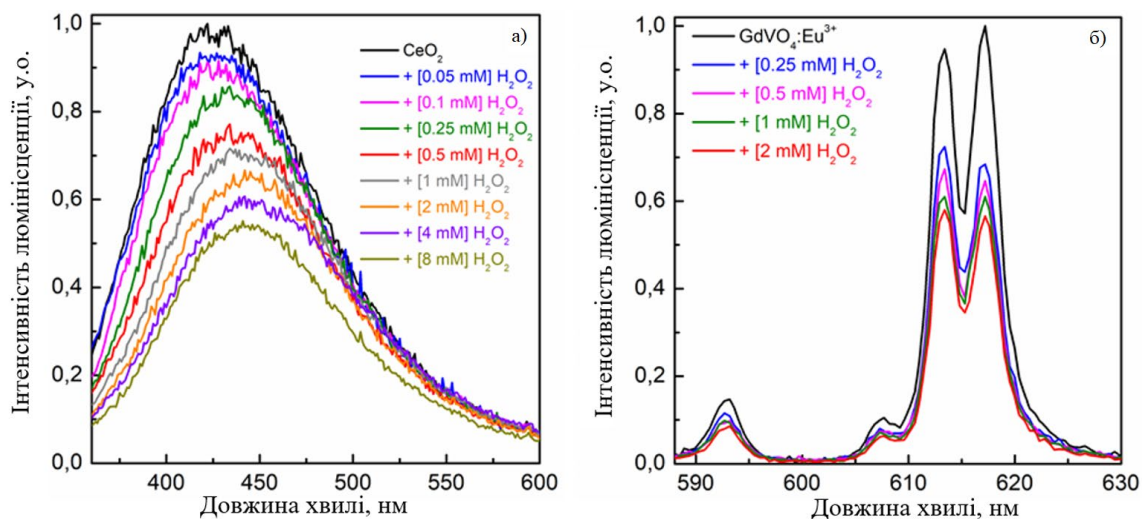


Рисунок 2. Люмінесцентне детектування концентрації перекису водню у водних розчинах методом гасіння люмінесценції домішкових іонів  $\text{Ce}^{3+}$  (а) та  $\text{Eu}^{3+}$  (б) у наночастинках  $\text{CeO}_{2-x}$  та  $\text{GdVO}_4$  відповідно.

Детектування перекису водню засноване на тому, що його додавання до водних розчинів наночастинок призводить до гасіння смуг люмінесценції рідкоземельних іонів ( $\text{Ce}^{3+}$  і  $\text{Eu}^{3+}$ , відповідно) при цьому величина зниження

інтенсивності люмінесценції безпосередньо визначається концентрацією перекису водню.

Люмінесцентні сенсори, які базуються на зростанні інтенсивності люмінесценції при додаванні перекису водню (типу комплексів  $\text{Eu}^{3+}$ -тетрациклін з 15-кратним збільшенням інтенсивності  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$  люмінесценції в результаті зв'язування перекису водню [19]) зустрічаються в літературі набагато рідше, а механізми детектування перекису водню в даному випадку більш складні.

### 1.3.2. Співвідношення інтенсивностей смуг люмінесценції (ратіометрія)

Точне вимірювання інтенсивності люмінесценції сенсорів перекису водню в реальних задачах може бути складним через необхідність складного оптичного обладнання та процедур підготовки зразків. Ратіометричні вимірювання (тобто вимірювання співвідношення двох смуг люмінесценції) можуть дати більш надійні результати щодо концентрації перекису водню у водних розчинах і біологічних зразках. Цей метод можна використовувати, коли інтенсивність однієї з смуг люмінесцентного сенсора зменшується/зростає при додаванні перекису водню, а інтенсивність іншої залишається незмінною. Зокрема, подібну схему було реалізовано [33] для змішаних зразків  $\text{CeO}_2:\text{Eu}^{3+}/\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Tb}^{3+}$ , де люмінесценція іонів  $\text{Eu}^{3+}$  у  $\text{CeO}_2$  змінювалась при додаванні перекису водню, а люмінесценція іонів  $\text{Tb}^{3+}$  у  $\text{Y}_2\text{O}_3$  була до нього нечутливою.

Інший підхід передбачає вимірювання співвідношення  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1$  і  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$  смуг люмінесценції іона  $\text{Eu}^{3+}$ , оскільки на ці смуги може по-різному впливати додавання перекису водню. Перехід  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1$  є нечутливим до симетрії оточення (як магніtodипольний перехід), тоді як перехід  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$  є чутливим до симетрії (як електродипольний перехід), тому якщо взаємодія наночастинки з перекисом водню передбачає зміну симетрії оточення РЗ іона, інтенсивність смуги  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$  може значно змінюватися щодо інтенсивності  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1$  люмінесценції.

Також був запропонований комбінований підхід [34] (використання співвідношення між цими двома переходами  $\text{Eu}^{3+}$  в гетероструктурах  $\text{REPO}_4$ - $\text{REVO}_4$ ). Можливість використання ратіометричних методів визначалася залежністю співвідношення  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1/{}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$  від концентрації перекису водню у ванадатах, а також нечутливістю цього співвідношення до концентрації перекису водню у фосфатах.

## 1.4. Механізми гасіння люмінесценції, що забезпечують детектування перекису водню

### 1.4.1. Динамічне гасіння

Одним з підходів до опису процесів детектування перекису водню шляхом гасіння люмінесценції рідкоземельних легованих нанокристалів перекису водню є опис в рамках теорії динамічного гасіння. Динамічне гасіння, за визначенням є дифузійно-опосередкованим процесом, який залежить від дифузії молекул люмінофорів та молекул гасників у середовищі. У разі динамічного гасіння концентраційна залежність інтенсивності люмінофорів описується співвідношенням Штерна-Фольмера [35]:

$$I_0/I = 1 + K_{SV}[Q],$$

де  $I_0$  — початкова інтенсивність люмінесценції до додавання гасника (тобто перекису водню),  $I$  — люмінесценція розчину для конкретної концентрації гасника  $[Q]$ ,  $K_{SV}$  — стала Штерна-Фольмера.

За умови, що графік  $I_0/I$  від  $[Q]$  є лінійним, можна визначити  $K_{SV}$ . Цей підхід був успішно використаний для нанокристалів  $\text{CePO}_4:\text{Tb}^{3+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ -активованих гетероструктур  $\text{REPO}_4\text{-REVO}_4$  [37],  $\text{Ce}^{3+}/\text{Tb}^{3+}$ -активованих  $\text{NaYF}_4$  мікростержнів та наностержнів  $\text{CePO}_4:\text{Sm}^{3+}$  [32], для яких показана лінійна залежність співвідношення  $I_0/I$  від концентрації перекису водню. (рис. 3а).

Крім зміни інтенсивності люмінесценції, в результаті взаємодії з гасником зменшується і час загасання люмінесценції іонів-активаторів. Концентраційна залежність часу загасання має вигляд:

$$\tau_0/\tau = 1 + K_{SV}[Q] = k_q\tau_0[Q],$$

де  $\tau_0$  — час загасання люмінесценції іонів-активаторів за відсутності гасника (перекису водню), а  $k_q$  — бімолекулярна константа гасіння. Таким чином,

константу Штерна-Фольмера можна визначити за зміною часу загасання люмінесценції іонів-активаторів, а не тільки за зміною інтенсивності люмінесценції.

