



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي-

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية

من إعداد: صغيري أسماء

مسعي عون عفاف

تحت عنوان :

**Preparation, characterization and bioactivity of
functionalized Zinc oxide nanoparticle by TMSEDTA**

تحضير، تشخيص والفاعلية البيولوجية لجسيمات أكسيد الزنك

ZnO النانوية المفعّل بـ TMSEDTA

نوقشت في: 2020/10/01

أمام لجنة المناقشة:

رئيسا	جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي	أستاذ محاضر أ	زيدان محمد
مقررا	جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي	أستاذ محاضر أ	أحمادي رضا
ممتحنا	جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي	أستاذ محاضر أ	خلف عبد الحميد

السنة الجامعية: 2020/2019

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"شكر و عرفان"

الحمد لله الذي أنار لنا درب العلم والمعرفة وأعاننا على أداء هذا الواجب ووفقنا في إنجاز هذا العمل فما كان ليتم إلا بفضلته وتوفيقه فأشكره شكرا عظيما يليق بجلال وجهه وعظيم سلطانه.

نتقدم بأسمى عبارات الشكر والتقدير والإمتنان إلى "**د. احمادي رضا**" على كل توجيهاته وبذله من جهد كبير طويل في مختلف مراحل إعداد هذه المذكرة وعلى نقده وملاحظاته المنهجية الأصيلة وندعو الله أن يبسر له بعلمه طريقا إلى الجنة.

كما نتقدم بالشكر الجزيل وعظيم الإمتنان إلى أساتذتنا أعضاء لجنة المناقشة الموقرين "**د. محمد زيدان**"، "**د. خلف عبد الحميد**" على تشریفنا بقبول تثنين وتقييم هذا العمل وإغناءنا باقتراحاتهم القيمة.

كما نتوجه بجزيل الشكر إلى "**صيدلية خلف**" على قبول العمل في مخبرها ومساعدتنا على إتمام عملنا التطبيقي.

الشكر موصول أيضا إلى طالبة الدكتوراه "**نرجس ممادي**" على المساعدات القيمة التي قدمتها لنا ونسأل الله أن يوفقها في رسالتها ويجعل ما قدمته لنا في ميزان حسناتها.

كما نشكر أيضا طالبة الدكتوراه "**صفاء تريعة**" على المساعدات التي قدمتها لنا.

ونشكر أيضا كل من ساهم في هذا العمل من مسؤولي المخبر البيداغوجي بكلية العلوم الدقيقة على ما قدموه لنا من مساعدات وتسهيلات.

وأخيرا نتقدم بجزيل الشكر والعرفان إلى كل من ساهم في إنجاز هذا العمل من قريب أو بعيد راجينا من المولى عز وجل أن نكون من العارفين للناس فضلهم وأن يمكننا من رد جميلهم.

وما توفيقنا إلا بالله.

المخلص:

تم في هذه الدراسة تسليط الضوء على تحضير، تشخيص وتقدير الفاعلية البيولوجية لجسيمات أكسيد الزنك ZnO النانوية المصنعة بطريقة الترسيب الكيميائية والمفعلة بـ N-(trimethoxysilylpropyl) ethylenediamine triacetic acid ZnO@TMSEDTA، ثم تشخيصها باستخدام تقنية حيود الأشعة السينية والأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه، أعطت قياسات ابعاد جسيمات اكسيد الزنك النانوية متوسط بعد حبيبي يقدر بـ 12.77 نانومتر وذو بنية بلورية سداسية من نوع Wurtzite، كما اثبتت نتائج الأشعة تحت الحمراء نجاح عملية التفعيل.

أعطت نتائج الفاعلية المضادة للبكتيريا قيم تثبيطية متفاوتة بين المتوسطة والضعيفة جدا ضد ثلاث أنواع من السلالات البكتيرية الممرضة *Escherichia coli*, *Citrobacter sp* و *Staphylococcus epidermidis*.

الكلمات المفتاحية:

أكسيد الزنك، تفعيل، ZnO@TMSEDTA، تحضير، تشخيص، الفاعلية البيولوجية.

Abstract

The present study focuses on the synthesis ,characterization and the evaluation of the antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles and functionalized zinc oxide nanoparticles with N-(trimethoxysilylpropyl) ethylenediamine triacetic acid ZnO@TMSEDTA , ZnO NPs prepared using precipitation method at low temperature. they were characterized by diffraction of X rays and Fourier transform infrared spectra (FTIR). which all concur with the successful synthesis of ZnO nanoparticles with average size of 12.77 nm as well as the efficiency of TMSEDTA grafting on ZnO.

The obtained results of the anti-bacterial activities which were effected by well diffusion method confirmed a varied inhibition values (medium to weak) between the different bacterial strains studies such as *Escherichia coli* , *Citrobacter sp* and *Staphylococcus epidermidis*.

Keywords: Zinc Oxide, ZnO@TMSEDTA, Synthesis, Antimicrobial activities, Functionalization, Characterization.

قائمة الرموز والاختصارات:

رمز الإرتباط بين المركبات	@
أنجستروم ($1\text{Å}=10^{-10}\text{m}$)	Å°
الجسيم النسخي (إنزيم يقوم بنسخ ADN)	$\text{ADN}_{\text{gyrase}}$
مجهر القوة الذرية	AFM
الحمض النووي الريبوزي الرسول	ARN_m
التركيز المولي (مول/ل)	C
وحدة معامل الإمتصاص (α)	cm^{-1}
التركيز الأدنى المثبط	CMI
القذ الحبيبي	D
الكثافة	d
متوسط القذ الحبيبي	$D_{(\text{ave})}$
المسافة البينية للمستويات hkl	d_{hkl}
الحمض النووي الريبوي منقوص الأكسجين	DNA
الاختبار البكتيري الخلوي للبول	ECBU
العرض عند نصف الارتفاع لقمة الانعراج	FWHM
المضاد الحيوي الشاهد (Gentamicine)	GEN
بكتيريا سالبة الغرام	Gram^-
بكتيريا موجبة الغرام	Gram^+
ثابت بلانك	h
قرائن ميلر	hkl
متر	m
الكتلة المولية (غ/مول)	M
التصوير بالرنين المغناطيسي	MRI
نانومتر	nm
الجسيمات النانوية	NPs

النقاوة	P
الأس الهيدروجيني	pH
مركبات الأوكسجين التفاعلية	ROS
المجهر الإلكتروني الماسح	SEM
مجهولة النوع	sp
مجهر المسح النفقي	STM
المجهر الإلكتروني النافذ	TEM
N-(trimethoxysilylpropyl) ethylenediaminetriacetic acid	TMSEDTA
طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية	UV-Vis
الحجم	V
مطيافية الإلكترونات الضوئية المحثثة بالأشعة السينية	XPS
حيود الأشعة السينية	XRD
الزنك	Zn
أكسيد الزنك	ZnO
ميكرومتر	μm
الطول الموجي التجريبي (nm)	λ_{ex}
الطول الموجي للأشعة السينية (Å) المستعملة	λ_{cukα1}
زاوية الإنعراج (°)	θ
التسخين	Δ

قائمة الفهارس

فهرس المحتويات

I.....	شكر و عرفان
II.....	الملخص:
III.....	قائمة الرموز والاختصارات:
V.....	قائمة الفهارس
VI.....	فهرس المحتويات
IX.....	فهرس الأشكال
XI.....	فهرس الجداول
1.....	المقدمة العامة

الجزء النظري

الفصل الأول: عموميات حول الجسيمات النانوية وطرق التشخيص

5.....	تمهيد:
6.....	I-1- مفاهيم عامة حول تكنولوجيا النانو:
6.....	I-1-1- تكنولوجيا النانو:
6.....	I-1-2- علم النانو:
6.....	I-1-3- مقياس النانو:
7.....	I-1-4- المواد النانوية:
7.....	I-1-4-1- تصنيف المواد النانوية:
9.....	I-1-4-2- خصائص المواد النانوية:
11.....	I-1-4-3- تحضير المواد النانوية:
12.....	I-1-5- تطبيقات النانو:
13.....	I-2- الجسيمات النانوية:
13.....	I-2-1- تصنيف الجسيمات النانوية:
13.....	I-2-1-1- الجسيمات النانوية العضوية:
14.....	I-2-1-2- الجسيمات النانوية غير العضوية:
15.....	I-2-2- تطبيقات الجسيمات النانوية في المجال الحيوي الطبي:
15.....	I-3- عموميات حول أكسيد الزنك:
15.....	I-3-1- تعريف الزنك:
16.....	I-3-1-1- خصائص الزنك الرئيسية:
16.....	I-3-1-2- الدور الحيوي للزنك:
17.....	I-3-2- تعريف أكسيد الزنك في الحالة العامة:
17.....	I-3-2-1- الخصائص البنيوية:
18.....	I-3-2-2- الخصائص العامة لأكسيد الزنك:
19.....	I-3-2-3- تطبيقات أكسيد الزنك في الحالة العامة:
19.....	I-3-3- جسيمات أكسيد الزنك النانوية:
20.....	I-3-3-1- خصائص جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO NPs:
23.....	I-3-3-2- الأهمية الطبية والحيوية:
23.....	I-3-3-3- طرق تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية:
25.....	I-4- تقنيات التحليل والتوصيف:
25.....	I-4-1- تمهيد:
25.....	I-4-2- حيود الأشعة السينية (XRD):

26	1-2-4-I-خصائص حيود الأشعة السينية :
26	2-2-4-I-مبدأ عمل جهاز حيود الأشعة السينية:
27	3-2-4-I-قانون براغ (Bragg'slaw):
27	3-4-I-مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR):
28	1-3-4-I-مبدأ مطيافية الأشعة تحت الحمراء:
28	2-3-4-I-المجهر الإلكتروني الماسح (SEM):
29	3-3-4-I-مبدأ عمل المجهر الإلكتروني الماسح (SEM):

الفصل الثاني: الفاعلية البيولوجية (عموميات حول البكتيريا)

33	II- الفاعلية المضادة للبكتيريا:
33	II-1-تعريف البكتيريا:
34	II-1-1-بنية البكتيريا:
34	II-2-1-تصنيف البكتيريا:
35	II-3-1-أنواع البكتيريا المستعملة في الدراسة:
35	II-1-3-1-Escherichia coli:
36	II-2-3-1-Staphylococcus epidermidis:
37	II-3-3-1-Citrobacter sp:
37	II-2-المضادات الحيوية:
37	II-1-2-تعريف المضادات الحيوية:
38	II-2-2-أنواع المضادات الحيوية:
38	II-1-2-2-مضادات حيوية مثبطة لنشاط الخلية البكتيرية:
38	II-2-2-2-مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية:
38	II-3-2-طرق تأثير المضادات الحيوية:
38	II-3-المقاومة البكتيرية:
39	II-3-1-آلية المقاومة البكتيرية:
39	II-3-2-طرق التعرف على حساسية ومقاومة البكتيريا للمضاد:
39	II-3-2-1-طريقة الانتشار:
40	II-4-سلم Mutai:

الجزء التطبيقي

الفصل الثالث: طرق التحضير والتشخيص (الطرق والوسائل- النتائج ومناقشتها)

44	III-1- تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps:
44	III-1-1-الأجهزة والمواد المستعملة:
45	III-2-1-طريقة التحضير:
45	III-1-2-1-التحضير:
47	III-2-2-1-الغسل والتجفيف:
48	III-2- تفعيل جسيمات ZnO ب-TMSEDTA:
48	III-1-2-الأجهزة والمواد المستعملة:
49	III-2-2-طريقة التركيب:
50	III-3-تحليل النتائج ومناقشتها:
51	III-1-3-الدراسة البنيوية:
51	III-1-1-3-انعراج الأشعة السينية:
51	III-2-1-3-طيف الانعراج الأشعة السينية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية:
53	III-3-1-3-حساب البعد الحبيبي:
54	III-2-3-مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR):

55	III-3-2-1- تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء لجسيمات أكسيد الزنك النانوية:
56	III-3-2-2- تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب ZnO@TMSEDTA:

الفصل الرابع: تقدير الفاعلية البيولوجية

60	IV- تقدير الفاعلية المضادة للبكتيريا للمركبات المحضرة:
61	IV-1- المواد وطرق العمل:
61	IV-1-1- الأجهزة والمواد المستعملة:
62	IV-1-2- السلالات البكتيرية المدروسة:
62	IV-1-3- تحضير التراكيز:
62	IV-1-4- تحضير الوسط الزراعي:
63	IV-1-5- طريقة عمل الحفر على سطح الوسط الزراعي الصلب:
63	IV-1-6- تحضير المعلق البكتيري:
63	IV-1-7- طريقة زراعة البكتيريا:
63	IV-1-8- غمر الحفر بالتراكيز المخففة للمركبات المحضرة:
63	IV-1-9- عملية الحضان:
64	IV-1-10- النتائج والمناقشة:
64	IV-1-10-1- النتائج:
66	IV-1-10-2- تفسير النتائج:
68	IV-1-10-3- نتيجة عامة:
70	خاتمة عامة
72	المراجع
79	الملاحق

- الشكل (1): أحجام الهياكل الكيميائية والبيولوجية في مقياس النانو.....7
- الشكل (2): تصنيف المواد النانوية.....8
- الشكل (3): أنواع المواد النانوية من حيث الأبعاد والشكل حيث تمثل A: طبقات نانوية أحادية البعد (1D)، B: أنابيب نانوية ثنائية البعد (2D)، C: جسيمات نانوية ثلاثية البعد (3D).....8
- الشكل (4): زيادة المساحة السطحية للمادة عند تصغير حجمها.....9
- الشكل (5): تميز مستويات الطاقة عند الحجم النانوي.....10
- الشكل (6): طرق تحضير جسيمات النانو.....12
- الشكل (7): أشكال الجسيمات النانوية العضوية وغير العضوية.....15
- الشكل (8): البنى البلورية الثلاثة لأكسيد الزنك.....17
- الشكل (9): بيئة سداسية (Wurtzite) لـ ZnO.....18
- الشكل (10): مختلف أشكال هياكل البنى النانوية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية.....20
- الشكل (11): تغير الانبعاث بتغير طول موجة الإثارة.....21
- الشكل (12): توزيع أيونات Zn^{+2} في النظام البيولوجي.....22
- الشكل (13): أهم الطرق لتحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية.....24
- الشكل (14): رسم تخطيطي يوضح كيفية عمل جهاز حيود الأشعة السينية.....26
- الشكل (15): انعراج الأشعة السينية في المستويات الذرية.....27
- الشكل (16): إمتصاص الأشعة تحت الحمراء.....28
- الشكل (17): رسم تخطيطي مبسط يبين الأقسام الرئيسية للمجهر الإلكتروني الماسح.....29
- الشكل (18): تفاعل الإشعاع الإلكتروني والمادة.....30
- الشكل (19): الأشكال الرئيسية للبكتيريا.....33
- الشكل (20): رسم تخطيطي يوضح بنية الخلية البكتيرية.....34
- الشكل (21): بكتيريا *Escherichia coli*.....36
- الشكل (22): بكتيريا *Staphylococcus epidermidis*.....36
- الشكل (23): بكتيريا *Citrobacter sp*.....37
- الشكل (24): قطر منطقة التثبيط للبكتيريا.....40

- الشكل (25): تحضير محلول خلات الزنك ثنائي الهيدرات..... 45
- الشكل (26): تحضير محلول هيدروكسيد الأمونيوم..... 46
- الشكل (27): التركيب التجريبي لعملية تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية..... 47
- الشكل (28): تفعيل جسيمات أكسيد الزنك النانوية بـ TMS-EDTA..... 49
- الشكل (29): رسم تخطيطي يوضح كيفية ارتباط المركب TMS-EDTA على سطح جسيمات أكسيد الزنك النانوية..... 50
- الشكل (30): جهاز حيود الأشعة السينية (XRD)..... 51
- الشكل (31): طيف انعراج الأشعة السينية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية المحضر بطريقة الترسيب الكيميائية..... 52
- الشكل (32): جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR)..... 55
- الشكل (33): طيف الأشعة تحت الحمراء لجسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO المحضرة بطريقة الترسيب..... 56
- الشكل (34): يوضح طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب ZnO@TMS-EDTA..... 56
- الشكل (35): مخطط توضيحي لتقدير الفاعلية التثبيطية لجسيمات ZnO@TMS-EDTA / ZnO Nps على السلالات البكتيرية بطريقة الانتشار بالبئر..... 60
- الشكل (36): أقطار التثبيط بالمليمتر للعينات Z..... 65
- الشكل (37): أقطار التثبيط بالمليمتر للعينات T..... 65
- الشكل (38): الآليات المميزة لجسيمات أكسيد الزنك النانوية للقضاء على البكتيريا..... 67

- الجدول (1): تبين الزاوية 2θ والمستويات البلورية لكل قمة على التوالي..... 52
- الجدول (2): الحجم الحبيبي لكل المستويات البلورية لمركب ZnO المحضر حسب معادلة ديبيي شيرر... 54
- الجدول (3): السلالات البكتيرية المدروسة..... 62
- الجدول (4): التراكيز المحضرة للجسيمات النانوية..... 62
- الجدول (5): الأقطار التثييطية للمضاد الحيوي Gentamicine ضد السلالات البكتيرية المدروسة..... 64
- الجدول (6): الأقطار التثييطية للأنواع البكتيرية الناتجة عن مختلف تراكيز لعينات T و Z..... 64

المقدمة العامة

المقدمة العامة:

خلال العقود الماضية ظهرت اتجاهات جديدة للبحث العلمي الحديث والمعروفة على نطاق واسع باسم "علم وتكنولوجيا النانو" حيث تتضمن القدرة على تصنيع مواد ذات خصائص جديدة أو محسنة والتي يتم التحكم في ميزاتها على مستوى النانومتر. قد تشمل هذه الخصائص القوة، التوصيل الكهربائي والحراري، الاستجابة البصرية، المرونة، مقاومة التآكل كذلك في الميدان الحيوي والطبي مع خصائص علاجية خاصة ضد الخلايا السرطانية^[1]. ومنذ ذلك الحين أخذت "تكنولوجيا النانو" اهتمام كل العلماء والباحثين^[2] لنفوذها العميق في جميع التخصصات وانعكاساتها على مختلف المجالات العلمية ذات أهمية مثل: الهندسة، الفيزياء، الكيمياء، علوم المواد والبيولوجيا الطبية. وبسبب الخصائص الجديدة للمواد النانوية التي تم اكتشافها على سبيل المثال، يمكن استخدام الجسيمات النانوية في المحفزات والطلاءات الوظيفية وتوصيل الأدوية والطب الحيوي... هذه الأبحاث في العلوم والتكنولوجيا النانوية لا تزال في بداياتها ونتائجها العلمية متسارعة في شتى المجالات^[3].

جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO NPs هي نوع شائع من الجسيمات النانوية المحتوية على الزنك والتي اكتسبت اهتمامًا متزايدًا في الأبحاث البيولوجية بسبب سُميتها المنخفضة والتوافق البيولوجي النشاط الحيوي والاستقرار الكيميائي^{[4][5][6]}.

ونظرا لأهميتها وتكملة للأبحاث السابقة تم تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية بطريقة الترسيب الكيميائية وتفعيلها بـ TMSEDTA نظرا لأهميته لأنه مركب مخلبي قد يساعد على زيادة وتحسين الفاعلية البيولوجية ثم تشخيصها ودراسة الفاعلية البيولوجية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO NPs وجسيمات المركب ZnO@TMSEDTA على عدة سلالات بكتيرية ممرضة ومقارنة النتائج.

حيث قسمت هذه الدراسة إلى جزئين:

▪ الجزء النظري: يضم فصلين

الفصل الأول: تمحور هذا الفصل حول مفاهيم عامة في تكنولوجيا النانو، أيضا دراسة نظرية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية من حيث بنيتها وخصائصها وتطبيقاتها بالإضافة إلى طرق التحضير والتشخيص.

الفصل الثاني: والذي شمل محتواه عموميات حول البكتيريا المدروسة.

▪ الجزء العملي: يضم فصلين

الفصل الثالث: تم في هذا الفصل تحديد طرق تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية وطريقة تفعيلها بواسطة TMS EDTA وتأكيد بنيتها بطرق التحليل الطيفية ومناقشة النتائج المتحصل عليها.

الفصل الرابع: تضمن هذا الفصل الفاعلية البيولوجية المضادة للبكتيريا لجسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO NPs وجسيمات المركب ZnO@TMS EDTA لثلاث سلالات بكتيرية ممرضة باستخدام طريقة الانتشار بالحفر.

وفي الأخير خاتمة تلخص النتائج المتحصل عليها.

الجزء النظري

الفصل الأول

عموميات حول الجسيمات النانوية وطرق التشخيص

تمهيد:

تعد تكنولوجيا النانو أهم تطور وابتكار حدث في النصف الأخير من القرن العشرين^[7]، حيث أصبحت في طليعة العلوم الأكثر أهمية وإثارة^[8] وما يميز تكنولوجيا النانو أنها الحد الفاصل بين الذرات والجزيئات والعالم الكبير. وتعود فكرتها للعالم ريتشارد فاينمان عندما أشار لأول مرة إلى "وجود غرف كثيرة في الأسفل"، حيث أشار إلى أن تصميم المواد ذرة تلو الأخرى هو احتمال حقيقي لأنه لن ينتهك أي قوانين فيزيائية. فما تقدمه التكنولوجيا النانوية هي القدرة على صنع كل ما يتخيله الإنسان بتكلفة أقل وجودة أعلى بحجم النانو في جميع مجالات العلوم^{[9][10][11]}.

I-1-1- مفاهيم عامة حول تكنولوجيا النانو:

I-1-1-1- تكنولوجيا النانو :

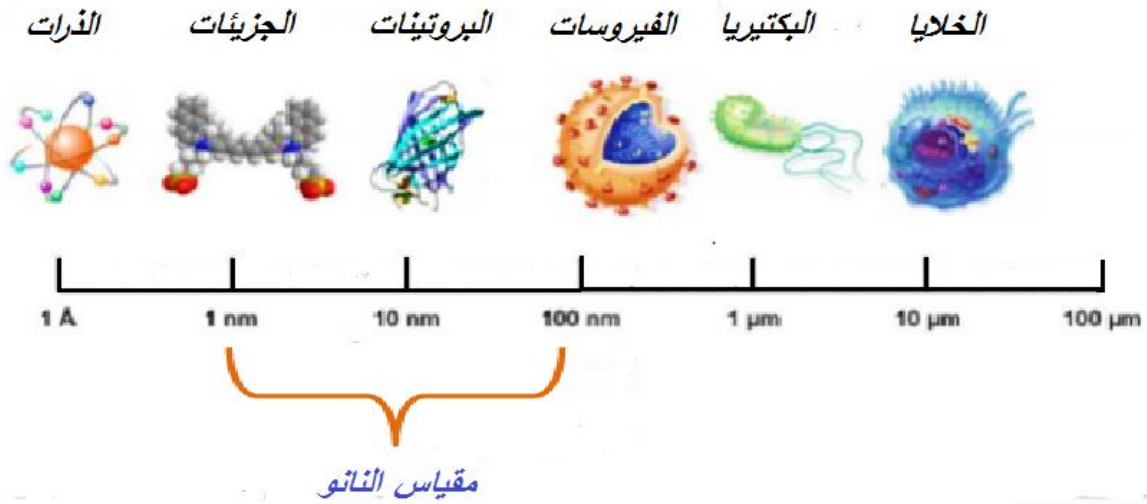
إن وضع تعريف محدد لتكنولوجيا النانو يعد أمراً أكثر صعوبة وذلك لان التعاريف المطروحة تختلف باختلاف طبيعة التعامل معها نظراً لتشعبها ودخولها في جميع المجالات التطبيقية المختلفة^{[8][9]}، لكن يمكن اعتبارها أنها تطوير للعلوم الموجودة وذلك على مستوى النانو أو كتحسين للعلوم الحالية باستخدام تقنيات حديثة جديدة^[11] وتعرف أيضاً تكنولوجيا النانو بالتطبيق العلمي "علم النانو" لإنتاج المواد ذات مواصفات جديدة محددة ومخطط لها^{[12][13]}.

I-1-2- علم النانو :

هو دراسة للظواهر ومعالجة المواد (تصميم وتصنيع الجزيئات والمركبات) التي أبعادها ضمن مدى المقياس النانوي، بحيث تختلف الخصائص الفيزيائية والكيميائية (مثل زيادة القوة أو التفاعل الكيميائي أو الموصلية التي تتيح تطبيقات جديدة) بشكل كبير عن تلك التي على مقياس أكبر (الميكرو)^{[7][9][14]}.

