الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث 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: تي سهام

مادي نرجس

تحت عنوان :

Preparation,characterization,and bioactivity of functionalized graphene oxide nanoparticle by ZnO

تحضير، تشخيص، والفعالية البيولوجية لجسيمات أكسيد الجرافين GO النانوية المفعل بـ ZnO

نوقشت في: 2019/06/22

أمام لجنة المناقشة

نموسة يحي التجاني	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	رئيسا
احمادي رضا	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	مقررا
كراسع عائشة	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	مناقشا
بوشقرة سماح	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	مناقشا

السنة الجامعية: 2019/2018

بسم الله الرحمن الرحيم

إهداء

إلى من تعجز كلماتي وتنحني هامتي لعظيم عطائها إلى شمس حياتي التي لا تغيب غاليتي " ماما"، إلى سندي في الحياة "بابا "أدامك الله لي فتاتك المدللة

إلى القلوب الكبيرة التي ألجأ إليها وقت الشدائد إلى من أشد لهم أزري وأشاركهم أمري إلى قدوتي ومفخرتي إلى من أكن لهم في قلبي كل الحب والاحترام إخوتي الأعزاء "أحمد أمير *رأفت*محرز و إلى أختي توأم روحي وصاحبة القلب الحنون "جميلة"

نرجس

الاهداء

اهدي ثمرة عملي هذا إلى

والدي العزيز الذي غرس فيَّ حب العلم والفضيلة...

والدتي التي تعجز الكلمات عن الوفاء ولو ببعض حقها...

إلى إخواني وأخواتي...إلى جميع أقاربي .....

وإلى طلاب العلم والمعرفة، وكل غيور عن المجتمع .

وإلى كل من قدم لي الدعم والتشجيع بكلمة صادقة كانت حافزاً

لي، أو دعاء صالح بظهر الغيب أنار دربي .

سهام

شكر وتقدير

الشكر لله أولاً وآخراً والحمد الله الذي وفقنا لإتمام هذا العمل راجينا من الله أن يجعل هذا العمل منفعة للطلبة العلم.

نتوجه بخالص شكرنا وتقديرنا وعظيم امتنانا الى الأستاذ الفاضل "**د. احمادي رضا**" على كل التوجيهات و التوصيات ، فجزاه الله عنا كل خير ويجعله في ميزان حساناته.

كما أتوجه بالشكر الجزيل الى كل أستاذتنا أعضاء لجنة المناقشة "**د. نموسة يحيى التجاني**"، "**د.كراسع عائشة** "،"**د. بوشقرة سماح** " لقبولهم بمناقشة هذه المذكرة واستفادتنا بتصحيحاتهم ونصائحهم وتوجيهاتهم القيمة.

كما أتقدم بجزيل الشكر إلى مدير مخبر ترقية وتكنولوجيا الموارد الصحراوية (VTRS) البروفيسور "التهامي العانز" على قبوله العمل في المخبر.

الشكر موصول أيضا إلى الأستاذ "طليبة محمد علي" على نصحه ومساعدته لنا.

كما نتوجه بالشكر إلى "د. عدالة شنة" على نصائحها وتوجيهاتها

أيضا نتوجه بالشكر الى طالبة الدكتوراه" صفاء تريعة" على المساعدات التي قدمتها لنا .

أيضا نتوجه بالشكر إلى مسؤولتي المخبر البيداغوجي بمخبر كلية العلوم الدقيقة .

أيضا نتوجه بالشكر إلى كل طلبة دفعتنا كل باسمه على مساعداتهم .

ولا أنسى أن نشكر كل من ساعدنا على إتمام هذا العمل من قريب أو بعيد.

الملخص:

تم في هذا العمل تسليط الضوء على تقدير الفعالية البيولوجية ضد التطفر والمضادة للبكتريا لجسيميات المركب ZnO@APTES@GO النانوية المحضرة لأول مرة انطلاقاً من جسيمات أكسيد الجرافين *GO* النانوية بطريقة هيمرز المفعلة بجسيمات *ZnO* النانوية بواسطة APTE*S* وتشخيصها باستخدام تقنية حيود الأشعة السينية DRX و الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه *FTIR* .أعطت قياسات أبعاد جسيمات أكسيد الزنك النانوية قيمة تقدر بـ 124.8 نانومتر و أكسيد الجرافين النانوي قيمة تقدر بـ27.13 نانومتر.

تم تقدير الفعالية المضادة للتطفر لجسيمات المركب ZnO@APTS@GO عن طريق التفاعل مع الحمض النووي منقوص الأوكسجين(DNA) لتحديد معامل الترابط (K) والطاقة الحرة للترابط (ΔG) بطريقة كهروكيميائية واختبار الفعالية المضادة للبكتريا بطريقة الانتشار بالأقراص.

أعطت دراسة الفعالية ضد التطفر نتائج إيجابية حيث قدرت قيمة الطاقة الحرة للترابط بـ 18.38Kj/mol- مما يوكد وجود روابط ألكتروستاتيكية أي فعالية ضد التطفر وبالإضافة أعطت الفعالية المضادة للبكتيريا قيم تثبيطية متفاوتة بين المتوسطة والضعيفة لبعض أنواع السلالات البكتيرية مثل: *E.coli* ، *S.aureus*، *S.typhi*.

الكلمات المفتاحية: أكسيد الزنك ، أكسيد الجرافين، *ZnO@APTS@GO*،الفعالية البيولوجية,طريقة كهروكيميائية، التفعيل.

Abstract

The present study focus on the evaluation of the antimicrobial and the anti-mutagenic activities of ZnO@APTS@GO nanoparticle prepared for the first time from Graphene Oxide (GO) nanoparticles by hummers s method with a size of 27.13 nm functionalized by ZnO nanoparticles with a size of 124.8 nm, via APTES. And were characterized by diffraction of X rays and Fourier transform infrared spectra (FTIR).

The anti-mutagenic activity of the synthesized nanoparticles were evaluated from the interaction between deoxyribonucleic acid and ZnO@APTS@GO NPs, and the binding parameters such as the free binding energy and the ratio of binding constant were determined using electrochemical technique. The negative values of the Gibbs energy - 18.38Kj/mol indicate the spontaneity and the physical nature of interaction.

The obtained results of the anti-bacterial activities which effected by disks diffusion method confirmed a *varied* inhibition values (medium to weak) *between* the *different studies* bacterial *strains* such as *E. coli, A.aureus, S.typhi* .

Keywords: Zinc Oxide, Graphene Oxide, ZnO@APTS@GO, biological activity, electrochemical method, functionalization.

قائمة الرموز والاختصارات:

@	رمز الارتباط بين المركبات
A	Adénine
A°	(unit of lengt) Angstrom
AFM	*Atomic force microscopy*
APTES	3- Aminopropyltriethoxysilane
C	*Cytosine*
CVD	Chemical vapor deposition
DNA	*Deoxyribonucleic acid*
FTIR	*Fourier transform infrared spectroscopy*
G	Guanine
GO	graphene oxide
MRI	*Magnetic Resonance Imaging*
Nps	*Nanoparticles*
PL	Photoluminescence
PVD	vapor deposition Physical
RNA	Ribonucleic acid
SEM	Scanning electron microscope
STM	Scanning tunneling microscopy
T	*Thymine*
TEM	Transmission electron microscopy
TGA	Thermogravimetric
XPS	*X-ray photoelectron spectroscopy*
XRD	*X-ray diffraction*
ZnO	Zinc oxide
Ω	وحدة قياس المقاومة الكهربائية
ΔG	الطاقة الحرة للترابط
K	ثابت الترابط

قائمة الفهارس

فـهرس المحتـــويات

إهداء I
شكر وتقدير III
الملخص IV
قائمة الرموز والاختصارات V
قائمة الفهارس VI
المقدمة 1

الجزء النظري

الفصل الأول عموميات حول أكسيد الزنك النانوي وأكسيد الجرافين وطرق التشخيص

تمهيد : 4
I-1- مفاهيم عامة في تكنولوجيا النانو: 5
I-1-1- ما هو النانو متر (nm)؟: 5
I -1-2- علم النانو: 5
I-1-3-تقنية النانو : 5
I -1-4-المواد النانوية: 5
I -1-4-1- الخصائص التي تميز المواد النانوية: 7
I -2-جسيمات النانو Nanoparticle: 9
I -2-1-مفهوم جسيمات النانو: 9
I -2-2- أنواع جسيمات النانو: 10
I -2-2-1-الجسيمات النانوية العضوية: 10

فهرس المحتويات

I -2-2-2-الجسيمات النانوية غير العضوية: 11
I -2-3-تطبيقات جسيمات النانو: 12
I -2-4-طرق تحضير جسيمات النانو:..... 12
I -3-عموميات حول أكسيد الجرافين:..... 13
I -3-1-تعريف أكسيد الجرافين ووصف بنيته:..... 13
I -3-2-خصائص أكسيد الجرافين..... 14
I -3-3-طرق اصطناع أكسيد الجرافين..... 14
I -3-4-تطبيقات أكسيد الجرافين..... 16
I -4-عموميات حول أكسيد الزنك 17
I -4-1-تعريف أكسيد الزنك..... 17
I -4-2-الخصائص البنيوية لأكسيد الزنكZnO 17
I-4-4-خصائص جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO NPs 19
I -4-5-طرق اصطناع جسيمات أكسيد الزنك النانوية..... 21
I -4-6-تطبيقات جسيمات أكسيد الزنك النانوية : 22
I -5-تقنيات التحليل والتوصيف: 22
I -5-1-تمهيد:..... 22
I -5-2-حيود الاشعة السينية (XRD):..... 22
I -5-3-مطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فوريه (FTIR):..... 24

الفصل الثاني

الفعالية البيولوجية :عموميات حول البكتيريا & الفعالية المضادة للطفرات

II- 1-الفعالية المضادة للبكتيريا 27

فهرس المحتويات

II- 1-1-تعريف البكتيريا..... 27

II- 1-2- خصائص البكتيريا 27

II- 1-4-أنواع البكتيريا المستعملة في الدراسة..... 28

II- 1-4-1-بكتيريا الايشيريشيا كولي *Escherichia coli*..... 28

II- 1-4-2-بكتيريا المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* 28

II- 1-4-3- السالمونيلا (عصيات التيفوئيد) *Salmonella typhimurium* 29

II- 1-4-4-الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*: 29

II- 1-4-5-البكتيريا الليستريا *Lesteria monocytogenes* 30

II- 1-5-المضادات الحيوية Antibiotics..... 30

II- 1-5-1-تعريف المضادات الحيوية 30

II- 1-5-2-أنواع المضادات الحيوية 31

II- 1-5-3-كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي: 31

II- 2-الفعالية المضادة للطفرات : 32

II- 2-1-تمهيد:..... 32

II- 2-2-بنية الحمض الريبي النووي منقوص الأكسجين DNA: 32

II- 2-2-1-وظيفة الحمض النووي منقوص الأكسجين: 33

II- 2-3-الطفرة الوراثية: 33

II- 2-4-المطفرات: 33

II- 2-4-1-آليات استحداث الطفرات: 34

II- 2-4-2-تلف الحمض النووي وتشكل الأورام:..... 34

II- 2-5- تقدير الفعالية المضادة للطفرات باستخدام الطريقة الفولطأمبيرومترية الحلقية : 34

فهرس المحتويات

الجزء التطبيقي

الفصل الثالث التحضير والتشخيص(الطرق والوسائل–النتائج والمناقشة)

III-1- تحضير أكسيد الزنك النانوي ZnONPs: 38

III-1-1-المواد وطرق العمل:..... 38

III-2-تحضير أكسيد الجرافين:..... 40

III-2-1-تحضير أكسيد الجرافين بطريقة Hummers: 40

III-2-1-1-المواد وطرق العمل:..... 40

III-2-2-تحضير أكسيد الجرافين بطريقة modified Hummers :..... 43

III-2-2-1-المواد وطرق العمل:..... 43

III-3- تركيب ZnO@APTES:..... 44

III-3-1- المواد و طرق العمل:..... 44

III-4- تركيب ZnO@APTS@GO:..... 45

III-4-1- المواد و طرق العمل:..... 45

III-4-1-1- الأجهزة و المواد المستعملة:..... 45

III-4-1-1-1-المواد والمحاليل المستعملة:..... 45

III-4-1-2- خطوات العمل:..... 46

III-5- تحليل النتائج ومناقشتها:..... 46

III-5-1- انعراج الأشعة السينية:..... 46

III-5-1-1-جهاز انعراج الأشعة السينية المستخدم في الدراسة:..... 46

III-5-1-2-تحليل أطياف حيود الأشعة السينية للمركبات المحضرة:..... 47

III-5-2-مطيافية الأشعة تحت الحمراء: 49

III-5-2-1-الجهاز المستعمل للقياس للتحليل بواسطة الأشعة تحت الحمراء: . خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.

III-5-2-2- تحليل الأطياف الناتجة من جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء للمركبات المحضرة: 50

الفصل الرابع

تقدير الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا والمضادة للطفرات (الطرق والوسائل–النتائج والمناقشة)

تمهيد: 54

IV-1- تقدير الفعالية المضادة للطفرات: 54

IV-1-1- الأجهزة وطرق العمل: 54

IV-1-2- تحليل النتائج ومناقشتها: 55

IV-2- تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا: 58

IV-2-1-المواد وطرق العمل: 58

IV-2-2-السلالات البكتيرية المستعملة في الدراسة : 59

IV-2-3-دراسة الفعالية ضد البكتيريا للمركبات المحضرة: 59

IV-2-4-النتائج والمناقشة: 60

الخاتمة 66

قائمة المراجع 66

الملاحق 78

فهرس الأشكال

الشكل 1: تصنيف المواد النانوية 6

الشكل 2: الأشكال التي تصنع من خلالها المواد النانوية 7

الشكل 3: زيادة المساحة السطحية لقطعة فلز على شكل مكعب أبعاده متساوية نتيجة تجزئته..... 7

الشكل 4: مجموعة من أحجام الجسيمات النانوية مقارنة بأحجام الهياكل الكيميائية والبيولوجية الرئيسية 10

الشكل 5: مختلف أنواع جسيمات النانو 11

الشكل 6: طرق تحضير جسيمات النانو 12

الشكل 7: بنية أكسيد الجرافين نموذج model Lerf-Klinowski 13

الشكل 8: بعض الطرق المستخدمة في اصطناع أكسيد الجرافين 16

الشكل 9: التركيب البلوري لأكسيد الزنك Wurtzite و Zinc blend وRocksalt 17

الشكل 10: أنواع مختلفة من الهياكل البنيوية لـZnO 19

الشكل 11:صورة بالمجهر الالكتروني الماسح(SEM) للجسيمات ZnO النانوية المصنعة..... 19

الشكل 12: تغيير الانبعاث بتغيير دالة الطول الموجي للإثارة 20

الشكل 13: طرق تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO NPs 21

الشكل 14: رسم تخطيطي لكيفية عمل جهاز حيود الاشعة السينية (diffractometer) 23

الشكل 15: حيود الاشعة السينية أثناء التفاعل مع المواد 24

الشكل 16: امتصاص الأشعة تحت الحمراء 24

الشكل 17: رسم تخطيطي للخلية البكتيرية وبنيتها..... 27

الشكل 18: بكتيريا *Escherichia coli* 28

الشكل 19:بكتيريا *Staphylococcus aureus* 29

الشكل 20 :بكتيريا *Salmonella typhimurium* 29

الشكل 21: بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* 30

الشكل 22:بكتيريا Lesteria monocytogenes..... 30

الشكل 23: قطر منطقة التثبيط للبكتيريا 31

الشكل 24: البنية الثانوية الحلزونية المزدوجة لـ DNA 33

الشكل 25: منحنى الفولطأغرام الحلقي للثنائية (OX/Red) 35

فهرس الأشكال

الشكل 26: تركيبة التجربة الخاصة بتحضير أكسيد الزنك النانوي 40

الشكل 27: تركيبة التجربة الخاصة بتحضير أكسيد الجرافين..... 42

الشكل 28: رسم تخطيطي لتعديل سطح جسيمات أكسيد الزنك النانوي 45

الشكل 29: رسم تخطيطي لتعديل سطح جسيمات أكسيد الجرافين بـZnO@APTES..... 46

الشكل 30: صورة فوتوغرافية لجهاز حيود الأشعة السينية..... 47

الشكل 31: طيف انعراج الأشعة السينية لأكسيد الزنك النانوي المحضر بطريقة الترسيب 47

الشكل 32: بطاقة المعلومات الناتجة من [JCPDS File No.65-3411] للـ ZnO NPs 48

الشكل 33: طيف انعراج الأشعة السينية لأكسيد الجرافين المحضر بطريقة Hummers..... 49

الشكل 34: صورة فوتوغرافية لجهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR 49

الشكل 35 :طيف الأشعة تحت الحمراء للجسيمات أكسيد الزنك النانوي..... 50

الشكل 36: طيف الأشعة تحت الحمراء لأكسيد الجرافين المحضر بطريقة Hummers..... 51

الشكل 37: طيف الأشعة تحت الحمراء طيف لمركب ZnO@APTES. 51

الشكل 38: طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب ZnO@APTS@GO. 52

الشكل 39: الخلية الكهروكيميائية وجهاز radiometer analytical SAS -PGN301 potentiostat 55

الشكل 40: الفولطاموغرام الحلقي لأكسدة (2mM) من ZnO@APTS@GO في وجود تراكيز متزايدة من الـ DNA في محلول موقي بدرجة حموضة (pH=7.2) بسرعة مسح (100mv/s) 56

الشكل 41: المنحنى الخطي [log1/DNA بدلالة $\log i/(i_0-i)$ في وجود تراكيز متزايدة من الـ DNA في محلول موقي بدرجة حموضة (pH=7.2) بسرعة مسح (100mv/s)..... 57

الشكل 42: أقطار التثبيط بـ (mm) للعينة A 62

الشكل 43: أقطار التثبيط بـ (mm) للعينة Z..... 63

الشكل 44:أقطار التثبيط بـ (mm) للعينة G 65

فهرس الجداول

جدول 1: الطرق المختلفة للاصطناع أكسيد الجرافين..... 15
جدول 2:خصائص ZnO في الحالة العامة 18
جدول 3: أهم المواد المستعملة وبعض خصائصها..... 38
جدول 4: أهم المواد المستعملة وبعض خصائصها..... 41
جدول 5: قيم معامل الترابط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل ZnO@APTES@GO و الـ DNA..... 57
جدول 6: السلالات البكتيرية التي تم دراسة حساسيتها للمركبات المحضرة 59
جدول 7: التراكيز المحضرة لدراسة الفعالية البيولوجية ضد بكتيرية 60
جدول 8: الأقطار التثبيطية للمضاد الحيوي Gentamici للكل سلالالة بكتيرية 61
جدول 9: أقطار مناطق التثبيط بـ (mm) للعينة A 61
جدول 10: أقطار مناطق التثبيط بـ (mm) للعينة Z..... 63
جدول 11: أقطار مناطق التثبيط بـ (mm) للعينة G..... 65

المقدمة

الـمقدمـــة

يعود الاهتمام الكبير بتقنية النانو إلى نهاية القرن العشرين، حيث أثبت الدراسات البحثية في هذا المجال أن سلوك المادة على هذا النطاق تؤدي إلى خصائص أساسية جديدة، مما فتح آفاق وتطبيقات هامة في جميع مجالات العلوم وخاصة الطب. ومن بين هذه المواد جسيمات أكسيد الغرافين وجسيمات أكسيد الزنك النانوية حيث أثبت الدراسات الأخيرة أن لهم عدة تطبيقات هامة في التشخيص والعلاج في المجال الطبي [1-2] بالإضافة إلى تطبيقات أخرى كالتحفيز الضوئي .... وغيرها [3].

ونظرا لأهميتهما ارتأينا لتحضير أكسيد الجرافين بطرقتي "Hummers و modified Hummers" وتفعيله بأكسيد الزنك بالحجم النانوي بواسطة APTES وتشخيصها ثم دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للتطفر والمضادة للبكتريا. والسؤال المطروح في هذه الدراسة هل تعطي جسيمات أكسيد الجرافين المفعلة بأكسيد الزنك النانوي فعالية أكثر مقارنة بفعالية الجسيمات النانوية الفردية؟

حيث اشتملت دراستنا هذه على أربعة فصول: فصلين نظريين، الأول تطرقنا فيه إلى أهم مفاهيم تكنولوجيا النانو، كذلك تم التطرق فيه إلى دراسة نظرية للمركبين، أكسيد الزنك النانوي و أكسيد الجرافين من حيث بنيتهم وخصائصهم وتطبيقاتهم والأهم من ذلك طرق تحضيرهم وتوصيفهم. أما الفصل الثاني فقد ركزنا فيه على الفعالية البيولوجية بما في ذلك الفعالية المضادة للبكتيريا (عموميات حول البكتيريا)، و الفعالية المضادة للطفرات (بنية DNA ، مكوناته، مميزاته، آلية استحداث الطفرات....) وأهم طرق تقدير الفعالية البيولوجية. أما بالنسبة للفصلين الثالث و الرابع فقد خُصِصَ للجزء العملي حيث تطرقنا في الفصل الثالث إلى الطرق والوسائل المتبعة في تحضير وتشخيص جسيمات أكسيد الزنك النانوي و جسيمات أكسيد الجرافين وطريقة تفعيله في وجود APTES وكذا مناقشة النتائج المتحصل عليها. أما الفصل الرابع والأخير فقد تم فيه تحديد المواد والطرق المتبعة في تقدير الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا للمركبات المحضرة باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص وكذا الفعالية المضادة للطفرات من خلال دراسة تداخل الحمض النووي مع المركبات المحضرة بطريقة الفولطاأمبيرومترية الحلقية.