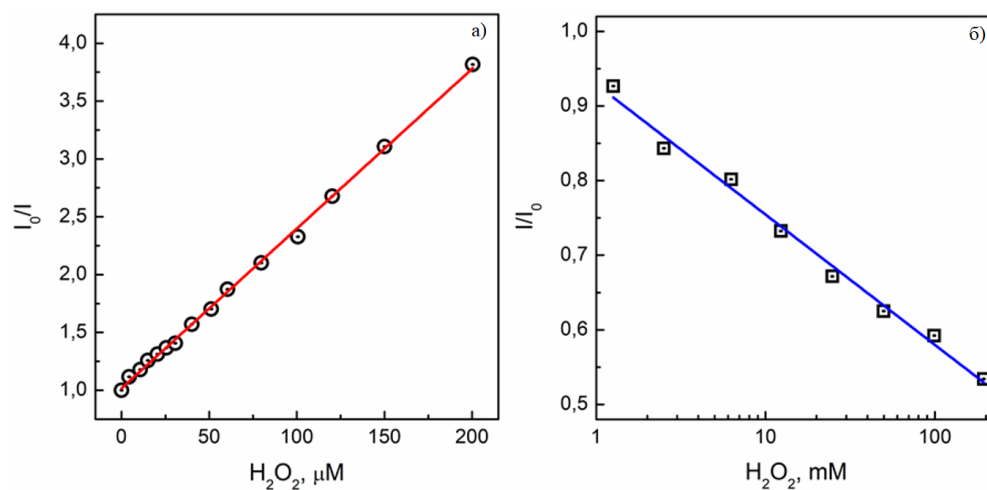


Рисунок 3. Залежності інтенсивності люмінесценції від концентрації перекису водню для різних механізмів гасіння люмінесценції перекисом водню: а) Динамічне гасіння у наночастинках  $CePO_4:Tb^{3+}$ , б) Гасіння, спричинене окисненням іонів  $Ce^{3+} \rightarrow Ce^{4+}$  у наночастинках  $CeO_{2-x}$ .

#### 1.4.2. Окисно-відновні процеси

Був запропонований ряд люмінесцентних сенсорів АФК, заснованих на окисно-відновних реакціях, що включають або окиснення, або відновлення іонів активаторів. Перекис водню може виконувати роль як окисника, так і відновника, забезпечуючи зміну ступеню окиснення іона. Наприклад, для визначення концентрації перекису водню у водних розчинах використовували реакції окиснення  $Ce^{3+} \rightarrow Ce^{4+}$  та  $Eu^{2+} \rightarrow Eu^{3+}$  [21], що супроводжувалися відповідною модифікацією спектрів люмінесценції. Ефект зменшення інтенсивності люмінесценції зі збільшенням концентрації перекису водню є загальним як для динамічного гасіння люмінесценції, так і для гасіння, викликаного окисно-відновними процесами, концентраційні залежності цих процесів різняться (рис.

3). На рисунку 3 показані концентраційні залежності для різних механізмів індукованого перекисом водню гасіння люмінесценції, а саме: динамічне гасіння для наночастинок  $\text{CePO}_4:\text{Tb}^{3+}$ , та гасіння, викликане окисненням  $\text{Ce}^{3+} \rightarrow \text{Ce}^{4+}$  в наночастинках  $\text{CeO}_{2-x}$ . В останньому випадку інтенсивність світіння була прямо пропорційна  $\lg[Q]$  (де  $[Q]$  — концентрація перекису водню в мМ) на відміну від динамічного гасіння, де відношення  $I_0/I$  було прямо пропорційно до  $[Q]$ . Чітке розмежування між цими двома механізмами детектування перекису водню можна провести шляхом вимірювання часу загасання, оскільки окиснення/відновлення частини іонів-активаторів змінює лише число випромінюючих центрів, але не швидкість випромінювання.

### 1.4.3. Продукти розкладання АФК як гасники

Треба зауважити, що деякі наночастинок є не просто сенсорами перекису водню, а й можуть брати активну участь у процесах розкладання перекису водню. Каталазоподібна (розкладання перекису водню на воду та кисень без утворення проміжних АФК) та СОД-подібна (перетворення супероксиданіонів на перекис водню) активність наночастинок оксиду церію стала предметом широких дискусій з середини 2000-х років [39, 40]. Таким чином, ідея поєднання ферментоподібних і сенсорних властивостей таких наночастинок була абсолютно природною [23]. Наночастинок  $\text{CeO}_2:\text{Eu}^{3+}$  з низькими концентраціями  $\text{Eu}^{3+}$  (менше 5 ат. %), зберігають каталазоподібну активність, забезпечуючи в той же час ефективно детектування перекису водню шляхом гасіння люмінесценції  $\text{Eu}^{3+}$ . У той же час на тих саме наночастинках ( $\text{CeO}_2:\text{Eu}^{3+}$ ) з концентрацією  $\text{Eu}^{3+}$  10 ат. % показано, що ці наночастинок зберігають сенсорні властивості щодо перекису водню, але їх антиоксидантна дія змінюється на прооксидантну.

Інтенсивність люмінесценції наночастинок, які розкладають перекис водню з утворенням гідроксил-радикалів згідно до реакції, подібною до реакції Фентона, може знижуватися в результаті дії проміжних продуктів розкладання

перекису (перш за все, гідроксил-радикалів). В результаті гідроксилювання наночастинок в процесі розкладання перекису водню має місце гасіння люмінесценції іонів-активаторів за рахунок перенесення енергії між цими іонами і гідроксильними групами.

## 1.5. Удосконалення чутливості та оборотності люмінесцентних сенсорів на базі наночастинок

### 1.5.1. Сенсibilізація люмінесценції наночастинок співактивами та органічними молекулами

Одним з головних недоліків використання іонів рідкісноземельних елементів для люмінесцентних застосувань є низьке значення молярного коефіцієнта поглинання, оскільки внутрішньоконфігураційні 4f-4f переходи заборонені правилом Лапорта. Низька ймовірність цих переходів призводить до низької інтенсивності люмінесценції, а отже, і чутливості сенсорів до перекису водню. Інтенсивність люмінесценції рідкісноземельних іонів можна збільшити шляхом сенсibilізуючого ефекту співактивів (іонів з вищими коефіцієнтами поглинання) або органічних молекул. Сенсibilізація люмінесценції РЗ іонів органічними лігандами також відома як антенний ефект і широко використовується в сенсорах на основі хелатів/MOF рідкісноземельних іонів. Так, було отримано [20] сенсор перекису водню на основі органічного каркасу Eu-MOF, в якому 5-боронобензол-1,3-дикарбонова кислота (BBDC) при поглинанні фотонів переходила у триплетний стан. Оскільки триплет-синглетні переходи цієї молекули приблизно співпадають за енергією з переходами  $\text{Eu}^{3+}$  та  $\text{Tb}^{3+}$ , люмінесцентний сигнал цих іонів збільшувався, забезпечуючи більш ефективно виявлення перекису водню. Сенсibilізацію можна досягти не лише за допомогою органічних лігандів, але й шляхом співдопування іонами з вищим значенням коефіцієнту поглинання. Сенсори на основі наночастинок  $\text{NaYF}_4$  [27, 29], спів активованих іонами  $\text{Tb}^{3+}$  та  $\text{Ce}^{3+}$  передбачають використання сенсibilізуючого ефекту іонів  $\text{Ce}^{3+}$ , які ефективно поглинають УФ-випромінювання та передають енергію збудження іонам  $\text{Tb}^{3+}$ , інтенсивність якої, у свою чергу, змінюється залежно від вмісту перекису водню.

### 1.5.2. Оборотність люмінесцентних сенсорів на базі наночастинок

На відміну від сенсорів, що базуються на люмінесценції органічних молекул (таких як діацетат дихлордигідрофлуоресцеїну, дигідрородамін та Amplex Red (Invitrogen)), сенсори на основі деяких наночастинок придатні для багаторазового використання для детектування перекису водню. Оборотність (тобто здатність відновлювати свої люмінесцентні властивості після взаємодії з перекисом водню) є одним із найважливіших параметрів сенсорів на основі наночастинок для детектування перекису водню. Відновлення початкового люмінесцентного сигналу наночастинок може бути досягнуте різними способами: додаванням відновників [37], фотовідновленням [21] або відновленням за допомогою високої температури [22]. Так, було отримано [21] наночастинки  $Y_{0.6}Eu_{0.4}VO_4$ , оборотність люмінесцентного сигналу яких досягалась фотовідновленням  $Eu^{3+} \rightarrow Eu^{2+}$  після додавання перекису водню, яке приводило до окиснення  $Eu^{2+} \rightarrow Eu^{3+}$ . Обидва ці процеси супроводжувалися відповідними змінами спектрів люмінесценції, що дозволяло виявляти концентрації перекису водню у діапазоні 1–45 мкМ. Також є варіант альтернативного підходу [37], де оборотність люмінесцентних сенсорів  $CeO_2:Eu^{3+}$  була досягнута шляхом додавання відновника (аскорбінової кислоти) після додавання перекису водню що відновлювало іони  $Ce^{4+} \rightarrow Ce^{3+}$  та, відповідно, люмінесцентний сигнал іонів  $Eu^{3+}$ . Таким чином, ці матеріали виявилися ефективними не лише як сенсори перекису водню (з регенерацією за допомогою аскорбінової кислоти), але і як сенсори аскорбінової кислоти (з регенерацією за допомогою перекису водню) [37]. В іншій роботі [22] плівки на основі  $YVO_4:Eu^{3+}$  нагрівали до 200 °С, щоб забезпечити відновлення сенсора після взаємодії з перекисом водню.