I-1-3- مقياس النانو :

تحدد الكلمة اليونانية "نانو" مادة تم تصغير حجمها إلى 10^{-9} nm وهو أصغر 1000 مرة من $1\mu\text{m}$ ^[15]. ويعرف مقياس النانو المكان الذي يتم فيه تحديد خصائص الأجسام الأكثر شيوعاً فوق مقياس الذرة مباشرة. تحتوي المواد في مقياس النانو على بُعد واحد على الأقل (الارتفاع والطول والعمق) يتراوح بين 1 إلى 999 نانومتر (1-999 nm)^[16] الشكل (1).



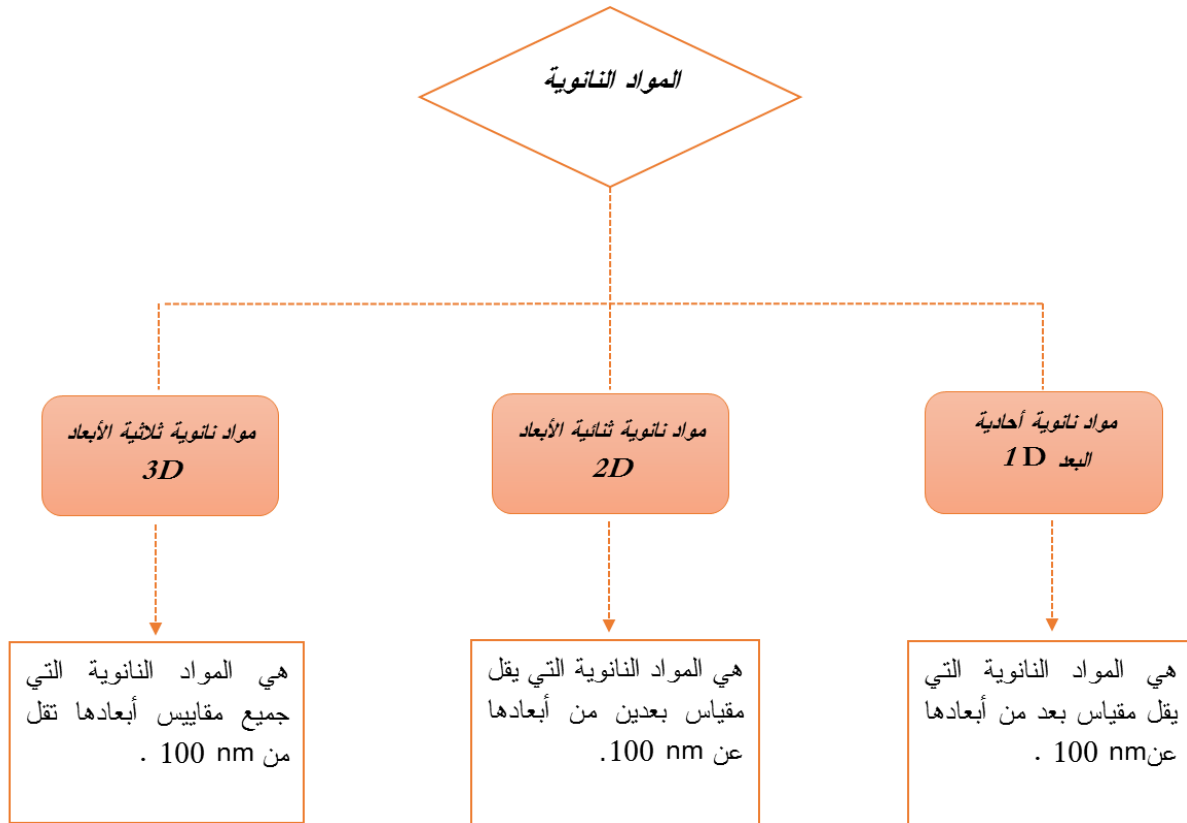
الشكل(1): أحجام الهياكل الكيميائية والبيولوجية في مقياس النانو [14].

I-1-4-المواد النانوية :

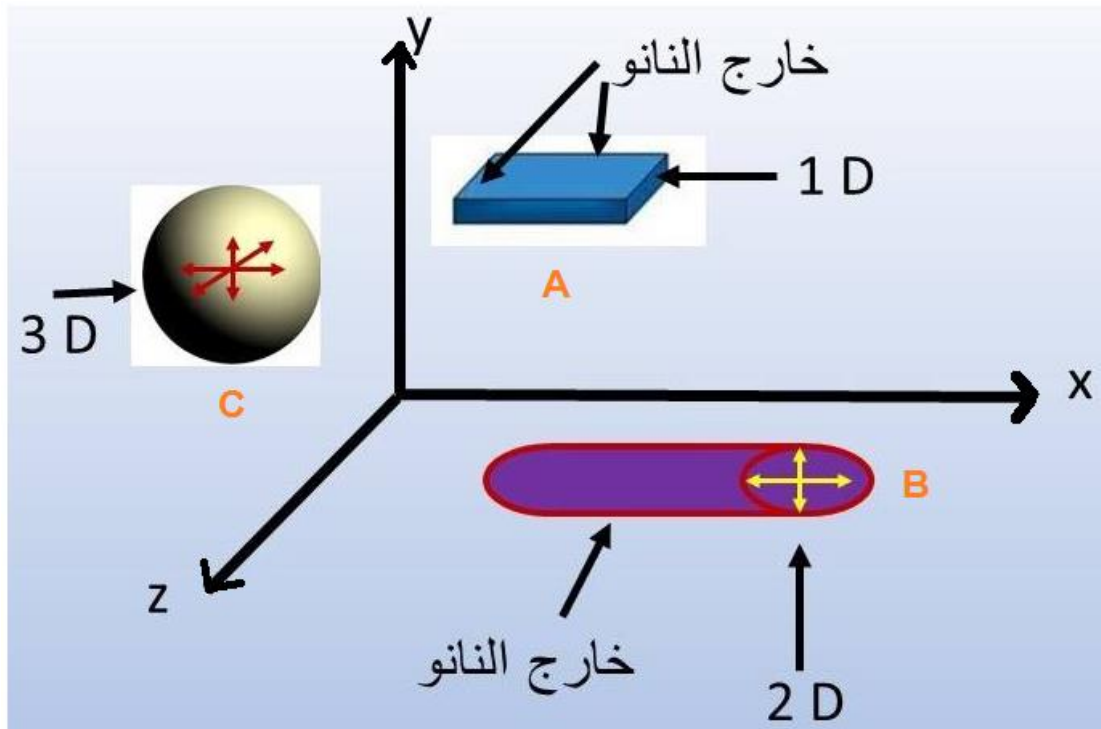
هي مواد ذات أبعاد (واحدة على الأقل) على مقياس النانو، أي أقل من 100 نانومتر وقد أدى صغر أحجام هذه المواد أن تختلف صفاتها عن المواد الأكبر حجماً (أكبر من 100 نانومتر) ، وتتنوع المواد النانوية من حيث طبيعة مصدرها: طبيعية أو مصنعة وقد تكون مواد عضوية أو غير عضوية [9][17].

I-1-4-1- تصنيف المواد النانوية :

تصنف المواد النانوية بحسب عدد الأبعاد (تحتوي على بعد واحد على الأقل طول ارتفاع عمق) في مقياس النانو إلى:



الشكل(2): تصنيف المواد النانوية [17].



الشكل(3): أنواع المواد النانوية من حيث الأبعاد والشكل حيث تمثل: **A**: طبقات نانوية أحادية

البعد(1D)، **B**: أنابيب نانوية ثنائية البعد(2D)، **C**: جسيمات نانوية ثلاثية البعد(3D) [19].

I-1-4-2-خصائص المواد النانوية:

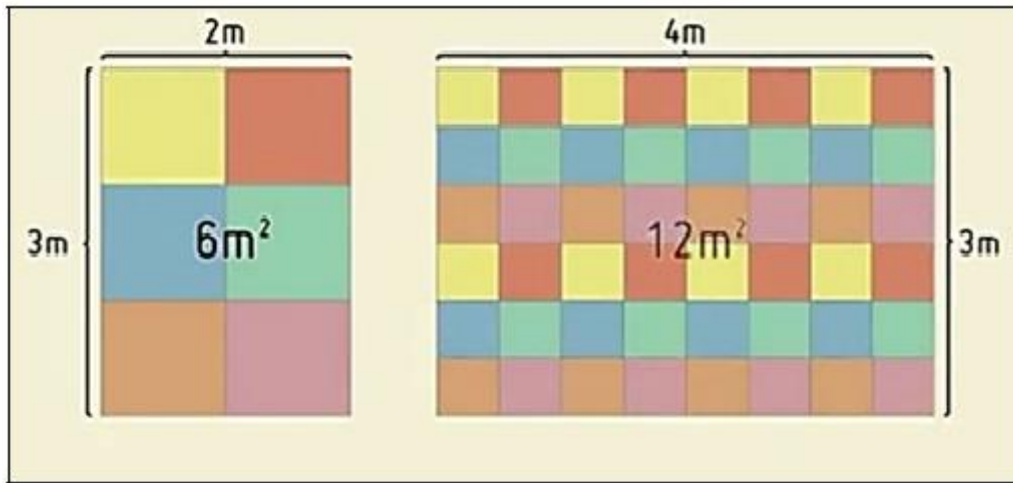
في المقياس النانوي تختلف الخصائص الميكانيكية، الفيزيائية، الكيميائية والبيولوجية للمواد النانوية اختلافاً جوهرياً^[18] ومن الأسباب الرئيسية في هذا الاختلاف:

❖ زيادة المساحة السطحية:

زيادة المساحة السطحية للمواد عند تصغيرها للحجم النانوي تعني زيادة عدد الذرات المتواجدة على السطح، مما يزيد من نشاطها الكيميائي وذلك لأن التفاعلات الكيميائية تحدث عند السطح.

❖ التأثير الكمي:

نظراً لأبعادها الصغيرة التي تقترب من الأبعاد الذرية لا تخضع لقوانين الفيزياء الكلاسيكية، لذلك فإنها تخضع لقوانين فيزياء الكم والتي تنعكس على خواصها^[19].



الشكل(4): زيادة المساحة السطحية للمادة عند تصغير حجمها^[19].

وتعد هاتين الخاصيتان هي المسؤولة على العديد من الخصائص الجديدة والفريدة، حيث تحافظ المواد على خصائصها على مستوى الميكرومتر، لكن مع انخفاض حجمها إلى مستوى النانو فمن المثير للاهتمام أنها تبدأ في إظهار خصائص جديدة وهامة وفي مايلي سنذكر بإيجاز أهم الخواص^[20]:

✓ الخواص الفيزيائية:

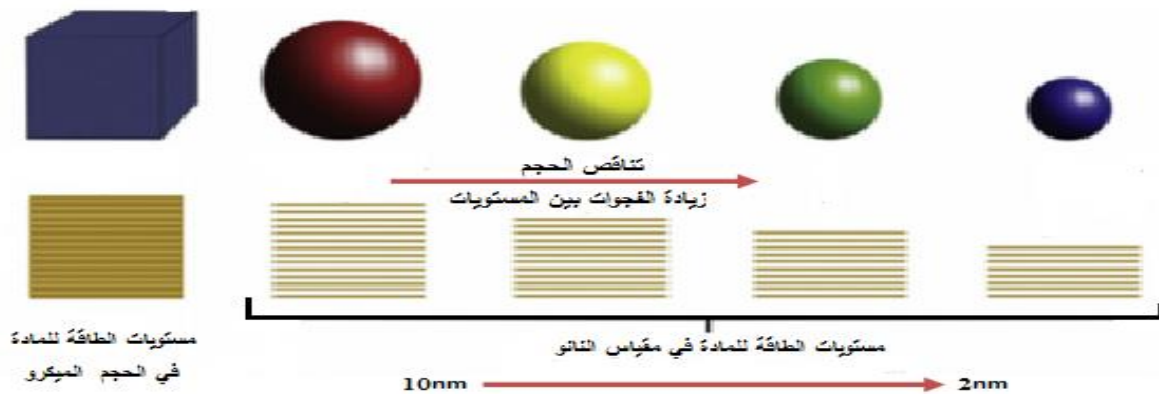
ومن أهمها:

• الخواص المغناطيسية:

يمكن التحكم في الخصائص المغناطيسية للجسيمات النانوية من خلال التحكم في حجم وشكل الجسيمات النانوية وبالتحديد، تتصرف الجسيمات النانوية كجسيم مغناطيسي فائق (القوة والشدة) كلما ازداد صغر حجم الجسيمات نتيجة لذلك، يمكن استخدام الجسيمات النانوية المغناطيسية في مجموعة متنوعة من التطبيقات مثل تخزين البيانات المغناطيسية، التصوير بالرنين المغناطيسي (MRI)، التكنولوجيا الحيوية وفي مجال الطب لتوصيل الأدوية^[20] ^[21].

• الخواص البصرية (الضوئية):

اكتسبت الخصائص البصرية على وجه التحديد مكانة لا غنى عنها في دراسة الهياكل النانوية. حيث عندما يتم تصغير حجم المادة إلى حجم النانو تتغير الخاصية البصرية للمادة بطريقتين مختلفتين: الأولى هي الحبس الكمي والثانية هي رنين بلازمون السطح بحيث عند تصغير حجم المادة يحدث الحبس الكمي للشحنات وتبدو مستويات الطاقة منفصلة. يعطي حصر مستويات الطاقة مظهرًا مختلفًا للمادة لأنه يؤدي إلى التغيير في لون المادة في حجم أقل من 10 نانومتر، يصبح التباعد بين مستويات الطاقة بارزًا جدًا بحيث يمكن رؤية التغيير الحاد في لون المادة من 2-10 نانومتر^[21].



الشكل(5): تميز مستويات الطاقة عند الحجم النانوي^[21].

✓ الخواص الميكانيكية:

تزداد القوة الميكانيكية مع انخفاض حجم المادة النانوية حيث يتم تعديل العديد من الخواص الميكانيكية للمواد النانوية لتكون مختلفة عن المواد في الحجم الطبيعي (الميكرو) بما في ذلك: الصلابة معامل المرونة، مقاومة الخدش، إجهاد الضغط وما إلى ذلك، يمكن أن ينتج عن هذا التحسين في الخواص الميكانيكية للمواد النانوية إنتاج مواد تمتاز بالكمال الهيكلي [18][21].

✓ الخواص الكيميائية:

يؤثر تقليل حجم المواد على تفاعل المادة في التفاعلات الكيميائية، لقد لوحظ أنه إذا تم تقليل حجم المادة فإن سرعة التفاعل تزداد أضعافاً مضاعفة، الفائدة الإضافية التي يتم الحصول عليها من حجم النانو للجسيم هي تقليل درجة حرارة تدفق التفاعل أيضاً من الممكن حدوث القليل من التفاعلات التي لا تحدث في الحجم الكبير [21].

✓ الخواص البيولوجية

من المعروف أن المواد النانوية تلعب دوراً مهماً في الطب والعلوم الصيدلانية حيث تؤثر المواد النانوية على مستويات السمية الخلوية في النظم الحية لذلك استخدمت المواد النانوية في تطبيقات بيولوجية لأنه تم اكتشاف أن لديها القدرة في المستقبل في مجال التشخيص الحيوي (أجهزة التوصيف الحيوي) العلاجات وتوصيل الأدوية [20].

I-1-4-3- تحضير المواد النانوية :

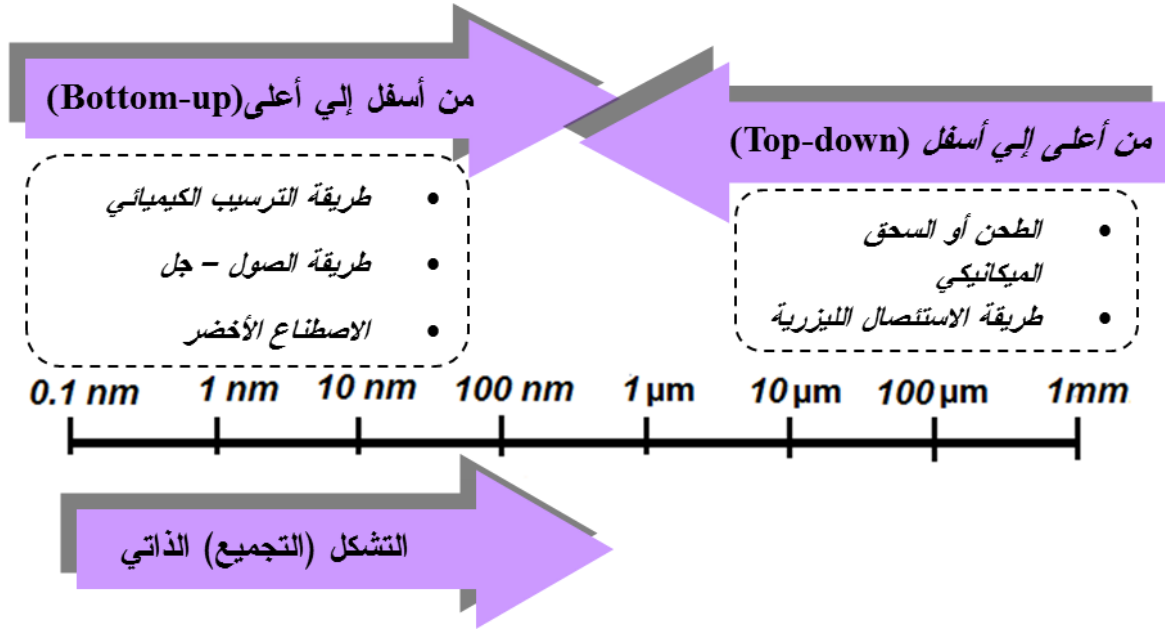
يتم تحضير المواد النانوية عموماً من خلال أسلوبين "من أعلى إلى أسفل" أو "من أسفل إلى أعلى".

• من أعلى إلى أسفل:

يتم تصغير أبعاد الأجسام أو الحبيبات الضخمة (تبلغ مقاييس أبعادها عدة مئات أو عشرات الآلاف من النانومترات) إلى حبيبات بمقاييس النانو (لا تتعدى أبعادها 100 نانومتر) بواسطة طرق ميكانيكية أو كيميائية أو فيزيائية.

• من أسفل إلى أعلى:

يتم تجميع المكونات الذرية أو الجزيئية للمادة من خلال التفاعلات الكيميائية أو العمليات الفيزيائية لإنتاج الهياكل المطلوب الحصول عليها بمقياس النانو [22][23].



الشكل (6): طرق تحضير جسيمات النانو [22].

I-1-5- تطبيقات النانو :

نظرا لتشعبها في جميع المجالات فتحت تكنولوجيا النانو آفاق واعدة للغاية ومن أهم المجالات التطبيقية التي تستخدم بها: الطيران، الفضاء وفي تطوير الأجهزة الالكترونية مثل ذاكرات عالية الكثافة معالجات مصغرة، خلايا شمسية، أجهزة كمبيوتر فائقة السرعة، تقنيات لاسلكية، وشاشات مسطحة وتستخدم في مستحضرات التجميل في معالجة المياه وفي الصيدلة: صناعة الأدوية المصممة التي يتم تسليمها لأعضاء معينة، في الطب: صناعة الأجهزة والوسائل التشخيصية، أجهزة الاستشعار متعددة الوظائف تحليلات الحمض النووي، أغشية غسيل الكلى، تدمير الأورام بالتسخين، أجهزة النانو لنقل الجينات والجراحة الدقيقة، في البيئة: الحد من انبعاثات ثاني أكسيد الكربون، مبيدات حشرية وأسمدة أكثر كفاءة وأقل ضرراً، استعادة وإعادة تدوير الموارد الحالية، في مجال التصنيع: هندسة دقيقة لإنتاج أجيال جديدة من المجاهر وأدوات القياس والأدوات الجديدة لمعالجة المادة على المستوى الذري [24].

I-2- الجسيمات النانوية :

الجسيم النانوي عبارة عن تجمع من بضع مئات إلى بضعة آلاف من الذرات مكونًا جسمًا له بعد واحد على الأقل بين 1 و 100 نانومتر، هذا التعريف يستثني الأجسام التي يتراوح حجمها الأصغر بين 100 و 1000 نانومتر. بالمقارنة مع الهياكل العضوية الطبيعية فإن الجسيمات النانوية تقع بشكل أساسي في نطاق الحجم المقابل للبروتينات [25] [26].

I-2-1- تصنيف الجسيمات النانوية :

تصنف الجسيمات النانوية حسب تركيبها الكيميائي إلى: جسيمات نانوية عضوية وجسيمات نانوية غير عضوية الشكل (7):

I-2-1-1- الجسيمات النانوية العضوية :

• الجسيمات الدهنية:

الجسيمات الشحمية واحدة من أكثر المركبات استخدامًا على نطاق واسع لتغليف الحمولات الكيميائية^[27]، لقد تم استكشاف هذه الحاملات لتوصيل الأدوية الجديدة والمستهدفة نظرًا لصغر حجمها وهي عبارة على حويصلات كروية الشكل تتكون من طبقة ليبيدية مزدوجة واحدة أو أكثر، تتكون في الغالب من ليبيدات فوسفورية وكوليسترول تكون متجمعة في أنظمة مائية^[28] حيث تحتوي الفسفوليبيدات على رأس محب للماء وذيل كاره للماء وهذا يجعلها تشبه إلى حد كبير أغشية الخلايا الحية. الجسيمات الدهنية متوافقة حيويًا ومتعددة الاستخدامات ولها كفاءة حبس جيدة، منها القدرة على تغليف الأدوية المحبة للماء أو المحبة للدهون سمحت لهذه الحويصلات بأن تصبح أنظمة حماية وتوصيل دوائية مفيدة^{[29][30][31]}.

• الجسيمات النانوية البوليميرية:

تم تطوير البوليميرات النانوية الأولى في الثمانيات وهي جسيمات صلبة نانوية تتكون من بوليميرات طبيعية أو صناعية. اعتمادًا على طريقة التحضير يمكن أن نتحصل على نوعين من الجسيمات النانوية البوليميرية منها:

- الكريات النانوية - الكبسولات النانوية^[32]

حيث استخدمت كوسيلة لتوصيل الدواء بسبب قدرتها على التحكم في إطلاق الدواء لفترة طويلة وأيضاً لديها القدرة على توصيل البروتينات والببتيدات وكناقلات DNA في العلاج الجيني لإستطاعتها إستهداف العضو المعين [27][33][34].

• المذيلات البوليميرية :

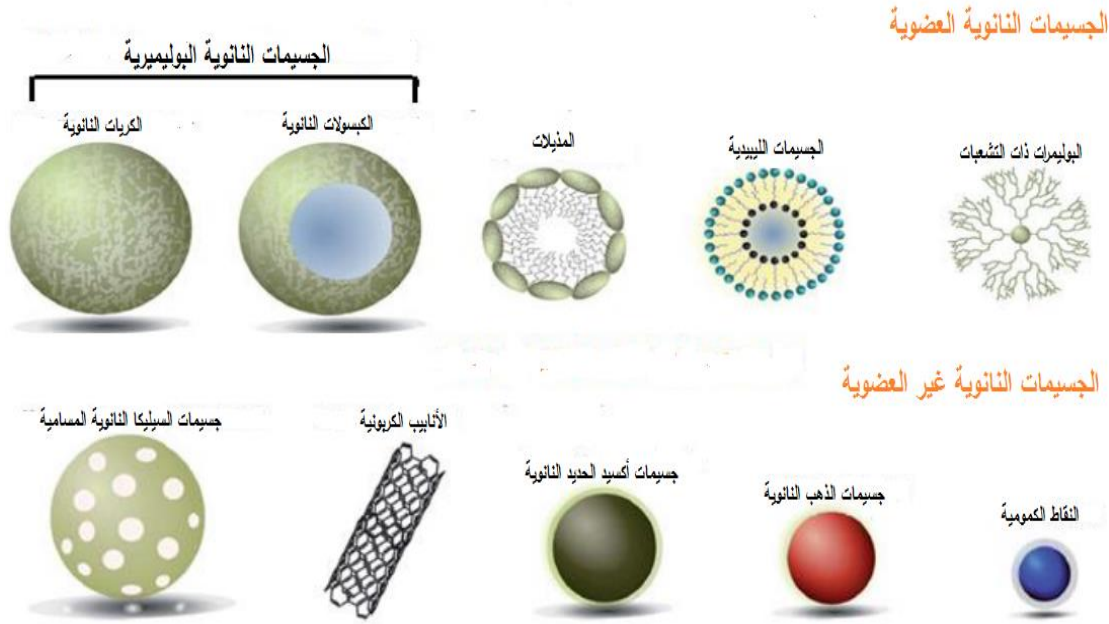
المذيلات البوليميرية هي تراكيب نانوية كروية، غروانية تتشكل عادة من التجميع الذاتي لبوليميرات في مذيب معين حيث تتكون هذه المذيلات من وحدات بوليميرية محبة للماء على سطحها وأخرى كارهة للماء في وسطها موجودة في بيئة مائية [35]. تتميز المذيلات البوليميرية بخصائصها فائقة التحكم في الدواء وقدرتها على إختراق الأنسجة بالإضافة إلى ذلك فهي نظام ممتاز لتوصيل الأدوية الكارهة للماء نظراً لإستقرارها العالي في الظروف البيولوجية [36].