الجزء النظري

الفصل الأول

عموميات حول أكسيد الزنك النانوي وأكسيد الجرافين وطرق التشخيص

تمهيد :

تكنولوجيا النانو تعد ثورة علمية هائلة لا تقل عن الثورة الصناعية التي نقلت الإنسان إلى عصر الآلات أو ثورة التكنولوجيا التي نقلت الإنسان إلى عصر الفضاء والاتصالات والانترنت، فما تقدمه تكنولوجيا النانو هو القدرة على صنع كل ما يتخيله الإنسان بكلفة أقل، وجودة أعلى وهذه القدرة ستكون مفتاح التقدم العلمي الذي سيغير معالم الحياة على نحو قد لا يستطيع الإنسان تصور كل أبعاده اليوم. وفي ذلك يقول أحد العلماء " إن ما سننتجه ونكتشفه باستخدام هذه التكنولوجيا في السنوات القادمة سوف يعادل بل سيتجاوز ما تم اكتشافه منذ أن خلقت الأرض[4].حيث تعد هذه التكنولوجيا تقنية من التقنيات الحديثة والتي يمكن استخدامها في جميع المجالات العلمية المختلفة مثل: الكيمياء، الفيزياء، و البيولوجيا وعلوم المواد والهندسة وغيرها من العلوم.

سيتم في هذا الفصل التطرق إلى أهمية الجسيمات النانوية والتي تكتسب أهمية علمية كبيرة، ثم نقدم أهم الخصائص الكيميائية والفيزيائية لجسيمات أكسيد الزنك النانوي و جسيمات أكسيد الجرافين كما سنتطرق إلى طرق تحضيرهما وأهم خصائصهما النانوية، كما سيتم التطرق في هذا الفصل إلى طرق التحليل والتوصيف المستخدمة في تحليل المركبات المحضرة في الجزء العملي.

I–1– مفاهيم عامة في تكنولوجيا النانو:

I–1–1– ما هو النانو متر (nm)؟:

إن البادئة "نانو" هي كلمة ذات أصل يوناني مشتقة من كلمة نانوس "Nanos" وهي كلمة يونانية تعني القزم "Dwarf"، أي صغير جداً. النانومتر هو جزء من مليار جزء من المتر ($1m = 10^{-9}nm$) أو المليون من المليمتر ($1mm = 10^{-6}nm$)[6-5].

إنه أرق بنحو 30.000 مرة من سمك الشعر وأصغر 100 مرة من جزيء الحمض النووي[7]. وتستعمل في الرياضات للتعبير عن الجزء من المليار من الوحدة القياسية[8].

I –1–2– علم النانو:

يقصد بعلم النانو ذلك العلم الذي يعتني بدراسة وتوصيف مواد النانو[9] التي لا يتجاوز قياسها الـ 100 نانومتر .[10] وتعيين خواصها وخصائصها الكيميائية، الفيزيائية والميكانيكية مع دراسة الظواهر المرتبطة الناشئة عن تصغير أحجامها[11-9].

I–1–3–تقنية النانو :

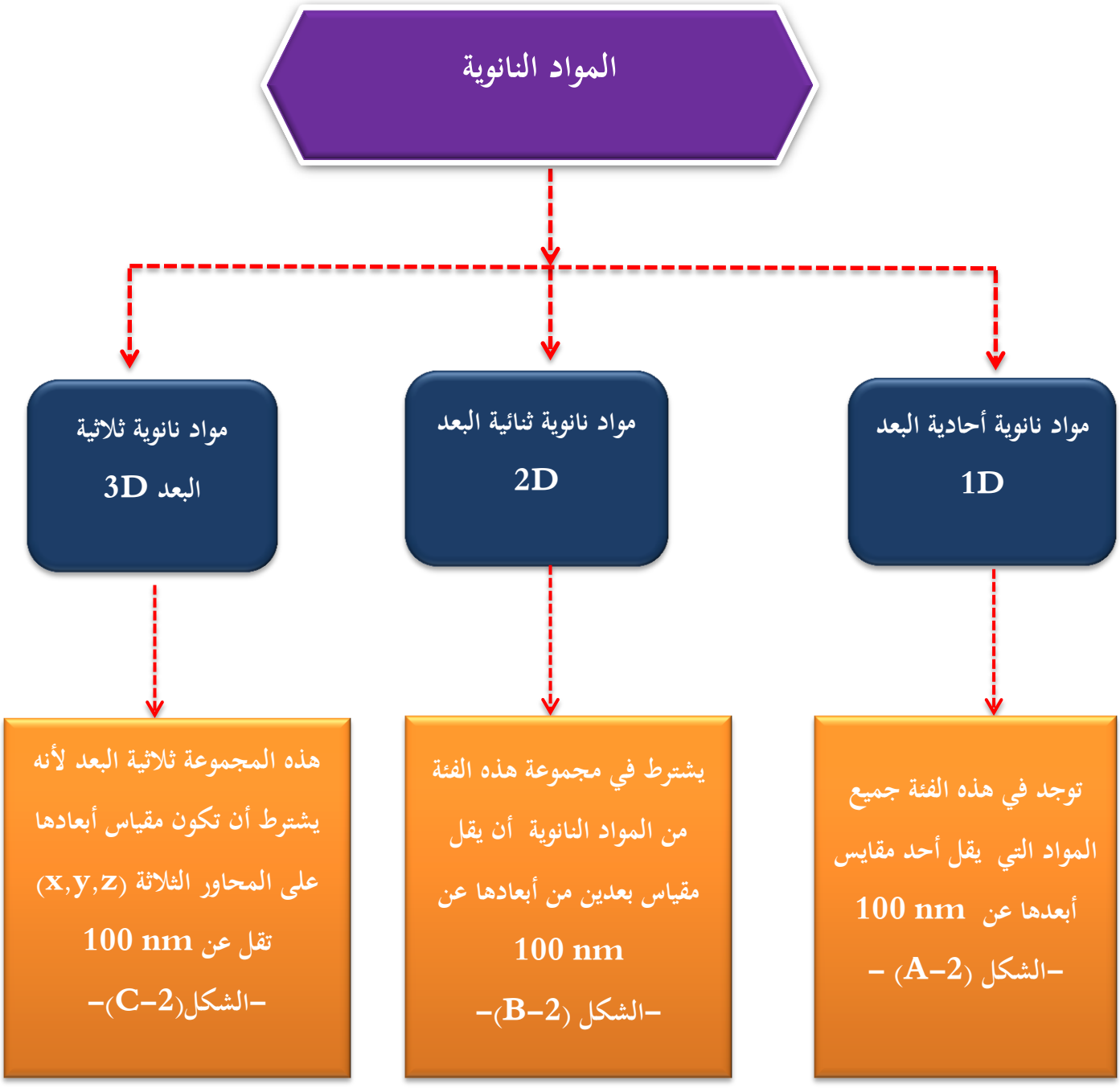
تكنولوجيا النانو يمكن تعريفها بأنها عبارة عن مجموعة من الأدوات والتقنيات التي تمكن علم النانو من التقدم من خلال توفير طرق لدراسة ومعالجة وصنع مواد نانوية[11].أي بمعنى آخر هو إعادة ترتيب وهيكلة الذرات والجزيئات والقدرة على تخليق مواد ومركبات نانوية جديدة[13-12].

I –1–4–المواد النانوية:

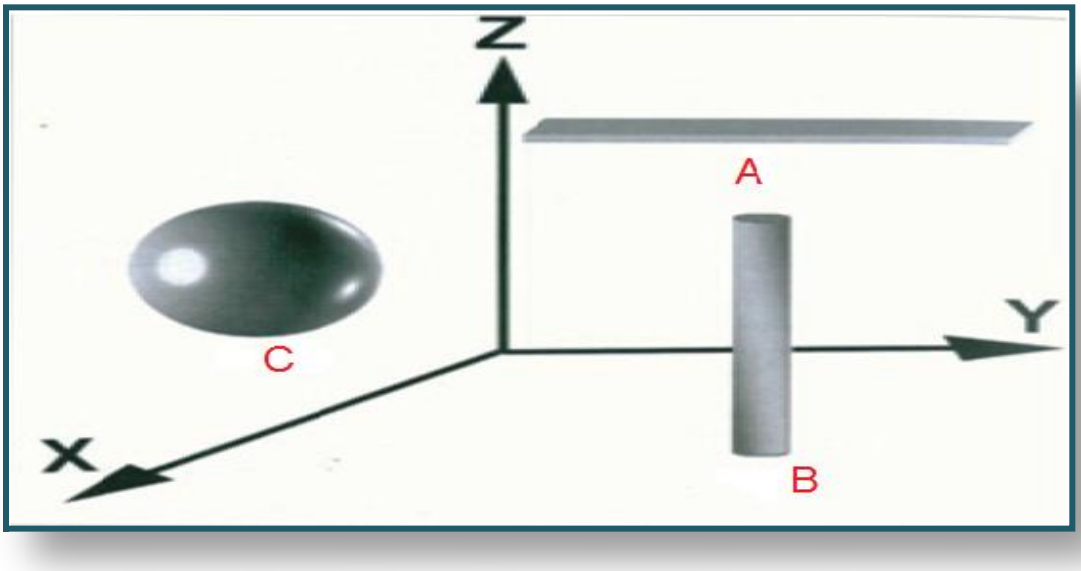
هي مواد تتكون كلياً او جزئياً من جسيمات نانوية تمنحها خواص محسنة أو محددة للبعد النانو متري لها. بحيث تتراوح مقاييس أبعادها أو أبعاد حبيباتها الداخلية بين 1 نانومتر الى 100 نانومتر[9].

هذا وتتنوع المواد النانوية من ناحية المصدر، كأن تكون مواد عضوية أو غير عضوية أو مواد طبيعية أو مصنعة. هذا وتُعد جميع أنواع المواد الهندسية المعروفة مثل العناصر الفلزية وسبائكها، أشباه الموصلات والأكاسيد والمعادن وكذلك البوليمرات تعد بمنزلة المواد الأولية التي تعتمد عليها تكنولوجيا النانو.[9].

تصنف المواد النانوية الى ثلاثة مجموعات رئيسية هي كتالي:



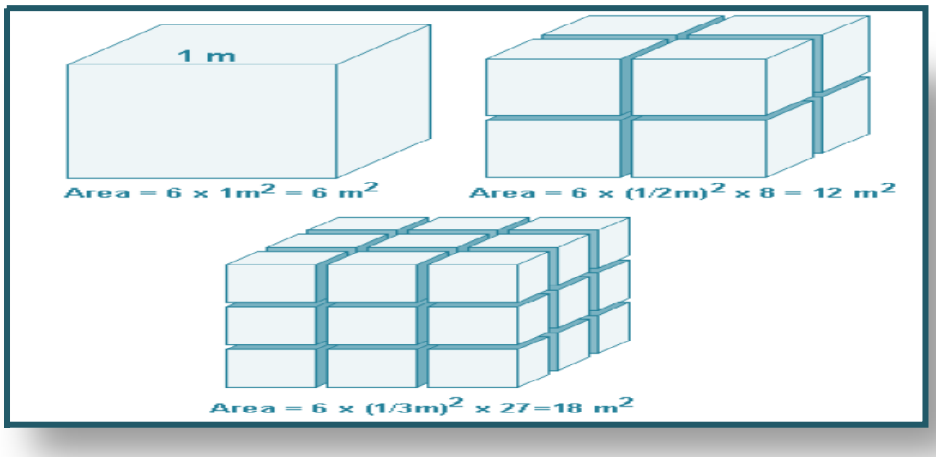
الشكل 1: تصنيف المواد النانوية[9-11]



الشكل 2: الأشكال التي تصنع من خلالها المواد النانوية على هيئتها وهي: (A): رقائق أو طبقات نانوية (أحادية البعد)، (B): اسطوانات أو أنابيب نانوية (ثنائية البعد)، (C):جسيمات نانوية (ثلاثية الأبعاد) [9]

I -1-4-1- الخصائص التي تميز المواد النانوية:

تتغير جميع خصائص المواد في الحجم النانوي بما فيها اللون والخصائص الكيميائية، وذلك بسبب استجابة جسيماتها الدقيقة للضوء وللإجهاد الميكانيكي وللكهرباء. وهذا التغير الكبير بخواص المواد النانوية يعود إلى سببين هما: الزيادة النسبية السطحية (الشكل3)، والتأثير الكمي.[9-14]



الشكل 3: زيادة المساحة السطحية لقطعة فلز على شكل مكعب أبعاده متساوية نتيجة تجزئته [15]

وسنذكر فيما يلي أهم الخواص التي تميز المواد النانوية:

A-الخواص الميكانيكية:

تأتي الخواص الميكانيكية على رأس الخواص المستفيدة من تصغير حجم جسيم المادة ووجود أعداد ضخمة من الذرات على أوجه سطحها الخارجي، حيث ترتفع درجة صلادة المواد الفلزية وسبائكها وتزيد مقاومتها. هذه الخواص التي تكتسبها المواد على المستوى النانوي. [9-14-15]

B-الخواص الكيميائية (النشاط الكيميائي):

تمتلك المواد النانوية نشاط كيميائي كبير بسبب الزيادة في مساحة السطح بالنسبة للحجم ووجود عدد كبير من الذرات على الأسطح الخارجية لهذه المواد. لها عدة تطبيقات من أهمها، استخدمها كمواد محفزة تعرف بإسم "nanocatalysts" مؤلفة من حبيبات دقيقة بمقياس 100 nm لقطر الحبيبة الواحدة، وتستخدم في تحويل الغازات السامة والضارة إلى غازات غير ضارة لتلعب المواد النانوية دوراً أساسياً في الحد من تلوث البيئة. كذلك استخدمت المواد النانوية المصنعة من البلاتين في تصنيع خلايا الوقود وقد تصبح هذه الخلايا من أحد أهم مصادر الطاقة الجديدة. [8-15]

C-الخواص الفيزيائية:

نذكر منها:

C-1-الخواص الحرارية:

تتأثر قيم درجات حرارة انصهار المادة بتصغير أبعاد مقاييس حبيباتها. حيث يبرر علماء الفيزياء سبب تناقص قيم نقط انصهار المادة مع تناقص مقاييس جسيماتها إلى الزيادة السريعة على مساحات أسطحها الخارجية واختلاف مواضع وترتيب ذرات الفلز عما كانت عليه. [9]

C-2-الخواص البصرية (الضوئية):

تختلف الخواص البصرية للمواد النانوية عن غيرها من المواد كبيرة الجسيمات . التغيير في الخواص البصرية لحجم جسيمات المادة يؤدي إلى التشتيت أو التكسير الضوئي لسطح المادة، فالجسيمات التي تتراوح أقطارها ما بين 1 و 50 نانومتر، تكون صغيرة جداً وغير قادرة على تبديد وبعثرة أمواج الضوء المرئي التي تتراوح أطوالها ما بين 380 و 765 نانومتر[9-14].

C-3-الخواص المغناطيسية:

تعتمد قوة المغناطيس اعتماداً كلياً على مقاييس أبعاد جسيمات المادة المصنوع منها المغناطيس، وكلما صغرت تلك الجسيمات وتزايدت مساحة أسطحها الخارجية ووجود الذرات على تلك الأسطح، كلما ازدادت قوة وفعالية المغناطيس وشدته. وتعد المواد النانوية ذات الخواص المغناطسية أهم مصادر المواد التي تتدخل في إنتاج المغناطيسات فائقة الشدة المستخدمة في العديد من المجالات منها المولدات الكهربائية الضخمة، ومحركات السفن والبواخر العملاقة، وكذلك صناعة أجهزة التصوير بالرنين المغناطيسي (MRI) و أجهزة التشخيص الطبي بشكل عام.[9-16]

D-الخواص الكهربائية:

صغر حجم جسيمات المواد النانوية وزيادة المساحة السطحية انعكس على الخواص الكهربائية فالمواد العازلة مثل البوليمرات أصبحت على المقاييس النانو موصلة وتمتلك قدرة على توصيل التيار الكهربائي لتستخدم في نقل التيار الكهربائي بدلاً من استخدام أسلاك نحاسية مكلفة الثمن في حين البوليمرات أرخص.[9-14]

E-الخواص البيولوجية:

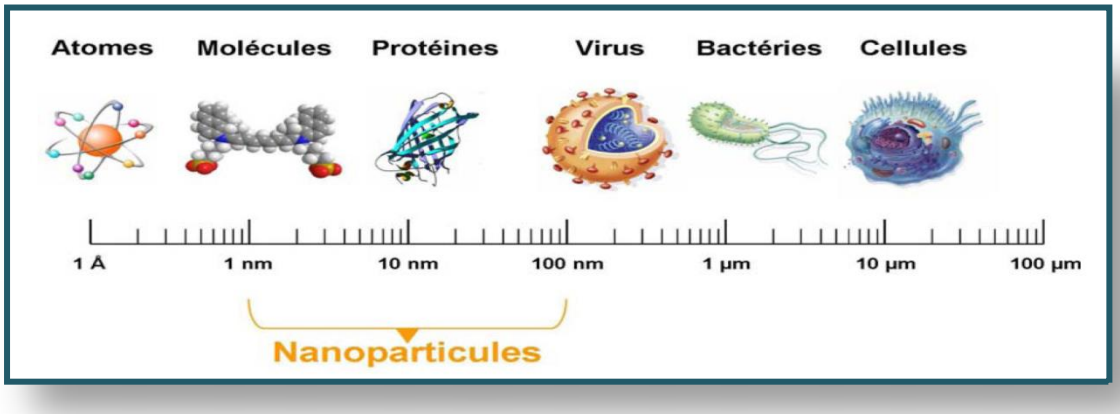
هذه المواد لديها القدرة على النفاذ واختراق الموانع والحواجز البيولوجية التي تعيق وصول الأدوية والعقاقير العلاجية للجزء المصاب (مثل: الأغشية والحاجز الدموي بالمخ Blood Brain Barrier). تكنولوجيا النانو الحيوية حققت نجاحات مثيرة تمثلت في ابتكار أنواع متقدمة من أجهزة التوصيف و وظفت من أجل فهم وتحليل بنية وتركيب الحامض النوويDNA للإنسان والفيروسات على حد سواء. وأدى إلى معرفة سلوك الأمراض والفيروسات وميكانيكية حركتها وتنقلاتها داخل الجسم.[9-11-17]

I -2-جسيمات النانو Nanoparticle:

I -2-1-مفهوم جسيمات النانو:

على الرغم من أن كلمة **nanoparticle** حديثة الاستخدام إلا أن هذه الجسيمات كانت موجودة في المواد المصنعة او الطبيعية منذ القدم. ويمكن تعريف الجسيمات النانوية على أنها عبارة عن تجمع ذري أو جزئي ميكروسكوبي يتراوح عددها من بضع مئات إلى بضعة آلاف من الذرات تكون مرتبطة مع بعضها البعض بشكل كروي تقريباً ونصف قطره أقل من 100 نانومتر. يستبعد هذا التعريف الكائنات التي يتراوح حجمها الأصغر بين 100إلى 1000 نانومتر بالمقارنة مع الهياكل العضوية الطبيعية، تتواجد الجسيمات النانوية بشكل أساسي في

نطاق الحجم المقابل للبروتينات كما هو موضح في (الشكل 4).معظم الجسيمات النانوية هي مجموعة جزئيات صغيرة أو ذرات[11].



الشكل 4 :مجموعة من أحجام الجسيمات النانوية مقارنة بأحجام الهياكل الكيميائية والبيولوجية الرئيسية[11]

I -2-2- أنواع جسيمات النانو:

تتنوع التركيبة الأساسية للجسيمات النانوية بشكل كبير،[11]حيث يمكن أن تكون مجموعات عضوية أو غير عضوية سنصنف هنا الجسيمات الأكثر شيوعاً:

I -2-2-1-الجسيمات النانوية العضوية:

A-الجسيم الليبيدي:

هي عبارة عن حويصلات تتكون من طبقة واحدة أو أكثر من الطبقات مزدوجة المركز، يتكون من الفسفور ليبيد وجزيئات الكوليسترول التي تحتوي على جزء محب للماء يتراوح حجم الجسيمات الشحمية بين 30 نانومتر و 60 نانومتر (الشكل5).[11]

B-الجسيمات النانوية البوليميرية:

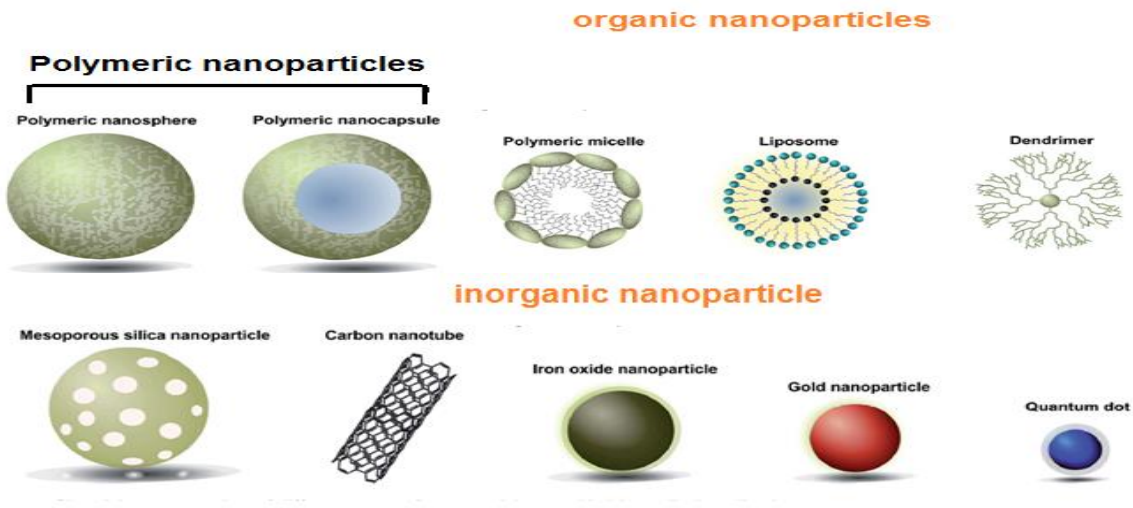
تم تطوير أول جسيمات نانوية بوليميرية بواسطة العالم couvreur وآخرون في الثمانينات، ثم استخدمت البوليمرات(الشكل5) المختلفة بنجاح لتشكيل جسيمات متناهية في الصغر، الأكثرها استخداماً حالياً هو: poly(acidelactique) و poly(acideglycolique) [9].