Деякі наночастинки здатні розкладати перекис водню та відновлювати свій початковий стан після завершення розкладу перекису водню, тому, як правило,

вони не потребують спеціальних методів для повернення у вихідний стан. Нанокристали оксиду церію є одними з найвідоміших наночастинок зі здатністю до саморегенерації, що визначається оборотним перемиканням валентності іонів  $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$  [44, 45]. Однак час відновлення початкової інтенсивності люмінесценції легованих іонів після додавання перекису водню у цих нанокристалах може бути занадто довгим для практичного застосування цих сенсорів. Тому збільшення швидкості відновлення люмінесцентного сигналу сенсорів на основі наночастинок може мати велике значення для низки технічних та біомедичних застосувань. Процес відновлення початкового вмісту іонів  $\text{Ce}^{3+}$  для НЧ розміром 2 нм може тривати більше 120 годин при кімнатній температурі. Однак тривалість цього процесу значно зменшується за вищих температур (з 120 годин при 22 °C до 22 годин при 37 °C та до 4,5 годин при 52 °C) (рис. 4а). Швидкість відновлення можна ще збільшити за допомогою УФ-опромінення з  $\lambda = 325$  нм (до десятків хвилин). Опромінення довжинами хвиль, що відповідають смугі поглинання оксиду церію, призводить до перенесення електрона  $\text{O}_2^- \rightarrow \text{Ce}^{4+}$ , що стимулює відновлення  $\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+}$ , і таким чином сприяє процесам відновлення інтенсивності люмінесценції іонів  $\text{Ce}^{3+}$  [36] (рис. 4б). Той самий ефект температури та УФ-випромінювання на швидкість відновлення люмінесцентного сигналу спостерігався для люмінесцентних сенсорів  $\text{CeO}_2:\text{Eu}^{3+}$  [36].

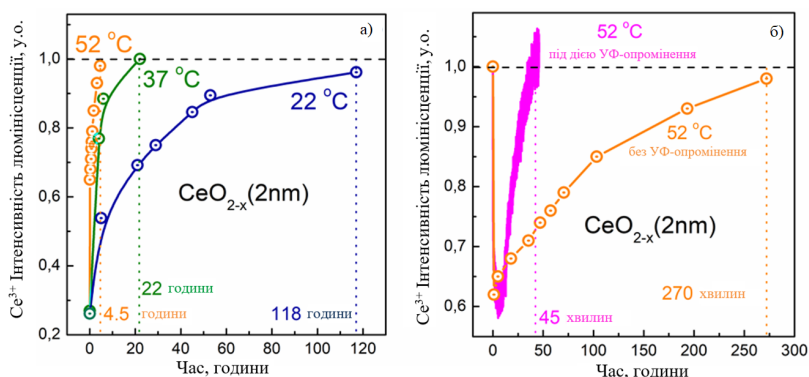


Рисунок 4. Можливі механізми покращення швидкості відновлення сенсорів на прикладі наночастинок  $\text{CeO}_{2-x}$ : а) висока температура, б) УФ-опромінення.

## 1.6. Біомедичне застосування сенсорів перекису водню на основі рідкісноземельних іонів

Найбільш перспективною областю застосування матеріалів, описаних у попередніх розділах є детектування перекису водню в біологічних об'єктах різних типів. Перекис водню є побічним продуктом різних ферментів і однією з найпоширеніших внутрішньоклітинних сигнальних молекул. Таким чином, оцінка вмісту перекису водню у живій клітині дає достовірну інформацію про різні біологічні процеси, що в ній відбуваються. Біомедичне застосування люмінесцентних сенсорів перекису водню на основі рідкоземельних іонів до теперішнього часу обмежене відносно високими значеннями мінімальних концентрацій перекису, які ці сенсори здатні детектувати. Поріг чутливості (LOD, limit of detection) для більшості сенсорів на основі наночастинок становить від 10 мкМ та вище, що є помітно вищим ніж типові концентрації перекису у більшості живих клітин. Однак деякі публікації вже повідомляють про успішне використання сенсорів на основі рідкоземельних елементів у тих біологічних клітинах, які виробляють високі концентрації перекису водню (в мікромолярному діапазоні).

Проводилось дослідження [36], де вивчили можливість використання люмінесцентних сенсорів  $\text{CeO}_2:\text{Eu}^{3+}$  у культурах бактеріальних клітин за допомогою клінічних ізолятів *Streptococcus pneumoniae* (пневмокок), які генерують велику кількість перекису водню (ВНН31 і ВНН32). Концентрації перекису водню, визначені за допомогою сенсорів  $\text{CeO}_2:\text{Eu}^{3+}$  (~250 мкМ для ВНН31 та ~250 мкМ для ВНН32), були близькі до тих, що були отримані раніше за допомогою альтернативних методів, що підтверджують надійність сенсорів.

Ще менші концентрації перекису водню були виявлені за допомогою наночастинок  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$ , які використовувалися для вимірювання перекису водню, що утворюються в сигнальних процесах [21]. Рецептори ET-1 (ендотелін-

1) та PDGF (фактор росту, що походить від тромбоцитів) інваскулярних клітин регулюють рівень перекису водню, що виробляється ферментом NOX, і відповідні значення концентрації перекису водню виявилися в діапазоні, що можна виміряти люмінесцентними сенсорами  $Y_{0.6}Eu_{0.4}VO_4$ . Вимірювання за допомогою цього сенсора дозволило виявити, що концентрація перекису водню при стимуляції рецептора PDGF досягає 7 мкМ і 13 мкМ при стимуляції рецептора ET-1.

Окрім детектування перекису водню у клітинах, люмінесцентні сенсори використовувалися для вимірювання рівню перекису водню у біологічних рідинах. Так, катіонні полімерні наночастинки Phe/Tb-CPBA використовувалися як флуоресцентний зонд для вимірювання рівня перекису водню у сечі, виявляючи концентрацію  $\sim 15$  мкМ [24].

Концентрація перекису водню, визначена за зміною люмінесцентного сигналу самої наночастинки або органічних молекул, прикріплених до поверхні цієї наночастинки, може бути використана як непрямий показник концентрації інших біологічно важливих молекул. Рівень перекису водню може бути використаний як міра вмісту антиоксидантних ферментів (каталази та супероксиддисмутази). Каталаза – це фермент, відповідальний за розкладання перекису водню на воду та кисень, тоді як супероксиддисмутаза перетворює супероксид-аніон ( $O_2^-$ ) на кисень та перекис водню. Дія обох цих ферментів змінює вміст перекису водню, зменшуючи (каталаза) або збільшуючи його (супероксиддисмутаза). Залежність інтенсивності люмінесценції комплексу  $Eu^{3+}$ -тетрациклін від вмісту перекису водню була використана для вимірювання вмісту каталази у водних розчинах. Висока чутливість цих комплексів до перекису водню ( $LOD = 1,8$  мкМ) відкриває шлях до точних вимірювань вмісту каталази ( $LOD = 0,046$  одиниць/мл) [38]. Аналогічно, комплекси  $Eu^{3+}$ -

тетрациклін використовувались для вимірювання вмісту супероксиддисмутази у водних розчинах [39].

Перекис водню є продуктом дії глюкозооксидази (GOx), яка перетворює глюкозу на глюконову кислоту та перекис водню у присутності молекулярного кисню, тому, крім визначення вмісту перекису водню, за допомогою сенсорів на основі наночастинок можна визначити вміст глюкози у водних розчинах та біологічних середовищах. За допомогою наночастинок церію, покритих флуоресцентними ДНК-зондами, було виявлено перекис водню у концентраціях до 130 нМ та глюкозу в концентраціях до 8,9 мкМ [40]. Десорбція ДНК з поверхні, індукована перекисом водню, що утворюється в реакції, каталізованій глюкозооксидазою, приводить до 20-кратного збільшення інтенсивності флуоресценції зондів [40]. Пероксидазна активність нанострижнів оксиду церію, активованих залізом, була використана для непрямого вимірювання концентрації глюкози шляхом зміни спектрів поглинання під час перекисного окислення ТМБ (3,3',5,5'-тетраметилбензидин) перекисом водню, що утворюється в реакції, каталізованій Gox [41]. Аналогічним чином [42] рівень перекису водню, що продукується холестериноксидазою (ChOx) з холестерину, визначали за допомогою перекисного окислення О-фенілендіаміну (OPD), каталізованого наночастинок  $\text{CeO}_2$ , з вуглецевими точками, що дозволяє непрямо вимірювати концентрацію холестерину.