• البوليميرات ذات التشعبات :

هي جزيئات بوليميرية كبيرة مفرطة التفرع لها تفرع جذري محدد، تتميز بأنها متناهية في الصغر كروية الشكل ومحبة للدهون أكثر من البوليميرات الخطية حيث يكون لها إختراق أفضل لغشاء الخلية. يعتمد التحميل في البوليميرات المتشعبة على نوع وعدد المواقع النشطة، سعة التحميل، المجموعات الوظيفية الخارجية ومحبتها للدهون [37]، لها العديد من التطبيقات الطبية الحيوية والصناعية مثل التشخيص الحيوي، توصيل الأدوية، نواقل للجينات وأيضاً في عمليات التنقية تستعمل كحاجز للأيونات [38].

I-2-1-2- الجسيمات النانوية غير العضوية :

إلى جانب الجسيمات النانوية العضوية تم أيضاً تطوير الجسيمات النانوية غير العضوية وهي جزيئات غير مصنوعة من الكربون يمكن تصنيفها إلى معادن كجسيمات الذهب النانوية جسيمات الفضة وجسيمات سيليكات وأكاسيد المعادن كجسيمات أكسيد الزنك النانوية (التي هي محور العمل) ونقاط كمومية، أنابيب الكربون النانوية والجرافين النانوي في مجال علوم المواد الحديثة تم تطوير الجسيمات النانوية غير العضوية بناء على الدور الأساسي الذي تلعبه خصائصها الفيزيائية الفريدة خاصة في مجال التكنولوجيا الحيوية، هذه الخصائص مرتبطة أساساً بالحجم في مجال أبعاد مقياس النانو وتشمل الخصائص البصرية المغناطيسية، الكهربائية والخصائص التحفيزية [27][39].



الشكل (7): أشكال الجسيمات النانوية العضوية وغير العضوية^[27].

I-2-2-2- تطبيقات الجسيمات النانوية في المجال الحيوي الطبي :

نظرًا لصغر حجمها وتحسن ميزات اختراق الخلايا، فإن الجسيمات النانوية مفيدة للغاية في العديد من التطبيقات الطبية الحيوية حيث تستخدم الجسيمات النانوية لتوصيل الأدوية أو الحرارة أو الضوء أو مواد أخرى لأنواع معينة من الخلايا (مثل الخلايا السرطانية) يتم تصميم الجسيمات بحيث تنجذب إلى الخلايا المريضة مما يتيح العلاج المباشر لتلك الخلايا، هذه التقنية تقلل من تلف الخلايا السليمة في الجسم وتسمح بالكشف المبكر عن المرض، بالإضافة إلى ذلك تظهر أنشطة واعدة مضادة للجراثيم ولديها إمكانات عالية ليتم تطويرها إلى مضادات للبكتيريا في المستقبل ويرجع ذلك أساسًا إلى آثارها السامة المنخفضة والأمر الواعد هو أن الجسيمات النانوية قد ثبت أنها تثبط البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية^{[40][41][42]}.

I-3-3- عموميات حول أكسيد الزنك :

I-3-1- تعريف الزنك :

هو عنصر كيميائي عدده الذري 30 والوزن الذري 65.37g/mol رمزه الكيميائي Zn. يتواجد الزنك في المجموعة (IIB) من الجدول الدوري، أكثر عدد أكسدة الزنك شيوعًا واستقرارًا هو $[Zn^{+2}]$. يعتبر الزنك الأهم من الناحية الكمية في الجسم^{[43][44][45]}.

I-3-1-1-خصائص الزنك الرئيسية :

❖ الخصائص الفيزيائية:

- ✓ الكتلة الحجمية: عند درجة الحرارة 20C° الكتلة الحجمية تساوي إلى 7.11g.cm⁻³
- ✓ الكهروسالبية: 1.6(مقياس باولينغ)
- ✓ نقطة الإنصهار: 420C°
- ✓ نقطة الغليان: 907C°
- ✓ النظائر: 5

❖ الخصائص الذرية:

- ✓ التوزيع الإلكتروني: [Ar] 3d¹⁰4s²
- ✓ نصف القطر الذري: 0.138 nm
- ✓ نصف القطر الأيوني: عند (Zn⁺²) 0.074nm
- ✓ العدد الذري: 30
- ✓ الكتلة الذرية: 65.37 g/mol [46]

I-3-1-2-الدور الحيوي للزنك :

يؤدي الزنك دورًا أساسيًا في سلامة غشاء الخلية ومن الخصائص التي تجعل الزنك عنصرا مثاليا في الوظائف البيولوجية هي عدم خضوع الزنك لتفاعلات الاختزال والأكسدة داخل الأنظمة، لذلك فهو غير سام نسبياً. يمتلك الزنك مجموعة متنوعة من الوظائف المهمة فهو يساعد في إدارة عمل الأنسولين وتركيز الجلوكوز في الدم، وله دور أساسي في تطوير وصيانة جهاز المناعة في الجسم. الزنك مطلوب أيضاً في تكوين العظام والأسنان والنتام الجروح. الزنك هو أحد مكونات أكثر من 70 إنزيمًا مختلفًا تعمل في العديد من جوانب التمثيل الغذائي الخلوي. تشمل وظائف الزنك على استقرار التشكل في عوامل النسخ ويعمل الزنك أيضاً على تعديل عمليات نقل الإشارات الخلوية ويعمل أيضاً كمُحوّل للنقل العصبي المشبكي في الخلايا العصبية المحتوية على الزنك في الدماغ الأمامي [43][44][47].

I-3-2-تعريف أكسيد الزنك في الحالة العامة :

مادة غير عضوية وظيفية واحدة ومتعددة الاستخدامات مع مجموعة واسعة من التطبيقات. يُعرف باسم أشباه الموصلات (II-VI)، يمتلك ZnO خصائص فريدة من نوعها، يتمتع برابطة أيونية قوية جداً في Zn-O متانة أطول وانتقائية أعلى ومقاومة للحرارة غير مسبوقه في المواد العضوية وغير العضوية^{[48][49]}.

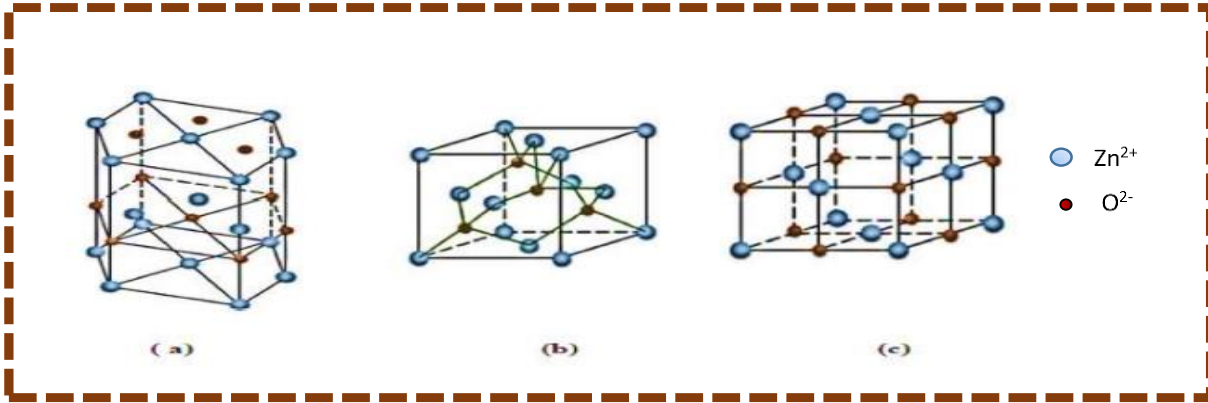
I-3-2-1-الخصائص البلورية :

يتبلور أكسيد الزنك في الطبيعة وفق ثلاث بنى بلورية وهي:

- بنية سداسية (Wurtzite).
- ركائز الزنك (Zinc Blende).
- ملح صخري (Rock Salt)^[50].

كل ذرة من الزنك محاطة بأربع ذرات أكسجين تقع في قمم رباعي الوجوه^[51] كما هو موضح في

الشكل(8).

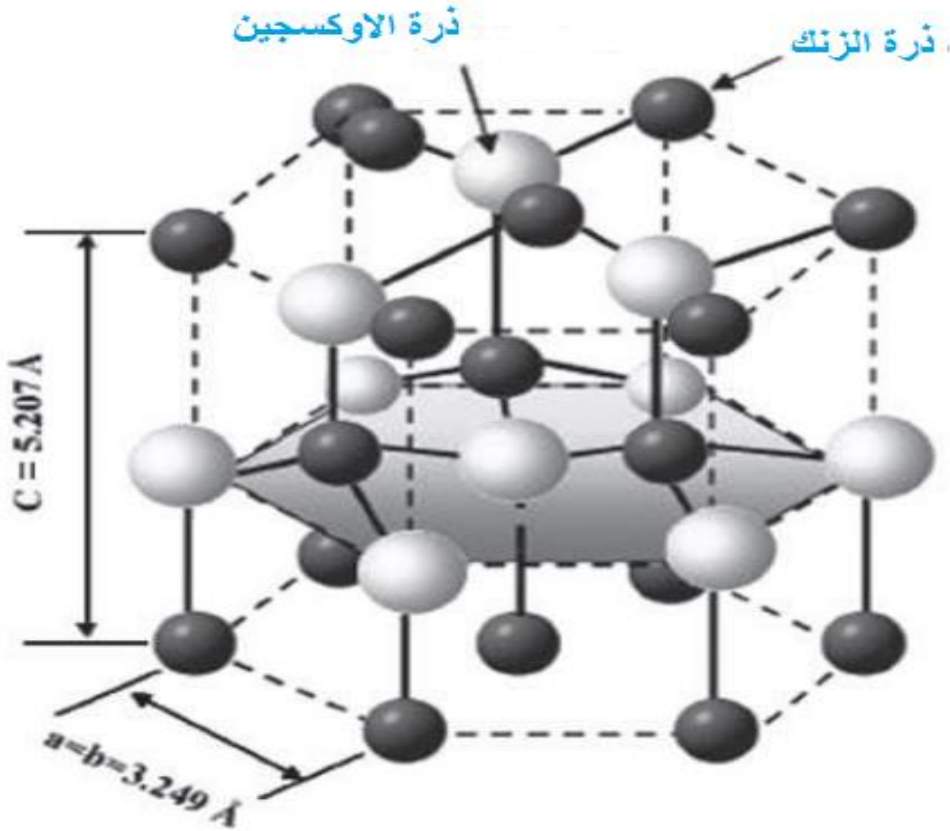


الشكل(8): مختلف أنواع البنى البلورية لأكسيد الزنك :

(a) : Wurtzite – (b) : Zinc-Blende – (c) : Rock Salt^[52].

البنية الأكثر شيوعاً هي الـ wurtzite لأنها طور مستقر ديناميكياً في ظل الظروف المحيطة

بينما يكون هيكل الملح الصخري مستقرًا فقط تحت ضغوط عالية^[50].



الشكل (9): بيئة سداسية (Wurtzite) لـ ZnO [53].

يوضح الشكل (9) خلية الوحدة السداسية لهيكل wurtzite الذي يحتوي على ثوابت الشبكية:

$$c = 5.2060 \text{ \AA} \quad \text{و} \quad a = b = 3.2499 \text{ \AA}$$

في بنية wurtzite المثالية، تكون نسبة هذه الثوابت $c/a = \sqrt{8/3} = 1.633$. ينتمي هيكل wurtzite

السداسي لـ ZnO إلى المجموعة الفضائية P63mc [54].

I-2-2-3-2- الخصائص العامة لأكسيد الزنك:

يملك أكسيد الزنك العديد من الخصائص الفيزيائية والكيميائية نذكر منها:

- يعتبر مادة شفافة معامل انكساره يساوي 2.
- عبارة على مادة شبه ناقلة ذو فجوة طاقة واسعة 3.37 eV ويمتلك طاقة ربط كبيرة تقدر بـ 60 meV.
- مادة ليننة نسبيا حيث تقدر صلابته إلى 4.5 درجة على مقياس موس.
- مادة آمنة (غير سامة) وعديم الرائحة.

- لا يذوب بسهولة في الماء أو الكحول بل يذوب في حامض الخليك، الحوامض المعدنية والأمونيا وكربونات الأمونيوم والهيدروكسيدات القلوية^[55].

I-3-2-3- تطبيقات أكسيد الزنك في الحالة العامة:

يحتوي ZnO على مجموعة واسعة من التطبيقات نظرًا لخصائصه الفيزيائية الواعدة المذكورة أعلاه في تطبيقات علوم المواد، يمكن استخدام أكسيد الزنك في الأجهزة البصرية غير الخطية، وأجهزة الاستشعار ومولدات الطاقة، الصمامات الثنائية الباعثة للضوء، الليزر، الأقطاب الكهربائية الشفافة وشاشات الكريستال، الخلايا الشمسية وغيرها من الإلكترونيات الضوئية. في الكيمياء، يستخدم ZnO بشكل شائع كمحفز ضوئي. يستخدم ZnO في الطب على نطاق واسع لعلاج مجموعة متنوعة من الأمراض الجلدية، بما في ذلك التهاب الجلد، الحكة بسبب الأكزيما، الطفح الجلدي وحب الشباب. يستخدم ZnO أيضًا في علم الأحياء كخصائص مضادة للبكتيريا، الحماية من الأشعة فوق البنفسجية، بالإضافة إلى استخدامات أخرى امتصاص الأشعة فوق البنفسجية ومنع التآكل في المفاعلات النووية^{[53][56]}.

I-3-3- جسيمات أكسيد الزنك النانوية :

تمتلك جزيئات ZnO ذات الحجم النانوي أنشطة مضادة للميكروبات أكثر وضوحًا من الجزيئات الكبيرة، نظرًا لأن الحجم الصغير (أقل من 100 نانومتر) ونسبة السطح إلى الحجم العالية للجسيمات النانوية تسمح بتفاعل أفضل مع البكتيريا. أظهرت الدراسات الحديثة أن هذه الجسيمات النانوية لها سمية انتقائية للبكتيريا ولكنها تظهر تأثيرات قليلة على الخلايا البشرية. لقد ثبت أن للجسيمات النانوية ZnO نشاط ضد البكتيريا موجبة وسالبة الجرام، بما في ذلك مسببات الأمراض الرئيسية^[57] مثل:

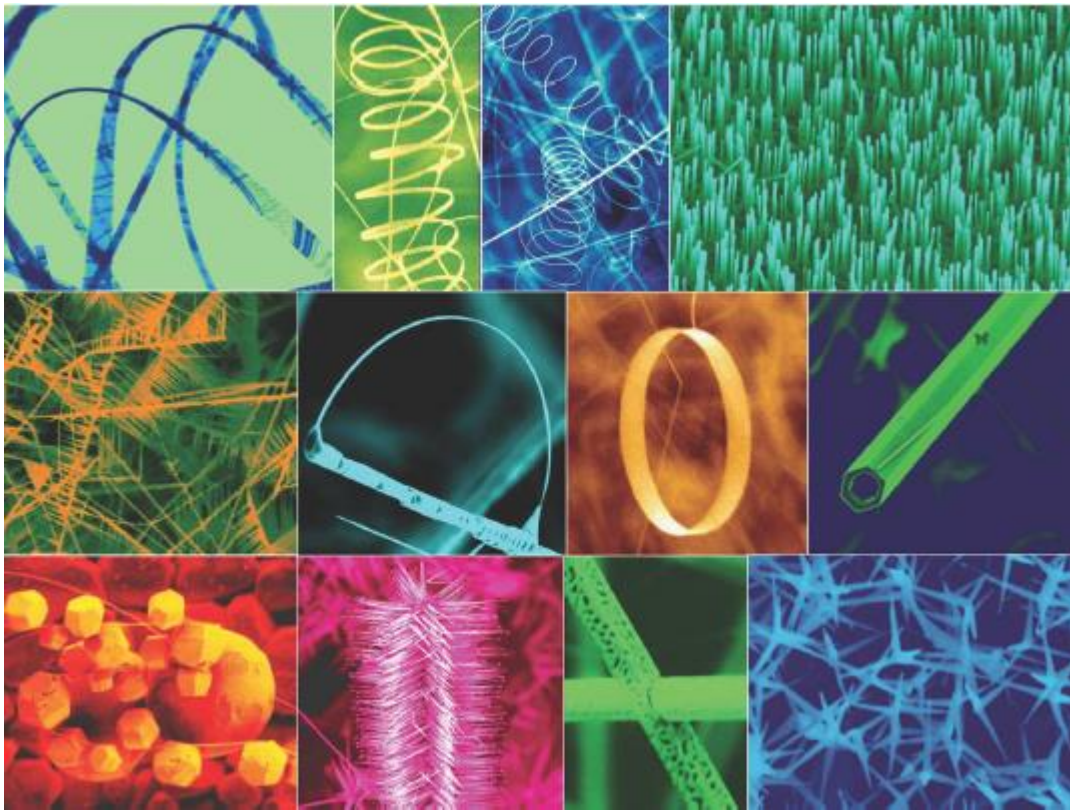
- *Escherichia coli*
- *Listeria monocytogenes*
- *Staphylococcus aureus*

I-3-3-1- خصائص جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO NPs:

عندما يصل حجم المادة إلى الأبعاد النانومترية، تتغير الخصائص الفيزيائية للمادة بشكل كبير تحت تأثير إنخفاض الحجم ومن بين أهم الخصائص في الحجم النانوي نذكر منها:

✓ الخصائص البنيوية:

يعد أكسيد الزنك من أكثر العائلات الكيميائية الغنية بالهياكل النانوية المختلفة فهو يتواجد في تراكيب مختلفة الأشكال النانومترية مما يمكنه من تحسين واكتساب خصائص كيميائية وفيزيائية جديدة، حيث يمكن إنتاج أكسيد الزنك في جسيمات ذات بعد واحد 1D أنابيب نانوية وذات بعدين 2D طبقات رقيقة (شرائح) أو ثلاثة الأبعاد 3D كالمساحيق، تؤدي الهياكل السطحية المختلفة لأكسيد الزنك النانوي إلى نمو متباين الخواص تحت ظروف التوازن الديناميكي الحراري حيث أنه كلما زادت مساحة سطح البنية النانوية كلما قلت الطاقة والعكس صحيح وبهذا يكون أعلى معدل نمو لهذه البنى على المحور C لأنه النمو الأكثر استقرار والذي يعطي بنى نانوية حلزونية بالإضافة إلى أعمدة النانو. يمكن التحكم في شكل نمو البنى عن طريق التحكم في ظروف اصطناعها بالطرق المختلفة مثل الحرارة وغيرها [55][58][59].



الشكل (10): مختلف أشكال هياكل البنى النانوية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية [60].

✓ الخصائص البصرية:

تعتمد خصائص الإنبعاث لجسيمات ZnO النانوية بشكل كبير على طريقة الإصطناع المستخدمة لأن هذه الخصائص متعلقة بالعيوب السطحية، حيث تم تطوير طريقة عضو- فلزية جديدة لتحضير جسيمات ZnO النانوية البلورية في درجة حرارة الغرفة بشكل وحجم محدد وصغير جدا، أثناء التحضير بهذه الطريقة تم رصد إنبعاث ألوان حسب الطول الموجي، الأصفر، الأبيض والأزرق^[61].



الشكل(11): تغير الانبعاث بتغير طول موجة الإثارة^[62].

يمكن تعديل الخصائص البصرية إلى حد كبير عن طريق البنية النانوية ولكن هذه التعديلات الناتجة عن التأثيرات الكمية للأحجام لا يمكن الوصول إليها إلا في الأحجام الأقل من 10 نانومتر، حيث تغير البنية النانوية في مستوى الحجم الأقل من 10 نانومتر يؤثر أيضا بشكل غير مباشر على خصائص الإنبعاث الضوئي luminescence^[61].

✓ الخصائص الكهربائية والإلكترونية :

تصبح الخصائص الكهربائية لـ ZnO NPs مثيرة للاهتمام عندما تكون في الحجم النانوي، يتم تعديل الخصائص الإلكترونية لجسيمات ZnO NPs النانوية بشكل كبير حيث تعتمد على حجم وشكل وحالة سطح المواد النانوية، جسيمات أكسيد الزنك النانوية هي أشباه موصلات ذات حزمة ممنوعة مباشرة واسعة وهو ما يتوافق مع الانتقال في الأشعة فوق البنفسجية القريبة ولهذا تعتبر هذه الجسيمات النانوية ذات أهمية كبيرة في العديد من المجالات خاصة في تطوير أجهزة الاستشعار الحساسة للضوء في أجهزة الاستشعار فوق البنفسجية، إن الحجم المتناهي في الصغر لهذه البلورات النانوية يسبب تأثيرا مقيدا للإثارة البصرية يؤدي هذا التقييد وخاصة لطاقة الربط (إلكترون-فجوة) إلى تأثيرين : ظهور الإنتقالات الإلكترونية منفصلة بدلا من بنية العصابة المعتادة، وأيضا تحول في عتبة الإمتصاص نحو طاقات عالية وهذا يسبب إتساع الفجوة، مع إنخفاض حجم البلورات فإن المواد النانوية يصبح لها كثافة عالية من

العيوب الهيكلية (العيوب النقطية تؤثر على خصائص النقل لهذه المواد مثل التوصيل الكهربائي والانتشار الذري) [61][63].

✓ الخصائص السطحية:

عندما يقل حجم الجسيم، يتزايد عدد الجسيمات لكل غرام من المادة بشكل كبير، لذلك فإن الجسيمات النانوية لديها نسبة سطح/حجم ونسبة كتلة/سطح أعلى بكثير من الجسيمات الأكبر. تحدث العديد من التفاعلات الكيميائية على السطح، وبالتالي فإن التفاعل الكيميائي أعلى بكثير في حالة الجسيمات النانوية مقارنة بالكتلة المكافئة للجسيمات غير النانومترية وعلى مستوى الكائن الحي كذلك وعموما فإنه في درجة حرارة الغرفة، يلعب وجود مجموعات الهيدروكسيل (OH) على سطح أكسيد الفلز دورا مهما في عمليات الإمتزاز التي تحدث على سطحه. يمكننا تمييز ثلاثة أنواع من مجموعات الهيدروكسيل المتميزة على السطح. أولا جزيئات الماء الحرة (H_2O) يمكن إزالتها بدرجة حرارة حوالي $100^{\circ}C$. ثانيا جزيئات الماء الممتص على السطح بواسطة روابط هيدروجينية، والتي يمكن التخلص منها في درجة حرارة ما بين $200^{\circ}C - 100^{\circ}C$. وأخيرا جزيئات الماء الممتص كيميائيا، مرتبط بالسطح بواسطة روابط قوية ويمكن التخلص منها بدرجة حرارة $200^{\circ}C$ فما فوق [62][64].

✓ الخصائص البيولوجية:

يؤثر الحجم على التفاعل مع الأنظمة البيولوجية على المستوى الخلوي فالحجم الصغير للمواد النانوية يعزز إختراقها للخلايا. إن جسيمات ZnO النانوية أقل إستقرارا وقابلة للذوبان بسهولة في السوائل البيولوجية ومن ثم إطلاق أيونات الزنك، إلا أن الجدار الخلوي يقلل من التوافر الحيوي لجسيمات ZnO النانوية، أما في الأوردة فنسبة توافره البيولوجي %100. إن قابلية ذوبان جسيمات ZnO النانوية تتأثر بعدة عوامل منها الأس الهيدروجيني pH، حجم الجسيمات وتركيزها ووجود أو غياب المركبات العضوية. ذوبان وامتصاص وتوزيع جسيمات ZnO النانوية يعتمد على مقدار جرعتها وليس على حجمها، عند ملامسة الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك للسائل البيولوجي في الدورة الدموية النظامية، يحدث تفاعل سريع يؤدي إلى إمتزاز البروتين على سطح الجسيمات النانوية، حيث يعتمد بشكل كبير على شحنة السطح وحجم الجسيمات النانوية. كما يلعب بروتين البلازما دورا حاسما في الترسيب والتخلص والنقل [65][66].