C- المذيلات *polymeric micelles*:

تتكون المذيلات من مجموعات أساسية، جزء كاره للماء مجتمعة ومحاطة بها سلاسل بوليميرية محبة للماء، حيث يسمح السطح الخارجي المائي لها بفعالية وتغليف الأدوية الكارهة للماء بأمان لتأمين عبور آمن للمنافذ عبر الجسم مع الجسيمات النانوية الشحمية ،أظهرت المذيلات أيضا قابلية حيوية ممتازة في التحكم في الادوية المغلفة (الشكل5). [18]

D-البوليمرات ذات التشعبات Dendrimers:

هي جزيئات بوليميرية كروية ذات تفرعات (الشكل 5) كونت خلال عملية التجميع الذاتي الهرمي في حيز النانو، هناك عدة أنواع ، له القدرة على حجز أيونات المعادن وله خواص مهمة جداً من الممكن أن تقود إلى تطبيقات مفيدة مثل أن يعمل كجزيئات حاملة موصلة للدواء حيث تتميز بقدرتها على تحديد الخلايا المصابة وعلاجها و زيادة فعالية الدواء. [11]



الشكل 5: مختلف أنواع جسيمات النانو [18]

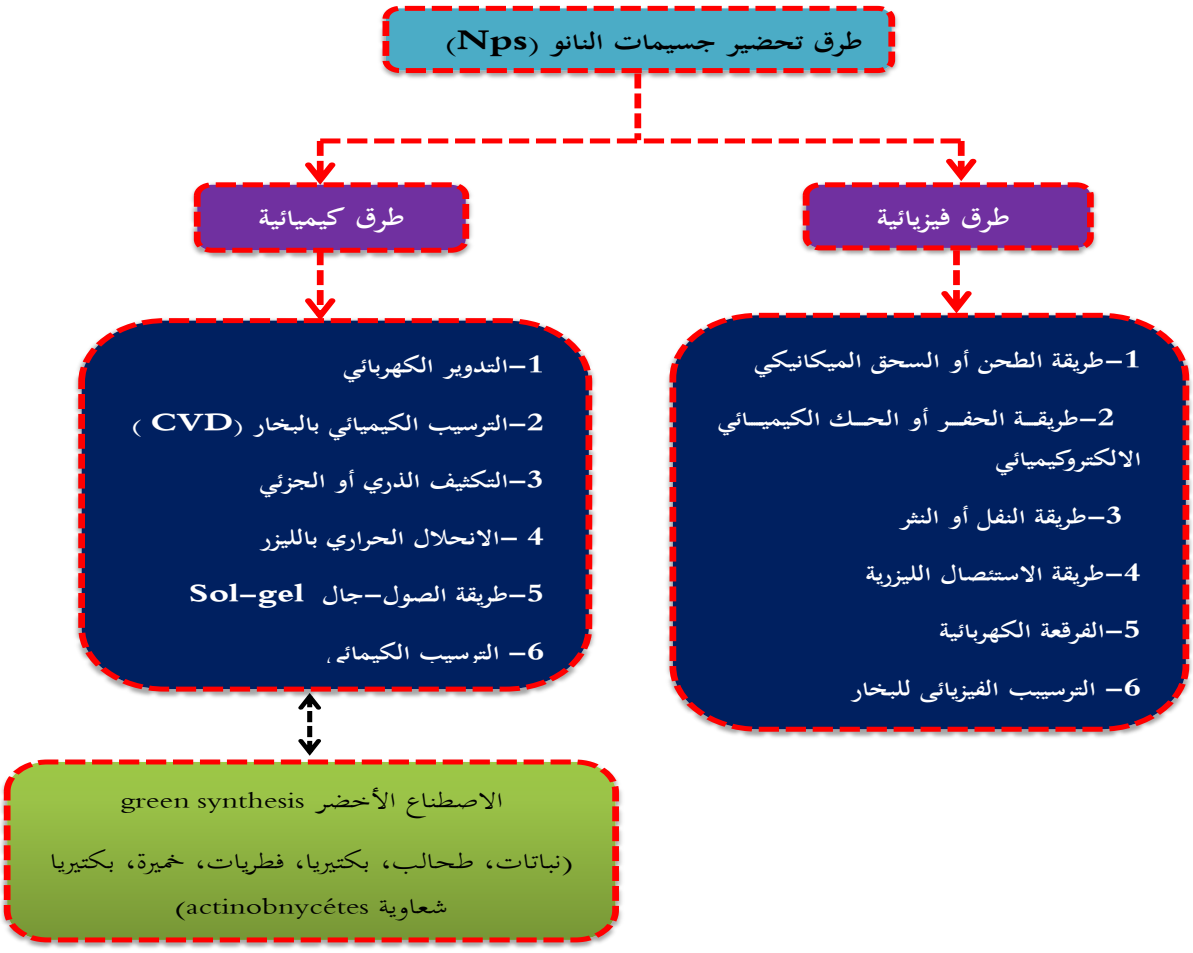
I -2-2-2-الجسيمات النانوية غير العضوية:

من أهم الجسيمات النانوية الغير عضوية الأكثر شيوعاً هي الذهب المعدني أو الجسيمات النانوية الفضية، والجزيئات النانوية المغناطيسية والنقاط الكمية مثل أكسيد الزنك النانوي وأنابيب الكربون النانوية والجسيمات النانوية السيليكا والبلورات النانوية شبه موصلة وغيرها. (الشكل 5)[18].

I -2-3-تطبيقات جسيمات النانو:

تعتبر تكنولوجيا النانو التقنية الأولى الرائدة في العالم وذلك باعتبارها تكنولوجيا متعددة الوظائف والمهام، حيث يتم توظيفها الآن في مجالات تطبيقية متنوعة مثل: صناعة الأجهزة والمكونات الإلكترونية، تكنولوجيا الاتصال والمعلومات، صناعة الأدوية والعقاقير و الأجهزة الطبية للرعاية الصحية والتحاليل الطبية واستكشاف ومعالجة الامراض المستعصية، صناعة مستحضرات التجميل، استكشاف الاخطار البيئية ومعالجة الملوثات، تنقية وتطهير المياه، تحلية المياه، مجال إنتاج الأجهزة والمواد المستخدمة في مجال الطاقات المتجددة، مجال صناعة المحفزات الكيميائية المستخدمة في الصناعات الكيميائية وفي مجال تكرير البترول، صناعة المواد الهندسية والمواد المتراكبة، الزراعة والغذاء والمخصبات وإلى غير ذلك من تطبيقات حيوية أخرى[19-20].

I -2-4-طرق تحضير جسيمات النانو:



الشكل 6: طرق تحضير جسيمات النانو [21]

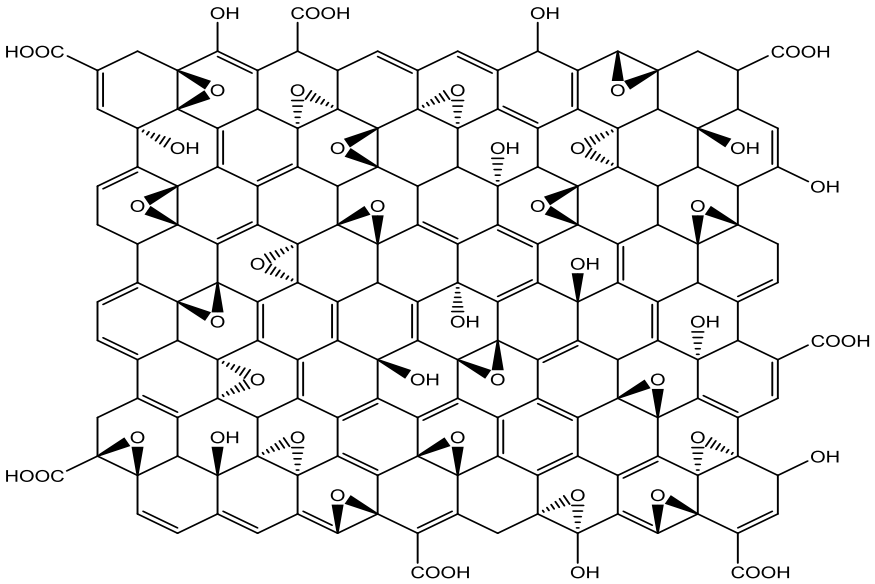
يمكن استخدام طرق مختلفة للتحضير الجسيمات النانوية ولكن هذه الطرق تنقسم على نطاق واسع إلى طريقتين هما: طرق كيميائية و طرق فيزيائية .والمخطط السابق يوضح هذه الطرق.

I -3-عموميات حول أكسيد الجرافين:

I -3-1-تعريف أكسيد الجرافين ووصف بنيته:

أخذ أكسيد الجرافين "GO" اهتماماً واسعاً في معظم مجالات العلوم والهندسة[22] نظراً لخصائصه الاستثنائية مثل نسبة حجم مساحة السطح الكبيرة وتكلفة الإنتاج المنخفضة[23]. ظهر مؤخراً كمواد نانوية جديدة[24] يستند إلى الكربون ويوفر طريق بديلاً للجرافين [23]. سمكه يعادل قطر ذرة واحدة. هيكلياً أكسيد الجرافين GO يشبه إلى حد كبير الجرافين،[25] مع بنيته التي تحتوي على مجموعات الأكسجين مثل: (هيدروكسيل، مجموعة الكربوكسيل، مجموعة الايبوكسي)[23].

لايزال تكوين الأكسجين في بنية أكسيد الجرافين GO موضع نقاش، خاصة فيما يتعلق بوجود أو عدم وجود أحماض كربوكسيلية. هناك عدة نماذج مختلفة لبنية GO نموذج Hofman-Holct سنة 1939، نموذج Ruess سنة 1946، نموذجScholz-Boehm سنة 1969،[27-26] الأكثر شهرة هو نموذج model Lerf-Klinowski حيث تقدم GO، مجموعات الايبوكسيد والهيدروكسيل في الهيكل بأكمله والأحماض الكربوكسيلية عند الحواف، أحد الجوانب المهمة التي يجب مراعاتها هو أن التركيب السطحي لـGO مرتبط بشدة وظروف التحضير أو الاصطناع المستخدمة لإنتاجه[28].



الشكل 7: بنية أكسيد الجرافين نموذج model Lerf-Klinowski [29]

I -3-2-خصائص أكسيد الجرافين:

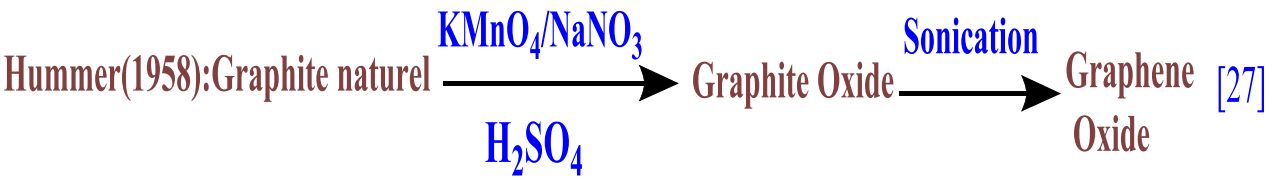
يعتبر أكسيد الجرافين مادة أولية للجرافين، ومع ذلك لديه خصائص مختلفة لنظيره. يتميز هيكل GO بأنه يتكون من شبكة كربون سداسية الشكل بها ذرات كربون مهجنة Sp^2 وذرات كربون تهجين Sp^3 تحمل مجموعات الأكسجين الوظيفية. هذه الوظائف المؤكسدة تعطيه خصائص التذبذب من خلال وجودها على الحدود المحبة للماء والمستوى الكاره للماء هذا يسمح له أن يكون لديه ذوبان أفضل من الجرافين في مختلف المذيبات. من ناحية أخرى تعمل الوظائف الأوكسيجينة كحاجز في تمرير الشحنات عن طريق إعاقة مسار التوصيل، مما يعني وجود مقاومة برتبة $10^{12}\Omega$.على الرغم من كون الموصلية الكهربائية المنخفضة كونها نظير الجرافين، له خواص ميكانيكية جيدة بالإضافة إلى هذه الخصائص المختلفة، يقدم GO أيضا خصائص بصرية مثيرة للاهتمام بسبب وجود ظاهرة photoluminescence (PL) يقع هذا التلألؤ في منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة من الأشعة فوق بنفسجية، ويرجع ذلك أساساً إلى إعادة تركيب أزواج الفتحات الالكترونية (فجوة إلكترونية Electron lole)، ويقع ضمن مجموعات صغيرة من الكربون بتهجين Sp^2 [30].

I -3-3-طرق اصطناع أكسيد الجرافين:

يمكن أن يتم تحضير أكسيد الجرافين بعدة طرق نذكر منها:

I -3-3-1-اصطناع Hummers :

نشر " Hummers " في عام 1958 عملية جديدة للاصطناع أكسيد الجرافين، وبالتالي تقليل مخاطر الانفجار ووقت التفاعل، استخدم Hummers مزيجاً من حمض الكبريتيك H_2SO_4 ونترات الصوديوم ($NaNO_3$) وبرمنغنات البوتاسيوم ($KMnO_4$) عند درجة حرارة ما بين $0°C - 15°C$ لمدة ساعتين 2h.[27-30]



I –3–3–1– اصطناع modified Hummers :

أما بالنسبة لطريقة "modified Hummers " تم إجراء العديد من التغييرات للتفاعلHummers (الجدول1) تتضمن هذه الاختلافات تغيير قياس العناصر المتفاعلة أو تغيير الكواشف الكيميائية بين $KMnO_4$ و $NaNO_3$ يتراوح من 3g إلى 6g من$KMnO_4$، من خلال هذا التعديل سميت هذه الطريقة بـ:طريقة modified Hummers. [27-30]

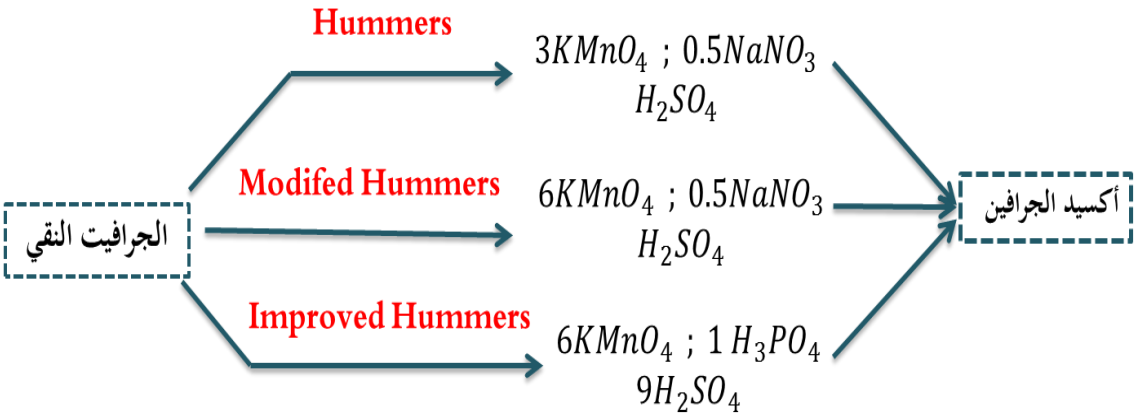
I –3–3–2–اصطناع Improved Hummers :

عمل الباحثون على تعديل أساليب أكسدة الجرافيت حتى العمل الاخير لمارسانو (Marcano,2010) حيث قام هؤلاء الباحثون بإزالة آثر نترات الصوديوم أو البوتاسيوم بالكامل من التفاعل، لتنفيذ هذا التفاعل، استخدموا بدلاً من ذلك حامض الفسفوريك H_3PO_4، و هو أكثر أماناً والذي في وجود عامل مؤكسد قوي مثل $KMnO_4$ في مزيج من حمض الكبريتيك، يجعل من الممكن زيادة تعزيز التقشير الكيميائي للأكسدة الجرافيت تتيح هذه الطريقة أيضاً التحكم في مستوى أكسدة GO من خلال تغيير فائض $KMnO_4$ ومدة التفاعل، حيث سميت هذه الطريقة بـ: طريقة Improved Hummers. [25-27-31]

$$\text{Marcano et al (2010): Graphite naturel} \xrightarrow[H_3PO_4]{KMnO_4/H_2SO_4} \text{Graphene Oxide} \quad [27]$$

جدول 1: الطرق المختلفة للاصطناع أكسيد الجرافين [26-27]

طريقة التحضير	المتفاعلات
Hummers	$3KMnO_4$; $0.5NaNO_3$; H_2SO_4
modified Hummers	$6KMnO_4$; $0.5NaNO_3$; H_2SO_4
Improved Hummers	$6KMnO_4$; $1\,H_3PO_4$; $9H_2SO_4$



الشكل 8: بعض الطرق المستخدمة في اصطناع أكسيد الجرافين [25]

I -3-4-تطبيقات أكسيد الجرافين:

هناك العديد من التطبيقات للأكسيد الجرافين نذكر منها:

-استخدامه في تقنيات فصل الغاز، تحلية مياه البحر، وتصفية المياه المستعملة وذلك باستخدام أغشية تصنع من أكسيد الجرافين. [32]

-استخدم في مجال التطبيقات الطبية الحيوية حيث أتاح أكسيد الجرافين إمكانية التشخيص والعلاج بشكل جيد، وذلك بفضل خصائصه الفريدة من نوعها، له عدة تطبيقات طبية منها: علاج السرطان، مضاد للبكتيريا، يشارك أيضاً بشكل خاص في توصيل الادوية، يستخدم أيضا في التقاط وتحليل الخلايا الفردية من عينة صغيرة من الدم مما يؤدي إلى أنظمة تشخيص ممتازة، التصوير الحيوي . [33]

-استخدم أيضاً أكسيد الجرافين في تطبيقات التحفيز الضوئي والامتزاز لامتلاكه مساحة سطح كبيرة ومجموعات وظيفية وفيرة.

-استخدم في الالكترونيك حيث هناك العديد من الأجهزة الالكترونية التي تم اختراعها باستخدام GO كمواد أولية، مثل : المكثفات الفائقة وبطاريات أيونات الليثيوم، يفترض أن يكون المكثف الفائق وبطارية أيونات الليثيوم خياراً ممتازاً لتخزين الطاقة. [32]

-بالإضافة إلى العديد من التطبيقات الأخرى وفي شتى المجالات مثل: موصل شفاف في الخلايا الكهروضوئية، في الخلايا الشمسية وفي تخزين الهيدروجين، في صناعة مواد شبيه بالورق، أفلام موصلة شفافة، أجهزة نانوميكانيكية كهربائية، مركبات بوليميرية، مركبات فعالة ضد الميكروبات ....الخ. [34]

I –4–عموميات حول أكسيد الزنك:

I –4–1–تعريف أكسيد الزنك:

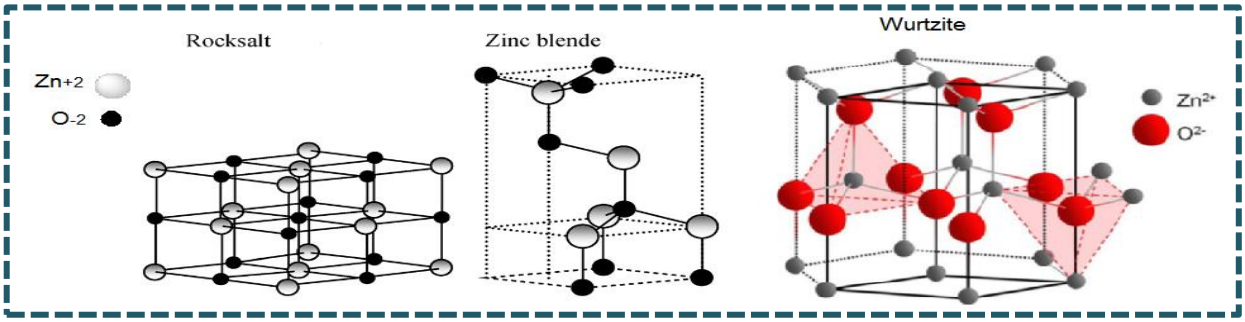
أكسيد الزنك هو مركب من المركبات غير العضوية وهو مادة شبه موصلة رمزه الكيميائي ZnO ذو لون أبيض عند تسخينها تميل إلى الأصفر، يعد أكسيد الزنك مادة غير سامة. [35] ومن الخواص التي جعلت أكسيد الزنك مادة ذات أهمية واستقطبت الباحثين إلى دراستها بصورة واسعة هو كونها من المواد الرخيصة وغير سامة وخواصها الكيميائية والحرارية الثابتة. إن ZnO مادة مركبة من اتحاد عنصرين من المجموعة السادسة من الجدول الدوري حيث ينتمي إلى المجموعة (II-VI)[36].

I –4–2–الخصائص البنيوية لأكسيد الزنكZnO :

يتبلور أكسيد الزنك غالباً في البنية السداسية المتراصة (Wurtzite) وهي الأكثر استقراراً، كما يمكن أن يتواجد بشكل ركائز الزنك (Zinc blend) أو أملاح صخرية (Rock salt).وحدة الخلية البلورية ذات الثوابت $a=3.2499A^0$ و $c=5.2060A^0$ حيث الإحداثي u معرف بالعلاقة التالية:[37-35]

$$u = \frac{1}{4} + \frac{a^2}{3c^2} = \frac{3}{8} = 0.375 \text{ (Wurtzite)}$$

يحيط بكل ذرة زنك أربع ذرات أكسجين وتحيط بكل ذرة أكسيجين أربع ذرات زنك كما يظهر في بنية Wurtzite.[38]



الشكل 9):التركيب البلوري لأكسيد الزنك Wurtzite[37] و Zinc blend وRocksalt [37]

I –4–3–خصائص أكسيد الزنك ZnO :

يتميز مركب أكسيد الزنك بمجموعة من الخصائص الفيزيائية والكيميائية أهمها:

1-ينتمي ZnO إلى مجموعة الأكاسيد الموصلة الشفافة والتي تمتاز بنفاذية عالية في المنطقة المرئية و انعكاسية في المنطقة تحت الحمراء .