## 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Колоїдні водні розчини нанокристалів  $\text{CeO}_{2-x}$  отримували методами колоїдного синтезу, що включають гідроліз  $\text{CeCl}_3$  у присутності гексаметилентетраміну (ГМТА). В якості вихідних реагентів використовували хлорид церію гептагідрат ( $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 99.9%, Acros organic Company), хлорид кальцію ( $\text{CaCl}_2$  безводний, 93%, Sigma Aldrich), цитрат натрію ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ , 99.0 %, “Macrokhim” Co. Ltd.), амоній гідроксид ( $\text{NH}_4\text{OH}$ , wt. 25.0 %, Sigma Aldrich,) та гексаметилентетрамін (99.0 %, “Macrokhim” Co. Ltd.). Розчин  $\text{CeCl}_3$  (200 ml, 0.008 mM) змішували з 200 мл розчину натрію цитрату  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  (0.008 M), потім додавали 400 мл ГМТА (0.08 M) і перемішували на магнітній мішалці протягом 3 год за кімнатної температури. Після цього до розчину додавали 0,7 мл  $\text{NH}_4\text{OH}$  та 1,4 мл  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Потім розчин додавали в круглодонну колбу і знову кип'ятили протягом 5 год. До отриманого розчину додавали 1M  $\text{CaCl}_2$  до помутніння розчину, доки він не став каламутним. Потім тверду фазу осаджували центрифугуванням і кілька разів промивали дистильованою водою. Після останнього етапу центрифугування до осаду додавали розчин цитрату натрію з молярним співвідношенням  $\text{CeO}_2/\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  до 1:1.

Дисперсії наночастинок були отримані в різних біологічно релевантних середовищах: DMEM/F-12, що містить L-глутамін і 15 mM HEPES (далі DMEM), Medium 199, сформульоване з солями Ерла, L-глутаміном і 25 mM HEPES (далі C199), та збалансований сольовий розчин Хенкса з кальцієм і магнієм, без фенолового червоного з pH 7,4. Білкову корону формували з використанням 10 % FBS або 6% BSA (фракція V). Спочатку колоїдні розчини наночастинок інкубували з FBS або BSA протягом 30 хвилин, а потім додавали біологічно релевантні середовища.

Розміри наночастинок  $\text{CeO}_{2-x}$  визначали за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії з високою роздільною здатністю (JEOL JEM-2100F (з

польовою емісійною гарматою Шотткі) та JEOL JEM-2100 (з ниткою LaB6)). Для визначення структури наночастинок використовували методи рентгенівської дифракції (порошковий дифрактометр Bruker D8 Discover, Cu K $\alpha$  випромінювання). Фазову ідентифікацію проводили з використанням бази даних PDF-4+ 2023 Міжнародного центру дифракційних даних ICDD.

Вплив FBS та біологічних середовищ на агрегаційну поведінку наночастинок вивчали методом динамічного світлорозсіювання (DLS) на аналізаторі ZetaPALS/BI-MAS (Brookhaven Instruments Corp., USA) з десятьма послідовними сканами на індивідуальному зразку, по 30 с кожний. Для кожного експерименту аналізовану дисперсію додавали в одноразовий полістироловий флакон і струшували перед вимірюванням інтенсивності автокореляційної функції при куті розсіювання 90°. Всі DLS аналізи проводили при 25 С°.

Зміну інтенсивності люмінесценції іонів Ce<sup>3+</sup> в наночастинках CeO<sub>2-x</sub> при взаємодії з перекисом водню вивчали за спектрами люмінесценції наночастинок, збуджених безперервно-хвильовим He-Cd лазером GKL-4UM ( $\lambda=325$  нм) і зареєстрованих за допомогою ґратчастого монохроматора SDL-1 з ФЕП Hamamatsu R9110 в режимі лічби окремих фотонів. В експериментах до 1 мл водних колоїдних розчинів НЧ CeO<sub>2-x</sub> додавали 25 мкл водних розчинів перекису водню різної концентрації. Динаміку зміни інтенсивності люмінесценції Ce<sup>3+</sup> після додавання перекису водню до водних колоїдних розчинів НЧ CeO<sub>2-x</sub> реєстрували на довжині хвилі 430 нм.

Концентрація НЧ CeO<sub>2-x</sub> у водних розчинах була однаковою в усіх експериментах і дорівнювала 0,1 г/л.

### 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Аналіз ТЕМ зображень наночастинок оксиду церію (рис. 5а) дозволяє визначити середній розмір як  $2,6 \pm 0,28$  нм. За даними рентгеноструктурного аналізу (рис. 5б) наночастинки зберігають структуру флюоритоподібного типу, характерну для об'ємного оксиду церію.

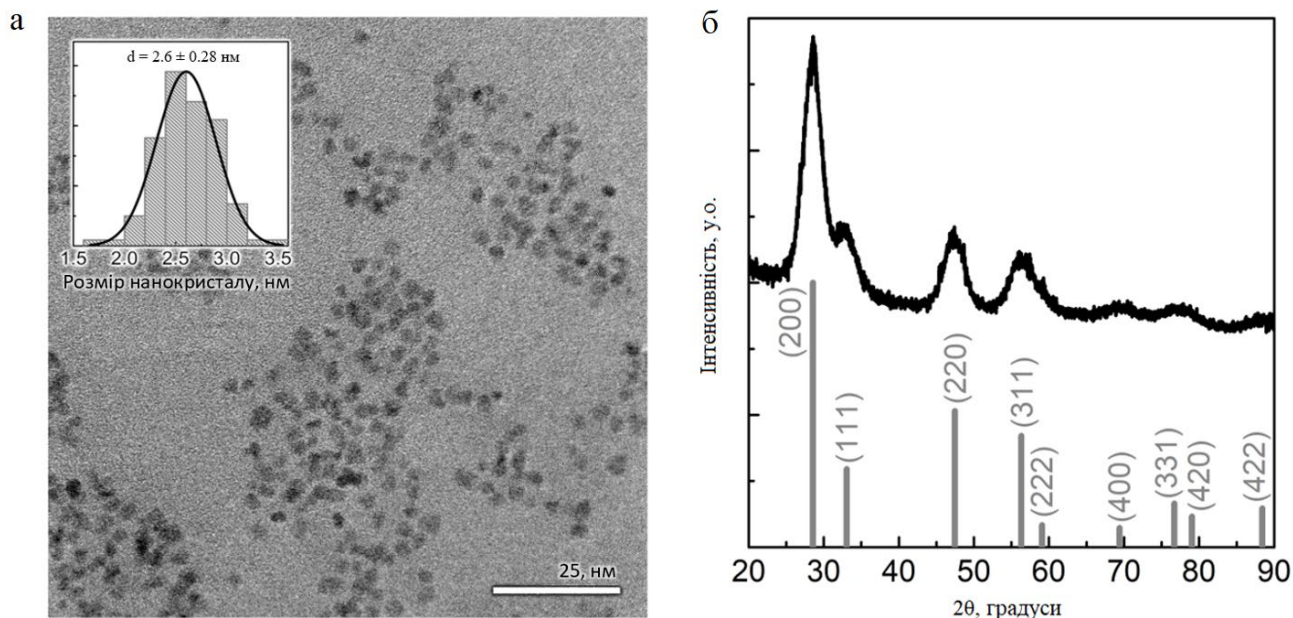


Рисунок 5. ТЕМ-зображення з розподілом за розмірами, показаним на вставці (а), та рентгеноструктурний аналіз (б) НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ .