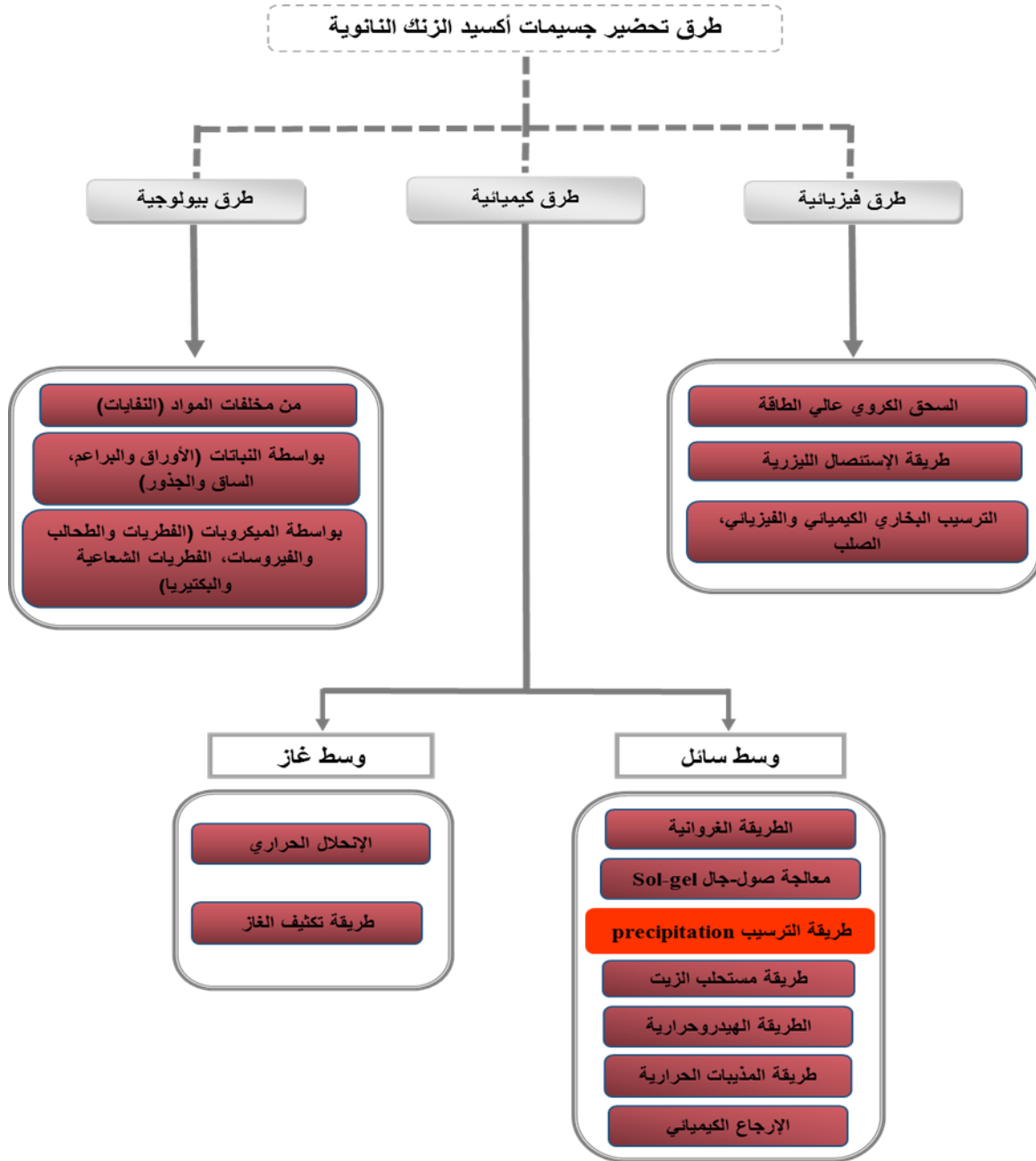
الشكل(12): توزيع أيونات Zn²⁺ في النظام البيولوجي [66].

I-3-3-2-الأهمية الطبية والحيوية :

تعتبر جسيمات الزنك النانوية متوافقة حيويًا نسبيًا، مما يدعم تطبيقاتها الطبية الحيوية في مكافحة السرطان، الفعالية المضادة للبكتيريا، مضادات الأكسدة وكذلك أدوية مضادات السكري ومضادات الإلتهابات [46][67].

I-3-3-3- طرق تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية :

يتم استخدام مجموعة متنوعة من التقنيات لتحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية، يمكن تقسيم هذه التقنيات إلى ثلاثة أنواع : طرق كيميائية، طرق فيزيائية وطرق بيولوجية، الشكل(13).



الشكل (13): أهم الطرق لتحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية [68].

سيتم التطرق بالتفصيل في الجزء العملي لطريقة الترسيب الكيميائية وهي الطريقة التي تم استخدامها لتحضير جسيمات ZnO النانوية في هذه الدراسة.

I-4-4- تقنيات التحليل والتوصيف :

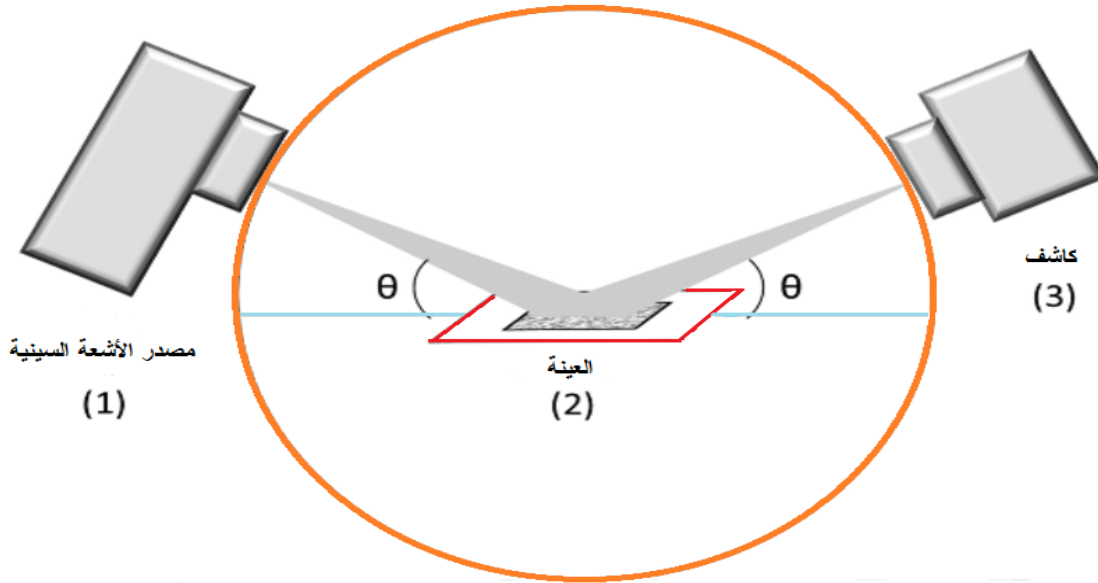
I-4-4-1- تمهيد :

تستعمل عدة طرق تحليل لتوصيف ودراسة الجسيمات النانوية، حيث يتم تشخيص هذه الجسيمات النانوية بعدة طرق منها: مجهر القوة الذرية (AFM)، المجهر الماسح النفقي (STM)، المجهر الماسح الإلكتروني (SEM) والمجهر النافذ الإلكتروني (TEM)، مطيافية رامان، وانعراج الأشعة السينية (XRD) ومطيافية الأشعة السينية الإلكترومغناطيسية (XPS) ومطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه (FTIR) ومطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV-VIS).

سيتم التطرق في هذا الجزء إلى ذكر وباختصار التقنيات التحليلية التي أستخدمت في توصيف الجسيمات النانوية والتي تتمثل في انعراج الأشعة السينية (XRD)، مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR) والمجهر الإلكتروني الماسح (SEM).

I-4-4-2- انعراج الأشعة السينية (XRD) :

انعراج الأشعة السينية XRD ، اختصار لـ "انعراج الأشعة السينية" هي تقنية تهدف إلى وصف المواد البلورية بحيث توفر معلومات عن الهيكل والمظهر المميز للبلورة والمعلومات الهيكلية الأخرى مثل متوسط حجم الحبيبات، التبلور، عيوب البلورات وكذلك تحديد الأطوار الكيميائية المختلفة التي قد تكون موجودة في العينة وذلك بمقارنة الطيف الناتج بنتائج قاعدة البيانات للمركز الدولي لمعلومات الحيود، يتم الحصول على طيف الأشعة السينية بواسطة جهاز الانعراج الآلي (Diffractomètre)^[69].



الشكل(14): رسم تخطيطي يوضح كيفية عمل جهاز انعراج الأشعة السينية^[69].

I-4-2-1- خصائص الأشعة السينية:

- الأشعة السينية تنساب بخط مستقيم وبسرعة مساوية لسرعة الضوء.
- لا تتأثر بوجود حقل مغناطيسي أو حقل كهربائي.
- تستطيع جرح أو قتل الخلايا الحية وأحياناً إحداث تغيرات عضوية فيها.
- يتغير طول موجة الأشعة السينية، حسب طبيعة معدن المهبط، بين جزء من ألف من الأنجستروم \AA وبين ألف انجستروم $[0.001\text{\AA} <\lambda> 1000 \text{\AA}]$ ^[70].

I-4-2-2- مبدأ عمل جهاز انعراج الأشعة السينية :

تتكون المواد الصلبة البلورية من مصفوفات منتظمة من الذرات أو الأيونات أو الجزيئات مع تباعد بين الذرات بترتيب 1\AA . ويجب أن يكون الطول الموجي للضوء الساقط بنفس ترتيب تباعد الذرات. ولا يحدث انعكاس الأشعة السينية إلا عند استيفاء شروط التداخل البناء. ويتمثل مبدأها في تفاعل الأشعة السينية بالدرجة الأولى مع الإلكترونات في الذرة فعندما تصطدم الفوتونات في الأشعة السينية بالإلكترونات، تحيد بعض فوتونات الحزمة الساقطة عن إتجاهها الأصلي. تسمى العملية تبعثر طومسون، وهذه هي الأشعة التي نقيسها في تجارب الانعراج والتي تقدم لنا معلومات عن التركيب البلوري الذري^{[69] [71]}.

I-4-2-3- قانون براغ (Bragg's law):

يعتمد مبدأ قياس انعراج الأشعة السينية على قانون براغ (Bragg's law) فمن خلال هذا القانون وجد براغ أنه يمكن توضيح موضع الحزم المنعرجة للأشعة السينية بواسطة البلورة بنموذج بسيط ويمكن التعبير عنها بالعلاقة التالية:

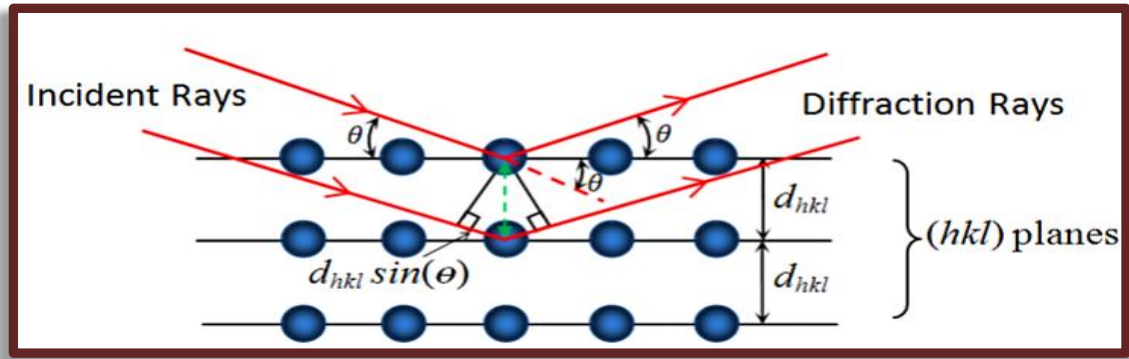
$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \dots (1 - I)$$

d_{hkl} : تمثل المسافة الفاصلة بين عائلة المستويات الذرية المحددة من قبل قرائن ميلر (h,k,l).

n : عدد صحيح يمثل رتبة الإنعكاس (الانعراج).

λ : الطول الموجي للأشعة السينية.

θ : زاوية سقوط الأشعة [71].



الشكل (15): انعراج الأشعة السينية في المستويات الذرية [72].

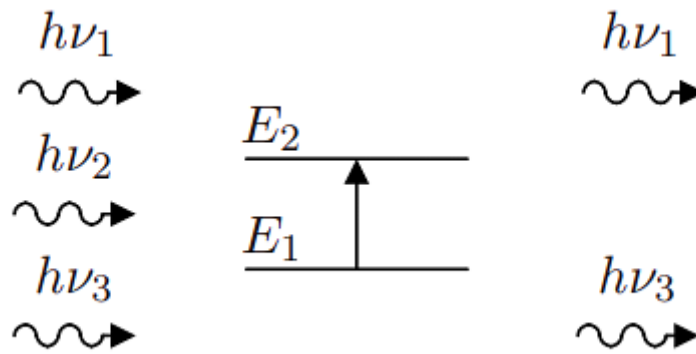
I-4-3- مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR):

أصبح التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء وسيلة من إحدى أهم الوسائل لتعيين ماهية التركيب للمركبات العضوية. وتم استخدام هذه الطريقة لفحص المواد قيد الدراسة غير معلومة التركيب وتعتبر مطيافية الأشعة تحت الحمراء من الطرق الأساسية في دراسة المواد فهي تمكننا من التعرف على بنية المادة من دون التأثير على خصائصها وتعتمد على دراسة الأطياف الممتصة من قبل العينة، أغلب التحليلات الطيفية تجري في المنطقة تحت الحمراء المجال الطيفي ما بين ($4000-400 \text{ cm}^{-1}$) حيث أن

هذه المنطقة تحدث فيها أغلب الاهتزازات الجزيئية والباحث يجد فيها كفايته من المعلومات لتحديد البنية الجزيئية للمركبات المدروسة^[73].

I-4-3-1- مبدأ مطيافية الأشعة تحت الحمراء :

تهتز الجزيئات طبيعياً تبعاً لجميع أنماط إهتزازها، ولكن بسعات ضعيفة جداً، إذا كان تواتر الفوتون يوافق تواتر إهتزاز الأنماط العادية للجزيء، فإن الجزيء سوف يدخل في الرنين ويهتز بسعات كبيرة جداً، أو بعبارة أخرى الفوتون الذي طاقته تكون مساوية للطاقة الضرورية للجزيء حتى يمر من حالة طاقة منخفضة إلى حالة مثارة يمتص وتحول طاقته إلى طاقة إهتزاز.



الشكل (16): إمتصاص الأشعة تحت الحمراء^[74].

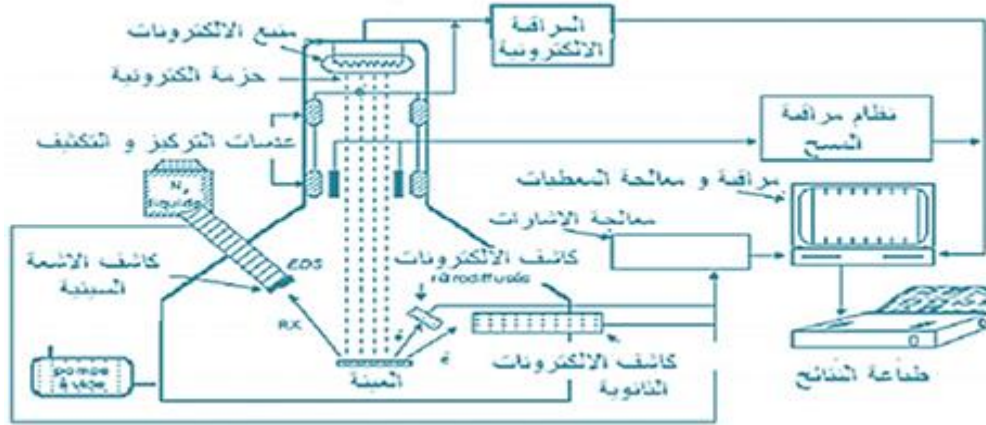
الفوتون ذو الطاقة $h\nu_2$ المساوية لطاقة الانتقال $(E_2 - E_1)$ هو الوحيد الذي يمتص، وبالتالي فإن الفوتون الممتص يحدث خلافاً في الإشعاع المنبعث.

يؤدي إمتصاص بعض الفوتونات الواردة إلى ظهور خطوط توافق الفوتونات التي لم يتم إنبعاثها في منحنى طيف ما تحت الحمراء للجزيء، يرمز هذا الإمتصاص إلى الروابط ما بين الذرات بما أن كل نمط إهتزاز يوافق حركة وحيدة للجزيء يوجد إذا توافق مباشر بين تواتر الإشعاع الممتص وبنية الجزيء^[74].

I-4-3-2- المجهر الإلكتروني الماسح (SEM):

يعد المجهر الإلكتروني الماسح من أهم أجهزة التصوير المجهرية ويمكن إستخدامه في العديد من التطبيقات في مجال علوم المواد والعلوم الطبية. ويتميز هذا المجهر بقدرته التكبيرية التي تصل إلى أكثر

من نصف مليون مرة، حيث يمكن بواسطتها دراسة أسطح العينات وتركيباتها الدقيقة ومكوناتها الكيميائية وسماكتها. كما يمكن دراسة أحجام الجسيمات والجزئيات والميكروبات، والكثير من التطبيقات الأخرى [75].

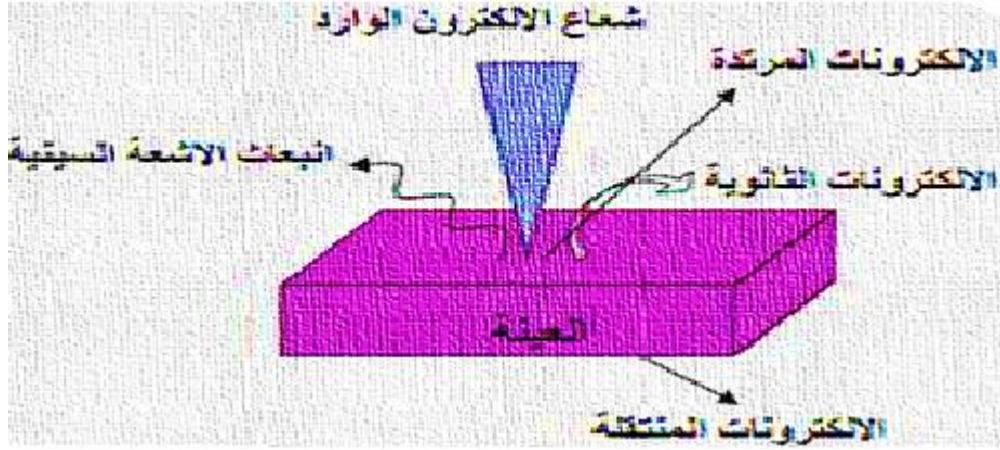


الشكل (17): رسم تخطيطي مبسط يبين الأقسام الرئيسية للمجهر الإلكتروني الماسح [75].

I-3-3-4- مبدأ عمل المجهر الإلكتروني الماسح (SEM):

يعد المجهر الإلكتروني الماسح أحد المجاهر الإلكترونية الذي يصور سطح العينة عن طريق

مسحها بواسطة أشعة من الإلكترونات عالية الطاقة، بحيث تتفاعل الإلكترونات مع الذرات المكونة لسطح العينة، فتنتج عنها إشارات (الشكل 18)، تتضمن معلومات عن هندسة السطح وتركيبه وخصائص أخرى مثل: التوصيلية الكهربائية وتنشأ هذه الإشارات من شعاع الإلكترونات الذي يصطدم بالعينة، والأسلوب الأكثر شيوعاً في الكشف بالمجهر الإلكتروني الماسح هو التصوير بالإلكترونات الثانوية الذي يلحظ فيه أن المجهر الماسح يستطيع إنتاج صور ذات تحليل عال جداً لسطح العينة، قد تصل إلى حجم يتراوح ما بين 1-5 نانومتراً. إن الصور المجهرية للمجهر الماسح تكون ثلاثية الأبعاد وبذلك تساعد على فهم التركيب السطحي للعينة [76].



الشكل (18): تفاعل الإشعاع الإلكتروني والمادة^[177].

I-5- خلاصة الفصل الأول:

لقد تناولنا في هذا الفصل مفهوم المواد النانوية، تصنيفاتها وأهميتها، مع شرح أهم أشكالها وهي الجسيمات النانوية وذكر أهم خصائصها وتطبيقاتها وخاصة الطبية الحيوية، بالإضافة إلى طرق تحضيرها.

وكذلك تطرقنا إلى موضوع دراستنا وهو دراسة جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) المحضر بطريقة الترسيب الكيميائية، حيث ركزنا على أهميته الطبية الحيوية وفعاليته البيولوجية والتي هي هدف دراستنا، بالإضافة إلى بعض تطبيقات جسيمات أكسيد الزنك النانوية

وفي الأخير تم ذكر طرق توصيفها التي أستعملت في الجانب التطبيقي لدراستنا والتي تتمثل في التحليل بجهاز انعراج الأشعة السينية (XRD) وجهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR).

الفصل الثاني

الفاعلية البيولوجية

(عموميات حول البكتيريا)

II- الفاعلية المضادة للبكتيريا :

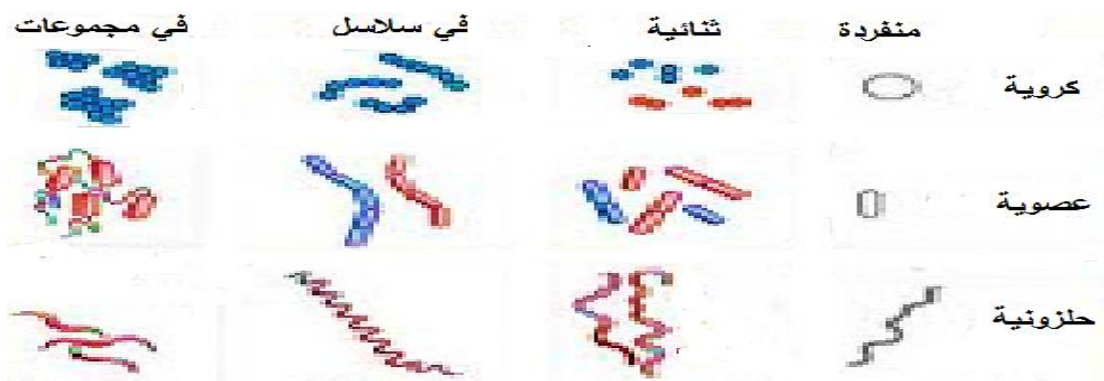
تعد البكتيريا كائنات وحيدة الخلية بدائية النوى وهي أول الكائنات التي ظهرت على سطح الأرض. تعامل معها الإنسان دون أن يراها، هي كائنات مجهرية تعيش بأعداد هائلة في كل مكان تقريبا في الكرة الأرضية ومنها:

- البكتيريا النافعة: وهي تساعد في الكثير من العمليات الحيوية داخل جسم الإنسان.
- البكتيريا الضارة: وهي المسببة للعديد من الأمراض والأوبئة مثل السل، الطاعون، الجذام، وتسبب كذلك العديد من الأمراض المختلفة للنباتات والحيوانات [78] [79].

يعتبر العالم الشهير لويس باستور مؤسس ومنتشئ علم الكائنات الحية الدقيقة حيث أثبت أن الأمراض تسببها الميكروبات وفسر العديد من الظواهر كالتخمير وعملية البسترة، واستطاع العالم الألماني روبرت كوخ عزل البكتيريا المسبب للأمراض وعمل مزارع لها [80].

II-1- تعريف البكتيريا :

وهي كائنات مجهرية دقيقة بدائية النوى يتراوح طول الخلية عادة ما بين 1-2 ميكرون. تمتاز ببساطة التركيب وتتخذ ثلاثة أشكال رئيسية: البكتيريا الكروية، البكتيريا العصوية، البكتيريا الحلزونية [81].



الشكل (19): الأشكال الرئيسية للبكتيريا [82].

II-1-1-1-بنية البكتيريا :

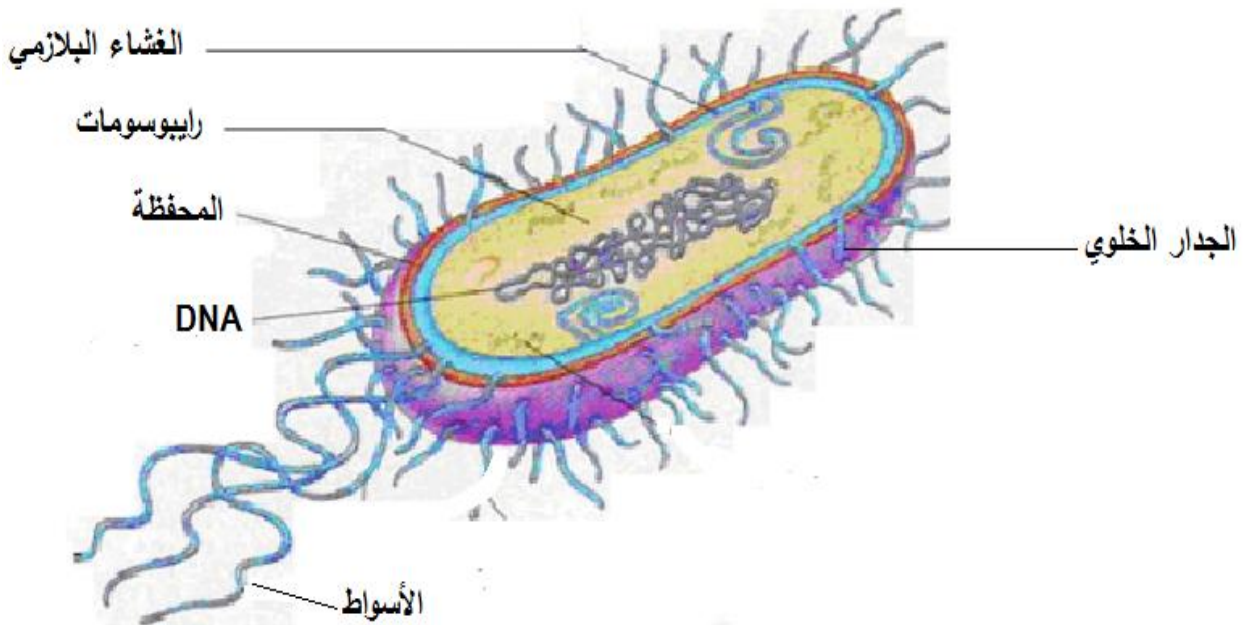
إن الخلية البكتيرية تتميز ببساطة التركيب حيث تتكون من أجزاء أساسية وأجزاء ثانوية:

❖ الأجزاء الأساسية:

- الجدار الخلوي
- الغشاء البلازمي
- السيتوبلازم
- النواة: تتكون من كروموزوم حلقي ملتف حول نفسه.