2 -يمتلك توصيلية كهربائية قيمتها ($22.5\ S.Cm^{-1}$) من النوع السالب (n-type).

3-مادة غير سامة.

4-لايذوب بسهولة في الماء والكحول بل يذوب في حامض الخليك والحوامض المعدنية.[37]

-والجدول التالي يلخص الخصائص الأساسية لـZnO :

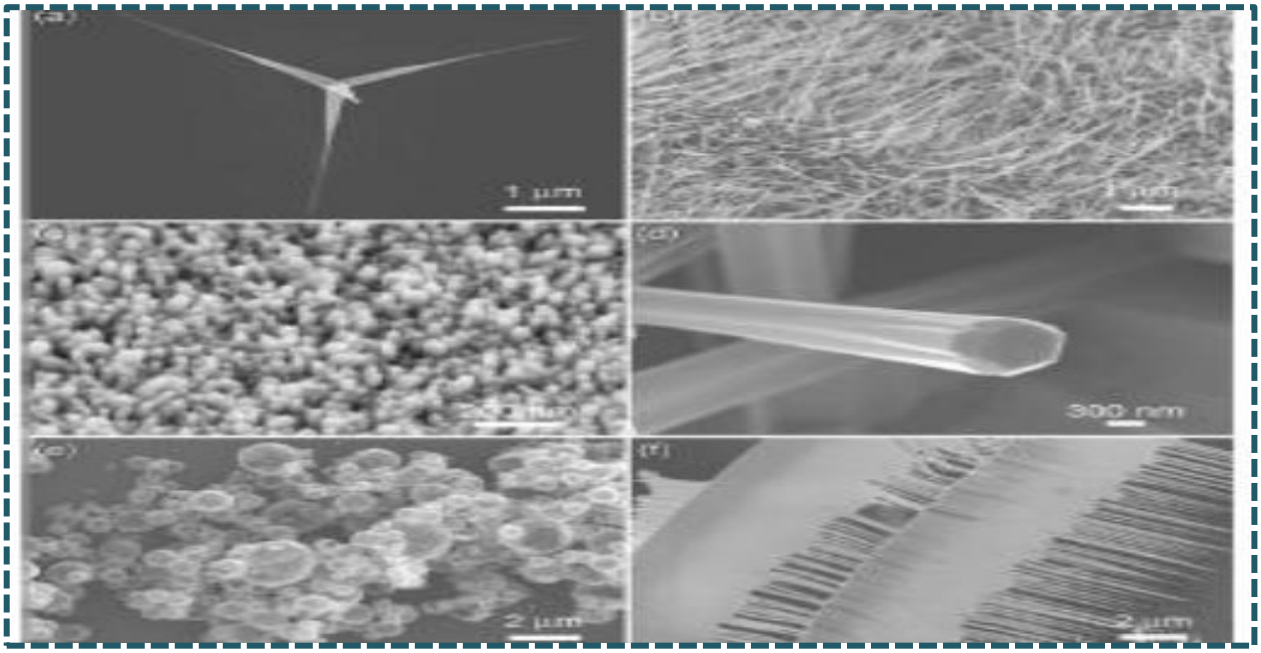
جدول 2:خصائص ZnO في الحالة العامة [40-39]

	خصائص ZnO الأساسية	
1	المظهر	صلب- أبيض
2	الرائحة	عديم الرائحة
3	الكتلة المولية	81.38 g/mol
4	البنية البلورية	غالباً ما يتبلور في wurtzite
5	الشكل الهندسي	رباعي السطوح Tetrahedral
6	ثوابت الشبكة	$a=3.25A^0, c=5.2A^0$
7	الفجوة	3.3ev
8	الذوبانية في الماء	$0.0004\%(17.8\ C^0)$
9	معامل الانكسار	2.0041
10	الكثافة	$5.606\ g/cm^3$
11	طاقة الربط	60-80meV
12	نقطة الانصهار	$1975\ C^0$

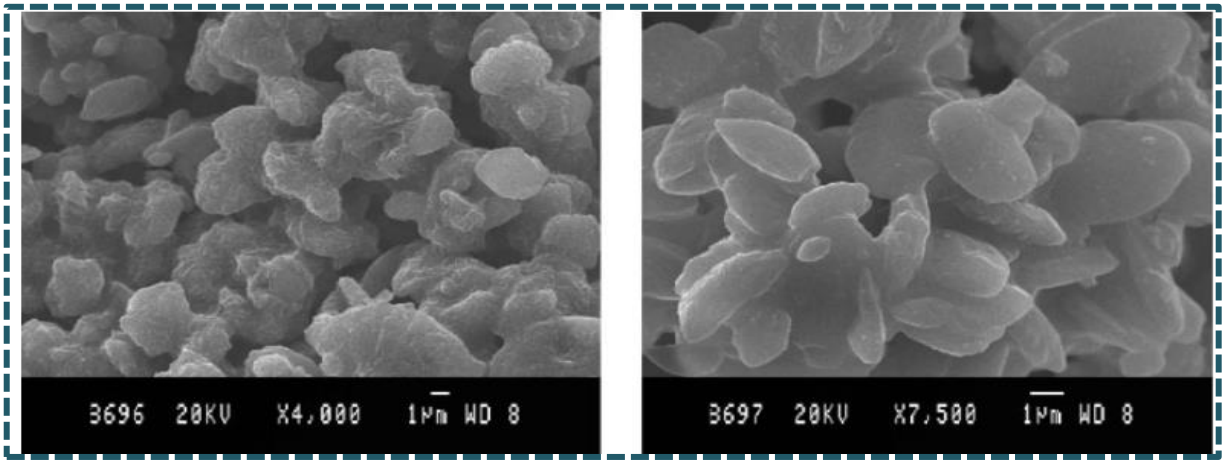
I-4-4- خصائص جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO Nps:

A-الخصائص البنيوية:

التغير في حجم أو أبعاد الجسيمات النانوية يغير من الخصائص الفيزيائية للمادة بسبب تأثير الحجز الكمي الناجم عن انخفاض الحجم. يوجد عزم ثنائي قطب قوي يقلل من طاقتها. النمو متباين الخواص على طول المحور C يعطي بنى نانوية مثل الحلزون أو أعمدة نانوية.[41-42]



الشكل 10: أنواع مختلفة من الهياكل البنيوية لـZnO a- tetrapods b- nanoneedles c- nanopillars d-copues e- faceted nanopillars e- ribbons / comb [41]



الشكل 11:صورة بالمجهر الالكتروني الماسح(SEM) للجسيمات ZnO النانوية المصنعة [43]

يمكن إنتاج أكسيد الزنك في جسيمات 3D,2D,1D. البنى أحادية البعد هي أكبر بما في ذلك الأنابيب النانوية و الإبر. [41]

البنية النانوية لـ ZnO بمختلف الأشكال النانو مترية مثيرة جداً لأن حجم المواد النانوية لا تسمح لنا فقط بتصغير المقياس بل الحصول كذلك على الخصائص المختلفة والمرغوب فيها[37].

B-الخصائص البصرية:

خصائص الانبعاث للجسيمات النانوية ZnO تتعلق بطريقة التصنيع المستخدمة، حيث أثناء تحضير الجسيمات النانوية ZnO البلورية بطريقة الاصطناع organometallique في درجة حرارة الغرفة، ينبعث اللون الأصفر أو الأزرق أو الأبيض[44].

الشكل 12:تغيير الانبعاث بتغيير دالة الطول الموجي للإثارة[44]

تتغير البنية في مستوى الحجم الأقل من 10 nm حيث يمكن أن تغير من luminescence[41].

C-الخصائص الكهربائية الإلكترونية:

تعتمد الخواص الكهربائية وإلكترونية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO على حجم وشكل وحالة السطح للمواد النانوية. جسيمات أكسيد الزنك النانوية هي أشباه موصلات (تقدر قيمة طاقة الفجوة بـ3.37ev في درجة حرارة الغرفة) ويملك فجوة واسعة في نطاقة هذه القيمة، لديه مقاومة أكبر ،بفضل الحجم المتناهي في الصغر من البلورات النانوية[40] تصبح الخصائص الكهربائية ذات أهمية وخاصة في مجال تنمية محسسات photosensitive فوق البنفسجية، أو بعث ليز فوق بنفسجي[37].

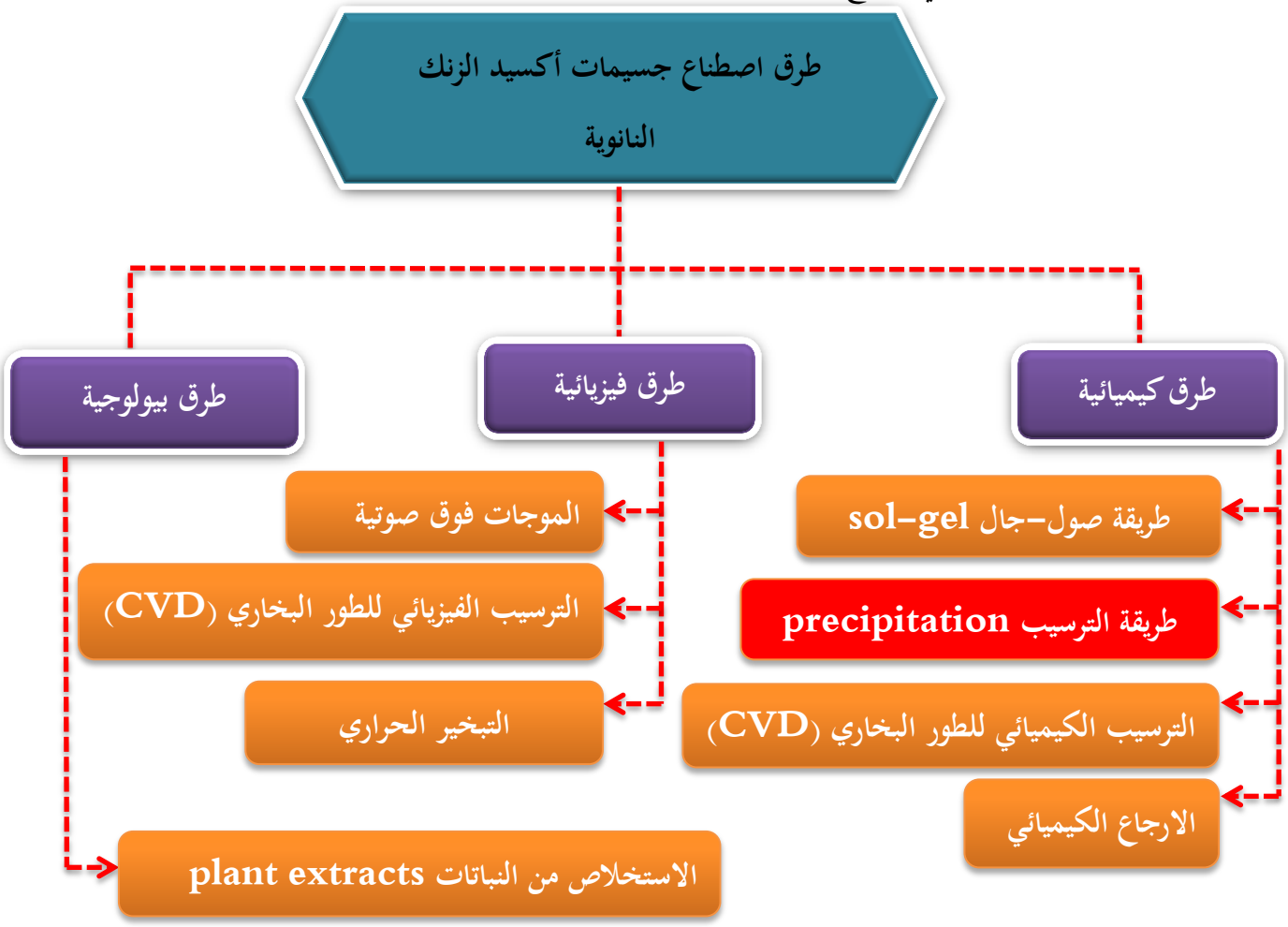
D- الخصائص السطحية لأكسيد الزنك:

في درجة حرارة الغرفة، يلعب وجود مجموعات الهيدروكسيل (OH) على سطح أكسيد الفلز دوراً مهما في عمليات الامتزاز التي تحدث على سطحه. يمكننا التمييز بين ثلاثة أنواع من مجموعات الهيدروكسيل الممتز على السطح. أولاً جزيئات الماء الحرة "free water "، والتي يمكن التخلص منها بدرجة حرارة حوالي $100C^0$. ثانياً جزيئات الماء الممتصة "physisorbed water" بواسطة روابط هيدروجينية والتي يمكن التخلص منها في درجة

حرارة ما بين $100-200C^0$، و أخيراً ، جزيئات الماء "chemisorbed "، المرتبطة بالسطح بواسطة روابط قوية، و يمكن التخلص منها تحت درجة حرارة $200C^0$ فما فوق. يتم تحديد كمية مجموعات الهيدروكسيل الموجودة على سطح الأكاسيد بشكل عام عن طريق قياس الطيف بالأشعة تحت الحمراء (FTIR) أو بطريقة التحليل الحراري[44].

I -4-5-طرق اصطناع جسيمات أكسيد الزنك النانوية:

هناك عدة طرق لاصطناع جسيمات الزنك النانوية ZnO حيث تصنف هذه الطرق إلى ثلاث أصناف : طرق كيميائية، وطرق فيزيائية والأخرى بيولوجية[45-37].حيث سيتم التطرق بالتفصيل في الجزء العملي الى طريقة الترسيب، المخطط التالي يوضح تصنيف هذه الطرق:



الشكل 13: طرق تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية **ZnO NPs** [45-37]

I –6–4–تطبيقات جسيمات أكسيد الزنك النانوية :

–تدخل في تصنيع:

السيراميك –المنتجات الغذائية (مضافات)–الصناعات الدوائية –الخلايا الضوئية –الحماية ضد الأشعة فوق بنفسجية –حماية الأجهزة الالكترونية –مفاعلات التحفيز الضوئي –صناعة طبقات حساسة في أجهزة استشعار الغاز على أساس ZnO للكشف عن ثاني أكسيد النيتروجين N_2.[39-41-46]

I –5–تقنيات التحليل والتوصيف:

I –5–1–تمهيد:

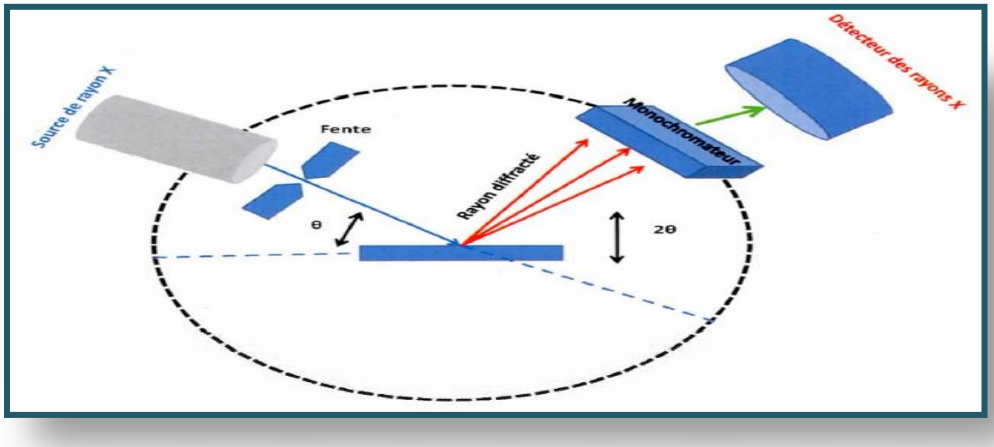
من بين طرق توصيف الجسيمات النانوية : المجهر الماسح الالكتروني (SEM) والمجهر النافذ الالكتروني (TEM)، مجهر القوة الذرية (AFM)، مطيافية الرامان، المجهر الماسح النفقي (STM) و مطيافية الاشعة السينية الالكتروضوئي (XPS) وحيود الأشعة السينية (XRD) ومطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه (FTIR).حيث سيتم التطرق في هذا الجزء باختصار إلى تقنيات التحليل المستخدمة لتوصيف الجسيمات النانوية والمتمثلة في تقنية حيود الأشعة السينية ومطيافية الأشعة تحت الحمراء.

I –5–2–حيود الاشعة السينية (XRD):

حيود الأشعة السنية X-ray diffraction هي تقنية تحليلية تدرس البنية الدقيقة للمادة وتوفر معلومات حول التركيب البلوري لها [30].

لكي نفهم بشكل جيد الطرق التجريبية المستخدمة في حيود الاشعة السينية (XRD) من الضروري دراسة المواضيع الأساسية المتعلقة بالهندسة البلورية وأساسيات الوصف العام للبنية البلورية ومبادئ حيود الاشعة السينية عليها[47].

كذلك تتيح طريقة حيود الأشعة السينية تحديد المسافات الفاصلة أثناء دراسة الجسم البلوري، عموماً الجهاز المستخدم يقيس زوايا الانعراج، وكما هو موضح في (الشكل14) يتكون من مصدر للأشعة السينية (أنبوب الاشعة السينية) أحادي اللون وكاشف[30].



الشكل 14: رسم تخطيطي لكيفية عمل جهاز حيود الاشعة السينية (**diffractometer**)[30]

I –5–2–1–مبدأ عمل جهاز حيود الأشعة السينية:

يتمثل مبدأ تحليل حيود الأشعة السينية من تفاعل هذه الأشعة مع المادة المراد تحليلها[11]. حيث يتم قصف المادة (العينة) بواسطة شعاع من أنبوب الأشعة السينية، التي يتم إنشاؤها في أنبوب مفرغ من الهواء عن طريق تسخين الكاتود التنغستن بواسطة فرق جهد كهربائي، فينتج بذلك أشعة مبعثرة (مشتتة) لها نفس تردد أشعة المصدر، وهذا يسمى بالانتشار المرن أو انتشار رايلي. في هذه الحالة كما هو موضح في (الشكل15)، فإن زاوية الانعراج تساوي زاوية ورود أشعة المصدر وتكون طاقة الفوتون المنعرج أقل من طاقة الفوتون الساقط هذه سمة من سمات ظاهرة الحيود التي تتبع قانون براغ(Bragg's law). حيث يستند مبدأ حيود الأشعة السينية على هذا القانون[11-30]

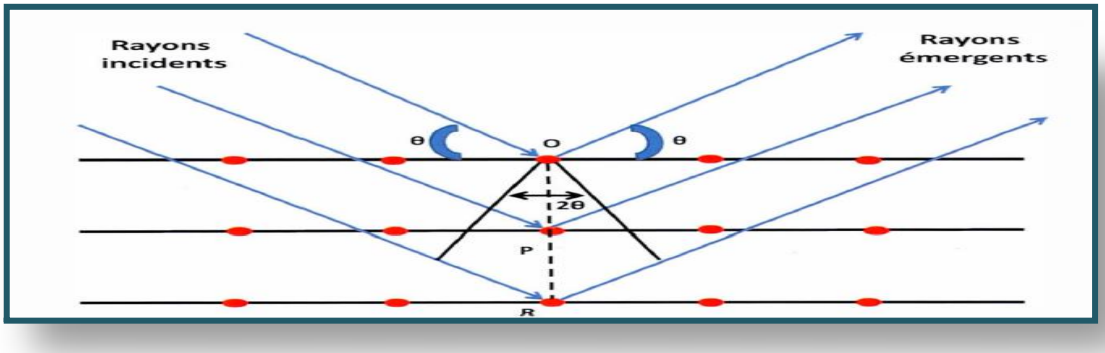
$$n\lambda = 2d\sin\theta \ldots\ldots \quad (01-I)$$ المعادلة [30]

حيث: n :هو مرتبة الحيود

λ : هو الطول الموجي

d :المسافة البينية

يحدث حيود الأشعة السينية ذات الطول الموجي λ فقط عند زاوية خاصةθ تعين من خلالها المسافة البينية d بين المستويات البلورية. [11-30]



الشكل 15: حيود الأشعة السينية أثناء التفاعل مع المواد [30]

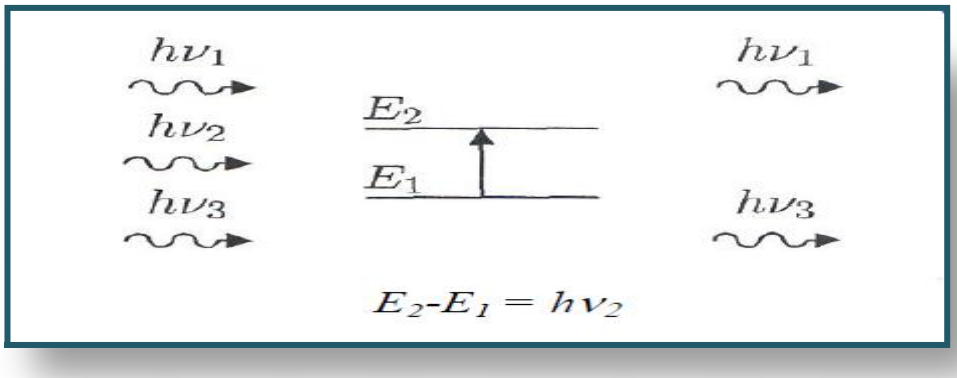
I -5-3-مطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه (FTIR):

تفيد مطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه في التعرف على المجاميع الوظيفية أو الفعالة في المركبات الكيميائية، كما يمكن بواسطتها التعرف على المركبات المختلفة، ذلك أن كل مركب له بصمة خاصة به تميزه عن باقي المركبات. [48]

I -5-3-1-مبدأ مطيافية الأشعة تحت الحمراء:

تهتز الجزيئات طبيعياً تبعاً لجميع مخططات اهتزازها ولكن بسعات ضعيفة جداً. إذا كان تواتر الفوتون يوافق تواتر اهتزاز المخططات العادية للجزيء فإن الجزيء سيتجاوب معه ويهتز عندئذ بسعة كبيرة جداً، بعبارة أخرى الفوتون الذي تكون طاقته مساوية للطاقة الضرورية للجزيء حتى يمر من حالة طاقة منخفضة إلى حالة مثارة يمتص وتحول طاقته إلى طاقة الاهتزاز (الشكل16) يمثل مخطط هذه الظاهرة.