Використання наночастинок для біологічних застосувань (включаючи як діагностичні, так і терапевтичні) вимагає врахування агрегаційної поведінки в рідинах з високою іонною силою. Наявність високих концентрацій різних іонів (таких як  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , та  $\text{Ca}^{2+}$ ) у біологічних рідинах може стимулювати агрегацію наночастинок, зменшуючи величину їхнього поверхневого заряду. Тому результати, отримані для наночастинок у водних розчинах, можуть суттєво відрізнятись від результатів у біологічному середовищі. У нашому дослідженні в якості модельних біологічних середовищ ми використовували широко застосовувані клітинні середовища (DMEM, Хенкс, та C199), іонна сила яких знаходиться в діапазоні 0,1-0,2 М, що можна порівняти з іонною силою таких

біологічних рідин, як плазма крові людини (~ 0,15 М) або внутрішньоклітинна рідина (~ 0,1 М). Ефект агрегації визначали за зміною середнього гідродинамічного діаметра наночастинок у відповідних біологічних середовищах за допомогою методів DLS. Гідродинамічний діаметр  $\text{CeO}_{2-x}$  у водному розчині (~8,1 нм) значно збільшувався в біологічних середовищах (до 599,7 нм у DMEM, 859,2 нм у середовищі Хенкса та 793,5 нм у C199). Додавання FBS (10 %) запобігає агрегації  $\text{CeO}_{2-x}$  завдяки утворенню багатошарової білкової корони, що складається з шарів глобуліну та альбуміну і забезпечує додаткове електростатичне відштовхування, а, можливо, і стеричну стабілізацію наночастинок. В результаті, додавання FBS зменшує розміри  $\text{CeO}_{2-x}$  в біологічних середовищах з високою іонною силою, в тому числі завдяки стабілізуючому ефекту білкової корони FBS (Таблиця 1).

	$\text{CeO}_{2-x}$	$\text{CeO}_{2-x}$ DMEM	$\text{CeO}_{2-x}$ Хенкс	$\text{CeO}_{2-x}$ C199
Середній гідродинамічний діаметр (нм), без FBS	8.1	599.7	859.2	793.5
Середній гідродинамічний діаметр (нм), з FBS (10 %)	195.0	217.5	195.8	202.1

Таблиця 1. Середні гідродинамічні діаметри НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  у біологічних середовищах (DMEM, Хенкс, C199) з FBS та без нього, виміряні методами DLS.

Сенсорні властивості  $\text{CeO}_{2-x}$  ґрунтуються на лінійній залежності інтенсивності люмінесценції від концентрації наночастинок у водних розчинах. Люмінесценція  $\text{CeO}_{2-x}$  формується  $5d \rightarrow 4f$  переходами іонів  $\text{Ce}^{3+}$ , присутніх в  $\text{CeO}_{2-x}$  завдяки високому рівню нестехіометрії [43]. Додавання перекису водню призводить до окиснення іонів церію  $\text{Ce}^{3+} \rightarrow \text{Ce}^{4+}$ . Такий саме ефект ми очікували

і для стабілізованих FBS НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ . У той саме час, люмінесценція FBS при збудженні з довжиною хвилі 325 нм знаходиться в тому ж діапазоні, що й люмінесценція  $\text{Ce}^{3+}$   $\text{CeO}_{2-x}$  (рис. 6а), тому присутність FBS потенційно може погіршувати сенсорні властивості  $\text{CeO}_{2-x}$ . Однак, як буде показано нижче, присутність FBS натомість помітно покращує здатність наночастинок до виявлення перекису водню.

Спектри люмінесценції НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ , стабілізованих цитратом натрію та FBS, а також FBS без НЧ наведено на рис. 6а. Було виявлено, що інтенсивність смуги люмінесценції на 430 нм для FBS-стабілізованих  $\text{CeO}_{2-x}$  значно вища, ніж інтенсивність смуг для FBS та  $\text{CeO}_{2-x}$  окремо, і не може бути інтерпретована просто як суперпозиція цих смуг. Такий самий ефект спостерігається при використанні бичачого сироваткового альбуміну (BSA), який є основною складовою FBS, замість самого FBS (рис. 6б).

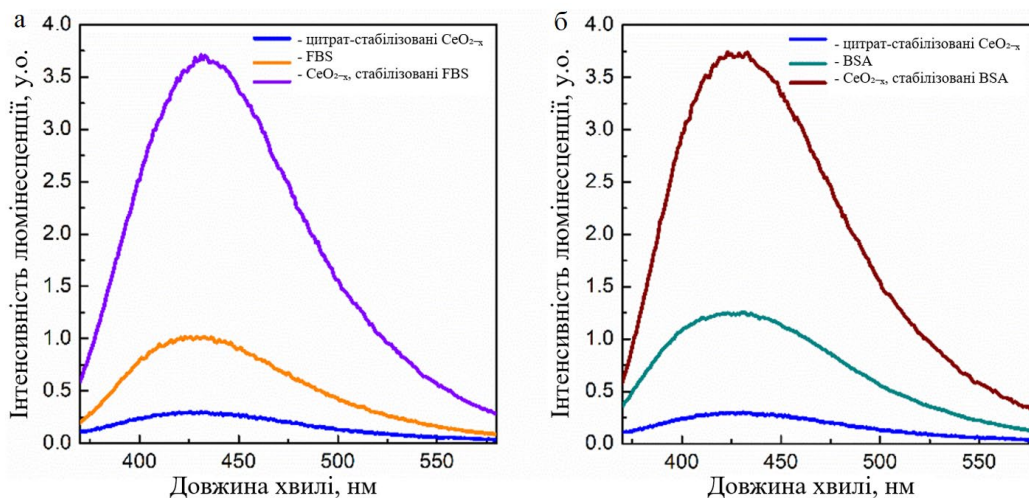


Рисунок 6. Спектри люмінесценції водних розчинів (а) цитрат-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ , FBS та FBS-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ ; (б) цитрат-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ , BSA та BSA-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ .

Вплив FBS на сенсорні властивості НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  у водних розчинах можна побачити на рис. 7. Ми порівняли ефективність детектування перекису водню цитрат-стабілізованими НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  та НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ , стабілізованими FBS. Оскільки

інтенсивність люмінесценції FBS-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  є значно вищою, ніж у НЧ, стабілізованих цитратом натрію, зміни інтенсивності люмінесценції FBS-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ , викликані мікромолярними концентраціями перекису водню, все ще можна виявити, тоді як для цитрат-стабілізованого  $\text{CeO}_{2-x}$  межа виявлення знаходиться в межах мілімолярного діапазону. Використовуючи FBS-стабілізовані НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  можна надійно детектувати концентрації перекису водню до декількох десятків мікромолей. Таким чином, динамічний діапазон сенсорів на основі FBS-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  становить від 10 мкМ до 200 мМ порівняно з 1 мМ – 200 мМ для цитрат-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ . Лінійна залежність інтенсивності люмінесценції в напівлогарифмічній шкалі, яка спостерігається для цитрат-стабілізованого  $\text{CeO}_{2-x}$  зберігається і для FBS-стабілізованого  $\text{CeO}_{2-x}$ , і ці прямі лінії навіть мають однаковий нахил (рис. 7в), що вказує на те, що механізми детектування повинні бути подібними в обох випадках.

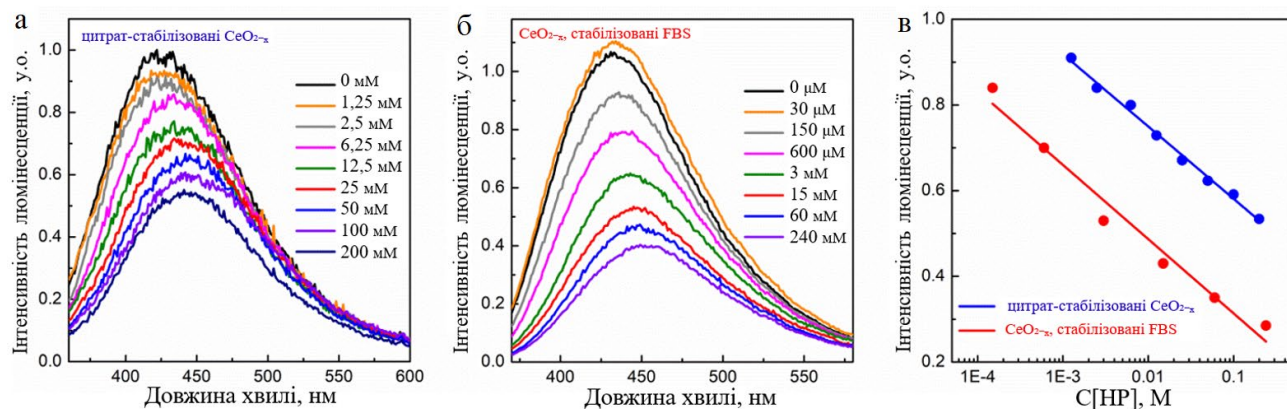


Рисунок 7. Спектри люмінесценції водних розчинів цитрат-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  (а) та FBS - стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  (б) після додавання перекису водню різної концентрації. (в) Залежності інтенсивності люмінесценції  $\text{Ce}^{3+}$  (430 нм) від концентрації перекису водню у напівлогарифмічній шкалі.