❖ الأجزاء الثانوية:

- الأسواط
- المحفظة (الكبسولة)
- الأهداب [83]



الشكل (20): رسم تخطيطي يوضح بنية الخلية البكتيرية [84].

II-2-1-1-تصنيف البكتيريا:

❖ من حيث توزيع أسواطها:

- بكتيريا وحيدة السوط.

- بكتيريا سوطية الطرف.
- بكتيريا سوطية الطرفين.
- بكتيريا عديدة الأسواط.

❖ من حيث الوسط الذي تعيش فيه:

- بكتيريا هوائية.
- بكتيريا لا هوائية.
- بكتيريا لا هوائية إختيارية.

❖ من حيث التغذية:

- بكتيريا ذاتية التغذية.
- بكتيريا عضوية التغذية.

❖ من حيث طريقة التلوين:

تسمى تقنية غرام نسبة للعالم Gram سنة 1884:

- بكتيريا موجبة الغرام(gram+): عند تلوينها تمتص اللون وتظهر زرقاء اللون.
- بكتيريا سالبة الغرام(gram⁻): تحرر صبغة وتظهر وردية.

❖ من حيث الأثر على الإنسان والكائنات الحية:

- البكتيريا النافعة.
- البكتيريا الإنتهازية.
- البكتيريا الضارة^[85].

II-1-3-أنواع البكتيريا المستعملة في الدراسة:

***Escherichia coli* -1-3-1-II**

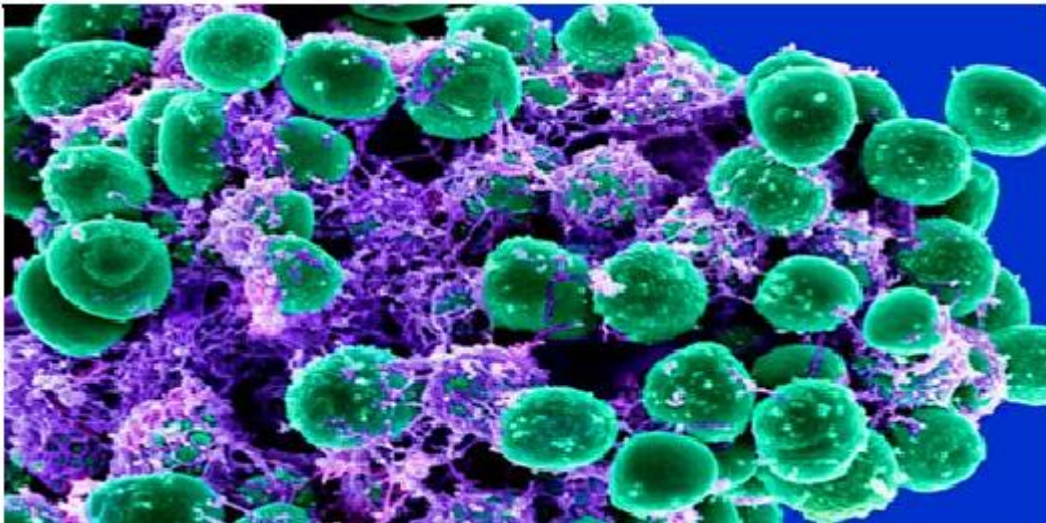
تنتمي *Escherichia coli* إلى عائلة Enterobacteriaceae. وهي عصيات لاهوائية إختيارية سالبة الجرام. يحتوي جنس *Escherichia* على 5 أنواع: *E. coli*, *E. fergusonii* و *E. hermanii* و *E. vulneris* و *E. blattae*. تعتبر *E. coli* طبيعية، متعايشة، متواجدة القولون في طبقة من المخاط تفرزها ظهارة القولون. وتعد *E. coli* أكثر البكتيريا اللاهوائية الإختيارية تواجدا في الثدييات والطيور الأخرى^[86].



الشكل (21): بكتيريا *Escherichia coli* [87].

II-1-3-2-*Staphylococcus epidermidis*:

هي بكتيريا موجبة الغرام مخاطية تنتمي إلى عائلة *staphylococcusaceae* ذات أبعاد ما بين 0.5 و1.5 ميكرومتر، عنقودية توجد على مستوى فروة الرأس والجلد والأنف، تملك القدرة على هضم الدهون حيث تتغذى على مادة زيتية تنتج عن طريق الجلد وأيضا هي بكتيريا إنتهازية، إختيارية لا هوائية وغير متحركة وممرضة في حالة نقص المناعة مما يؤدي إلى التسبب في عدوى المستشفيات وتشمل هذه العدوى العديد من الأمراض الخطيرة منها إلتهاب السحايا، تعفن الدم، إلتهاب الكلى وإلتهاب العظام [88][89].



الشكل (22): بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* [90].

: *Citrobacter sp* -3-3-1-II

هي نوع من البكتيريا القولونية تنتمي لعائلة *Enterobacteriaceae* سالبة الغرام، توجد هذه البكتيريا تقريبا في كل مكان في التربة، المياه، الصرف الصحي ويمكن أيضا أن نجدها في أمعاء الإنسان، نادرا ما تكون مصدرا للأمراض، عسوية مستقيمة الشكل ومتحركة ويمكن أن تكون هوائية ولا هوائية إختيارية وهي بكتيريا إنتهازية وممرضة في حالة نقص المناعة عند الإنسان ومن تلك الأمراض التي تسببها إلتهاب المسالك البولية، الجهاز التنفسي، الجهاز العصبي المركزي، الجلد، إلتهاب السحايا عند حديثي الولادة، تعفن الدم، الإلتهاب الرئوي والمعوي وكذلك إلتهاب المفاصل [91][92].



الشكل(23): بكتيريا *Citrobacter sp* [93].

II-2- المضادات الحيوية:

II-2-1- تعريف المضادات الحيوية:

مصطلح "antibiotic" في اللاتينية يعني "معارضة الحياة" وهي عبارة عن عوامل علاجية كيميائية تستخدم لعلاج الإلتهابات الميكروبية. المضادات الحيوية هي في الواقع مواد كيميائية تفرزها الكائنات الحية الدقيقة أو من أصل صناعي لديها القدرة على منع نمو أو قتل الجراثيم والبكتيريا الممرضة ولقد أحدث إكتشافها ثورة جديدة في العلوم الطبية وأستخدمت بشكل كبير لعلاج الأمراض المختلفة [94][95].

II-2-2- أنواع المضادات الحيوية:

يتم تصنيفها إلى نوعين [83][85]:

II-2-2-1- مضادات حيوية مثبطة لنشاط الخلية البكتيرية :

وهي مضادات حيوية قادرة على تثبيط تكاثر ونمو الخلية البكتيرية [83][85].

II-2-2-2- مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية :

وهو أن يكون المضاد الحيوي قادرا على قتل الخلية البكتيرية وذلك باستهداف جدار خليةها [83][85].

II-2-3- طرق تأثير المضادات الحيوية :

▪ العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا:

تعتمد الخلية البكتيرية على سلامة الجدار الخارجي للحفاظ على الشكل الخلوي في النمو والانقسام لذلك تعمل المضادات الحيوية على مستوى الجدار الخلوي مثبطة المرحلة الأخيرة لتصنيع peptidoglycane مما يؤدي إلى تحلل البكتيريا [94][95].

▪ العمل على الجدار الداخلي للبكتيريا:

للمضاد الحيوي خواص سطحية تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي للخلية البكتيرية وتغيير شكل هيكلها مما يؤدي إلى تدميرها وتحللها [94][95].

▪ العمل على تثبيط نمو ADN:

المضاد الحيوي يمكنه أن يثبط تصنيع ADN و ARNm البكتيري وذلك بوقف أنزيم ADN gyrase [95].

II-3- المقاومة البكتيرية :

هي قدرة البكتيريا على النمو والتكاثر في وجود الجرعة اللازمة للعلاج، ومنه لجأ العلماء الي حلول مبتكرة لهذه المشكلة الناشئة وهي المواد النانوية بسبب خصائصها الفريدة، تقسم المقاومة البكتيرية إلى نوعان [96][97]:

○ المقاومة الطبيعية:

هي ميزة تكون موجودة طبيعياً عند كل عنصر من نفس النوع البكتيري.

○ المقاومة المكتسبة:

هي مقاومة تنشأ عن طريق حصول البكتيريا على جين جديد، يكون قادراً على جعلها مقاومة لمضاد حيوي أو أكثر كانت حساسة له سابقاً ويمكن لهذا الجين إعادة التموضع في DNA أو من خلال عملية التبادل الجيني [97].

II-3-1- آلية المقاومة البكتيرية :

يوجد ثلاثة آليات أساسية هي المسؤولة عن المقاومة البكتيرية تتمثل في:

✓ مقاومة اختراق الخلية البكتيرية.

✓ عدم السماح للمضاد الحيوي التثبيت على الهدف للتعديل فيه.

✓ إفراز الإنزيمات تعدل المضاد الحيوي أو تحطمه [97].

II-3-2- طرق التعرف على حساسية ومقاومة البكتيريا للمضاد :

إن إختبار حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي لها عدة أهداف من أهمها هو:

✓ إختيار المضاد الأكثر نشاطاً.

✓ معرفة المضاد الفعال: في حالة معالجة الأمراض المعدية وذلك بإختباره على الميكروب المسؤول عن المرض.

✓ تحديد التركيز اللازم: وذلك للتخلص من العامل المعدي والممرض للعضو المريض [83][97].

ومن أهم الطرق التعرف على حساسية ومقاومة البكتيريا للمضاد ومعالجتها وأكثرها إستعمالاً طريقة الإنتشار والتي تسمى أيضاً إختبار الأقراص.

II-3-2-1- طريقة الانتشار :

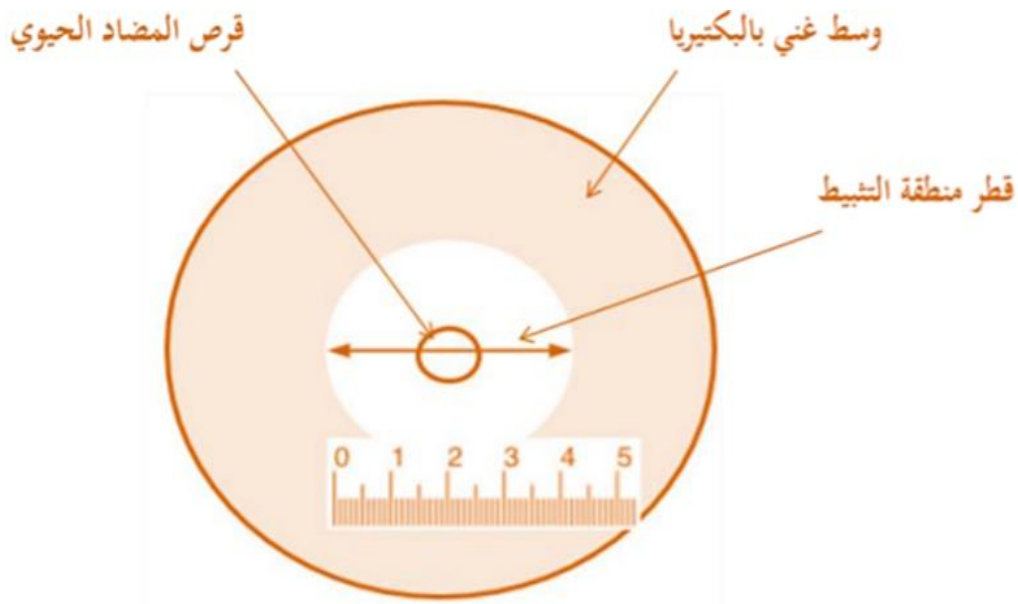
هذه الطريقة تتمثل في تحديد التركيز الأدنى للتثبيط "CMI" (وهو أقل تركيز يبدأ عنده تثبيط نمو البكتيريا) لمجموعة من المضادات الحيوية لجرثومة معزولة من مريض، والغرض منها هو توقع حساسية الجرثومة لواحد أو أكثر من المضادات الحيوية المعروفة لأغراض علاجية بشكل أساسي [98].

حيث يعتمد مبدأ هذه الطريقة على تقدير جرعة (تركيز) المضاد الحيوي القادر على إحداث تأثير مضاد على البكتيريا وذلك من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا نلجأ إلى طريقة اختبار حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية **Antibiogramme** عن طريق الإنتشار وذلك بوضع أقراص المضادات الحيوية لتجربتها على البكتيريا وقرائنها بعد 24 ساعة من وضعها في الحاضنة بدرجة 37 مئوية^{[95][97]}.

II-4- سلم Mutai:

يتم تصنيف نشاط مضادات الميكروبات وفقا لمقياس الذي إقترحه العالم Mutai عام (2009) حيث صنف مقدار فعالية المادة المقدمة للإختبار بناءا على قطر منطقة تثبيط النمو الميكروبي إلى خمس فئات كالاتي:

- مثبت قوي جدا: إذا كان قطر منطقة التثبيط ≤ 30 ملم.
- مثبت قوي: إذا كان قطر منطقة التثبيط ما بين 21 و 29 ملم.
- مثبت متوسط: إذا كان قطر منطقة التثبيط ما بين 16 و 20 ملم.
- مثبت ضعيف: إذا كان قطر منطقة التثبيط ما بين 11 و 16ملم.
- مثبت ضعيف جدا: إذا كان قطر منطقة التثبيط أقل من 10 ملم^[99].



الشكل(24): قطر منطقة التثبيط للبكتيريا^[100].

II-5- خلاصة الفصل الثاني:

يمثل هذا الفصل دراسة نظرية حول البكتيريا حيث تم التطرق فيه إلى تعريف البكتيريا وكذلك تطرقنا إلى شرح بنيتها وتصنيفاتها وأيضا تم التعريف بالأنواع البكتيرية التي إستعملناها لدراسة الفاعلية البيولوجية في هذه الدراسة وهي:

- *Escherichia coli*: وهي بكتيريا سالبة الغرام.
- *Citrobacter sp*: وهي بكتيريا سالبة الغرام.
- *Staphylococcus epidermidi*: وهي بكتيريا موجبة الغرام.

وتم التطرق إلى المضادات الحيوية من حيث تعريفها وأنوعها وطرق تأثيرها على البكتيريا وأيضا إلى تعريف المقاومة البكتيرية، أنواعها وآلياتها وأخيرا إلى كيفية دراسة فاعلية المضادات الحيوية وذلك بطريقة الإنتشار والتي أستعملت في هذه الدراسة لتحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا.

الجزء التطبيقي

الفصل الثالث

طرق التحضير والتشخيص

(الطرق والوسائل - النتائج ومناقشتها)

تمهيد:

تم في هذا الفصل تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps كيميائياً باستخدام طريقة الترسيب^[101]، وتفعيلها بواسطة [N- (trimethoxysilylpropyl)ethylenediamine triacetic acid] "TMS-EDTA" وتشخيصها باستخدام تقنيات التحليل الطيفية: جهاز حيود الأشعة السينية (XRD) وجهاز الأشعة تحت الحمراء (FTIR) مع تحليل النتائج المتحصل عليها ومناقشتها.

▪ تمت هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

III-1-1- تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps:

قبل البدء في العمل تم تعقيم كل الأدوات والتنظيف الجيد لمكان العمل وهذا من أجل التخلص من الشوائب والعوالق الناتجة عن العوامل الجوية وبقايا المواد الكيميائية.

III-1-1- الأجهزة والمواد المستعملة :

• المواد:

- ✓ محلول خلات الزنك ثنائي الهيدرات $[Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O]$ (M= 219.50), (d=1.84).
- ✓ هيدروكسيد الأمونيوم $[NH_4OH]$ (M=35.046), (d=0.892), (P=30%).
- ✓ الإيثانول $[CH_3CH_2OH]$ (M=46.07), (d=0.789), (P=99%).
- ✓ ماء مقطر معقم منزوع الأيونات.

• الأجهزة:

- ✓ ميزان إلكتروني حساس.
- ✓ جهاز الرج الكهربائي.
- ✓ جهاز الطرد المركزي.
- ✓ جهاز قياس pH.
- ✓ حاضنة.
- ✓ أجهزة التشخيص: جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR، جهاز انعراج الأشعة السينية XRD.

III-1-2- طريقة التحضير:

III-1-2-1- التحضير:

▪ تحضير محلول خلات الزنك ثنائي الهيدرات (0.1 مول/لتر):

- من اجل الحصول على محلول خلات الزنك ثنائي الهيدرات ذو تركيز (0.1 مول/لتر) بحجم 100 مل نقوم بوزن كتلة من خلات الزنك ثنائي الهيدرات $[Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O]$ باعتبارها كمصدر للزنك محسوبة بتطبيق العلاقة التالية:

$$m = M.C.V \quad \dots\dots(2-III)$$

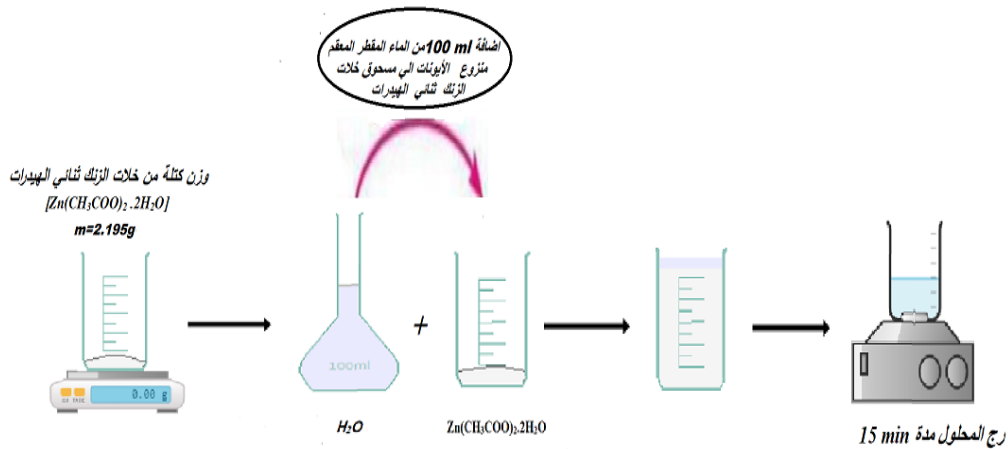
حيث:

M: الكتلة المولية لخلات الزنك ثنائي الهيدرات (219.50 غرام/مول)

C: تركيز المحلول المطلوب (0.1 مول/لتر)

V: حجم المحلول (0.1 لتر=100 مل)

- إذابة الكتلة الموزونة m (2.195 غرام) في حجم 100 مل من الماء المقطر المعقم منزوع الأيونات ونقوم برج المحلول بواسطة جهاز الرج المغناطيسي الكهربائي لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة المخبر العادية حتى التجانس.



الشكل(25): تحضير محلول خلات الزنك ثنائي الهيدرات.

▪ تحضير محلول هيدروكسيد الأمونيوم (0.2 مول/لتر):

- حساب تركيز هيدروكسيد الأمونيوم ذو نقاوة 30% عن طريق العلاقة:

$$C_1 = 10.P.d/M \quad \dots\dots\dots(3-III)$$

P: درجة النقاوة (30%).

d: الكثافة (0.892 غرام/مل).

M: الكتلة المولية لهيدروكسيد الأمونيوم (35.046 غرام/مول).

- انطلاقاً من التركيز الأم (7.635 مول/لتر) يتم تحضير المحلول المخفف تركيزه (0.2 مول/لتر) وحجمه (50 مل) عن طريق العلاقة التالية:

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad \dots\dots\dots(4-III)$$

حيث:

C₂: التركيز المطلوب (0.2 مول/لتر).

V₂: الحجم المطلوب (50 مل).

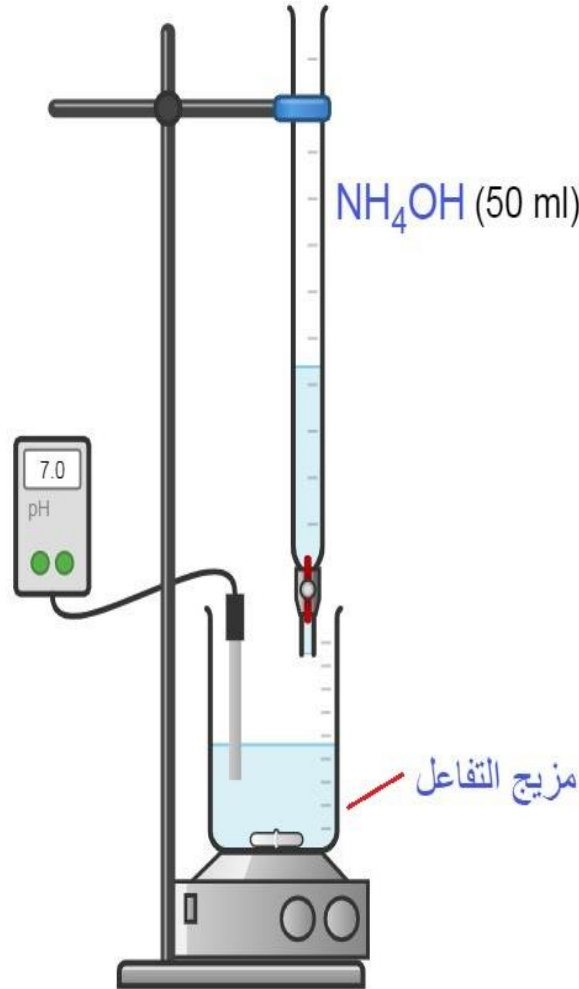
-حجم محلول الأم اللازم هو 1.30 مل.



الشكل (26): تحضير محلول هيدروكسيد الأمونيوم.

▪ تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية:

- بعد مرور 15 دقيقة من رج محلول خلات الزنك ثنائي الهيدرات نضيف للمحلول حجم 50 مل من محلول هيدروكسيد الأمونيوم المخفف تدريجياً (قطرة-قطرة) حتى الوصول إلى $\text{pH}=10$ (محلول قاعدي) مع الرج القوي.
- بعد انتهاء الحجم المضاف نترك المحلول تحت الرج القوي لمدة 1 ساعة.
- بعد مرور ساعة نتوقف عن رج المحلول ونضعه داخل الفرن لمدة 12 ساعة تحت درجة حرارة 80°C .



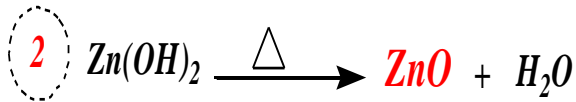
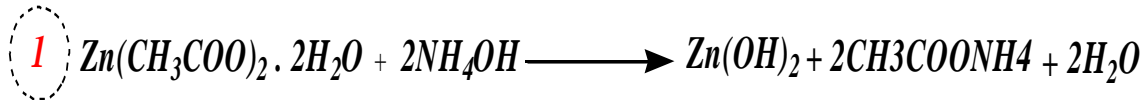
الشكل (27): التركيب التجريبي لعملية تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية.

III-1-2-2-1-الغسل والتجفيف:

- بعد مرور 12 ساعة نضع المحلول بالتساوي في أنابيب إختبار، ثم نضع في جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة وبسرعة 3800 دورة/دقيقة.

- غسل المحلول عدة مرات بالايثانول والماء المقطر المعقم منزوع الايونات ونعيد المحلول إلى جهاز الطرد المركزي، نكرر هذه العملية عدة مرات بنفس الشروط.
- نقوم بجمع المسحوق الصلب الأبيض المترسب في الأنابيب ويتم تجفيفه في الفرن لمدة 2 ساعة تحت درجة حرارة 120 م°.
- بعد مرور 2 ساعة يتم الحصول على المسحوق الأبيض (ZnO).