الفوتون ذو الطاقة $h\nu_2$ المساوية لطاقة الانتقال(E_2-E_1) هو وحده الذي يمتص، وبالتالي فإن الفوتون الممتص يحدث خللا في الاشعاع المنبعث [48-11].



الشكل 16: امتصاص الأشعة تحت الحمراء [48]

يؤدي امتصاص بعض الفوتونات الواردة إلى ظهور خطوط توافق الفوتونات الممتصة في طيف الأشعة ما تحت الأحمر للجزيء. يميز هذا الامتصاص الروابط (bonds) بين الذرات. بما أن كل مخطط اهتزاز يوافق حركة وحيدة للجزيء فإنه يوجد توافق مباشر بين تواتر الاشعاع الممتص وبنية الجزيء.

أي بمعنى آخر يتم اكتشاف المجموعات الوظيفية عموماً من خلال أو غياب أو وجود نطاقات امتصاص مسجلة على طيف الأشعة تحت الحمراء، ويعتمد امتصاص هذه الأشعة تحت الحمراء للمادة على المكونات وعلى أنواع الروابط التي تربطها. [11-48]

الفصل الثاني

الفعالية البيولوجية :عموميات حول البكتيريا & الفعالية المضادة للطفرات

تمهيد :

قد بات هذا العالم اليوم الذي تتزايد أطرافه ترابطاً وتداخلاً يشهد ظهور أمراض جديدة بشكل غير مسبوق، علماً بأنّ لتلك الأمراض القدرة، في غالب الأحيان، على الانتشار بسرعة والتي سببها البكتيريا والفيروسات إلى غير ذلك من الكائنات الدقيقة الممرضة والتي تؤدي هذه الأمراض في بعض الأحيان في حالة تضاعفها الى حدوث طفرات في المادة الوراثية والتي بدورها تؤدي الى أمراض أخرى مستعصية.[49] لذلك دعت الحاجة إلى القيام بعدة أبحاث للاصطناع أو تحضير مضادات حيوية أو عقاقير تقلل من ظهور هذه الامراض. حيث في هذا الفصل سيتم عرض دراسة نظرية لبعض أنواع البكتيريا الممرضة التي تم استعمالها وتقدير حساسيتها لبعض المركبات المحضرة وخطوات تقدير الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا، كما سيتم عرض بعض المعلومات عن أسباب تشكل الطفرات الوراثية وآلية استحداث الطفرات، أيضا سيتم التطرق إلى تقنية تقدير الفعالية البيولوجية المضادة للطفرات والمتمثلة في التقنية الفولطاأمبيرومترية الحلقية.

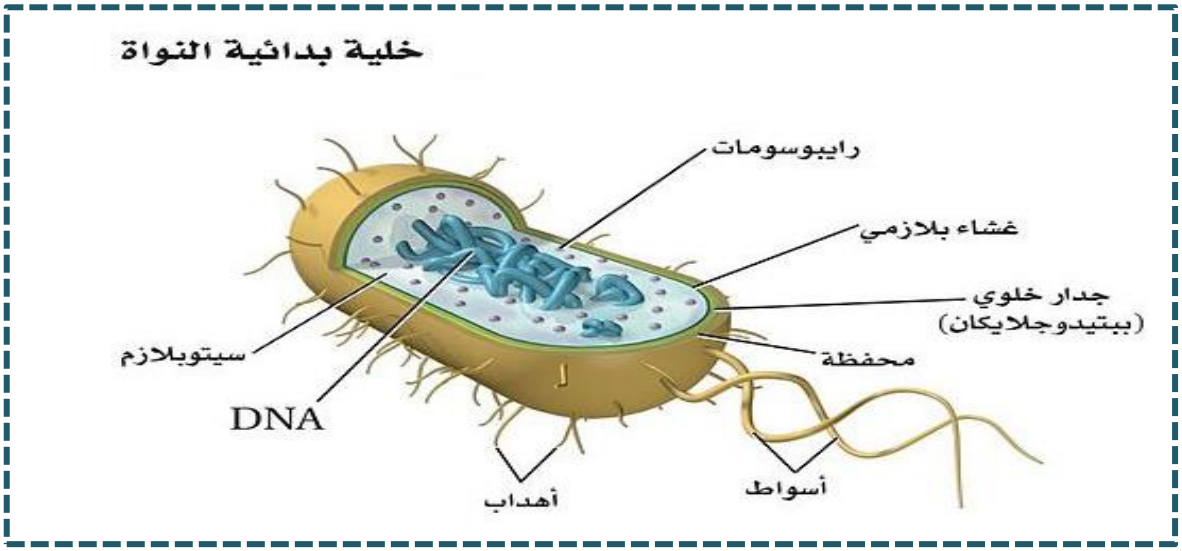
II– 1–الفعالية المضادة للبكتيريا:

II– 1–1–تعريف البكتيريا:

البكتيريا (Bacteria) كائنات حية مجهرية دقيقة بدائية النوى بسيطة تحتوي على خلية واحدة، وتعتبر من أصغر الكائنات الحية. [50] يتراوح قطرها ما بين 0.3 إلى 2 ميكرون وهي ذات أشكال مختلفة. [51]

II– 1–2– خصائص البكتيريا:

تتركب البكتيريا من جدار وغشاء خلوبين يحيطان بالسيتوبلازم الذي يحوي كروموزوماً حلقياً واحداً، حيث تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف قاسي و متماسك للبكتيريا وهو المسؤول عن حماية شكل الخلية من الاضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالأجسام الغريبة. وهناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية حول الغلاف تدعى capsule، تحدد درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا بين $45\text{-}37C^0$. بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة. [51]



الشكل 17 رسم تخطيطي للخلية البكتيرية وبنيتها [52]

II– 1–3–تصنف البكتيريا:

تختلف البكتيريا في قدرتها على استعمال مصادر الطاقة. وإنتاج الغازات (CO_2) الناتجة من الغلوكوز)، وفي إفراز السموم والإنزيمات وأيضا تختلف من حيث البنية، وشكل الخلايا والقدرة الامراضية وكذلك حساسيتها الحيوية، هذه الاختلافات أفرزت طرقاً حيوية متعددة لتميز البكتيريا [53].حيث صنف العلماء البكتيريا لعدة تصنيفات أهمها:

1-حسب طريقة التلوين: -بكتيريا موجبة الغرام

-بكتيريا سالبة الغرام

2-حسب تأثيرها على الانسان: -بكتيريا نافعة

-بكتيريا انتهازية

-بكتيريا ضارة [50-51]

II- 1-4-الأنواع البكتيريا المستعملة في الدراسة:

II- 1-4-1-بكتيريا الايشيريشيا كولي *Escherichia coli*:

هي بكتيريا سالبة الغرام، اختيارية ومتحركة على شكل عصيات ذات أبعاد من 1 µm إلى 3 µm توجد في أمعاء الإنسان والحيوان، وتسبب العديد من الأمراض منها أمراض الجهاز البولي، الإسهال الحاد القاتل، التهاب السحايا، تسمم الدم والالتهابات المعوية. [50 -51]

الشكل 18:بكتيريا *Escherichia coli* [54]

II- 1-4-2-بكتيريا المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus*:

تم اكتشافها من طرف باستور وكوخ في 1877-1978م وهي موجبة الغرام، ترتبط في مجموعة على شكل عنقود عنب قطرها حوالي 1 µm. [50 -51]لها القدرة على تحليل كرات الدم الحمراء، تمكنها من إفراز السموم تتواجد غالباً على الجلد والغدد الجلدية وفي الأغشية المخاطية للحيوانات ذات الدم الحار.[55]

الشكل 19):بكتيريا ***Staphylococcus aureus*** [56]

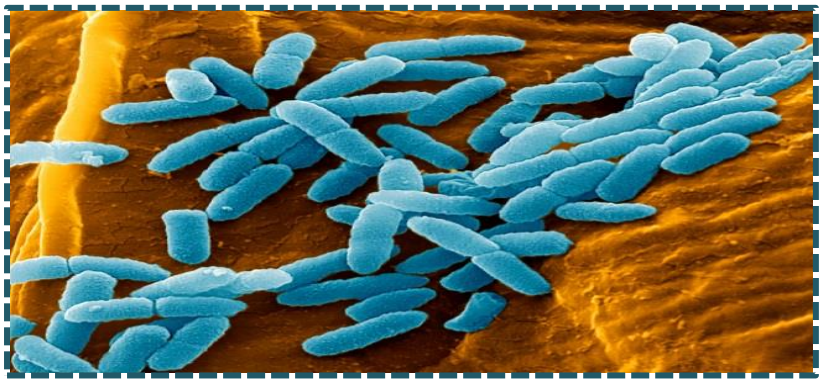
II– 1–4–3– السالمونيلا (عصيات التيفوئيد) *Salmonella typhimurium* :

هي بكتيريا عصوية الشكل، سالبة الغرام لاهوائية اختيارية، طولها بين 1 و7 ميكرون، تسبب هذه البكتيريا مرض يتميز بالتهاب حاد في الأمعاء والقولون في بداية الأمر بعد وقت من الاصابة تنتشر البكتيريا مع الدم لتسبب الالتهاب في أي عضو تستقر فيه، وقد تتعدى مرحلة الالتهاب إلى مرحلة تسمم الدم والأنسجة ثم الموت. [51]

الشكل 20 :بكتيريا ***Salmonella typhimurium*** [57]

II– 1–4–4–الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*:

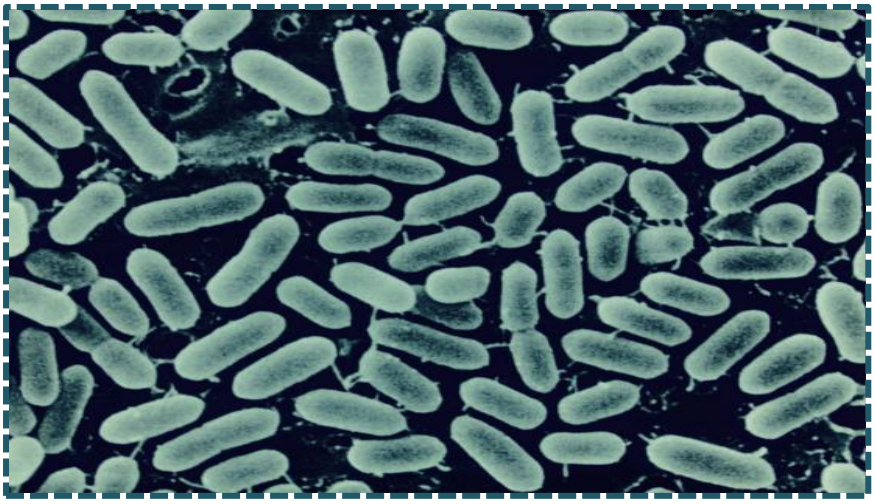
ينتمي هذا الجنس الى عائلة *Pseudomonadaceae* [55] هي سالبة الغرام متحركة هوائية[51]يتراوح طولها بين 1µm و 5µm أما عرضها يتراوح بين 1µm إلى 0.5µm، تعيش في درجة حرارة بين C^0 4-45، ممرضة تسبب التهابات الجهاز التنفسي والمسالك البولية. [55-51]



الشكل 21: بكتيريا ***Pseudomonas aeruginosa*** [58]

II– 1–4–5–البكتيريا الليستريا ***Lesteria monocytogenes***:

الليستريا هي بكتيريا تضم 10 أنواع، سميت كذلك نسبة إلى الجراح جوزف ليستر الذي اكتشافها عام 1940م .بكتيريا الليستريا شائعة في منتجات الألبان وهي عبارة عن عصيات صغيرة موجبة الغرام مع نهايات مستديرة. قد تسبب بكتيريا الليستريا الاصابة بالحمى أو الاسهال لدى بعض الاشخاص فيما قد تتفاقم لدى أشخاص آخرين.[59]



الشكل 22:بكتيريا ***Lesteria monocytogenes*** [59]

II– 1–5–المضادات الحيوية Antibiotics:

II– 1–5–1–تعريف المضادات الحيوية :

استعملت كلمة المضادات الحيوية لأول مرة من طرف العالم Vuillemin سنة 1889م وعرفها بأنها الظروف التي يقتل تحتها كائن حي من طرف كائن حي آخر ليحتفظ هذا الأخير بحياته ووجوده، وفي سنة 1915 عرفها Waksman بأنها ظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيماوية تؤثر سلباً عن الميكروبات. [51-50]

II– 1–5–2–أنواع المضادات الحيوية:

يعتمد تصنيف المضادات الحيوية على حساب الوظيفة الأساسية في الجسم والتي تنقسم إلى قسمين:

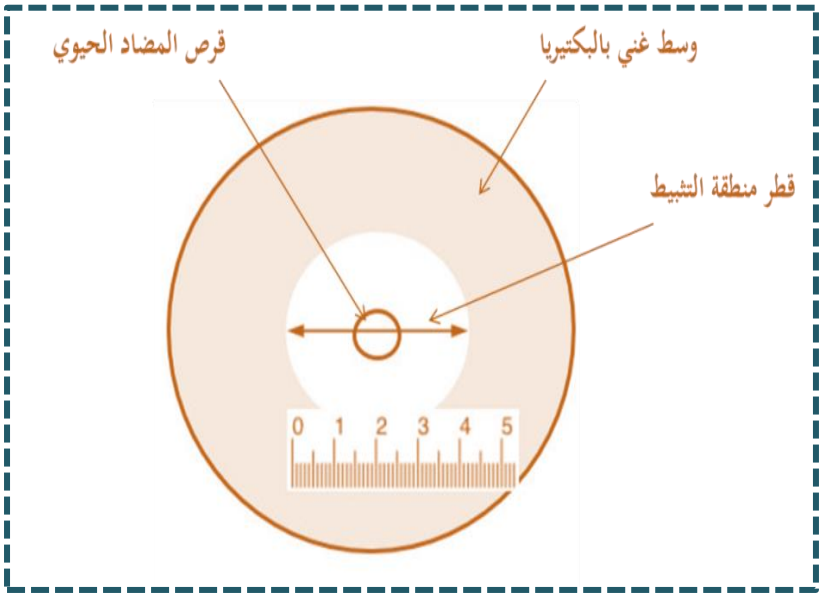
–مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية : تمنع تكاثر الخلية البكتيريا وهو ما يساعد في القضاء عليها مثل سلفوناميد وكلورامفينكول.

–مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية: بالتأثير على جدار خليتها أو تتسبب في انتفاخ خليتها و انفجارها، أو منع تكوين مادة البروتين داخل خليتها مثل : benicillin , Gentamici, Ampicillin [51-50]

II– 1–5–3–كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي:

إيجاد التركيز الأدنى لتثبيط السلالة البكتيرية (inhibitrice)،باستعمال مختلف التراكيز المضادات الحيوية ويسمى (CMI).

CMI:هو أدنى تركيز للمضاد الحيوي المثبط بكتيريا و (الشكل23) يبين قطر منطقة التثبيط.[60]



الشكل 23: قطر منطقة التثبيط للبكتيريا [61]

إن من أهم الطرق لاختبار فعالية المضاد الحيوي طريقة الانتشار أو ما يسمى بطريقة الأقراص.

طريقة الانتشار: من أجل أن نحدد قدرة حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا، هي تقدير تركيز المضاد الحيوي القادر على احداث هذا التأثير، نلجأ إلى طريقة Antibiogramme عن طريق الانتشار على وسط صلب، حيث تجهز الأقراص بورق الترشيح لـ Whatman التي يتم تشبيعها بالتركيز المحدد من

المضادات الحيوية (أو المواد المراد معرفة مدى تأثيرها على البكتيريا) وتوضع في علب بتري على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقاً بلقاح بكتيري بطريقة المسح الموجودة على وسط تغذية تلك البكتيريا، وتعتبر هذه الطريقة شائعة الاستعمال في مخابر المكروبيولوجيا وهذا راجع لسهولة تحقيقها وتعتبر كذلك طريقة غير مكلفة مقارنة مع الطرق الأخرى، ومن جهة أخرى تعطي نتائج جيدة حيث تمكننا من معرفة مدى تثبيط البكتيريا للمضاد الحيوي [62] ويمكن القول وفق لمقياس تقدير النشاط المضاد للميكروبات، تم تقديمه بواسطة Mutai et al ، 2009.

صنّفوا أقطار مناطق تثبيط نمو الميكروبات في خمسة أصناف كالتالي:[63]

*تثبيط قوي جداً ابتداءاً من 30 mm.

*تثبيط قوي ما بين [29-21mm].

*تثبيط متوسط ما بين [20-16mm].

*تثبيط ضعيف ما بين [16-11mm].

*تثبيط ضعيف جداً أقل من 10 mm.

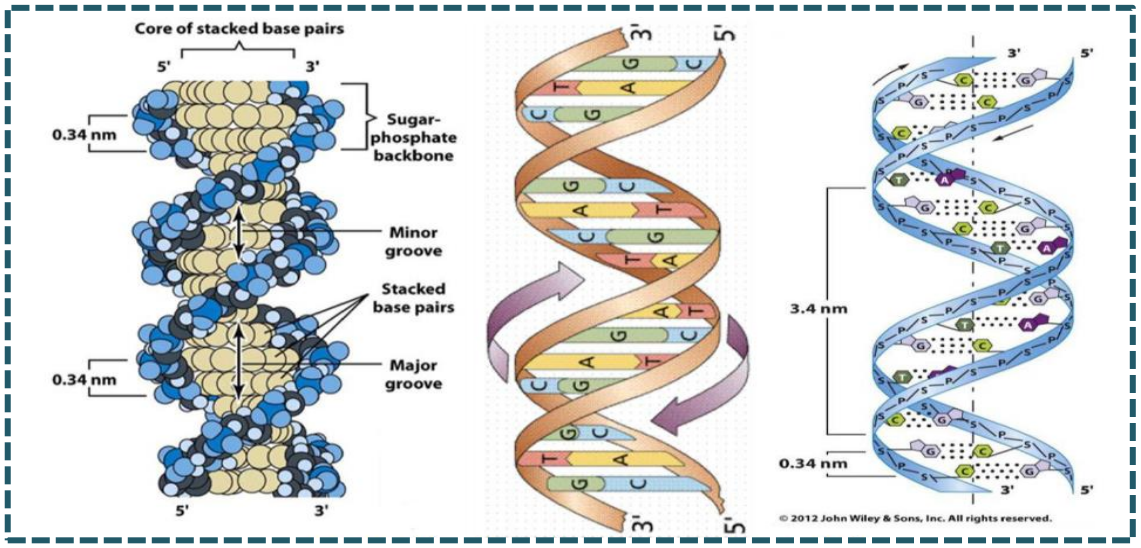
II- 2-الفعالية المضادة للطفرات :

II- 2-1-تمهيد:

الخلية هي الوحدة البنائية والوظيفية للكائنات الحية،[64] إذ ترتكز كل الأبحاث المتخصصة في علم الوراثة على أهم مكونات الخلية وهي المادة الوراثية[65] الحمض الريبي النووي RNA [66]والحمض الريبي النووي منقوص الأكسجين DNA،[67] تعتبر هذه المادة المخزن على المدى الطويل للمعلومات الوراثية، حيث أن أي تغير على مستوى هاته المادة يؤدي إلى عرقلة وظائف الخلية وبالتالي ظهور طفرات منها تسرطن الخلية.[65]

II- 2-2-بنية الحمض الريبي النووي منقوص الأكسجين DNA:

الـ DNA هي عبارة عن بوليمر خطي موجود في كروموزمات النواة، حيث تعتبر النيوكليوتيدات وحداته البنائية وتتكون من سكر وفوسفات وقاعدة آزوتية، وتشكل القاعدة والسكر ما يسمى بالنيكليوزيدة ومنه النيوكليوتيدات هي عبارة عن نيكليوزيدة بها فوسفات، القواعد الموجودة في الحمض النووي هي قواعد أمينية حلقية غير متجانسة اثنان منها قواعد بيرين (purines) وهما أدينين (A) و غوانين (G) وقواعد بيريمدية (pyrimidines) وهما تيمين (T) وسيتوزين (C) حيث أن البنية الهيكلية لـ DNA مرت على مرحلتين أولية وثانوية حتى الوصول إلى الشكل المضاعف الحلزوني.[68]



الشكل 24: البنية الثانوية الحلزونية المزدوجة لـ DNA[69]

II– 2–2–1–وظيفة الحمض النووي منقوص الأكسجين:

يملك الحمض النووي دورين أساسيين هما:

–المحافظة على المعلومات الوراثية وتكرارها.