Таке ж FBS-індуковане покращення сенсорних властивостей перекису водню спостерігалось і для FBS-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  у біологічних середовищах з високою іонною силою (DMEM, Хенкс, and C199) (рис. 8). Як динамічні діапазони, так і лінійні залежності інтенсивності люмінесценції від

концентрації перекису водню були такими ж, як і для FBS-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  у водних розчинах.

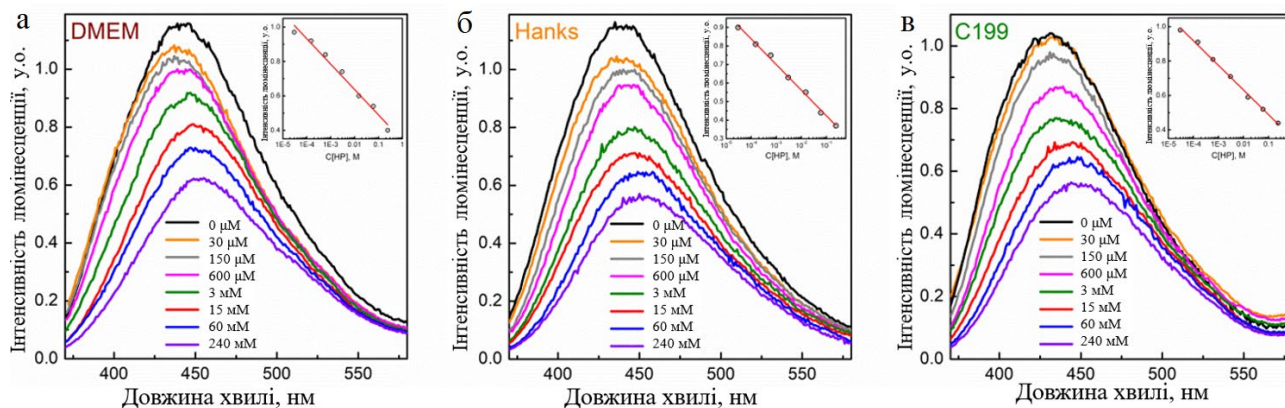


Рис. 8. Спектри люмінесценції FBS-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ : а) у середовищі DMEM, б) у середовищі Хенкса та в) у середовищі C199 після додавання різних концентрацій перекису водню. На вставках: залежності інтенсивності люмінесценції  $\text{Ce}^{3+}$  (430 нм) від концентрації перекису водню у напівлогарифмічній шкалі.

Основною перевагою сенсорів перекису водню на основі  $\text{CeO}_{2-x}$  перед сенсорами на основі органічних молекул є їхня оборотність (тобто здатність відновлювати свої люмінесцентні властивості після взаємодії з перекисом водню). Ця оборотність ґрунтується на унікальних властивостях наночастинок  $\text{CeO}_{2-x}$  як антиоксидантних агентів, що самовідновлюються, і робить сенсори на основі цих наночастинок придатними до багаторазового використання. Ми дослідили відновлення початкового сигналу люмінесценції FBS-стабілізованих  $\text{CeO}_{2-x}$  у водних розчинах та біологічних середовищах і спостерігали відновлення початкової інтенсивності люмінесценції сенсорів протягом декількох днів (повне відновлення початкової інтенсивності люмінесценції  $\text{Ce}^{3+}$  не спостерігалось лише в середовищі Хенкса через швидку деградацію самого середовища) (рис. 9).

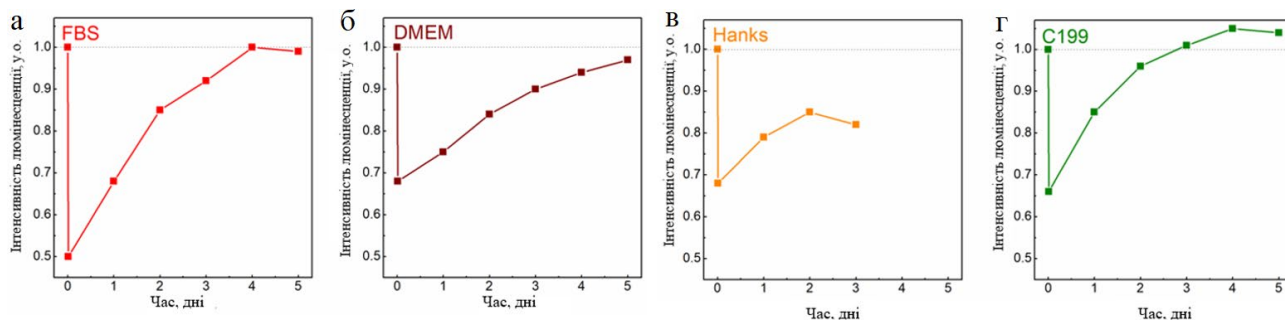


Рисунок 9. Відновлення інтенсивності люмінесценції  $\text{Ce}^{3+}$  після додавання перекису водню до FBS-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ : а) у водному розчині, б) у середовищі DMEM, в) у середовищі Хенкса та г) у середовищі C199.

Вплив FBS на агрегаційні та сенсорні властивості наночастинок  $\text{CeO}_{2-x}$  у водних розчинах та біологічних середовищах варто обговорити детальніше. Детальні дослідження процесів взаємодії різних компонентів FBS з негативно зарядженими поверхнями наночастинок  $\text{CeO}_{2-x}$  дозволили запропонувати модель багатопарової білкової корони з внутрішнім шаром, утвореним позитивно зарядженими глобулінами, і зовнішнім шаром, утвореним негативно зарядженими альбумінами. Як електростатичне відштовхування, так і стеричні сили відіграють свою роль у додатковій стабілізації наночастинок оксиду церію за допомогою FBS. Цей вплив FBS на агрегативну стабільність наночастинок є ще більш вираженим у рідинах з високою іонною силою, таких як біологічні середовища, що розглядаються в цій роботі, як видно з таблиці 1.

Ефект збільшення інтенсивності люмінесценції наночастинок  $\text{CeO}_{2-x}$ , що забезпечує підвищення чутливості сенсорів на основі наночастинок до концентрації перекису водню (рис. 6), є менш очевидним і потребує додаткового обговорення. Перш за все, слід з'ясувати природу синьої смуги люмінесценції в комплексах наночастинок  $\text{CeO}_{2-x}$  з FBS, оскільки як іони  $\text{Ce}^{3+}$  так і молекули BSA (основної складової FBS) мають люмінесценцію в одному спектральному діапазоні). Як видно з рис. 6, взаємодія FBS з наночастинами церію призводить

або до зростання інтенсивності люмінесценції  $\text{Ce}^{3+}$  або до зростання інтенсивності люмінесценції FBS. В останньому випадку такий самий ефект мав би спостерігатися і для інших наночастинок тих самих розмірів. Однак у результаті взаємодії FBS з НЧ  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  того ж розміру, що і НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ , не спостерігається збільшення інтенсивності люмінесценції (рис. 10).

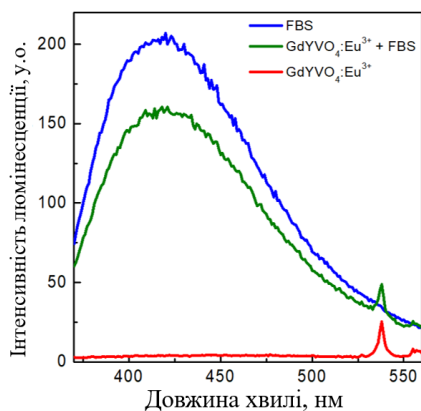


Рисунок 10. Спектри люмінесценції водних розчинів FBS, НЧ  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ , та НЧ  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  з FBS.