يتم تلخيص عملية تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية بإيجاز وفق الآلية الموضحة في المعادلة الكيميائية التالية:



بعد تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps، يتم التحقق من نجاح عملية التحضير وذلك بتشخيصها بواسطة التقنيات الطيفية: جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR) وجهاز انعراج الأشعة السينية (XRD).

III-2- تفعيل جسيمات ZnO بـ TMS EDTA:

في هذا الجزء سيتم تفعيل جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps بواسطة TMS EDTA.

III-2-1- الأجهزة والمواد المستعملة:

• المواد:

- ✓ 20 مليغرام من مسحوق أكسيد الزنك النانوي المحضر سابقا.
- ✓ 20 مل من الإيثانول CH₃CH₂OH.
- ✓ 0.1 مل من محلول TMS EDTA.
- ✓ ماء مقطر معقم منزوع الأيونات (عالي النقاوة).

• الأجهزة

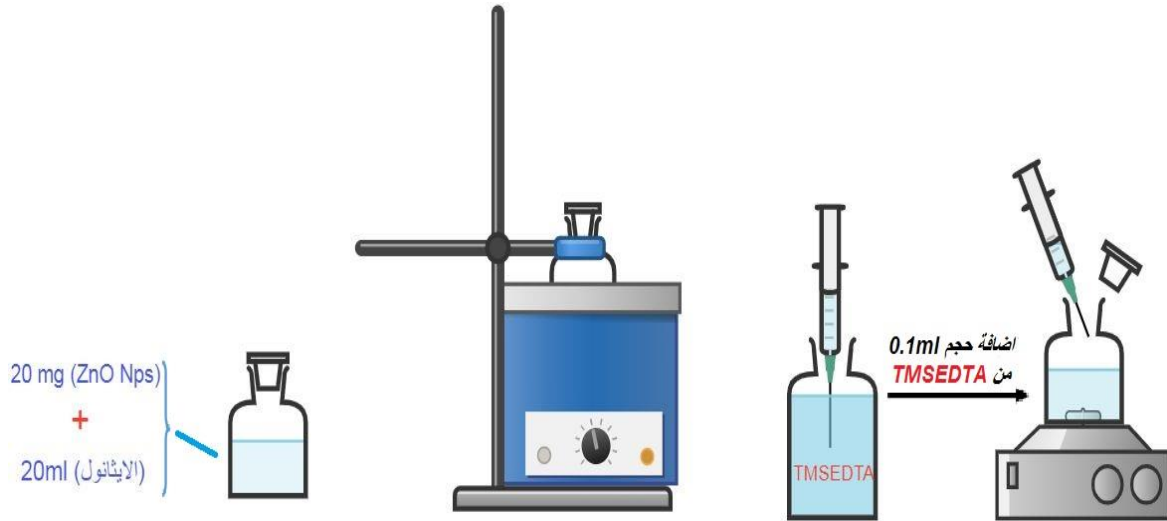
- ✓ ميزان إلكتروني حساس.

- ✓ جهاز الأمواج فوق صوتية.
- ✓ جهاز الرج المغناطيسي الكهربائي.
- ✓ جهاز الطرد المركزي.
- ✓ جهاز التشخيص: جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR).

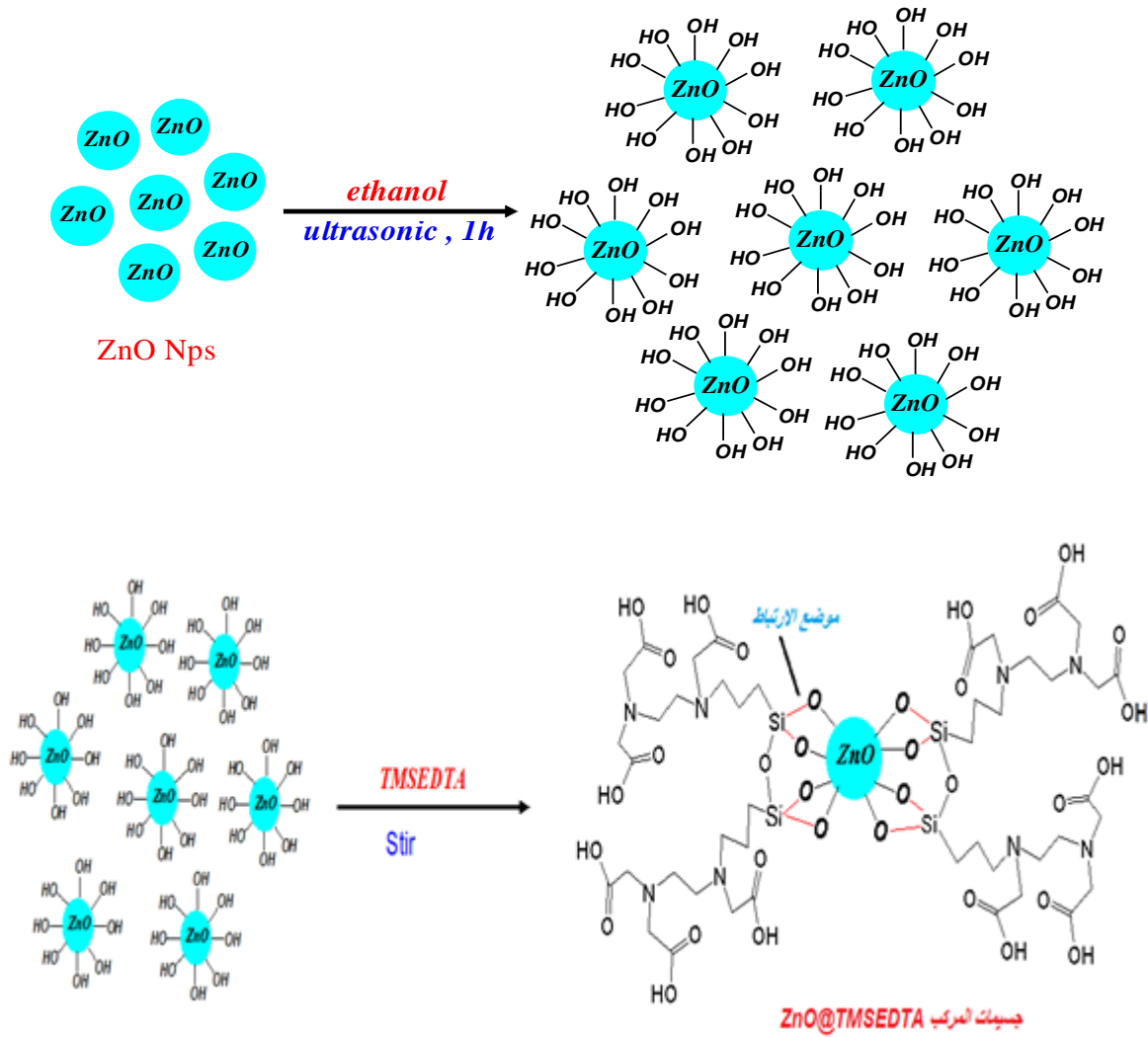
III-2-2- طريقة التفعيل :

- نضيف 20 مل من الايثانول إلى 20 مليغرام من مسحوق ZnO النانوي المحضر ونضع المزيج في جهاز الأمواج فوق صوتية لمدة ساعة واحدة.
- بعد مرور ساعة من الزمن نضيف 0.1 مل من محلول الـ TMS EDTA إلى المحلول الناتج (الايثانول + ZnO النانوي) ونترك تحت الرج لمدة اربع ساعات.
- بعد مرور الأربع ساعات يتم غسل المحلول الناتج عدة مرات بالماء المقطر المعقم منزوع الأيونات وإدخاله إلى جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق وبسرعة 4000 دورة/دقيقة، للحصول على مسحوق أبيض (ZnO@TMS EDTA) الشكل (28-29).

يتم التأكد من نجاح عملية التركيب بواسطة جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR).



الشكل (28): تفعيل جسيمات أكسيد الزنك النانوية بـ TMS EDTA .



الشكل (29): رسم تخطيطي يوضح كيفية ارتباط المركب TMSEDTA على سطح جسيمات أكسيد الزنك النانوية.

III-3- تحليل النتائج ومناقشتها :

في هذا الجزء سيتم تشخيص المركبات المحضرة سابقا (ZnO Nps, ZnO@TMSEDTA) بواسطة أجهزة التحليل الطيفية: جهاز انعراج الأشعة السينية (XRD) وجهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR) وذلك للتأكد من نجاح عملية التحضير لكل مركب.

III-1-3-1- الدراسة البنيوية :

III-1-3-1- انعراج الأشعة السينية :

سيتم عرض ومناقشة نتائج الفحوصات التركيبية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps المحضرة بطريقة الترسيب الكيميائية باستعمال جهاز انعراج الأشعة السينية حيث سنقوم بتحديد مختلف الخصائص البنيوية مع حساب بعض الثوابت التي يمكن استخلاصها مثل: البعد الحبيبي.

في هذه الدراسة تم استعمال جهاز انعراج الأشعة السينية PROTO MANUFACTORY من نوع (AXRDBenchtop Powder Diffraction System) الموجود على مستوى كلية العلوم الدقيقة بجامعة الوادي كما هو موضح في الشكل (30).

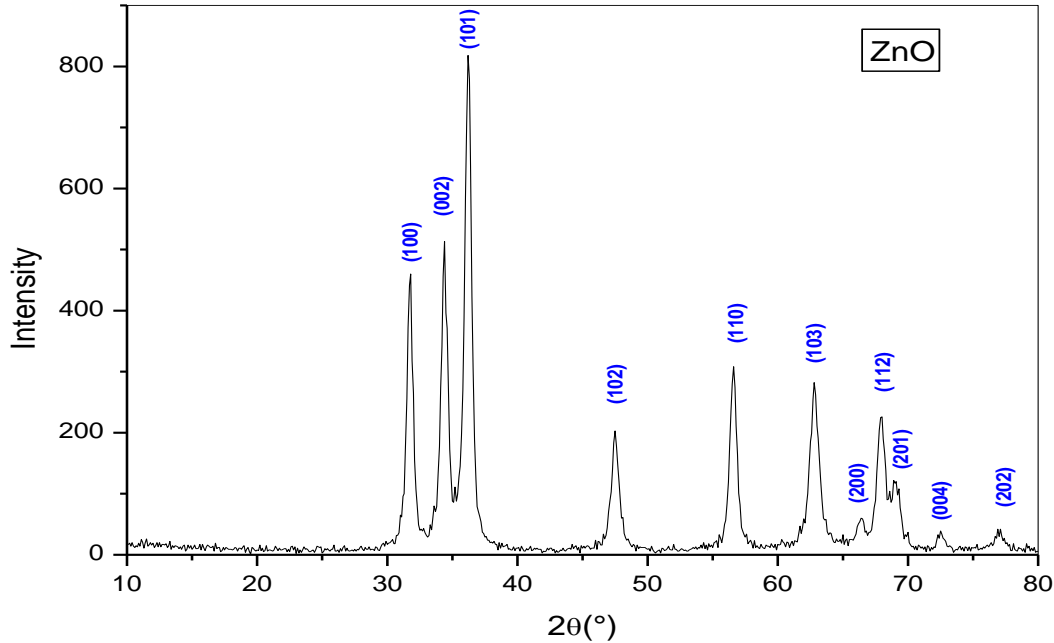


الشكل(30): جهاز انعراج الأشعة السينية (XRD) [102].

حيث تصدر هذه الأشعة السينية من أنبوب مهبطه من النحاس والطول الموجي لهذه الأشعة هو $\lambda_{CuK\alpha 1} = 1.5409 \text{ \AA}$ ، حيث مجال تغير الزاوية 2θ هو $[4^\circ - 90^\circ]$ ومقدار توتر التيار المستعمل 25 KV وشدته هي 20 mA.

III-1-3-2- طيف الانعراج الأشعة السينية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية :

بينت نتائج انعراج الأشعة السينية (XRD) لجسيمات أكسيد الزنك النانوية المحضرة بطريقة الترسيب الكيميائية الذي تم رسمه ببرنامج Origin Pro 9.1 حيث تحصلنا على الطيف الموضح في الشكل(31).



الشكل(31): طيف انعراج الأشعة السينية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية المحضر بطريقة الترسيب الكيميائية.

من خلال تحليل طيف انعراج الأشعة السينية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية تم تحديد مواقع القمم التي تظهر بشكل حاد، حيث يلاحظ ظهور 6 قمم حيود مميزة ومختلفة عند الزوايا 2θ ، وبالمطابقة مع البطاقة المرجعية في قاعدة البيانات الدولية (JCDPS card NO:36-1451) الموجودة ببرنامج MDI jade يتضح أن الزوايا موافقة للمستويات البلورية (القمم) نجمعها في الجدول التالي:

الجدول(1): تبين الزاوية 2θ والمستويات البلورية لكل قمة على التوالي.

62.7998	56.5999	47.4998	36.1998	34.3998	31.6998	الزوايا 2θ
103	110	102	101	002	100	المستويات البلورية (hkl)

حيث رمزنا لكل قمة بقرائن ميلر (hkl) الخاصة بها كما هو موضح في الشكل والهدف من هذه المطابقة هو تحديد ومعرفة الأطوار الكيميائية الموجودة في العينة وبناءا على التطابق التام تبين أن المادة الصلبة المحضرة هي بالفعل لجسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps.

كما أظهرت نتائج انعراج الأشعة السينية لجسيمات أكسيد الزنك النانوي المحضر أنها ذات بنية بلورية سداسية من نوع (Wurtzite) تنتمي للزمرة الفضائية P63mc ذات الثوابت الشبكية التالية:

▪ حيث: $a=b=3.2498 \text{ \AA}$ و $c=5.2066 \text{ \AA}$ وأيضا $\alpha=\beta=90^\circ$, $\gamma=120^\circ$.

III-3-1-3- حساب البعد الحبيبي :

إن للقد أو البعد الحبيبي دور كبير في تحديد خصائص المادة ويتم حسابه عن طريق علاقة ديبياي-شيرر وبالإستعانة بمخطط الإنعراج لإيجاد قيم β_{hkl} حيث تعطى علاقة ديبياي-شيرر (Debye-Scherrer) [103] على شكل المعادلة التالية:

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{\beta_{hkl} \cdot \cos \theta} \quad \dots\dots(5-III)$$

حيث:

D: بعد الحبيبات ب (نانومتر).

λ : الطول الموجي للأشعة السينية ب (A°).

θ : زاوية سقوط الأشعة السينية (زاوية الانعراج).

β_{hkl} : أقصى عرض عند منتصف الإرتفاع ((rad)FWHM).

K: عامل الشكل ويمثل مقدار ثابت يعتمد على الشكل البلوري للحبيبات النانوية مقداره (0.9).

حيث بعد إجراء الحسابات اللازمة وذلك بالإستعانة بنتائج إنعراج الأشعة السينية للمركب المحضر المتحصل عليها عن طريق برنامج Origin Pro 9.1 وقد تم إجراء هذه الحسابات بإستعمال برنامج

EXCEL حيث وجدنا أن معدل القد للحبيبات $D_{(ave)}$ هو $D = 12.77$ نانومتر كما موضح في الجدول التالي رقم (2):

الجدول(2): الحجم الحبيبي لكل المستويات البلورية لمركب ZnO المحضر حسب معادلة ديبياي شيرر.

$2\theta(^{\circ})$	(hkl)	FWHM(rad)	D (نانومتر)	$D_{(ave)}$ (نانومتر)
31.6998	100	0.56114	14.73	12.77
34.3998	002	0.65522	12.70	
36.1998	101	0.62946	13.29	
47.4998	102	0.68652	12.65	
56.5999	110	0.65371	13.81	
62.7998	103	0.84903	10.97	
67.9	112	0.79446	12.06	
72.4997	004	0.74692	13.20	
76.9997	202	0.88307	11.50	

هذه النتائج تثبت نجاحنا في إصطناع مركب أكسيد الزنك في الحجم النانوي حيث نلاحظ من خلال نتائج هذا الجدول أن أكبر بعد حبيبي للجسيمات النانوية لمركب ZnO المحضر هو في المستوي البلوري (100) ويساوي 14.73 نانومتر وأقل بعد حبيبي في المستوي البلوري (103) ويساوي 10.97 نانومتر ومنه نستنتج أن كل حبيبات مركب أكسيد الزنك هي في الحجم النانوي وبالتالي نستنتج مما سبق أن المركب المحضر هو مركب نانوي.

III-2-3- مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR):

تم تشخيص المركبات المحضرة بواسطة جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR) من نوع (Agilent Technologies Cary 630 FTIR) الموجود في مخبر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الوادي الموضح في الشكل (32).

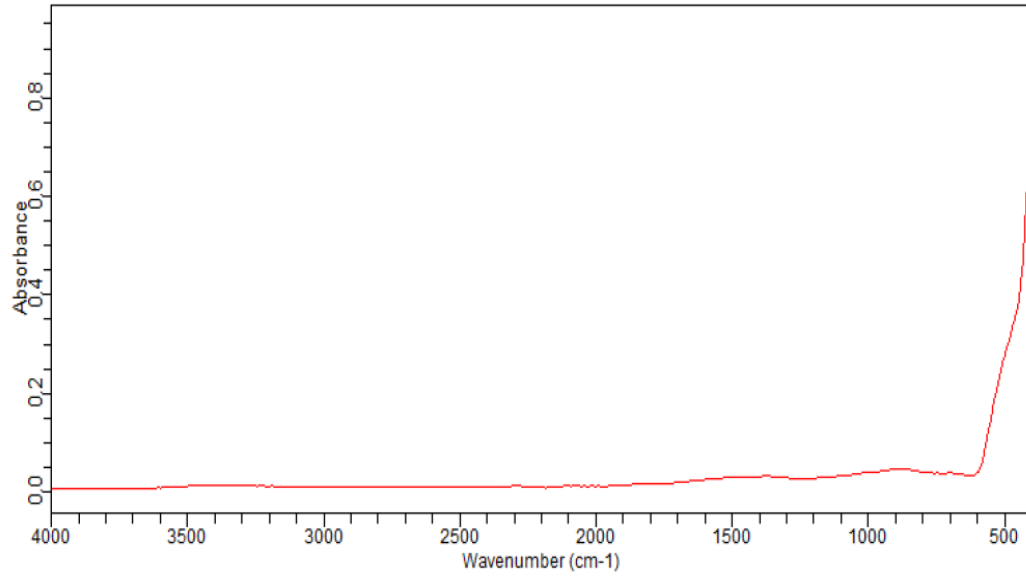


الشكل (32): صورتين فوتوغرافيتين لجهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR).

تم إجراء قياسات (FTIR) ضمن مدى القياس ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$)، ويتم تحديد الروابط الكيميائية الموجودة من خلال مواقع اهتزازها في طيف الأشعة تحت الحمراء وبالتالي إستنتاج الرابطة الكيميائية ومعرفة بنية المركب.

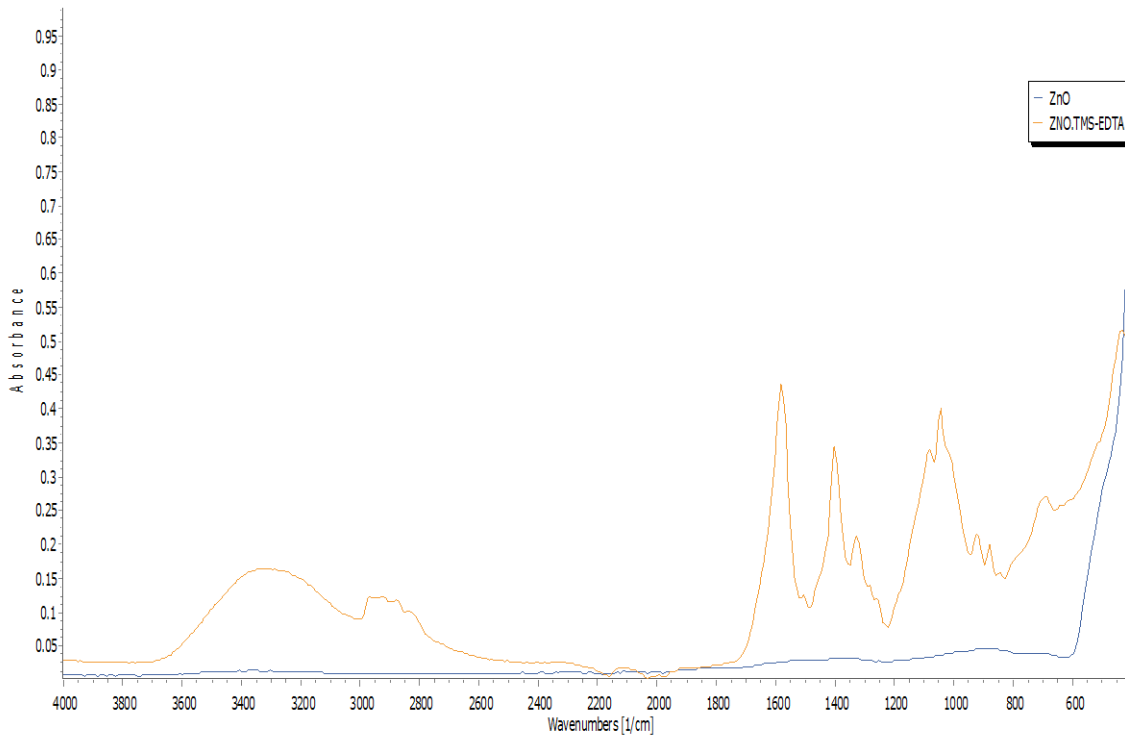
III-3-2-1- تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء لجسيمات أكسيد الزنك النانوية:

يظهر طيف الـ FTIR لجسيمات أكسيد الزنك النانوية المحضرة شكل رقم (33) قمة (ذروة) قوية وحادة تظهر ما بين الطول الموجي 400 cm^{-1} و 490 cm^{-1} تدل على وجود الرابطة Zn-O أي تشير إلى وجود مركب أكسيد الزنك (ZnO) ونجاح اصطناعه. وكما نلاحظ فإن طيف الأشعة تحت الحمراء لجسيمات أكسيد الزنك النانوية خالي من أي قمم قوية كانت أو ضعيفة وهذا يؤكد خلو المركب المحضر (ZnO) من أي شوائب أو مركبات كيميائية ناتجة أو عالقة من عملية التحضير وبالتالي نستنتج أن مركب أكسيد الزنك النانوي الذي تم تحضيره نقي جدا.



الشكل (33): طيف الأشعة تحت الحمراء لجسيمات أكسيد الزنك ZnO النانوية المحضرة بطريقة الترسيب.

III-2-2-3-تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب ZnO@TMSEDTA:



الشكل (34): يوضح طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب ZnO@TMSEDTA.

تم تأكيد نجاح تفعيل جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps بمركب TMS EDTA من خلال تحليل FTIR الذي أظهر بوضوح النطاقات المتوقعة كما هو مبين في الشكل (34). حيث تظهر قمة في حدود $3500-3300 \text{ cm}^{-1}$ عريضة ومتوسطة الشدة تدل على وجود مجموعة OH الخاصة بمجموعة الكربوكسيل، وظهور عدة قمم ما بين $2950-2850 \text{ cm}^{-1}$ خاصة بمجموعة CH_2 الميثيلان، والقمة المتواجدة عند 1580 cm^{-1} خاصة بمجموعة C=O الكربوكسيلية، القمتين عند 1401 cm^{-1} و 1350 cm^{-1} تدل على التمدد المتناظر والغير متناظر لمجموعة (COO^-) الكربوكسيلية، ولوحظت قمة عند 1100 cm^{-1} خاصة بوظيفة الأمين الثلاثي C-N والقمة المتواجدة عند 1046 cm^{-1} ناتجة عن اهتزازات التمدد لـ Si-O-Si أي نجاح تثبيت Si على سطح جسيمات ZnO النانوية وتشير القمم التي ما بين 600 cm^{-1} إلى 1000 cm^{-1} إلى تكوين روابط Si-O-Zn. وهذه النتائج أكدت نجاح عملية تركيب مركب TMS EDTA على سطح جسيمات أكسيد الزنك النانوية.

ملاحظة: نظرا لوجود بعض العراقيل والظروف المعيقة لم نتمكن من الحصول على الصورة الناتجة من جهاز المجهر الالكتروني الماسح (SEM) لمركب أكسيد الزنك النانوي المحضر.

4-III- خلاصة الفصل الثالث

لقد تضمن هذا الفصل شرح مفصل لكيفية تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps باستخدام طريقة الترسيب الكيميائية وأيضا طريقة تفعيله مع مركب TMS EDTA وتم التحقق من نجاح عملية التحضير والتفعيل من خلال تحليلها بواسطة تقنيات التحليل الطيفية ومناقشة النتائج حيث تم:

○ أولا تشخيص جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps المحضرة بجهاز الانعراج الأشعة السينية وإتضح أن المركب المحضر هو لجسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps حيث وجدنا أنه مطابق

للبطاقة المرجعية في قاعدة البيانات الدولية (JCDPS card NO:36-1451)، وإطلاقاً من نتائج الإنعراج

تبين أن له بنية بلورية سداسية كما أظهرت نتائج قياس أن بعد حبيباته نانوية القد.