– تصنيع البروتين.[70]

II– 2–3–الطفرة الوراثية:

تعرف الطفرة الوراثية بأنها تغير في التسلسل أو عدد النيكليوتيدات في الحمض النووي DNA أي تغير مفاجئ وكابت في الصفات الوراثية للكائن الحي .تحدث الطفرة نتيجة تغير في ترتيب القواعد الأزوتية بالفقدان أو الاستبدال، مما يؤدي إلى تغير في التركيبة الأساسية للمورثة وبالتالي تغيير في تركيبة البروتين الذي تشفره، فينتج عنه تغير في الصفات مثل عدم القدرة على اصطناع بعض الأحماض الأمينية غير أساسية أو الفيتامينات أو مقاومة تجاه المضادات الحيوية .قد تكون الطفرات في الخلايا تلقائية وهي التي تحدث طبيعياً بدون سبب معلوم أو طفرات مستحدثة و هي التي تحدث نتيجة معاملة الخلايا الحية بالعوامل المطفرة مثل الأشعة أو الحرارة أو بعض المواد الكيميائية أو الفيزيائية .[71]

II– 2–4–المطفرات:

تؤثر المطفرات الوراثية بطريقة غير مباشرة، هذا التأثير يتمثل في آليتين مختلفتين:

–استبدال قاعدة في سلسلة DNA .

-تغيير قاعدة بحيث يؤدي ذلك إلى خطأ في التزاوج مع قاعدة أخرى حيث تصبح غير قادرة على الارتباط مع أي من القواعد في الحالات العادية.[70]

II- 2-4-1-آليات استحداث الطفرات:

لكي تورث الخلية المعلومة الوراثية يجب على DNA أن يتضاعف بالتساوي، حيث غالباً ما تحدث أخطاء خلال هذا التضاعف تعرف بالطفرات الوراثية التلقائية لأنها تتعلق بعوامل داخلية، أما العوامل الخارجية كالمواد الكيميائية و الإشعاع فتسبب في طفرات في القواعد النيوكليوتيدية لجزيئة DNA كما يمكن أن تتغير نتيجة تغير للقواعد نفسها، أو تغير للروابط السكرية الأزوتية.[70]

II- 2-4-2-تلف الحمض النووي وتشكل الأورام:

تتعرض المادة الوراثية إلى الكثير من التأثيرات غير مرغوب فيها، هذه التأثيرات إما أن تكون داخلية (طفرات إدراج أو حذف في تسلسل الأحماض النووية ...) أو خارجية (فيروسات، بكتيريا، المواد الكيميائية و المشعة، الإشعاع الكهرومغناطيسي،...) والتي قد تسبب خللا إما وظيفي أو بنيوي، ومع ذلك يتم إصلاح معظم هذه الاختلالات من طرف النظام الدفاعي الداخلي للكائن الحي، يصعب أحياناً على الانظمة الدفاعية التحكم في هذا الخلل (الطفرة) لتكون بهذا ما يعرف بالخلايا الطافرة أو المتورمة أو المسرطنة، يتميز هذا النوع من الخلايا بصفات غير عادية وراثياً تتطور فيما بعد إلى مرض "السرطان".[72]

السرطان هو مصطلح عام ينطبق على مجموعة كبيرة من الأمراض يعرف بأنه النمو العشوائي لبعض الخلايا الحية والناتج عن اختلال في آلية التضاعف، بالإضافة إلى ذلك فإن هذه الخلايا السرطانية قادرة على الانتشار وغزو الأنسجة السليمة المجاورة وتدميرها.[72]

II- 2-5- تقدير الفعالية المضادة للطفرات باستخدام الطريقة الفولطاأمبيرومترية الحلقية :

II- 2-5-1- تقنيات التحليل الكهروكيميائية:

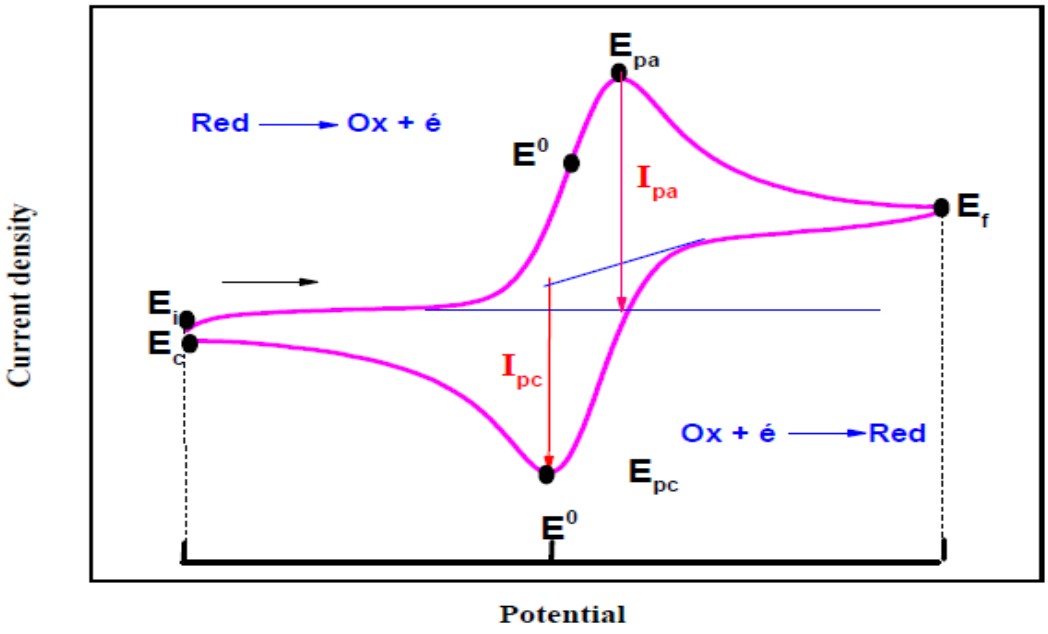
تعتبر التقنيات الكهروكيميائية من احدى الطرق التي تستخدم في تحديد الفعالية المضادة للطفرات، من بين هذه التقنيات التقنية الفولطاأمبيرومترية الحلقية إذ تعتبر هذه الطريقة من أحسن الطرق و الأكثرها اعتماداً لما تميزت به من مصداقية ودقة في العمل.

لقد سعى الباحثون إلى إيجاد طريقة دقيقة وبسيطة وتتميز بالسرعة تمكنهم من تحديد الفعالية المضادة للطفرات وذلك لاختبار الأدوية وآثارها ومعرفة مدى تداخلها مع DNA.[70]

II– 2–5–2– التقنية الفولطاأمبيرومترية الحلقية:

تعتبر الطريقة الفولطاأمبيرومترية الحلقية إحدى الطرق التحليل الكهروكيميائية، حيث تسمح هذه الطريقة بتحديد شروط تفاعل الاكسدة والارجاع بالإضافة الى اليات التفاعل عند المسرى عند حدوث تفاعلات كيميائية.

تعتمد تقنية الفولطمتري الحلقي على قياس التيار بدلالة فرق الكمون المتغير المطبق بين مسرى العمل والمسرى المرجعي، هذا الكمون يتغير بصفة خطية بين قيمتين حديتين E_i (كمون ابتدائي) و E_f (كمون نهائي).[72]



الشكل 25: منحنى الفولطأغرام الحلقي للثنائية (OX/Red) [72-70]

حيث: I_{pa} و I_{pc} : هما على التوالي تيار النتوء المصعدي وتيار النتوء المهبطي.

E_{pa} و E_{pc}: كمونات النتوءات المصعدية والمهبطية على التوالي.

الجزء التطبيقي

الفصل الثالث

التحضير والتشخيص

(الطرق والوسائل–النتائج والمناقشة)

تمهيد:

يتناول هذا الفصل طريقة العمل المتبعة في تحضير وتوصيف جسيمات أكسيد الزنك ZnO النانوية المحضر بطريقة الترسيب، و مركب GO المحضر بالطريقة الكيميائية Hummers و modified Hummers و طريقة تفعيل ZnO@APTES@GO مع تحليل النتائج المحصل عليها ومناقشتها.

III-1- تحضير أكسيد الزنك النانوي ZnO NPs:

III-1-1-المواد وطرق العمل:

في هذا الجزء من العمل سيتم تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية بطريقة الترسيب وهي من الطرق الكيميائية الشهيرة انطلاقاً من خلات الزنك ثنائي الهيدرات والأمونيا في درجة حرارة الغرفة وبقياس pH .

III-1-1-1-الأجهزة والمواد المستعملة:

A-المواد والمحاليل المستعملة:

1-خلات الزنك ثنائي الهيدرات $Zn(CH_3COO)_2.2H_2O(0.05M)$.

2-هيدروكسيد الأمونيوم NH_4OH.

3-ماء مقطر منزوع الأيونات(عالي النقاوة).

4- ايثانول CH_3CH_2OH والجدول(3) يبين المواد المستعملة وبعض خصائصها.

جدول 3: أهم المواد المستعملة وبعض خصائصها

الخاصية / المادة	M(g/mol)	d (g/ml)	P(%)
$Zn(CH_3COO)_2.2H_2O$	219.50	1.735	--
NH_4OH	35.046	0.892	30
CH_3CH_2OH	46.07	0.789	99

B–الأجـــهـــــزة:

1-جهاز الرج الكهربائي.

2-جهاز الطرد المركزي.

3-جهاز قياس pH.

4- حاضنة

5- أجهزة التحليل: جهاز مطيافية الاشعة تحت الحمراء وجهاز حيود الأشعة السينية للكشف.

III-1-1-2-خطوات التجربة:

A–التحضير:

- أولاً نقوم بوزن كتلة من خلات ثنائي الهيدرات $[Zn(CH_3COO)_2.2H_2O]$ كمصدر للزنك عن طريق العلاقة التالية: المعادلة (III- 1).....m=M.C.V

بحيث:

M:الكتلة المولية لخلات الزنك ثنائي الهيدرات (219.50 g/mol)

C: تركيز المحلول (0.05 mol/l)

V: حجم المحلول (100 ml=0.1 l)

- إذابة الكتلة الموزونة (1.09 g) في حجم 100 ml من الماء المقطر منزوع الأيونات، ونقوم برج المحلول بواسطة جهاز الرج الكهربائي لمدة 15 min في درجة حرارة الغرفة حتى التجانس.

- بعد مرور ربع ساعة نضيف للمحلول حجماً من هيدروكسيد الأمونيا (0.1M) تدريجياً (قطرة-قطرة) إلى وصول pH=10 مع وجود الرج القوي بعد انتهاء الكمية نتركه مدة ساعة تحت الرج فقط.

- بعد مرور ساعة من الزمن نوقف الرج ونضع المحلول الناتج في الفرن لمدة 12h في درجة حرارة $60\ C^0$.

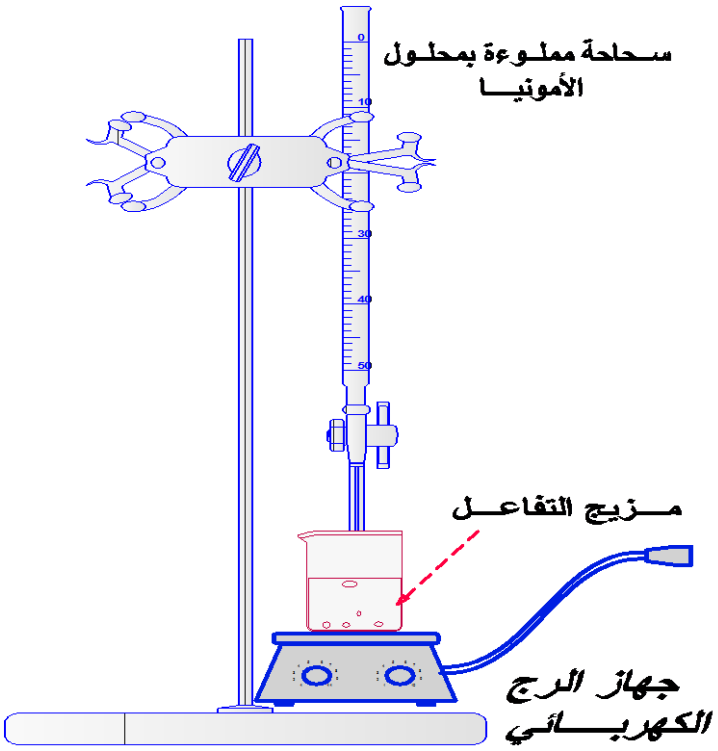
B–الغسل والتجفيف:

- بعد مدة 12 h نضع المحلول في جهاز الطرد المركزي مدة 20 min بسرعة 3800 دورة في الدقيقة.

- نغسل المحلول عدة مرات بالإيثانول و ماء عالي النقاوة ثم نعيد المحلول إلى جهاز الطرد المركزي.

- يتم تجفيفها في الحاضنة لمدة ساعة في درجة حرارة $120\ C^0$ للحصول على مسحوق أبيض(ZnO).[73]

بعد الحصول على أكسيد الزنك النانوي نتحقق من نجاح عملية الاصطناع عن طريق ملاحظة ظهور قمم في طيف مركب أكسيد الزنك النانوي الناتج من جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR، و نتحقق من البنية البلورية لمركب الناتج عن طريق جهاز حيود الأشعة السينية XRD.



الشكل 26: تركيبة التجربة الخاصة بتحضير أكسيد الزنك النانوي

III-2-تحضير أكسيد الجرافين:

في هذا الجزء من العمل قمنا بتحضير أكسيد الجرافين بطريقتي Hummers وmodified Hummers

III-2-1-تحضير أكسيد الجرافين بطريقة Hummers :

III-2-1-1-المواد وطرق العمل:

سيتم إنجاز هذا العمل عن طريق أكسدة الجرافيت ليعطي مركب أكسيد الجرافيت ثم نقوم بعملية التقشير الكيميائي بواسطة جهاز الأمواج فوق الصوتية ليعطي في الأخير مركب أكسيد الجرافين المطلوب.

1-الأجهزة والمواد المستعملة:

1-A-المواد والمحاليل المستعملة:

1-مسحوق الجرافيت النقي (0.5 g).

2- نترات الصوديوم $NaNO_3$ (0.5 g).

3-حمض الكبريتيك H_2SO_4 (25 ml).

4-برمنغات البوتاسيوم $KMnO_4$ (3 g).

5-ماء مقطر منزوع الأيونات.

6-بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (10 ml).

7- حمض كلور الماء (15 ml). والجدول التالي يبين المواد المستعملة وبعض خصائصها

جدول 4: أهم المواد المستعملة وبعض خصائصها

الخاصية / المادة	M(g/mol)	d (g/ml)	P(%)
$NaNO_3$	85	2.26	--
H_2SO_4	98.079	1.84	97
$KMnO_4$	158.04	2.70	--
H_2O_2	34.01	1.4	30
HCl	36.46	1.19	37

B-1-الأجـهـزة:

1-جهاز الرج الكهربائي

2-جهاز الامواج فوق الصوتية

3-جهاز الطرد المركزي

4- أجهزة التحليل: جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء وجهاز حيود الأشعة السينية للكشف

2-خطوات التجربة:

A-2-التحضير:

-يتم خلط 0.5 g من الجرافيت النقي مع 0.5 g من $NaNO_3$ في 25 ml من H_2SO_4(98%) في دورق سعته 1000ml وتوضع فوق حوض جليدي ($0-5\ C^0$) مع التحريك المستمر.

- تم تحريك الخليط لمدة ساعتين، بعد الساعتين وعند نفس درجة الحرارة نبدأ بإضافة 3 g من $KMnO_4$ والحفاظ على درجة الحرارة أقل من $15\ C^0$.

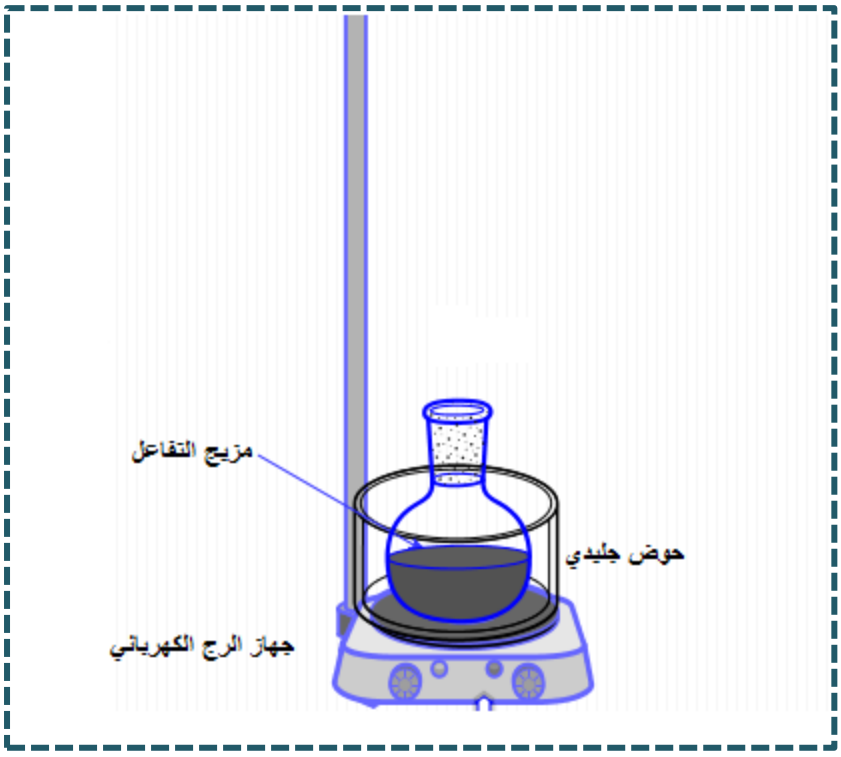
-بعد ذلك، تمت إزالة الحوض الجليدي ويتم رج المحلول عند درجة حرارة $35\ C^0$، ويوضع تحت التحريك لمدة يومين.

- بعد تحريكه لمدة يومين، يتم تخفيفه بالماء وذلك بإضافة 25 ml من الماء المقطر النقي تدريجياً، تتم زيادة درجة الحرارة بسرعة إلى $98\ C^0$ وتغير اللون إلى اللون البني.

- أيضا يتم تخفيفه مرة أخرى بإضافة 50 ml من الماء المقطر النقي ببطىء.

-يتم معاملة المحلول بـ 10 ml من H_2O_2 لإنهاء التفاعل عن طريق ظهور اللون الأصفر.

-يتم إدخال الدورق في جهاز الأمواج فوق صوتية.



الشكل 27: تركيبة التجربة الخاصة بتحضير جسيمات أكسيد الجرافين النانوية

B-2-الغسل والتجفيف:

-يتم غسل المحلول عدة مرات بـ (10%) HCl والماء المقطر النقي منزوع الأيونات و إدخاله في جهاز الطرد المركزي.

-بعد الغسل و الترشيح يجفف في درجة حرارة الغرفة، للحصول على أكسيد الجرافين على شكل مسحوق بني يميل إلى السواد.[74]

III-2-2-تحضير أكسيد الجرافين بطريقة هميرز المعدلة:

III-2-2-1-المواد وطرق العمل:

1-الأجهزة والمواد المستعملة:

A-1-المواد والمحاليل المستعملة:

1-مسحوق الجرافيت النقي (0.5 g).

2- نترات الصوديوم $NaNO_3$ (0.5 g).

3-حمض الكبريتيك H_2SO_4 (25 ml).

4-برمنغات البوتاسيوم $KMnO_4$ (6 g).

5-ماء مقطر منزوع الأيونات.

6-بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (10 ml).

B-1-الأجـهـــزة:

1-جهاز الرج الكهربائي

2-جهاز الأمواج فوق الصوتية

3-جهاز الطرد المركزي

4- حاضنة

5- أجهزة التحليل: جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء وجهاز حيود الأشعة السينية للكشف.

2-خطوات التجربة:

B-1- التحـضـيـر:

-يتم خلط 0.5 g من الجرافيت النقي مع 0.5 g من $NaNO_3$ في 25 ml من H_2SO_4(97%) في دورق سعته 1000ml وتوضع فوق حوض جليدي ($0-5\ C^0$) مع التحريك المستمر والقوي.

- بعد حوالي 10min تمت إضافة 6 g من $KMnO_4$ ببطء إلى المحلول.

-نقل الدورق إلى حمام مائي (درجة الحرارة $35\ C^0$)، ويتم رج المحلول مرة أخرى لمدة ساعة واحدة.

-تمت إضافة 25 ml من الماء منزوع الأيونات إلى المحلول مع التحريك المستمر ورفع درجة الحرارة إلى $90\ C^0$ لمدة نصف ساعة.

-أخيراً نضيف 10 ml من بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2 30 %) للحصول على محلول بني.

- إدخال المحلول في جهاز الأمواج فوق الصوتية.

III-2-2-1-2-2-الغسل والتجفيف:

- يتم ترشيح وغسل المحلول بعد ذلك بـ 100 ml من الماء المقطر عدة مرات إلى وصول pH=7.

-يتم إدخال المحلول المحصل عليه في جهاز الطرد المركزي وغسله عدة مرات بالماء عند 4000 دورة في الدقيقة لمدة 10 min .

-بعد عملية الغسل يتم تجفيفه عند درجة حرارة $90\ C^0$ لمدة 6 ساعات تقريباً. لحصول على مسحوق أكسيد الجرافين GO.[75]

III-3- تركيب ZnO@APTES:

III-3-1- المواد و طرق العمل:

في هذا الجزء من العمل سيتم تفعيل جسيمات أكسيد الزنك النانوية مع APTES .

1- الأجهزة و المواد المستعملة:

A-1-المواد والمحاليل المستعملة:

1-مسحوق أكسيد الزنك النانوي المحضر سابقاً (10 mg).

2- محلول APTES (1 ml).

3- ماء مقطر منزوع الأيونات.

B-1-الأجـــهـــــزة:

1-جهاز الرج الكهربائي.