Динаміка зміни інтенсивності люмінесценції FBS, отримана без наночастинок (або з наночастинками, відмінними від  $\text{CeO}_{2-x}$ ) при взаємодії з перекисом водню, суттєво відрізняється від тієї, яку ми спостерігали на рис. 9. А саме, додавання перекису водню не призводить до зменшення інтенсивності люмінесценції FBS (рис. 11). Ефект відновлення інтенсивності люмінесценції  $\text{Ce}^{3+}$  при взаємодії НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  з перекисом водню пов'язаний з відомою саморегенераційною здатністю НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  (здатністю відновлювати початкове співвідношення  $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$  після розкладання АФК). Отже, поведінка цієї смуги чітко вказує на те, що вона в основному визначається збільшенням інтенсивності люмінесценції іонів  $\text{Ce}^{3+}$  з незначним впливом люмінесценції FBS.

Наступним питанням є механізм такого сильного збільшення інтенсивності люмінесценції іонів  $\text{Ce}^{3+}$  в присутності FBS. Тут також можна запропонувати кілька моделей: (1) збільшення інтенсивності люмінесценції  $\text{Ce}^{3+}$  за рахунок додаткової стабілізації наночастинок FBS; (2) антенний ефект, тобто ефективне

поглинання УФ-випромінювання молекулами FBS з подальшою передачею енергії на наночастинки оксиду церію; (3) збільшення кількості іонів  $\text{Ce}^{3+}$  в НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  за рахунок окиснення молекул FBS, що супроводжується відновленням  $\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+}$ .

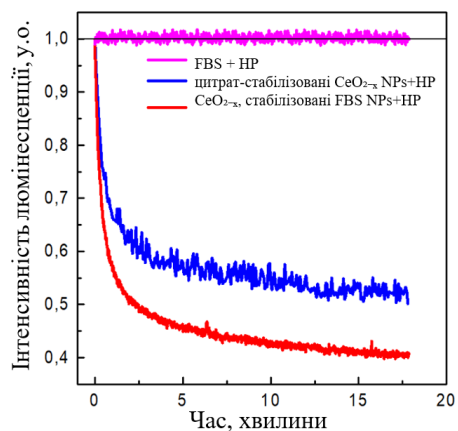


Рисунок 11. Динаміка зміни інтенсивності люмінесценції водних розчинів FBS, цитрат-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ , та FBS-стабілізованих НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  при взаємодії з перекисом водню.

Стабілізація наночастинок церію може мати певний вплив на інтенсивність люмінесценції, однак, порівнюючи інтенсивність люмінесценції стабілізованих цитратом і FBS стабілізованих  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  того ж розміру, що і НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ , ми бачимо, що на інтенсивність люмінесценції  $\text{Eu}^{3+}$  тип стабілізатора майже не впливає. Більше того, збільшення інтенсивності люмінесценції для наночастинок  $\text{CeO}_{2-x}$  при додаванні FBS було майже однаковим у водних розчинах та біологічних середовищах, незважаючи на значну різницю в агрегаційній поведінці. Отже, вплив FBS на інтенсивність люмінесценції іонів  $\text{Ce}^{3+}$  не можна пояснити лише його стабілізуючими властивостями. Подальші дослідження дозволили виключити також пояснення, що полягає в поглинанні УФ-світла молекулами FBS з наступною перенесенням енергії збудження на наночастинки церію. Перенесення енергії між донором енергії (FBS) і акцептором енергії (НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ ) мала б супроводжуватися зменшенням часу загасання донора енергії [44].

Однак криві загасання FBS з НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  та без них повністю збігаються (рис. 12), що свідчить про відсутність перенесення енергії між FBS та НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$ .

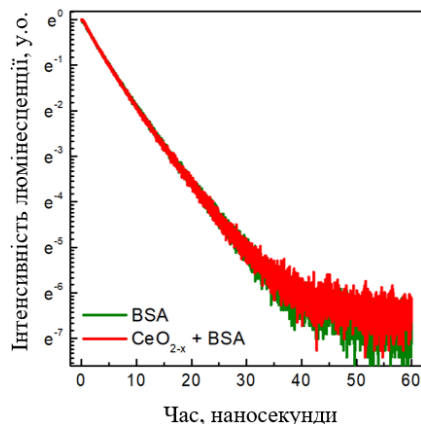


Рисунок 12. Криві розпаду FBS з НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  та без них.

Таким чином, найбільш ймовірним є механізм відновлення іонів  $\text{Ce}^{4+}$  до  $\text{Ce}^{3+}$  молекулами BSA. Відновна здатність BSA добре відома, а взаємодія іонів церію з амінокислотними залишками (насамперед, -SH-групами молекул цистеїну) забезпечує додаткове відновлення іонів  $\text{Ce}^{4+}$  до  $\text{Ce}^{3+}$  [45]. У статті [46] розглядалось підвищення оксидазної активності НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  у присутності BSA, де молекула альбуміна відіграла роль "електронного резервуару", а НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  - як "електронний насос", які спільно забезпечували передачу електронів від BSA до молекул кисню ( $\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}_2^-$ ) з подальшим посиленням окисненням субстрату. Утворення дисульфідних містків внаслідок окиснення тіольних груп BSA іонами  $\text{Ce}^{4+}$  розглядалося як один з основних чинників, що зумовлюють BSA-спрямований ріст наночастинок оксиду церію [47].

На основі всіх цих досліджень можна припустити, що вплив BSA на інтенсивність люмінесценції НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  визначається відновленням  $\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+}$ , що супроводжується окисненням функціональних груп молекул BSA.

## ВИСНОВКИ

Люмінесценція рідкоземельних іонів у неорганічних наночастинках, а також у полімерних наночастинках і MOF є чутливою до вмісту активних форм кисню (такі як перекис водню) у водних розчинах та біологічних об'єктах. Залежність інтенсивності люмінесценції/спектрального складу від концентрації перекису водню дозволила запропонувати ці матеріали як новий тип сенсорів перекису водню з підвищеною чутливістю, стабільністю та відновлюваністю порівняно з традиційними сенсорами перекису водню на основі органічних молекул. Можливі біологічні застосування сенсорів перекису водню на основі наночастинок включають оцінку сигнальних процесів, рівня оксидативного стресу та вмісту інших важливих біологічних молекул, які можуть бути непрямо визначені через вміст перекису водню в живих клітинах.