○ ثانياً تم تشخيص جسيمات ZnO Nps و ZnO@TMSEDTA بجهاز الأشعة تحت الحمراء والتي

أيضاً نتائجها أثبتت نجاح إصطناع مركب ZnO ونقاوته العالية ونجاح تفعيله بمركب TMSEDTA.

الفصل الرابع

تقدير الفاعلية البيولوجية

IV- تقدير الفاعلية المضادة للبكتيريا للمركبات المحضرة :

تعتبر الجسيمات النانوية موضوع بحث آثار اهتمام العلماء في العديد من المجالات خاصة الطبية نظرا لخصائصها المتميزة. تعتمد هذه الخصائص على حجم وشكل وتكوين الجسيمات النانوية والمعروف أن التأثير السام للجسيمات النانوية على الكائن الدقيق يعتمد على عدة تأثيرات منها: طبيعة الجسيمات والأس الهيدروجيني، درجة الحرارة وتركيز الجسيمات النانوية.

لاختبار حساسية الكائن الدقيق للمادة المضادة له تستعمل العديد من الطرق والتقنيات، أهمها تلك التي تعتمد على طريقة الانتشار بوسط زرع صلب والطريقة المستعملة في هذه الدراسة هي طريقة الانتشار في البئر أو الحفرة^[104]. يمكن تلخيص هذه الطريقة في الشكل(35) والسلاطات البكتيرية المختبرة تم الحصول عليها من مخبر التحاليل لصيدلية خلف - قمار-الوادي.



الشكل(35): مخطط توضيحي لتقدير الفاعلية التثبيطية لجسيمات ZnO@TMSEDTA / ZnO Nps

على السلالات البكتيرية بطريقة الانتشار بالبئر^[104].

IV-1- المواد وطرق العمل :

للبدء في العمل يتم التنظيف الجيد والتعقيم الجيد لمكان العمل مع تعقيم كل الأدوات في المعقمة والعمل بالقرب من موقد بنزن.

IV-1-1- الأجهزة والمواد المستعملة :

✓ المواد والمحاليل المستعملة:

- ✓ المركبات المحضرة (التركيز الأربعة المخففة لكل مركب).
- ✓ أقراص المضاد الحيوي Gentamicine (10 ملغ/القرص).
- ✓ وسط الزرع Muller Hinton (وسط جيلوزي) يستعمل لكل الأنواع البكتيرية المختبرة.
- ✓ ماء فيزيولوجي NaCl / 5 مل.

✓ ماء مقطر معقم منزوع الأيونات.

✓ الأجهزة والأدوات المستعملة:

- ✓ حاضنة.
- ✓ جهاز التعقيم "موصدة" .
- ✓ ماسح قطني معقم.
- ✓ موقد بنزن.
- ✓ ماصة دقيقة (ماصة ميكروليترية) حجم (5-50) ميكرو لتر.
- ✓ ماصة باستور.
- ✓ زجاجيات مختلفة (أطباق بتري -أنابيب اختبار مغلقة).
- ✓ حمام مائي.

IV-1-2-السلالات البكتيرية المدروسة :

إن ظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية أدى إلى البحث عن بدائل لهذه المضادات ولهذه الغاية اقترحنا اختبار المركبات المحضرة سابقا على ثلاث سلالات بكتيرية ممرضة مختلفة وتشمل سلالات مقاومة للمضادات الحيوية وهي موضحة في الجدول.

الجدول(3): السلالات البكتيرية المدروسة .

السلالة البكتيرية	طبيعة الجدار الخلوي	الجنس	العينة المأخوذة منها
<i>Escherichia coli</i>	غرام (-)	أنثى	البول (ECBU)
<i>Citrobacter sp</i>	غرام (-)	أنثى	البول (ECBU)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	غرام (+)	ذكر	البول (ECBU)

IV-1-3-تحضير التراكيز:

تم تحضير التراكيز الأربع للجسيمات النانوية المحضرة (ZnO Nps ، ZnO@TMSEDTA) وذلك بإذابة 80 ملغ من كل مركب في 4 مل من الماء المقطر منزوع الأيونات للحصول على التركيز الأم 20 ملغ/مل وانطلاقا من التركيز الأم تم تحضير التراكيز المخففة:

الجدول(4): التراكيز المحضرة للجسيمات النانوية.

التراكيز				العينة
2.5 ملغ/مل	5 ملغ/مل	10 ملغ/مل	20 ملغ/مل	
T ₄	T ₃	T ₂	T ₁	ZnO@TMSEDTA (T)
Z ₄	Z ₃	Z ₂	Z ₁	ZnO NPs (Z)

IV-1-4- تحضير الوسط الزراعي :

تمت إذابة الوسط الجيلوزي من نوع Muller Hinton في حمام مائي عند درجة حرارة 120 م°، بعد إذابة الوسط، يسكب الوسط في أطباق بتري ذات قطر 9 سم بسماك 4 مم (بمعدل 20 مل في كل

طبق بترى) مع مراعاة التجانس في سمك السطح، ثم تترك حتى تتصلب في ظروف معقمة ليتم الزرع عليها.

IV-1-5- طريقة عمل الحفر على سطح الوسط الزراعي الصلب:

باستخدام ماصة مخروطية الشكل (وهي أحد أجزاء الماصة الدقيقة) كتأقب وبعد تعقيم الماصة يتم عمل 4 حفر في كل علبه بترى بقطر 5 ملليمتر لكل حفرة.

IV-1-6- تحضير المعلق البكتيري:

يتم تحضير المعلق البكتيري المتجانس وذلك بأخذ جذمة (مستعمرة) بكتيرية من مزرعة بكتيرية حديثة عمرها بين 18-24 ساعة في 5 ملم من الماء الفيزيولوجي المعقم، يجب أن يستعمل هذا اللقاح بعد 15 دقيقة من تحضيره لتفادي زيادة نمو البكتيريا.

IV-1-7- طريقة زراعة البكتيريا :

يتم غمس ماسح قطني معقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به على كامل الوسط الصلب بشكل خطوط متلاصقة مع تكرير العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير الطبق 180^0 في كل مرة، وذلك من اجل الحصول على حقل بكتيري متساوي التوزيع ولا يكون على شكل مستعمرات منفصلة.

IV-1-8- غمر الحفر بالتراكيز المخففة للمركبات المحضرة :

تمت تعبئة الحفر بمختلف التراكيز المخففة لكل مركب محضر بواسطة ماصة دقيقة وبحجم 10 ميكرو لتر، أي كل علبه بترى تحتوي على أربعة حفر مختلفة التراكيز، كما يتم وضع أقراص المضاد الحيوي Gentamicine للمقارنة " كشاهد إيجابي".

IV-1-9- عملية الحضان :

بعد عملية تعبئة الحفر بالتراكيز، تغلق علب بترى وتوضع في الحاضنة لمدة 24 ساعة تحت درجة حرارة 37°م .

IV-1-10- النتائج والمناقشة:

بعد مرور 24 ساعة من عملية الحضان، يتم قياس أقطار التثبيط المتكونة حول الحفر المعبئة بالتراكيز المختلفة مقدرة بالمليتر بواسطة المسطرة أو الأوراق الملمتية.

IV-1-10-1- النتائج:

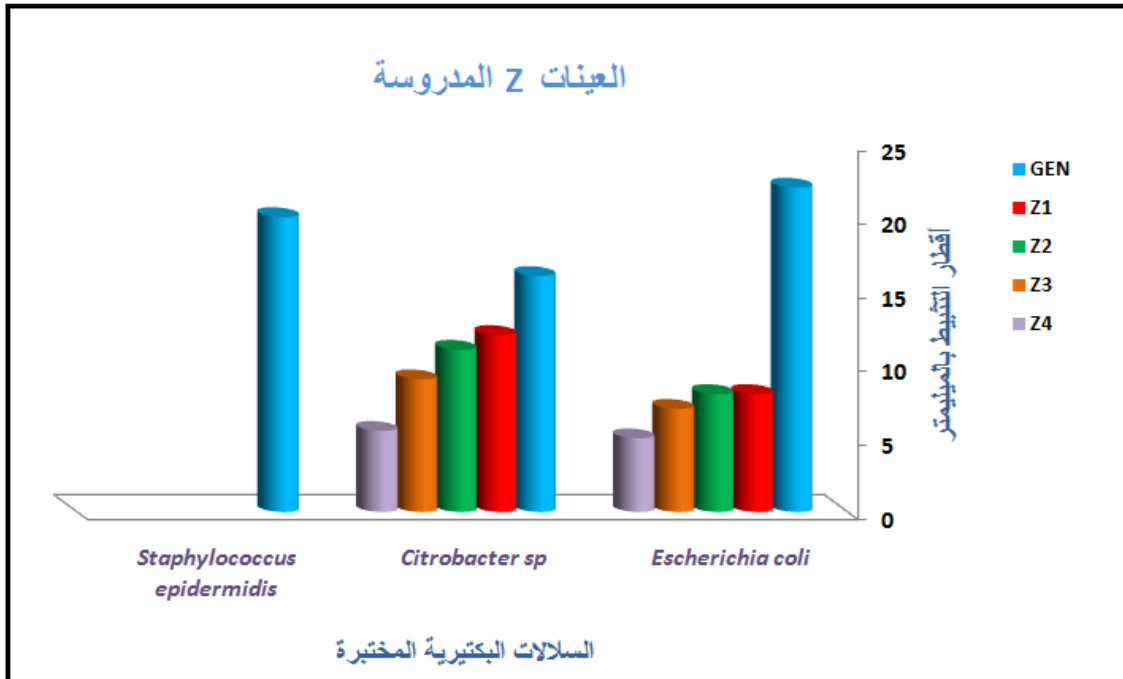
نتائج أقطار التثبيط للعينات Z والعينات T والمضاد الحيوي " Gentamicine " مبينة في الجدولين (5) و (6).

الجدول (5): الأقطار التثبيطية للمضاد الحيوي Gentamicine ضد السلالات البكتيرية المدروسة.

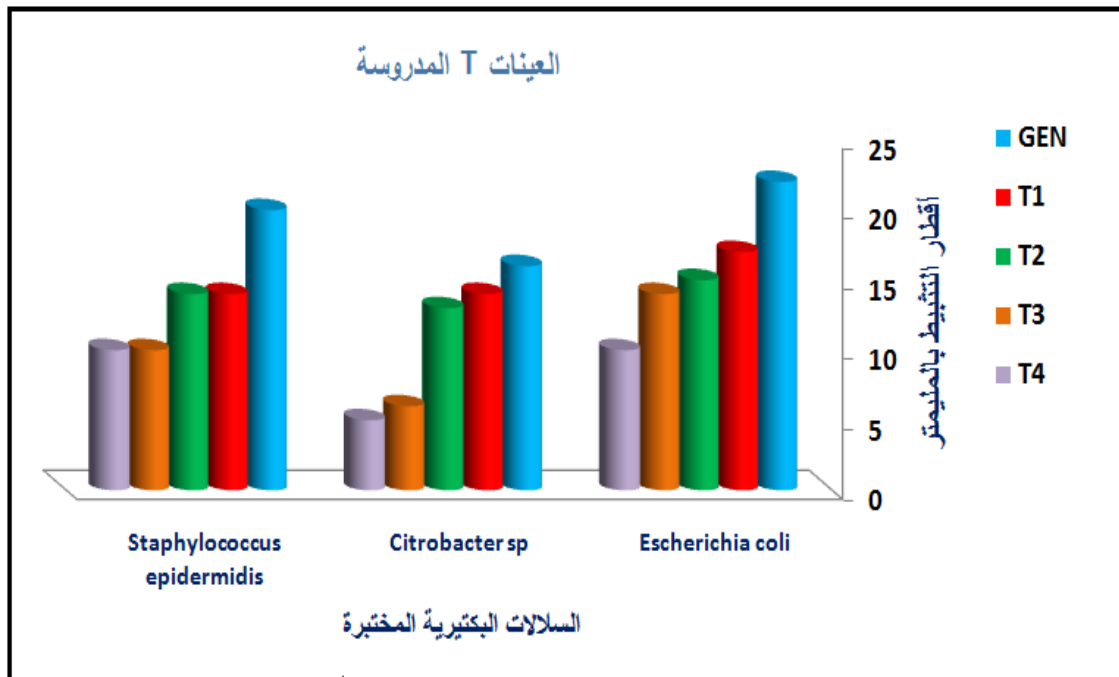
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Citrobacter sp</i>	<i>Escherichia coli</i>	البكتيريا المضاد الحيوي
20 ملم	16ملم	22 ملم	Gentamicine

الجدول (6): الأقطار التثبيطية لأنواع البكتيرية الناتجة عن مختلف تراكيز عينات Z و T.

ZnO@TMS EDTA				ZnO Nps				التراكيز
قطر منطقة التثبيط (ملم)								البكتيريا
T ₄	T ₃	T ₂	T ₁	Z ₄	Z ₃	Z ₂	Z ₁	
10	14	15	17	5	7	8	8	<i>E.Coli</i>
5	6	13	14	5.5	9	11	12	<i>Citrobacter sp</i>
10	10	14	14	-	-	-	-	<i>S.epidermidis</i>



الشكل (36): أقطار التثبيط بالمليمتر للعينات Z.

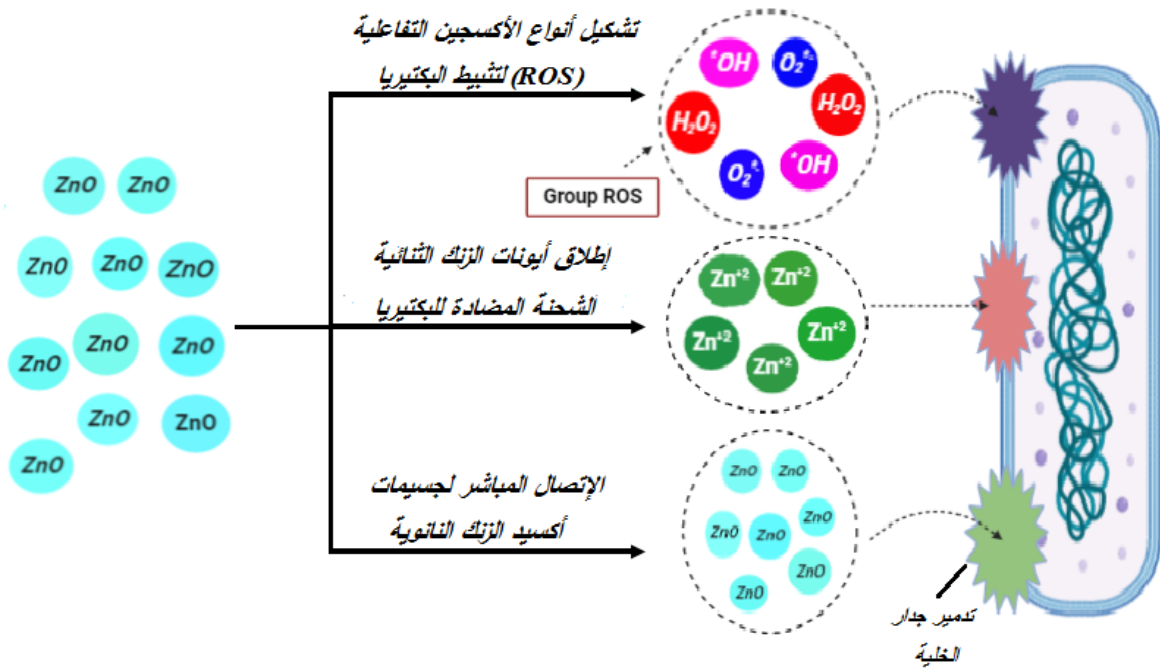


الشكل (37): أقطار التثبيط بالمليمتر للعينات T.

IV-10-2- تفسير النتائج:

✓ العينات (Z₁- Z₄):

من خلال الجدول (4) والشكل (36) وبالمقارنة مع سلم Mutai (2009)، نلاحظ أن المحاليل المخففة لـ ZnO NPs (Z₁- Z₄) أعطت قيم تثبيطية من ضعيفة إلى ضعيفة جدا اتجاه بكتيريا *E.Coli* وبكتيريا *Citrobacter sp* ولم تعطي أي قيم تثبيطية اتجاه بكتيريا *S.epidermidis* حيث سجل أعلى قطر تثبيطي 12 ملم (ضعيفة) اتجاه بكتيريا *Citrobacter sp* عند التركيز Z₁ (20 ملغ/مل) وأقل قطر تثبيطي 5 ملم (ضعيفة جدا) اتجاه بكتيريا *E.Coli* عند التركيز Z₄ (2.5 ملغ/مل)، أما اتجاه بكتيريا *S.epidermidis* كانت الأقطار التثبيطية منعدمة تماما مع جميع تراكيز العينة Z. ومنه يمكننا القول أن بكتيريا *E.Coli* و *Citrobacter sp* أظهرتا قيم تثبيطية متفاوتة بين ضعيفة إلى ضعيفة جدا مع جميع عينات Z ولم تظهر أي قيم تثبيطية مع بكتيريا *S.epidermidis* التي أظهرت قيمة تثبيطية فقط مع المضاد الحيوي "Gentamicine" حيث كان قطر التثبيط 20 ملم. في الأخير أظهرت محاليل مركب ZnO Nps فعالية مع بكتيريا gram⁻ وانعدامها مع gram⁺ والمخطط التالي يوضح آلية عمل جسيمات ZnO ضد البكتيريا.



الشكل (38): الآليات المميزة لجسيمات أكسيد الزنك النانوية للقضاء على البكتيريا.

✓ العينات (T₁-T₄):

من خلال الجدول (4) والشكل (37) وبالمقارنة مع سلم Mutai (2009)، نلاحظ أن المحاليل المخففة لـ ZnO@TMS-EDTA (T₁-T₄) أعطت فعالية تثبيطية متفاوتة بين متوسطة إلى ضعيفة جدا مع جميع السلالات البكتيرية المختبرة.

حيث سجل أعلى قطر تثبيطي 17 ملم (متوسط) اتجاه بكتيريا *E.Coli* عند التركيز T₁ 20 ملغ/مل (وأقل قطر تثبيطي 5 ملم (ضعيف جدا) اتجاه بكتيريا *Citrobacter sp* عند التركيز T₄ (2.5 ملغ/مل). ومنه يمكننا القول أن بكتيريا *E.Coli* لديها أعلى قيم تثبيطية مع العينات (T₁-T₄) مقارنة مع بكتيريا *Citrobacter sp* و بكتيريا *S.epidermidis* وتكون أقل تثبيطا عند بكتيريا *Citrobacter sp*.

IV-1-10-3-نتيجة عامة :

أوضحت نتائج الفاعلية البكتيرية تفوق في التأثير التثبيطي لجسيمات المركب ZnO@TMSEDTA على ZnO Nps حيث أظهرت جسيمات أكسيد الزنك النانوية المفعلة بـ TMSEDTA، تأثير تثبيطي أعلى ضد السلالات البكتيرية المختبرة مقارنة بجسيمات أكسيد الزنك النانوية في شكلها الحر ويرجع ذلك إلى زيادة الفاعلية المضادة للبكتيريا لجسيمات أكسيد الزنك النانوية ضد البكتيريا سالبة وموجبة الغرام عن طريق زعزعة استقرار الغشاء الخارجي باستخدام العامل المخليبي TMSEDTA.

يستنتج من هذه الدراسة وفقا لسلم Mutai (2009) بأن القدرة التثبيطية لجسيمات النانو المدروسة تتراوح بين قدرة تثبيطية متوسطة الى ضعيفة جدا في حالة جسيمات المركب ZnO@TMSEDTA ، أما تأثير ZnO Nps بتراكيزها المختلفة من ضعيف الى ضعيف جدا ضد السلالات البكتيرية المختبرة وجميع القيم التثبيطية لكليهما أقل من القيم التثبيطية للمضاد الحيوي الشاهد Gentamicine.

خاتمة عامة

في هذا العمل تم بنجاح تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية بطريقة الترسيب الكيميائي إنطلاقاً من خلات الزنك ثنائي الهيدرات وتفعيلها بواسطة المركب **TMSEDTA** ثم تشخيص جسيمات أكسيد الزنك **ZnO** النانوي المحضرة بجهاز حيود الأشعة السينية والذي أثبتت نتائجه نجاح إصطناع مركب أكسيد الزنك في الحجم النانوي بمتوسط بعد حبيبي يقدر بـ **12.77** نانومتر وأظهرت أيضاً أنه ذو بنية بلورية سداسية من نوع **Wurtzite**.

إعتماداً على مطيافية الأشعة تحت الحمراء قمنا بتحديد المجموعات الوظيفية التي أثبتت نتائجها نقاوة جسيمات أكسيد الزنك النانوي المحضر ونجاح تفعيله بمركب **TMSEDTA**.

تمت دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا للمركبات المحضرة ضد ثلاث سلالات بكتيرية ممرضة تتمثل في: *Citrobacter sp* و *Staphylococcus epidermidis* و *Escherichia coli* بإستعمال طريقة الإنتشار في البئر حيث تم تحديد الأقطار التثبيطية لكل التراكيز للمركبات المحضرة **ZnO NPs**، **ZnO@TMSEDTA** حيث أظهرت النتائج وبالإعتماد على سلم **Mutai (2009)** أقطار تثبيطية متفاوتة بين متوسطة وضعيفة جداً وتفوق التأثير التثبيطي لجسيمات **ZnO@TMSEDTA** على جسيمات **ZnO NPs** حيث قيم الأقطار التثبيطية ضد السلالات البكتيرية المختبرة لمركب **ZnO@TMSEDTA** تتراوح من متوسطة إلى ضعيفة جداً ضد بكتيريا $gram^-$ و $gram^+$ بينما جسيمات **ZnO NPs** تتراوح من ضعيفة إلى ضعيفة جداً ضد بكتيريا $gram^-$ وانعدامها ضد بكتيريا $gram^+$. وتجدر الإشارة إلى أن أعلى قطر تثبيطي أعطاه مركب **ZnO@TMSEDTA** ضد السلالة البكتيرية *E.Coli* عند أعلى تركيز (20 ملغ/مل) بقطر تثبيطي يقدر بـ 17 ملم (متوسط) وأقل قطر تثبيطي تم تسجيله كان عند السلالة البكتيرية *Citrobacter sp* بتركيز (2.5 ملغ/مل) وقدر قياسه بـ 5 ملم (ضعيف جداً) حيث أنه كلما زاد التركيز تزيد معه الفاعلية ويمكن تفسير هذه النتائج المهمة، بأن جسيمات أكسيد الزنك النانوية المفعلة بـ **TMSEDTA** فعاليتها المضادة للبكتيريا أكبر من فعالية جسيمات أكسيد الزنك النانوية لأن مركب **TMSEDTA** المخلي يزيد من فعالية جسيمات أكسيد الزنك النانوي وذلك بزعة إستقرار الجدار الخارجي للبكتيريا وبالتالي إمكانية كسره وإختراقه ثم قتل البكتيريا.

وفي الختام ونظراً للنتائج المشجعة التي تحصلنا عليها نأمل أن يتواصل البحث في هذا المجال

وتطويره وبالأخص في مجال الفاعلية البيولوجية وإخترابه على المزيد من السلالات البكتيرية ومعرفة آلية عمله بمراقبته بالمجاهر الإلكترونية المتطورة.

المراجع

[1] I. Anam(2019)," Recent Revolutions in Nanoscience and Nanotechnology with Its Application's", Advances in Nanoscience and Nanotechnology, Vol 3(3), p 1 of 6.

[2] ع. حسب الله(2017)، "تطبيقات تقنية النانو (تأثير تطبيقات تقنية النانو على المواد المستخدمة في الواجهات الخارجية للمباني)"، رسالة الحصول على درجة الماجستير العلوم في الهندسة المعمارية كلية الهندسة – جامعة القاهرة.

[3] C. Huang (2020) , " Effect of structure: A new insight into nanoparticle assemblies from inanimate to animate", MATERIALS SCIENCE, Vol 6, p1-13.

[4] J. Jiang(2018),"The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications", Bioinorg Chem Appl, Vol (2018), p 1-18.

[5] Y. Li et al (2020),"Enhancing ZnO-NP Antibacterial and Osteogenesis Properties in Orthopedic Applications: A Review", International Journal of Nanomedicine, Volume 15, p 15 (6247-6262).

[6] A. Attarad et al(2018)," Elemental zinc to zinc nanoparticles: is ZnO NPs crucial for life? Synthesis, toxicological, and environmental concerns", Review, Nanotechnol Rev; 7(5): 413–441.