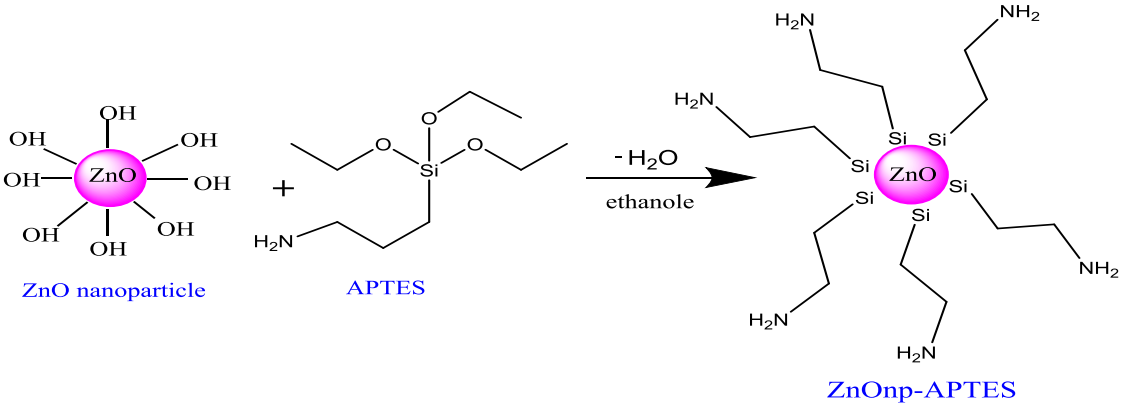
2-جهاز الطرد المركزي.

3-أجهزة التحليل :جهاز مطيافية الاشعة تحت الحمراء FTIR.

2- خطوات العمل:

-نضيف 10 mg من مسحوق ZnO المحضر إلى محلول الـAPTES(1ml).

-يتم غسل المحلول الناتج عدة مرات بالماء المقطر منزوع الأيونات ثم إدخاله في جهاز الطرد المركزي للحصول على مسحوق أبيض (ZnO@APTES) ويتم الكشف عنه لاحقاً بجهاز FTIR.



الشكل 28: رسم تخطيطي لتعديل سطح جسيمات أكسيد الزنك النانوي

III-4- تركيب ZnO@APTS@GO:

III-4-1- المواد و طرق العمل:

سيتم في هذا الجزء من العمل تركيب ZnO@APTES@GO باستعمال المركب ZnO@APTES المحضر سابقاً.

1- الأجهزة و المواد المستعملة:

A-1-المواد والمحاليل المستعملة:

1-ZnO@APTES المحضر سابقاً (10 mg).

2- أكسيد الجرافين GO (10 mg).

3-ماء مقطر منزوع الأيونات.

B -1-الأجـهـزة:

1-جهاز الطرد المركزي.

2- حاضنة

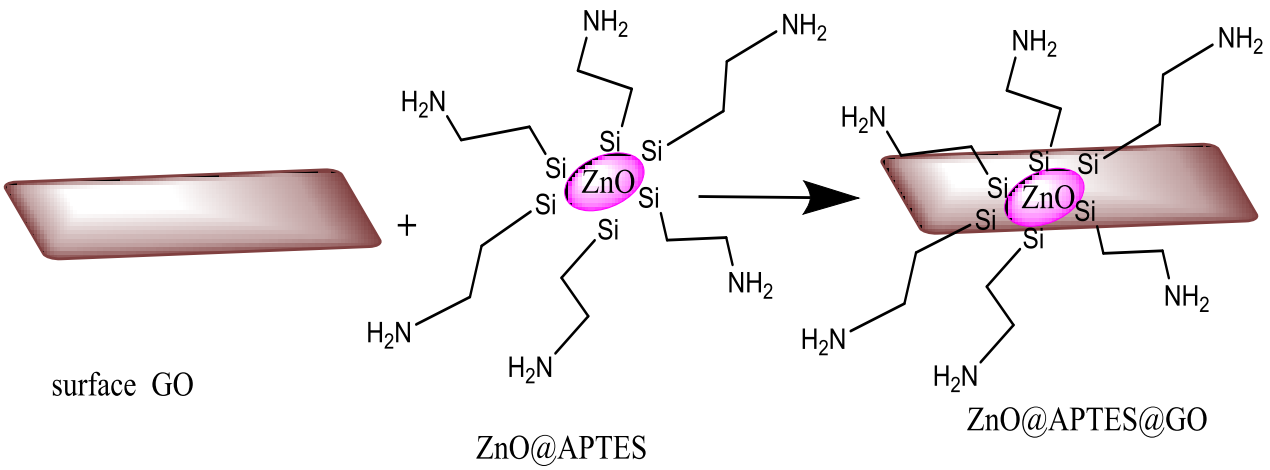
3-أجهزة التحليل :جهاز مطيافية الاشعة تحت الحمراء وجهاز حيود الأشعة السينية للكشف.

2-خـــطـــوات العمل:

-يتم خلط 10 mg من المركبZnO@APTES المحضر سابقاً مع 10 mg منGO في حجم 10ml من ماء منزوع الأيونات، ويوضع تحت الرج لمدة 24 ساعة.

-يتم غسل المحلول الناتج بالماء المقطر منزوع الأيونات عدة مرات و إدخاله في جهاز الطرد المركزي عند 4000 دورة في الدقيقة لمدة 10 min في كل مرة.

-يجفف الناتج في الحاضنة عند درجة حرارة $60\ C^0$ لمدة 3 ساعات تقريباً.



الشكل 29: رسم تخطيطي لتعديل سطح جسيمات أكسيد الجرافين بـ**ZnO@APTES**

III-5- تحليل النتائج ومناقشتها:

III-5-1- انعراج الأشعة السينية:

III-5-1-1-جهاز انعراج الأشعة السينية المستخدم في الدراسة:

الجهاز الذي استعملناه لتقنية حيود الأشعة السينية (XRD)من نوع PROTO (الشكل30) ، يعمل هذا الجهاز بطول موجي $\lambda_{CuK\alpha1} = 1.54$ Å، تحت توتر مقداره 40KV وشدة تيار 40mA كما هو موضح في الشكل (30).

الشكل **30**: صورة فوتوغرافية لجهاز حيود الأشعة السينية

III-5-1-2-تحليل أطياف حيود الأشعة السينية للمركبات المحضرة:

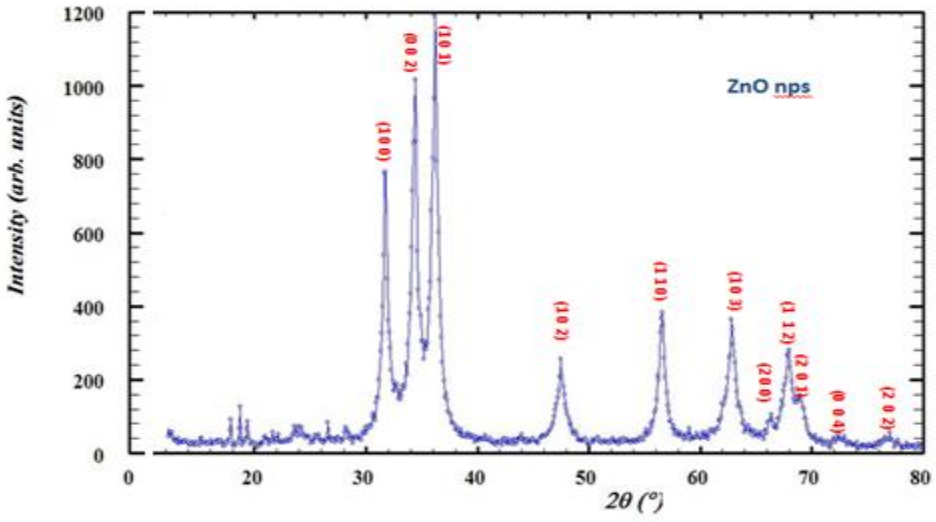
A-طيف حيود الأشعة السينية للجسيمات أكسيد الزنك النانوي:

مخطط انعراج الأشعة السينية (XRD) لجسيمات أكسيد الزنك النانوية المحضر، الموضحة في (الشكل31).

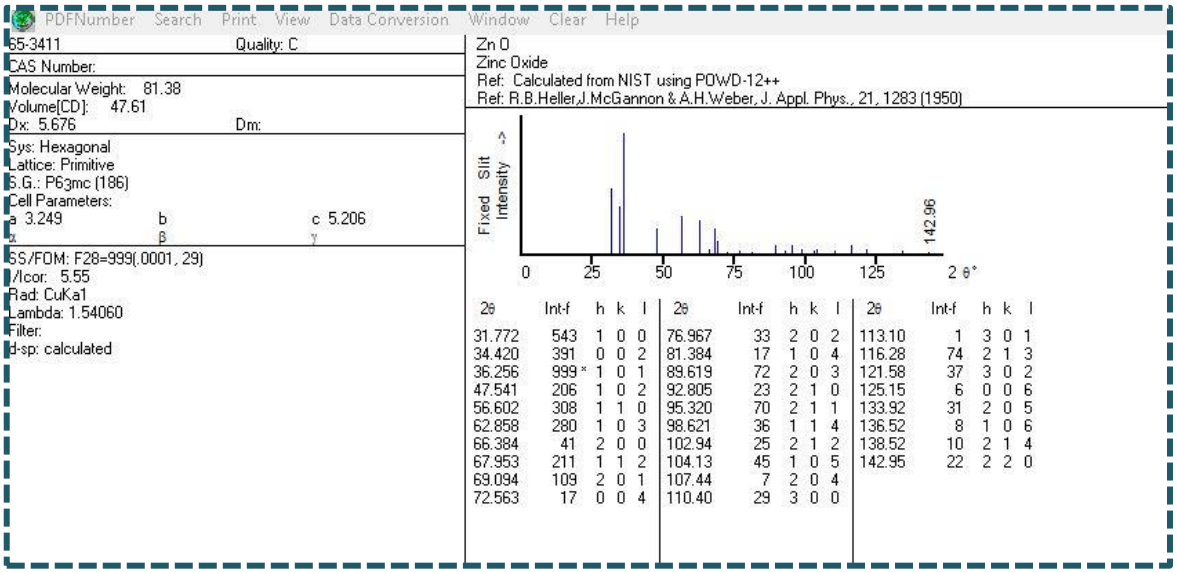
بعد الحصول على طيف الانعراج، تتم مقارنته مع قاعدة البيانات الموجودة ببرنامج MDI jade لمعرفة الاطوار الموجودة في العينة وبعد عملية المقارنة قد تبين أن الطور الغالب هو مادة ZnO .

بعد المطابقة مع البطاقة رقم 65-3411 لقاعدة البيانات(الشكل32)، يمكن الاشارة لكل قمة بقرائن ميلر (hkl) الخاصة بها والمبينة على (الشكل31).

يظهر أيضا أن العينة تنتمي الى النظام البلوري السداسي ولها ثوابت شبكية $a=b=3.249\ A^0$ و $c=5.206\ A^0$، وزمرة فضائية P63mc.



الشكل **31**: طيف انعراج الأشعة السينية لأكسيد الزنك النانوي المحضر بطريقة الترسيب



الشكل 32: بطاقة المعلومات الناتجة من [JCPDS File No.65-3411]

A-1- حساب بعد الحبيبات:

من أجل حساب بعد الحبيبات انطلاقا من طيف الأشعة السينية نستعمل علاقة شيرر scherrer

$$D = \frac{K.\lambda}{\beta.cos\theta} \dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots (01 - III)$$ معادلة [76]

D: بعد الحبيبات بـ (nm)

λ :الطول الموجي لشعاع الوارد من الأشعة السينية (A^0).

θ:زاوية الحيود.

β : العرض عند منصف الارتفاع ($FWHM$)

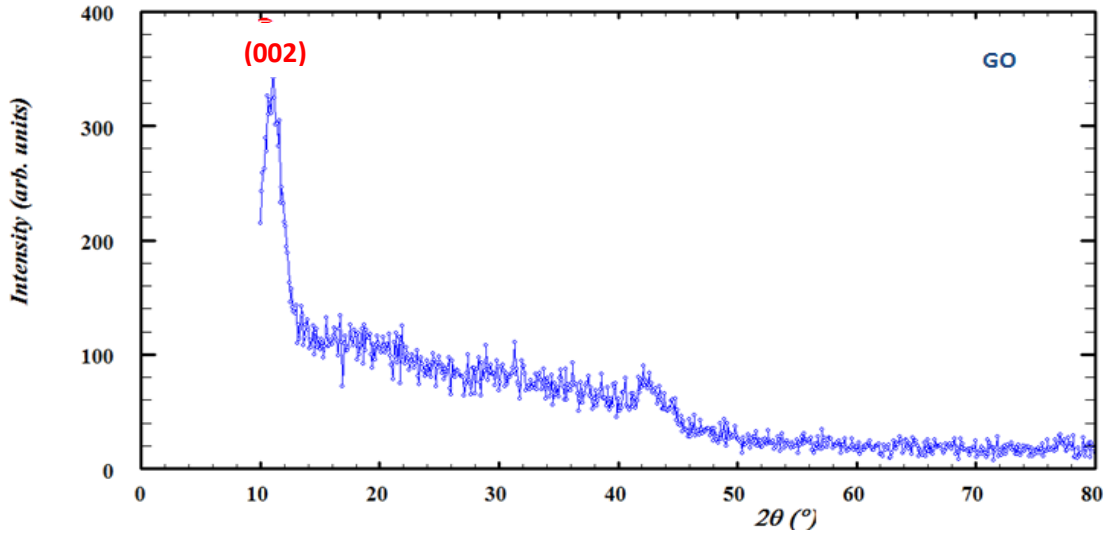
K: ثابت يعتمد على الشكل البلوري ($0.62-2.08$)

من خلال النتائج المتحصل عليها من طيف الأشعة السينية وباستعمال برنامج OriginPro9 وبرنامج EXCEL استطعنا حساب بعد الحبيبات والتي تساوي: D=124.8 nm.

B-طيف حيود الأشعة السينية للجسيمات أكسيد الجرافين :

مخطط انعراج الأشعة السينية (XRD) للمركب أكسيد الجرافين المحضر موضحة في (الشكل33) حيث بعد الحصول على طيف الانعراج، تتم مقارنته مع قاعدة البيانات الموجودة ببرنامج MDI jade 5.0. لكن في حالة مركب أكسيد الجرافين لم نتمكن من تحديد النظام البلوري بسبب عدم نقاوته لوجود عدة أطوار شائبة

وبمقارنة الطيف التجريبي المتحصل عليه مع مراجع سابقة [31] وجد أن هناك بعض القمم الأساسية ظهرت في هذا الطيف، لكن تم تحديد حجم الحبيبات والتي قاربت قيمتها على: D=27.13 nm.



الشكل 33: طيف انعراج الأشعة السينية لأكسيد الجرافين النانوي المحضر بطريقة Hummers.

III-5-2-مطيافية الأشعة تحت الحمراء:

III-5-2-1- الجهاز المستعمل للقياس بواسطة الأشعة تحت الحمراء:

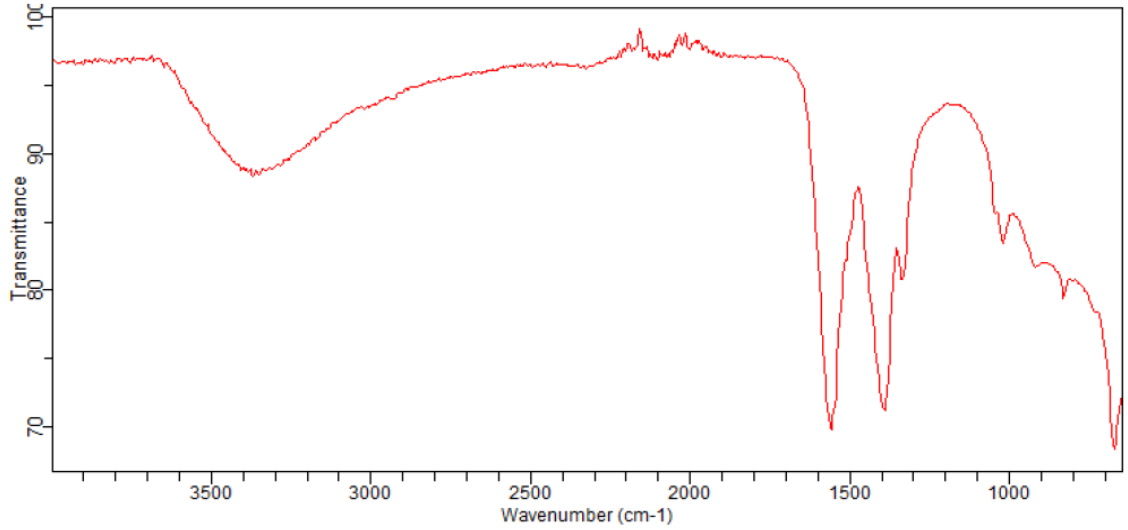
في هذا العمل قمنا بتسجيل طيف الأشعة تحت الحمراء بواسطة مطياف FTIR من نوع (Agilent Technoogies Cary 630 FTIR) كما هو موضح في (الشكل 34).

الشكل 34: صورة فوتوغرافية لجهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR

III-5-2-2- تحليل الأطياف الناتجة من جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء للمركبات المحضرة:

A- تحليل طيف جسيمات أكسيد الزنك النانوية ZnO:

يظهر طيف FTIR لجسيمات أكسيد الزنك النانوية قمة كبيرة عند $3437\ cm^{-1}$ تشير هذه القمة إلى وجود مجموعات OH المرتبطة على سطح أكسيد الزنك. كما نلاحظ وجود قمة في حدود cm^{-1} 1500 و1600 راجعة لمجموعة الكربونيل C=O بسبب عدم تناسق وتماثل مجموعة الكربونيل الملتصقة عند اصطناع اكسيد الزنك النانوي , القمة (الذروة) الحادة التي تظهر بين $650-500\ cm^{-1}$ حيث تشير هذه النتيجة إلى نجاح إنتاج جسيمات النانو ZnO .

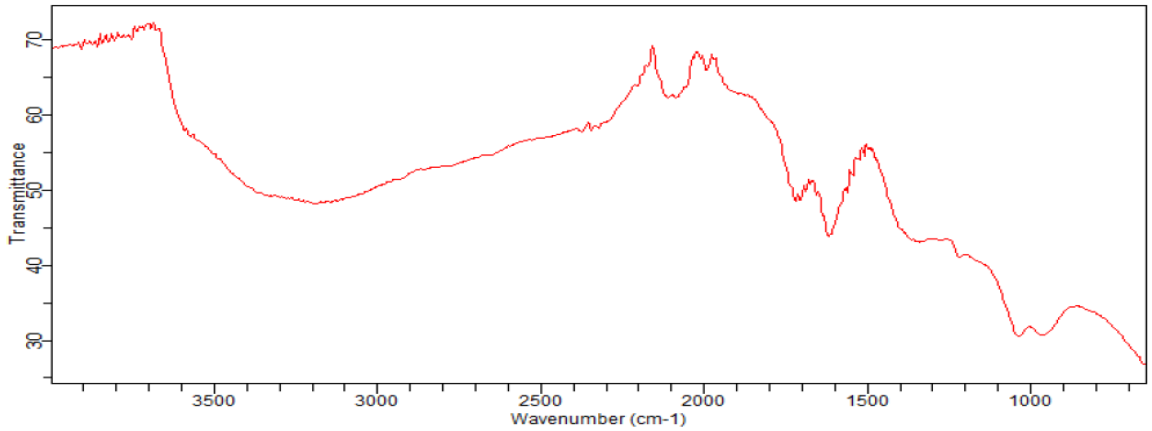


الشكل 35 :طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب أكسيد الزنك النانوي

B- تحليل طيف جسيمات أكسيد الجرافين GO:

طيف FTIR لجسيمات أكسيد الجرافين الذي تم الحصول عليه يؤكد الأكسدة الناجحة لجرافيت. وبهذا التحليل تم تأكيد وجود أنواع مختلفة من الوظائف الأكسجينية في أكسيد الجرافين ، حيث تم ظهور قمة على نطاق واسع و عريض تتراوح بين $2885cm^{-1}$ إلى 3715 لمجموعة OH بسبب وجودها على سطح أكسيد الجرافين و هذا يدعم حقيقة أن GO عبارة عن مادة ماصة للغاية والإزالة الكاملة لمجموعات الهيدروكسيل أمر مستحيل لأن أكسيد الجرافين يمتص الماء من الهواء. ايضا تم ملاحظة قمم توافق الالسينات حلقية C=C ومجموعات C = O قممها عند $1650\ cm^{-1}$ و 1750 على التوالي. كما لوحظت قمة ذات امتصاص ذو شدة متوسطة لمجموعة COO في حدود $2362\ cm^{-1}$ وظهور قمم امتصاص شديد في حدود 1560

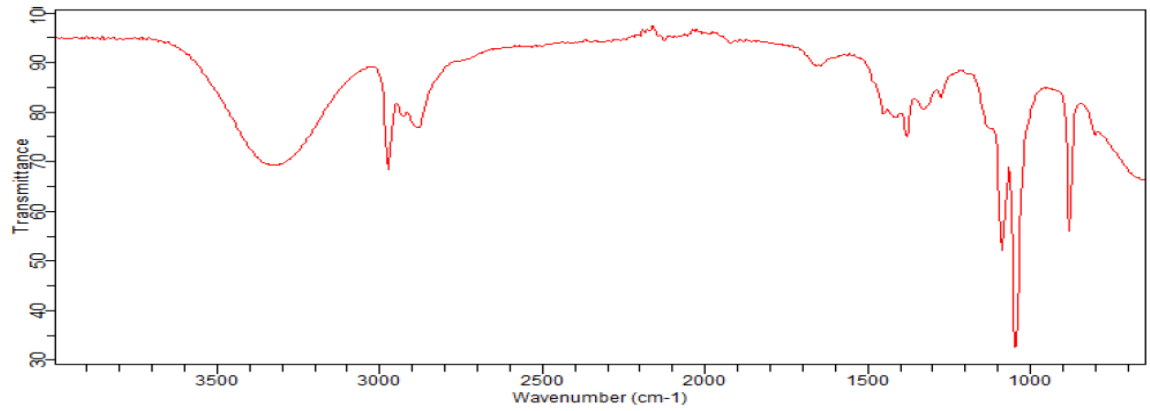
cm^{-1} راجع الى حلقات البنزن (benzene)،وظهور قمة C-O خاصة الايبوكسيد وC-O خاصة بالكربوكسيل عند $1286cm^{-1}$و1050على التوالي.