Люмінесцентні сенсори на основі FBS-стабілізованих наночастинок оксиду церію мають ряд переваг при використанні для детектування перекису водню в біологічних середовищах з високою іонною силою. Фетальна сироватка великої рогатої худоби (FBS) покращує колоїдну стабільність наночастинок оксиду церію та стимулює відновлення  $\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+}$ , що приводить до збільшення інтенсивності люмінесценції  $\text{Ce}^{3+}$  іонів у наночастинках оксиду церію. Стимульоване FBS збільшення інтенсивності люмінесценції оксиду церію забезпечує вищу чутливість до перекису водню з лінійними концентраційними залежностями від десятків мкМ до сотень мМ. Люмінесцентні сенсори на основі FBS-стабілізованих наночастинок оксиду церію є оборотними завдяки здатності НЧ  $\text{CeO}_{2-x}$  до само регенерації, що робить їх придатними для багаторазового використання в біологічних середовищах.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- <sup>1</sup> B.Halliwell, J.M.Gutteridge, Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, Oxford (2015).
- <sup>2</sup> K.Apel, H.Hirt, Annu. Rev. Plant Biol., 55, 373 (2004)
- <sup>3</sup> S. G. Rhee, Science., 312, 5782, 1882 (2006)
- <sup>4</sup> J. Lee, N. Koo, D.B. Min, Compr. Rev. Food Sci. F., 3, 1, 21 (2004)
- <sup>5</sup> G.M. Rosen, B.E. Britigan, H.J. Halpern, S. Pou, Free radicals. Biology and detection by spin trapping, Oxford University Press, Oxford (1999).
- <sup>6</sup> G.Bačić, I.Spasojević, B.Šećerov, M.Mojović, Spectrochim. Acta A, 69, 5, 1354 (2008).
- <sup>7</sup> J.Wilhelm, R.Vytášek, I.Ošťádalová, L.Vajner, Moll. Cell. Biochem., 328, 1-2, 167 (2009).
- <sup>8</sup> W.Chen, S.Cai, Q.Q.Ren, W.Wen, Y.D.Zhao, Analyst, 137, 1, 49 (2012)
- <sup>9</sup> S.G. Rhee, T. S.Chang, W.Jeong, D.Kang, Mol. Cells, 29, 6, 539. (2010)
- <sup>10</sup> H.Guo, H.Aleyasin, B.C.Dickinson, R.E.Haskew-Layton, R.R.Ratan, Cell Biosci., 4, 64, 1 (2014).
- <sup>11</sup> Y.Xiao, H.X.Ju, H. Y.Chen, Anal. Chim. Acta, 391, 1, 73(1999)
- <sup>12</sup> S. K.Ujjain, A.Das, G.Srivastava, P.Ahuja, M.Roy, A.Arya, M.Das, Biointerphases, 9, 3, 031011 (2014).
- <sup>13</sup> K.Žamojć, M.Zdrowowicz, D.Jacewicz, D.Wyrzykowski, L.Chmurzyński, Crit. Rev. Anal. Chem., 46, 3, 171 (2016).
- <sup>14</sup> L.Yuan, W.Lin, Y.Xie, B.Chen, S.Zhu, J. Am. Chem. Soc., 134, 2, 1305 (2012).
- <sup>15</sup> F.Wang, X.Liu, C.H.Lu, I.Willner, ACS Nano, 7, 8, 7278 (2013).
- <sup>16</sup> V.C Özalp, U.S.Zeydanli, A.Lunding, M.Kavruk, M.Tufan Öz, F.Eyidoğan, L.F.Olsend, H.A.Öktem, Analyst, 138, 15, 4255 (2013)
- <sup>17</sup> M.Hu, J.Tian, H.T.Lu, L.X.Weng, L.H.Wang, Talanta, 82, 3, 997 (2010).

- <sup>18</sup> Y.Song, S.Zhu, S.Xiang, X.Zhao, J.Zhang, H.Zhang, B.Yang, *Nanoscale*, 6, 9, 4676(2014).
- <sup>19</sup> O.S.Wolfbeis, A.Dürkop, M.Wu, Z.Lin, *Angew. Chem. Int. Edit.*, 41, 23, 4495 (2002).
- <sup>20</sup> Y.Cui, F.Chen, X.B.Yin, *Biosens. Bioelectron.*, 135, 208 (2019).
- <sup>21</sup> D.Casanova, C.Bouzigues, T.L.Nguyen, R.O Ramodiharilafy, L.Bouzhir-Sima,T.Gacoin, A.Alexandrou, *Nat. Nanotechnol.*, 4, 9, 581 (2009).
- <sup>22</sup> K. Motomiya, K.Sugita, M.Hagiwara, S.Fujihara, *ACS Omega*, 4, 23, 20353 (2019).
- <sup>23</sup> A. Pratsinis, G.A. Kelesidis, S. Zuercher, F. Krumeich, S.Bolisetty, R.Mezzenga, G.A.Sotiriou, *ACS Nano*, 11, 12, 12210 (2017).
- <sup>24</sup> H.Tan, C.Ma, Q.Li, L.Wang, F.Xu, S.Chen, Y.Song, *Analyst*, 139, 21, 5516 (2014).
- <sup>25</sup> X.Wu, C.Ruan, X.Zhu, L.Zou, R.Wang, G.Li, *J. Fluoresc.*, 10.1007/s10895-024-03659-z (2024).
- <sup>26</sup> Q.Cao, W.Xu, H.Lu, Q.Jia, *Microchem. J.*, 199, 109946 (2024).
- <sup>27</sup> X.Wang, D.Zhang, Y.Li, D.Tang, Y.Xiao, Y.Liu, Q.Huo, *RSC Adv.*, 3, 11 , 3623 (2013).
- <sup>28</sup> C.Lv, W.Di, Z.Liu, K.Zheng, W.Qin, *Analyst*, 139,18, 4547 (2014).
- <sup>29</sup> B.Meesaragandla, A.Verma,V.Bheemireddy, V.Mahalingam, *Chemistry Select*, 1, 15, 4927 (2016).
- <sup>30</sup> H.H.Zeng, W.B.Qiu, L.Zhang, R.P.Liang, J.D.Qiu, *Anal. Chem.*, 88, 12, 6342 (2016).
- <sup>31</sup> Y. Malyukin, V.Seminko, P.Maksimchuk, E.Okrushko, O.Sedyh, Y.Zorenko, *Opt. Mater.*, 85, 303 (2018).
- <sup>32</sup> P.Maksimchuk, K.Hubenko, M.Knupfer, V.Seminko, V.Klochkov, O.Sorokin, S.Yefimova,. *J. Mol. Liq.*, 400, 124510 (2024).
- <sup>33</sup> D.F.Henning, P.Merkl, C.Yun, F.Iovino, L.Xie, E.Mouzourakis, G.A.Sotiriou, *Biosens. Bioelectron.*, 132, 286 (2019).

- <sup>34</sup> P.C.de Sousa Filho, E.Larquet, D.Dragoe, O.A.Serra, T.Gacoin, ACS Appl. Mater. Inter., 9, 2, 1635 (2017).
- <sup>35</sup> J. R Lakowicz, Principles of fluorescence spectroscopy, Springer US, MA, Boston (2006).
- <sup>36</sup> V.Seminko, P.Maksimchuk, V.Klochkov, Y.Neuhodov, L.Demchenko, S.Yefimova, J. Phys. Chem. C, 127, 22, 10662 (2023).
- <sup>37</sup> W.Gao, J.Li, X.Zhou, Z.Zhang, Y.Ma, Y.Qu, J. Mater. Chem. C, 2, 41, 8729 (2014).
- <sup>38</sup> M.Wu, Z.Lin, O.S.Wolfbeis, Anal. Biochem., 320, 1, 129 (2003).
- <sup>39</sup> W.Weil, H.Wang, C.Jiang, Spectrochim Acta A, 70, 2, 389 (2008).
- <sup>40</sup> B.Liu, Z.Sun, P.J.J Huang, J.Liu, J. Am. Chem. Soc., 137, 3, 1290 (2015).
- <sup>41</sup> D.Jampaiah, T. Srinivasa Reddy, A.E. Kandjani, P.R.Selvakannan, Y.M. Sabri, V.E.Coyle, R.Shuklab, S. K. Bhargava, J. Mater. Chem. B, 4, 22, 3874 (2016)
- <sup>42</sup> Z.Yang, Y.Liu, C.Lu, G.Yue, Y.Wang, H.Rao, X.Wang, J. Alloy. Compd., 862, 158323.(2021).
- <sup>43</sup> V. Seminko, P. Maksimchuk, I. Bepalova, A. Masalov, O. Viagin, E. Okrushko, N. Kononets, Y. Malyukin, 2017. Defect and intrinsic luminescence of CeO<sub>2</sub> nanocrystals. Phys. Status Solidi B. 254, 1600488.  
<https://doi.org/10.1002/pssb.201600488>.
- <sup>44</sup> I.L. Medintz, N. Hildebrandt, FRET-Förster resonance energy transfer: from theory to applications, first ed., John Wiley & Sons, 2013.
- <sup>45</sup> F. Rollin-Genetet, C. Seidel, E. Artells, M. Auffan, A. Thiéry, C. Vidaud, Redox reactivity of cerium oxide nanoparticles induces the formation of disulfide bridges in thiol-containing biomolecules, Chem. Res. Toxicol. 28 (2015) 2304 – 2312.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00319>.
- <sup>46</sup> R. Wang, J. Liu, R. Fan, Y. Du, Y. Fu, X. Liu, J. Wang, Q. Wei, Y. Guo, 2024. Effect of BSA surface modification on enzyme-mimetic activity of CeO<sub>2</sub> nanozyme. Available at SSRN 4907913. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4907913>.
- <sup>47</sup> Z. Yang, S. Luo, Y. Zeng, C. Shi, R. Li, Albumin-mediated biomineralization of shape-controllable and biocompatible ceria nanomaterials, ACS Appl. Mater. Inter. 9 (2017) 6839 – 6848. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b15442>.