[7] ف. ن. الرفاعي(2015)،"مفاهيم أساسية في تقنية النانو"، مجلة المعرفة، كلية العلوم، جامعة ذي قار، العراق، ص 1.

[8] م. م. سالم(2011)،"طب النانو الأفاق والمخاطر"، مجلة عجمان للدراسات والبحوث، العدد الأول، جائزة راشد بن حميد للثقافة والعلوم، الإمارات العربية المتحدة، ص 1-25.

[9] م. ش. الاسكندراني(2010)، "تكنولوجيا النانو من اجل غدا أفضل"، عالم المعرفة، العدد 374، المجلس الوطني للثقافة والفنون والآداب، الكويت، ص 1-323.

[10] ر. يوسف(2012)،"تكنولوجيا النانو في مجال المعلومات والاتصال: الفرص والتحديات"، العدد الحادي والعشرون، مجلة أعلم، الرياض، ص 1-90.

[11] A. Halahakoon(2019),"APPLICATIONS OF NANOTECHNOLOGY IN PHARMACEUTICS", General Sir John Kotelawala Defence University. Faculty of Allied Health Sciences MSc (Pharmaceutical chemistry), PhD (Candiadate of Science 8.52), p1-7.

[12] س. صالح(2015)، "تقنية النانو وعصر علمي جديد"، مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية KACST، السعودية، ص 1-246.

- [13] ع. الشمالان(2009)،"التقانة النانوية عالم صغير مستقبل كبير"، مجلة التقدم العلمي، العدد 66، الكويت.
- [14] B. D. eddine(2012),"Elaboration et Etude de Nanoparticules Au/TiO₂ et Ag/TiO₂", présenté pour obtenir le Diplôme de Magister en physique, université Mentori, Constantine, p1-73.
- [15] G. Mansoori (2017)," An Introduction to Nanoscience & Nanotechnology", University of Illinois at Chicago, Springer Soil Biology Series Vol:48, p 2.
- [16] A. P. Nikalje et al(2015),"Nanotechnology and its Applications in Medicine", Department of Pharmaceutical chemistry, College of Pharmacy, Medicinal chemistry, Vol 5(2) , p 081-089.
- [17] C. Buzea et al(2007)," Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity", Biointerphases, vol 2, p MR17-MR71.
- [18] M. Rafique et al(2020)," Properties of Nanomaterials", Project: Chemistry of Nanomaterials (Fundamentals and Applications), Elsevier.
- [19] أ. إبراهيم(2013)،" إثراء بعض موضوعات منهاج العلوم بتطبيقات النانو تكنولوجي وأثره على مستوى الثقافة العلمية لطلبة الصف الحادي عشر في غزة"، رسالة لنيل درجة الماجستير، عمادة الدراسات العليا والبحث العلمي، جامعة الأزهر-غزة، ص 24.
- [20] G. M. Nazeruddin et al(2015)," A Brief Review: Science at Nanoscale", International Journal of Nanomaterials and Nanostructures, Vol. 1: Issue 1,p 16-32.
- [21] S. Patil et al(2020),"Physical and chemical properties of nanomaterials", In Nanomedicines for Breast Cancer Theranostics, p 17-32.
- [22] F. C. Adams et al(2013)," Nanoscience, nanotechnology and spectrometry ", Spectrochimica Acta Part B, Spectrochimica Acta Part B 86, p 3-13.
- [23] S. Bayda et al(2019)," The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine", Journal in Molecules, Vol 25(1),112, p 112.
- [24] S. Lanone et al(2010),"Applications utilisant les nanotechnologies, par secteur d'activité Questions de santé publique", France, publique, p 1-4.

- [25] **P. Jonathan et al(2016)**, " Synthèse et détermination de la taille de nanoprismes d'argent ", Union des professeurs de physique et de chimie, Vol 110, p 1339-1368.
- [26] **M. Goutayer(2008)**, " Nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques diagnostiques ; étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence in vivo ", Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie.
- [27] **D. A. Richarads et al(2017)**, "Antibody fragments as nanoparticle targeting ligands: a step in the light direction", chemical science, vol.8, p 63-77.
- [28] **S. Senapti et al(2018)**, "Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance . Signal transduct Target ther", Vol 3(1), p 7.
- [29] **S. ShabestariKhiabani et al(2016)**, " nanoparticles: preparation methods, applications in cancer diagnosis and cancer therapy.Artif Cells Nanomed Biotechnol", Magnetic, Vol 45, p 1-12.
- [30] **A. Bangham(1993)**, " Liposomes: the babraham connection", Chem Physics Lipids , Vol 64, p 275-285.
- [31] **P. V. Torchilin(2005)**, "Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers", Nature Rev Drug Discovery; 4:145.
- [32] **M. Rawat(2006)**, " Nanocarriers: promising vehicle for bioactive drugs. Biological and Pharmaceutical Bulletin", 29(9), 1790-1798.
- [33] **V. Mohanraj(2006)**, " Nanoparticles- a review ", Tropical Journal of Pharmaceutical Research; 5(1): 561-573.
- [34] **M, Kim(2005)**, " Polyethylene glycol- conjugated copolymers for plasmid DNA delivery", Pharmaceutical Research; 22 (1): 1-10.
- [35] **A. Jhaveri et al(2014)**, " V. P. Multifunctional polymeric micelles for delivery of drugs and Si RNA", Frontiers in pharmacology, Vol 5, p 77.
- [36] **V. Rama et al(2019)**, "Recent advances in development of nanodrug delivery. In Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems", Elsevier, p. 93-131.
- [37] **R. Wadhwa et al(2019)**, " Nanoparticle- Based Drug Delivery for Chronic Obstructive Pulmonary Disorder and Asthma: Progress and Challenges. In Nanotechnology in Modern Animal Biotechnology", Elsevier, (pp. 59-73).

- [38] **G. Romero et al(2012)**, "Synthesis of organic nanoparticles. In *Frontiers of Nanoscience*", Elsevier, Vol. 4, p 115-141.
- [39] **R. Ladj et al(2013)**, " Individual inorganic nanoparticles: preparation, Functionalization and in vitro biomédical diagnostic applications" , *Mater, Chem. B*, 1: 1381-1396.
- [40] **P. Herra et al(2015)**, " Nanoparticle characterization and application: an overview", *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 4(8), 379-386.
- [41] **A. M. Ealias et al(2017)**, "A review on the classification, characterization, syntheses of nanoparticles and their application " ,*IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, Vol 263, 032019, p 1-17.
- [42] **R. Nivesh Krishna et al(2017)**, " Nanoparticles and Their Applications – A Review " ,*J. Pharm. Sci. & Res. Vol. 9(1)*, p 2-24.
- [43] **F. E. Goodwin(2000)**, "ZINC COMPOUNDS", *Krik-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*.
- [44] **M. Valko et al(2005)**, " Metals, Toxicity and Oxidative Stress", *Current Medicinal Chemistry*, 12, 1161-1208.
- [45] **L. Burdin(2014)**, " Oligotherapie et personne âgée: intérêt du chrome, du sélénium, du zinc et du cuivre?", *Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques, Université Toulouse III Paul Sabatier, France*.
- [46] **Propriétés chimiques-Effets du zinc sur la santé-Impact du zinc sur l'environnement** ,<https://www.lenntech.fr/periodique/elements/Zn.htm>, 20-07-2020.
- [47] **C. Hotz et al(2004)**, " Assessment of the Risk of Zinc Deficiency in Populations and Options for Its Control", *International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG)*, pp 94-203.
- [48] **H. M. Yusof et al(2019)**, "Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a review", *Journal of Animal Science and Biotechnology*, Vol 10(1), 57.
- [49] **A. Sirelkhatim et al(2015)**, " Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism", *NanomicroLett*, Vol 7(3): p 219–242.

- [50] **G. L. Kabongo (2013)**, "Luminescence investigation of zinc oxide nanoparticles doped with rare earth ions", "Thèse de doctorat", University of south Africa, p 1-118.
- [51] **J. Jousot-Dubien(1962)**, "Nouveau Traité de Chimie Minérale", vol. V, Masson & Cie. Paris.
- [52] **F. Ynineb(2015)**, "Etude et réalisation de structures à base d'oxyde de zinc", These De Doctorat, Université Des Freres Mentouri Constantine.
- [53] **M. Vaseem(2010)**, "ZnO nanoparticles: growth, properties, and applications. Metal oxide nanostructures and their applications", 5, 1-36.
- [54] **M. Elmahi et al(2018)**, "Structural and Optical Properties of ZnO Nano-Powder Synthesized by Combustion and Sol-gel Method", Master Degree (M. Sc) in Physics.,
- [55] **م. سمية(2016)**, "إنماء البلورات النانوية في المحاليل في حالة ZnO"، مذكرة ماستر أكاديمي، تخصص فيزياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.
- [56] **S. E. McNeil(2005)**, "Nanotechnology for the biologist. Journal of leukocyte biology", 78(3), 585-594.
- [57] **A. Sirelkhatim et al(2015)**, "Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism", Nanomicro Lett. 2015; 7(3): 219–242.
- [58] **N. Wang et al(2008)**, "Growth of nanowires, Materails Science and Engineering: Reports", 60(1-6), pp. 1-51.
- [59] **Z. L. Wang(2004)**, "Zinc oxide nanostructures: growth, properties and application", Journal of Physics: condensed matter, Vol16(25), 829.
- [60] **Z.L. Wang (2004)**, "Nanostructures of zinc oxide", Materials today, 7, 26-33.
- [61] **A. Elkaiem (2015)**, "Contribution au Développement des Matériaux Nano- Composites à Base de ZnO et Polymère Etude Structural et Optique", Thèse de Magister, département de physique, Université MENTOURI, CONSTANTINE.
- [62] **C. Buzea et al(2007)**, "Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity Bionterphases", Vol 2(4), p 17- 71.
- [63] **E. Benyahia(2012)**, "caractérisation structurale et optique de couches minces formées par des agrégats des nanocristaux de ZnO", mémoire de Magister, département de physique, Université MENTOURI, CONSTANTINE, 2012, pp.17.

[64] H.Tamura et al(2001),"Mechanism of hydroxylation of metal oxide surfaces", Journal of colloid and interface science, 243(1), 202-207.

[65] A. Umamaheswari et al(2018),"Biosynthesis of Zinc oxide nanoparticle: a review on greener approach", MOJ Bioequivalence & Bioavailability, 5, 151-154.

[66] H.F. Krug et al(2011),"Nanotoxicology: An Interdisciplinary Challenge", *Angewandte Chemie International Edition in English*, 50(6), 1260-1278.

[67] j. Jaing et al(2018),"The advancing of Zinc oxide nanoparticles for biomedical applications", *Bioinorganic chemistry and applications*, Vol 2018, p 1-18.

[68] A, Nadhman et al(2017),"Synthesis approaches of Zinc oxide nanoparticles: the dilemma of ecotoxicity", *Journal of Nanomaterials*, Vol 2017, p 1-14.

[69] A. A. Bunaciu et al(2015)," X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications", *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, Vol 45, p 289–299.

[70] م. ن. الدين(1980)،"الأشعة السينية وبعض تطبيقاتها"، الطبعة الأولى، معهد الانماء العربي، تونس، 248ص.

[71] ع. نعيمة، م. سليمان(2005)،" علم البلورات والأشعة السينية"، دار الفكر العربي، مصر .

[72] M. Ghougali(2019)," Elaboration and characterization of nanostructuring NiO thin films for gas sensing applications", A thesis the Doctorate of Science In: Physics of materials, University of Mohamed Khider, Biskra.

[73] ع. سليمان(2011)، "التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء"، الأكاديمية الحديثة للكتاب الجامعي، 326 ص.

[74] V. Mazet, (2005), "Développement de méthodes de traitement de signaux spectroscopiques: estimation de la ligne de base et du spectre de raies, Thèse présentée pour l'obtention du Doctorat, Spécialité automatique, Univ Henri Poincaré Nancy 1, France, p20.

[75] س. هلور(2013)،" تحضير ودراسة الخصائص الفيزيائية للأنابيب النانومترية لأكسيد التيتانيوم TiO₂، مذكرة لنيل شهادة ماجستير، تخصص فيزياء شعبة خزفيات. جامعة قسنطينة.

[76] م. محمد سليم صالح(2015)، "تقنية النانو وعصر علمي جديد"، مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية KACST، المملكة العربية السعودية، الرياض، ص78.

[77] H. M. Jang et al(1991). *Mater. Res*, Vol. 6, N°5, (1991) P916.

[78] د. اسماعيل العاني(1992)،"الكائنات الحية الدقيقة"، الجزء الأول، السنة الخامسة، العدد التاسع عشر، مجلة العلوم والتقنية، مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية، الرياض، ص6.

[79] ن. حميدي(2015)،"الدراسة الفيتو كيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا ((Zygophyllaceae)Fagonia Longispina) نبات من الجنوب الغربي للجزائر"، مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه في الكيمياء، جامعة أبي بكر بلقايد، تلمسان.

[80] G. Bordenave(2003)," Review: on the shoulders of giants Louis Pasteur (1822 1895)", Microbes and Infection, Vol 5, p 553–560.

[81] ع. الهادي سليمان(2017)،"المرشد في البكتيريا"، كتاب، جامعة حائل، نور للنشر، السعودية.

[82] أنواع البكتيريا، عالم الأحياء، <http://biology113.blogspot.com>، 12/08/2020.

[83] ح. بن ساسي(2018)،"دراسة الفاعلية البيولوجية لمستخلصات مختلفة لنبتتي الرتم والدرين"، أطروحة التخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية، جامعة قاصدي مباح، ورقلة، ص25.

[84] إ. حوة (2013)،"دراسة الفاعلية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفاعلية ضد الأكسدة"، مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مباح، ورقلة، ص 109.

[85] ا. بلغار(2018)،"دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات Limoniastrum (Dur.)"، رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه ل.م.د، تخصص التحليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية، جامعة قاصدي مباح، ورقلة.

[86] A. A. Diallo(2013)," *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire", Biologie-Santé-Biotechnologies.

[87] م. كركوبي(2016)،"دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا للمستخلص المائي والإيثانولي لقشور الرمان الحلو والحامض"، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، تخصص كيمياء عضوية تحليلية، جامعة الشهيد حمه لخضر، الوادي، ص37.

- [88] **M. T. Flayyih(2015)**, "Isolation, identification and treatment of Vancomycin-Resistant Staphylococcus epidermidis", Iraqi Journal of Science, 56(1C), p 701-707.
- [89] **A. Alyaa(2012)**, " In vitro antibiotic susceptibility and biofilm formation to Staphylococcus epidermidis isolates from health care workers in Al-Hussien teaching hospital in Al-Nasserya city", Iraqi academic scientific Journal, 2(1), p 5-9.
- [90] **T. Nakatsuji et al(2018)** , " A commensal strain of Staphylococcus epidermidis protects against skin neoplasia", Science Advances, Vol 4(2), p1-10.
- [91] **R, Buffenstein et al (2012)**."The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents", Academic Press.
- [92] **S. Antonara et al (2018)**, " Citrobacter Species. In Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases", p 827-829.
- [93] WWW.shutterstock.com. 30/08/2020.
- [94] **N. Sarkar et al (2020)**,"Exploitation of antibiotics: Mechanism of resistance, consequence, challenges of conventional remediation, and promise of nanomaterials in mitigation. In Nano-Materials as Photocatalysts for Degradation of Environmental Pollutants", p 195-209.
- [95] **K. Bhattarai et al(2020)**,"Antibiotic drug discovery: Challenges and perspectives in the light of emerging antibiotic resistance Advances in genetics", Vol 105, p 229-292.
- [96] **D. Cheng et al(2017)**," Gut symbiont enhances insecticide resistance in a significant pest, the oriental fruit fly Bactrocera dorsalis (Hendel)" , Microbiome, Vol 5(1), p 13.
- [97] **ع. عثمانى(2017)**،"دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا لمختلف مستخلصات بعض النباتات الطبية في *Juncus maritimus* Asch. & Buschen و *Cynodon dactylon* (L.) Pers ، شهادة الدكتوراه في العلوم، تخصص كيمياء، جامعة قاصدي مرباح-ورقلة، ص 38-40.
- [98] **H. Hnich(2017)**, "La résistance bactérienne: mécanisme et méthodes de detection au laboratoire", These presente pour l'obtention du Doctorat en Medecine, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Royaume du Maroc, p50-51.
- [99] **C. Mutai et al(2009)**, "Antimicrobial activity of Acacia mellifera extracts and lupane triterpenes", Journal of ethnopharmacology, 123(1), 143-148.
- [100] case study: How Do Bacteria, Becom Resistance?, www.biologycomer.com. 01/09/2020.
- [101] **H. Barrak et al(2016)**," Synthesis, characterization, and functionalization of ZnO nanoparticles by N-(trimethoxysilylpropyl) ethylenediamine triacetic acid (TMSEDTA): Investigation of the interactions between Phloroglucinol and ZnO@TMSEDTA", Arabian Journal of Chemistry, Vol 12(8), p 4340-4347 .

[102] AXRD BENCHTOP, Powder X-ray Diffractometer,
<https://www.protoxrd.com/products/powder-diffraction/axrd-benchtop>. 05/10/2020.

[103] A. Monshi et al(2012), " Modified Scherrer Equation to Estimate More Accurately Nano-Crystallite Size Using XRD", World Journal of Nano Science and Engineering.2,pp:154-160.

[104] M. Balouiri(2016), " Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review", Journal of Pharmaceutical Analysis, Journal of Pharmaceutical Analysis, Vol 6(2), p 71-79.

الملاحق

الملحق (01): الأجهزة المستعملة.



الشكل (2): صورة فوتوغرافية للحاضنة.



الشكل (1): صورة فوتوغرافية لجهاز الميزان الحساس.



الشكل (4): صورة فوتوغرافية لجهاز الأمواج فوق الصوتية.

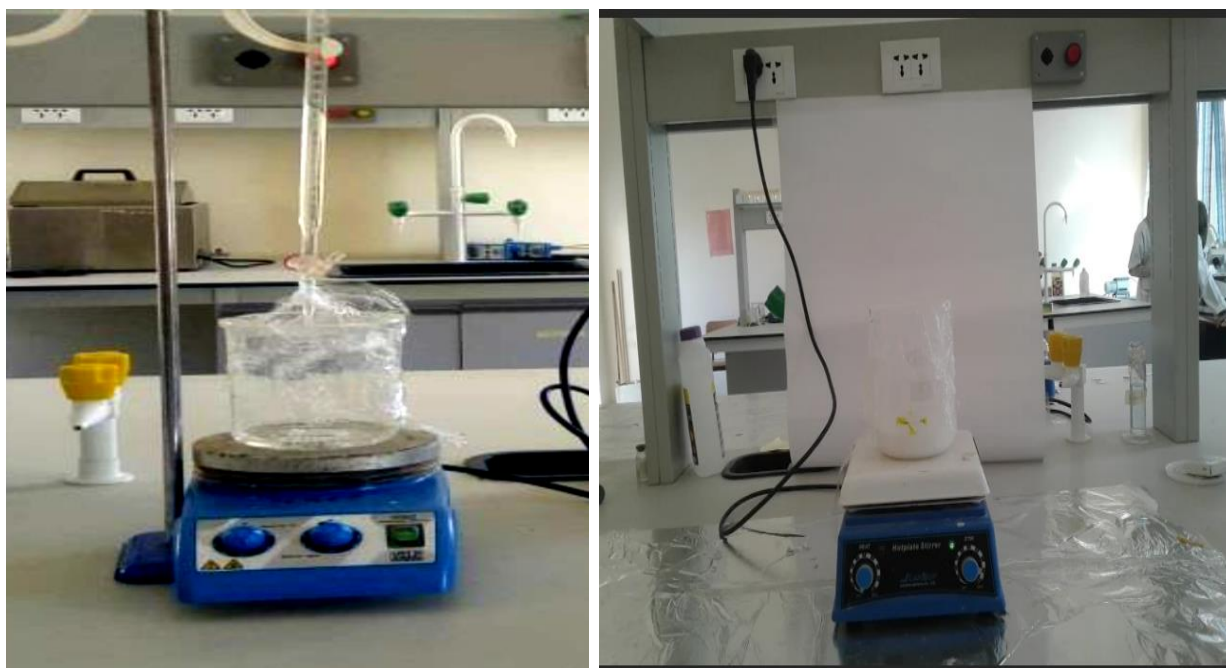


الشكل (3): صورة فوتوغرافية لجهاز الطرد المركزي.



الشكل (5): صورتين فوتوغرافيتين لجهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء.

الملحق (02): صورة فوتوغرافية للتركيب التجريبي الذي أستخدم لتحضير مركب أكسيد الزنك النانوي.



الشكل (6): صورة فوتوغرافية للتركيب التجريبي المستعمل لتحضير أكسيد الزنك النانوي.

الملحق (3): صورة فوتوغرافية لعملية تفعيل جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO NPs بواسطة TMSEDTA.



الشكل (7): صورة فوتوغرافية لطريقة تفعيل ZnO NPs بواسطة TMSEDTA.

الملحق (4): تحضير تراكيز العينات Z و T.



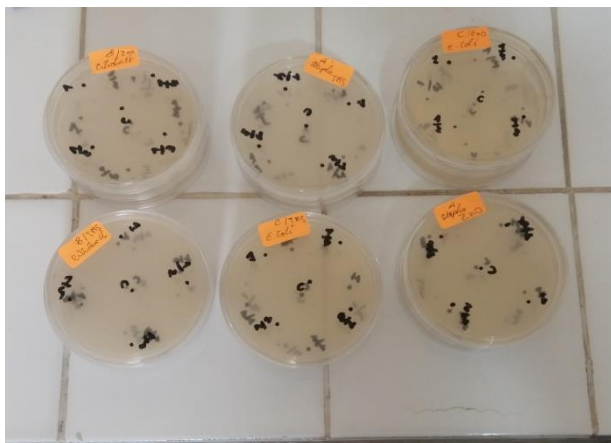
الشكل (8): صورة فوتوغرافية لتحضير تراكيز العينات Z و T.

الملحق (5): الخطوات المتبعة لتقدير الفاعلية المضادة للبكتيريا.

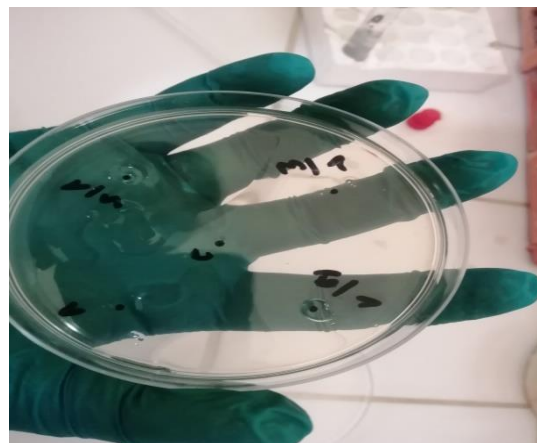


الشكل (10): تبريد الوسط الزراعي.

الشكل (9): تحضير الوسط الزراعي.



الشكل (12): صور فوتوغرافية بعد عملية الحضان.



الشكل (11): تحضير الحقل البكتيري.

الملحق (6): نتائج الفاعلية المضادة للبكتيريا.

ZnO NPs:

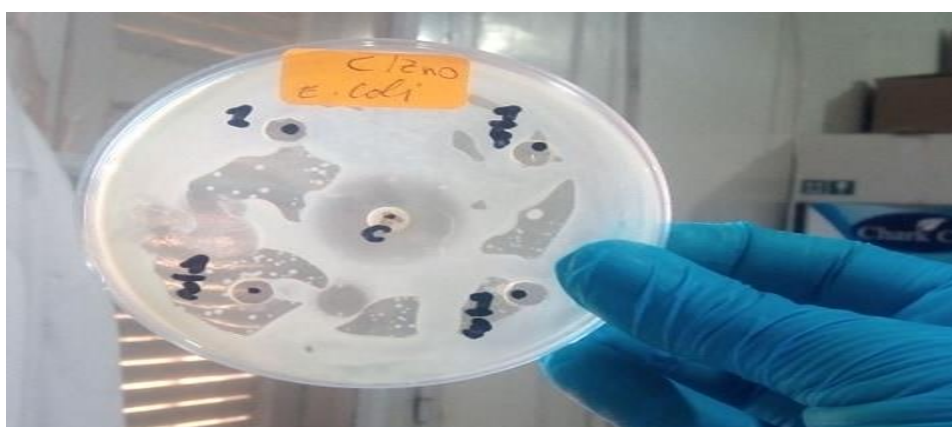
Staphylococcus epidermidis



Citrobacter sp



Escherichia coli



ZnO@TMSEDTA:

Staphylococcus epidermidis



Citrobacter sp



Escherichia coli



الشكل (13): أقطار التثبيط للعينات Z و T ضد السلالات البكتيرية الممرضة بالمليمترا.