الشكل 36: طيف الأشعة تحت الحمراء لجسيمات أكسيد الجرافين المحضر بطريقة Hummers

C- تحليل طيف مركب ZnO@APTES:

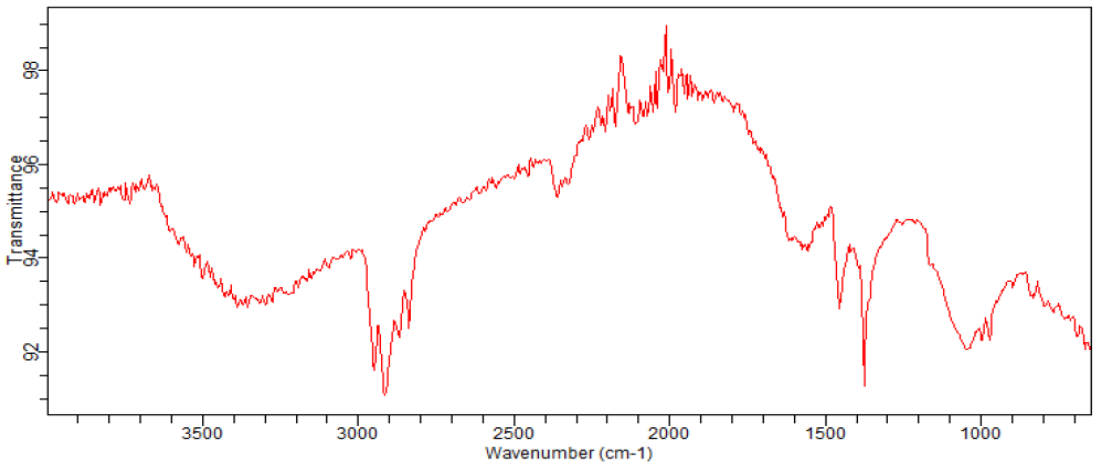
يظهر طيف FTIR للمركب "ZnO@APTES" في الشكل (37) حيث أنه أعطى قمم مختلفة، ظهور قمة متوسطة الشدة في حدود $3437cm^{-1}$ وهي خاصة بمجموعة NH كما تم ظهور قمة خاصة ب C-H الكيل (جذر) بين $2870 - 2930\ cm^{-1}$ ،و لوحظت قمة شديدة الامتصاص في حدود $1230-1020\ cm^{-1}$ خاصة بـ C-O وقمة عند $1372\ cm^{-1}$ و$1466\ cm^{-1}$ خاصة بـ C-N و C-C على التوالي، وفي الأخير ظهور قمة خاصة ب ZnO في حدود $650 - 750\ cm^{-1}$.



الشكل 37: طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب ZnO@APTES.

D- تحليل طيف مركب ZnO@APTES@GO:

طيف FTIR الموضح في (الشكل38) يؤكد حدوث ارتباط بين المركبات ZnO@APTS@GO،حيث تظهر قمة في حدود $3500-3000\ Cm^{-1}$ متوسطة الشدة خاصة بمجموعة OH وظهور قمم أخرى في حدود 2800 الى 3000 راجعة إلى CH2 والقمة المتواجدة عند $2450\ Cm^{-1}$ خاصة ب C=C-C=C،كما ظهرت قمم ضعيفة الشدة في $1550\ Cm^{-1}$ راجعة لـ C=C ،والقمة المتواجدة في $1650\ Cm^{-1}$ خاصة بمجموعة C=O أميد، والقمتين 1390 Cm-1 و 1420 Cm-1 لـ C-N و Si-C على التوالي، وظهور قمم في حدود $1000\ Cm^{-1}$ الى 1200 راجعة لـ C-O ، والقمة الأقل من $1000Cm^{-1}$ خاصة بجسيمات أكسيد الزنك النانوية.



الشكل 38 : طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب ZnO@APTES@GO.

الفصل الرابع

تقدير الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا

والمضادة للطفرات

(الطرق والوسائل–النتائج والمناقشة)

تمهيد:

يعرض هذا الفصل المواد وطرق العمل المتبعة في تقدير الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا والفعالية البيولوجية المضادة للطفرات و كذا تحليل النتائج ومناقشتها.

IV-1- تقدير الفعالية المضادة للطفرات:

IV-1-1- الأجهزة وطرق العمل:

A- الأجهزة والمواد المستعملة:

A-1-المواد والمحاليل المستعملة:

1-المركب المحضر ZnO@APTES@GO (2 mg/ml)

2-محلول DNA (10^{-4} M)

3-ماء مقطر عالي النقاوة

4-محلول موقي: (pH=7.2) يحضر انطلاقاً من اذابة 0.3402 g من KH_2PO_4 و 0.4634 g من K_2HPO_4 في 25 ml من الماء المقطر منزوع الأيونات.

5- أسيتون (4 ml).

A-2-الأجهزة والأدوات:

1-خلية كهروكيميائية مزودة بثلاث أقطاب (قطب العمل- القطب المرجعي-القطب المساعد) متصل بجهاز potentiostat radiometer analytical SAS -PGN301 و جهاز الحاسب الالي لإظهار النتائج.

2-قارورة غاز الآزوت.

3-الورق الكاشط.

IV-1-2-الخطوات التجريبية:

تم إجراء هذا العمل بمخبر البحث تثمين وترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي، حيث أجريت هذه الدراسة باستعمال جهاز radiometer analytical SAS -PGN301 potentiostat.

و تمت معالجة المعطيات بواسطة برنامج VolaMaster4 باستعمال الطريقة الفولطاأمبيرومترية الحلقية وبرنامج OriginPro9.

- أولاً: يتم تحضير الخلية الكهروكيميائية ويوضع بها 12 ml من المحلول الموقى (tompon) pH=7.2 و 1 ml من المركب المراد دراسة فعاليته (ZnO@APTES@GO) ذو التركيز (2 mg/ml) المذاب في الماء المقطر منزوع الأيونات.

-تغمس الأقطاب الثالثة، القطب المرجعي والقطب المساعد وقطب العمل في الخلية.

- يشبع محتوى الخلية بغاز الآزوت لمدة 12 min .

-يتم تحديد مجال الدراسة من 0 إلى 1200 mV بسرعة مسح 100 mV/S لرسم الفولطاموغرام الحلقي.

- يحضر محلول DNA (10^{-4}M) حجم 1ml لتتم إضافته تدريجيا للخلية الكهروكيميائية، نرسم المنحنيات الفولطاأمبيرومترية المتعلقة بكل تركيز عند سرعة مسح 100mV/S.

بعد الحصول على النتائج العملية من برنامج VolaMaster4 تمكننا هذه النتائج من حساب ثابت التداخل K و الطاقة الحرة للتداخل ΔG . [70-72]

الشكل 39 الخلية الكهروكيميائية وجهاز radiometer analytical SAS –PGN301 potentiostat[77]

IV-1-3- تحليل النتائج ومناقشتها:

في هذا العمل يتم دراسة تداخل DNA والمركب ZnO@APTES@GO بواسطة الفولطاأمبيرومترية الحلقية حيث من خلال النتائج العملية المحصل عليها يتم حساب ثابت الترابط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG.

إن وجود تداخل بين الحمض النووي منقوص الأكسجين والمركب المدروس يغير من شدة التيار وكمون الأكسدة والإرجاع .هذا التغيير يعتمد في تحديد بعض معاملات التداخل (ثابت الترابط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG وطبيعة التفاعل وغيرها).

من خلال إضافة تراكيز مختلفة للحمض النووي منقوص الأكسجين في كل مرة تتناقص شدة تيار الأكسدة للمركب المراد دراسته، حيث يسمح هذا التناقص بحساب ثابت الترابط انطلاقاً من ميل المعادلة التالية:

$$\log\frac{1}{[DNA]} = \log K + \log\frac{i}{i_0 - i} \dots\dots\dots (01 - IV)$$ المعادلة

معادلة (01-IV): معادلة حساب ثابت الترابط K [78]

حيث: [DNA]: تركيز الـ DNA.

K: ثابت الترابط.

i, i_0: شدة التيار عند غياب ووجود الـ DNA على الترتيب.

حيث يحسب ثابت الترابط K انطلاقاً من ميل المعادلة الناتجة عند رسم منحنى $\log\frac{1}{[DNA]}$ بدلالة $\log\frac{i}{i_0-i}$. بعد حساب ثابت الترابط K، يمكن حساب الطاقة الحرة للترابط ΔG انطلاقاً من المعادلة التالية:

$$\Delta G = -R.T.LnK$$

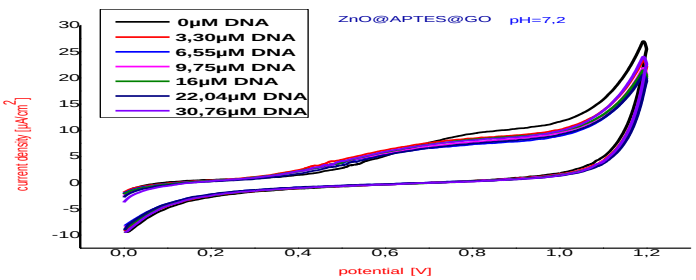
المعادلة(02-IV): معادلة Gibbs لحساب الطاقة الحرة للترابط ΔG [72]

حيث: R: ثابت الغازات المثالية ($8.32\ j.K^{-1}.mol^{-1}$).

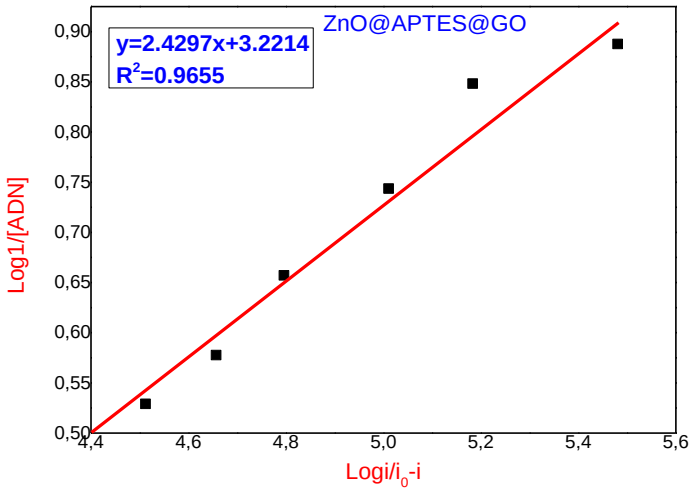
T: درجة الحرارة بلكلفن .

K: ثابت الترابط بالوحدة (L/mol).

بتحقيق الشروط والخطوات السابقة الذكر نرسم المنحنى الفولطاأمبيرومتري للمركب ZnO@APTS@GO في غياب و وجود كميات متزايدة من DNA الشكل (40). حيث يوضح الشكل (40)الفولطاموغرام الحلقي للمركب ZnO@APTES@GO في غياب و وجود كميات متزايدة من الـ DNA في محلول موقي (pH=7.2). نلاحظ من خلال المنحنيات الانخفاض في شدة التيار بدلالة تراكيز الحمض النووي المضافة تدريجياً ويوضح الشكل (41) المنحنى الخطي لـ $\log\frac{1}{[DNA]}$ بدلالة $\log\frac{i}{i_0-i}$ و بحساب ميل هذا المستقيم نتحصل على قيمة ثابت الترابط K .



الشكل 40: الفولطاموغرام الحلقي لأكسدة (2mg/ml) من ZnO@APTES@GO في وجود تراكيز متزايدة من الـ DNA في محلول موقي(K_2HPO_4/ KH_2PO_4) بدرجة حموضة (pH=7.2) بسرعة مسح (100mv/s) في درجة حرارة $25C^0$



الشكل 41: المنحنى الخطي $\log\frac{1}{[DNA]}$ بدلالة $\log\frac{i}{i_0-i}$ في وجود تراكيز متزايدة من الـ DNA في محلول موقي بدرجة حموضة (pH=7.2) بسرعة مسح (100mv/s)

يسمح لنا الانخفاض في قيمة تيار الأكسدة لمركب ZnO@APTES@GO في درجة حموضة pH=7.2 في وجود الـDNA بحساب نسبة ثابت الترابط K والطاقة الحرة للترابط ΔG. انطلاقاً من المعادلتين السابقتين (معادلة (IV-01) و المعادلة(IV-02)) يمكننا استخدام هذه القيم في تحديد نوعية التداخل الحاصل بين المركب المحضر والحمض النووي، النتائج المحصل عليها ملخصة في الجدول التالي:

جدول 5: قيم معامل الترابط K و الطاقة الحرة للترابطΔG الناتجة عن تداخل ZnO@APTES@GO و الـ DNA

تداخل المركب المحضر مع DNA	$\log\frac{1}{[DNA]}$	$\log\frac{i}{i_0-i}$	المعادلة	R^2	K(L/mol)	ΔG (Kj/mol)
ZnO@APTS@GO -DNA	5.4807	0.8877	Y=2.4297x+3.2214	0.9655	1659.586907	-18.3827784
	5.1832	0.8482				
	5.0107	0.7436				
	4.7958	0.6571				
	4.6566	0.5776				
	4.5118	0.5290				

خلاصة : من خلال النتائج المحصل عليها وبالمقارنة مع الدراسات السابقة نجد أن هذا المركب ZnO@APTES@GO له فعالية ضد التسرطن حيث $|\Delta G| < 30$. [72]

IV-2- تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا:

IV-2-1-المواد وطرق العمل:

في هذا الجزء تمت دراسة تأثير المركبات المحضرة سابقاً على أربعة سلالات بكتيرية مرجعية والتي تم الحصول عليها من مخبر التحليل لمستشفى بشير بن ناصر.

A-الأجهزة والمواد المستعملة:

A-1-المواد والمحاليل المستعملة:

أثناء إنجاز هذا العمل تم استخدام المواد التالية:

1-وسط مغذي (وسط جيلوزي) من نوع Mueller Hinton.

2- الماء الفيزيولوجي NaCl (3 ml)

3- أقراص المضاد الحيوي (10 mg/disque)Gentamici.

4- ماء مقطر معقم منزوع الأيونات.

5- المركبات المحضرة بالتراكيز الأربعة المخففة.

A-2-الأجهزة و الأدوات: أثناء إجراء هذا العمل تم استخدام التجهيزات الموجودة على مستوى مخبر التحاليل بمستشفى بشير بن ناصر.

1-حاضنة.

2-جهاز التعقيم

3-ماصة ميكروليترية.

4-ماسح قطني معقم.

5-علب بتري

6-موقد بنزن

7- الأقراص: وهي أوراق Whatman قطرها 6mm

IV-2-2-السلالات البكتيرية المستعملة في الدراسة :

تم اختيار أربعة أنواع من البكتيريا المرجعية وهي موضحة في الجدول 6.

جدول 6: السلالات البكتيرية التي تم دراسة أقطارها التثبيطية للمركبات المحضرة

نوع البكتيريا	المرجع	طبيعة الجدار الخلوي
Escherichia coli	ATCC 8737	غرام (−)
Staphylococcus aureus	ATCC6538	غرام (+)
Salmonella typhimurium	ATCC14028	غرام (+)
Pseudomonas aerogenosa	ATCC9027	غرام(−)
Listeria monocytogenes	Cip74815	غرام (+)

IV-2-3-الدراسة الفعالية ضد البكتيريا للمركبات المحضرة:

لتقدير الفعالية ضد البكتيريا للمركبات المحضرة اعتمدنا طريقة الانتشار بالأقراص، وتتمثل خطوات هذه الطريقة كالتالي:

A-تحضير عينات الدراسة بالتراكيز المختلفة:

لتحضير التراكيز المختلفة من كل المركبات المحضرة (ZnO، GO، ZnO@APTES@GO) قمنا بإذابة 8 mg من كل مركب في 4 ml من الماء المقطر منزوع الأيونات للحصول على التركيز الأم 2 mg/ml و انطلاقاً من هذا التركيز قمنا بتحضير التراكيز المخففة الاخرى التالية: 1mg/ml،0.5 mg/ml، 0.25mg/ml.

B-تحضير الأقراص وتعقيمها:

نقص ورق الترشيح Whatman على شكل أقراص صغيرة ذات أقطار 6mm توضع في أنبوب اختبار زجاجي مغلق ويتم تعقيمها في جهاز التعقيم لمدة نصف ساعة.

C-تحضير وسط الزرع:

نذيب الوسط الجليوزي من نوع Muller Hinton عند درجة حرارة $120C^0$ بعد اذابة الوسط يسكب منه قدر معين في كل علب بتري بارتفاع 20 mm، يتم العمل دائما بجانب موقد بنزن لخلق وسط معقم، يترك على طاولة المخبر إلى غاية أن يبرد ويتجمد، ثم يحفظ في الثلاجة.

D-غمس الأقراص بالمحاليل المحضرة:

بعد تعقيم الأقراص، نأخذ حوالي 10µl بالماصة الميكروليترية ونشبع بها الأقراص، كل تركيز على حدى تترك مدة 10 min قبل وضعها في علب بتري الحاوية على وسط الزرع.

E-تحضير المعلق البكتيري:

نأخذ جذمة بكتيرية (عينة) من احدى الانواع البكتيرية المستعملة بواسطة ماصة باستور ونضعها في أنبوب اختبار زجاجي يحوي حوالي 3 ml ماء فيزيولوجي ثم نقوم برج خفيف للأنبوب ويستعمل بعد 15 min.

F-طريقة زراعة البكتيريا على وسط الزرع:

بعد مرور 15 min نغمس الماسح القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به على كامل الوسط الزراعي الجاف بشكل خطوط مع تدوير علبة بتري في كل مرة، نقوم بنفس العملية مع كل الانواع الاخرى من البكتيريا المستعملة.

G-وضع الأقراص:

بواسطة ملقط نأخذ الأقراص المشبعة بتراكيز المختلفة للعينات وتوضع على الوسط الزراعي داخل علب بتري المحضرة سابقاً.

H-عملية الحضن:

بعد الانتهاء من عملية وضع الأقراص توضع علب بتري بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة $37\ C^0$ لمدة 24 h، بعد مرور 24 ساعة من الحضن تتم القراءة بقياس قطر منطقة التثبيط بالمليمتر بالمسطرة المدرجة أو بالقدم القنوية.

IV-2-4-النتائج والمناقشة:

بعد عملية الحضن مدة 24 ساعة، نقوم بقياس أقطار التثبيط للعينات المدروسة حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة.

جدول 7: التراكيز المحضرة لدراسة الفعالية البيولوجية ضد بكتيرية

العينة / التراكيز	2 mg/ml	1 mg/ml	0.5 mg/ml	0.25mg/ml
A:ZnO@APTS@GO	A_1	A_2	A_3	A_4
Z: ZnO	Z_1	Z_2	Z_3	Z_4
G: GO	G_1	G_2	G_3	G_4

جدول 8: الأقطار التثبيطية للمضاد الحيوي **Gentamici** للكل سلالالة بكتيرية

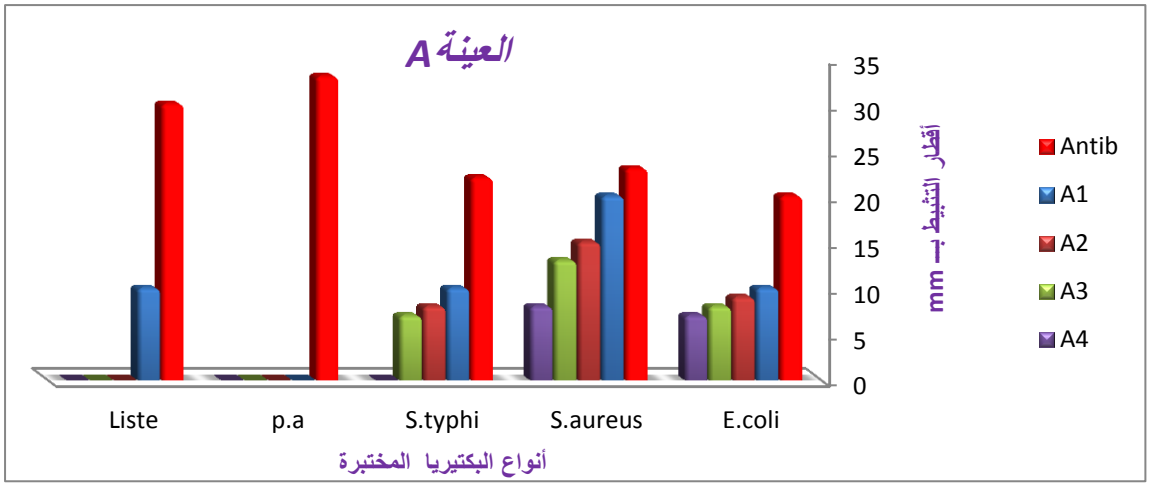
البكتيريا / المضاد الحيوي	*E.coli*	*S.aureus*	*S.typi*	*Pseudomonas aerogenosa*	*Listeria monocytogenes*
GEN_{10}	20 mm	23 mm	22 mm	33 mm	30 mm

√-العينة A:

سمحت معاملة السلالات البكتيرية التي قمنا باختبارها على العينة A بالتراكيز المختلفة إلى رسم جدول يوضح مناطق تثبيطية موضحة في الجدول التالي:

جدول 9: أقطار مناطق التثبيط بـ (mm) للعينة A

	قطر منطقة التثبيط (mm)			
التراكيز / البكتيريا	A1	A2	A3	A4
E.coli	10 mm	9 mm	8 mm	7 mm
S.aureus	20 mm	15 mm	13 mm	8 mm
S.typhi	10 mm	8 mm	7 mm	-
p.a	-	-	-	-
Listeria monocytogenes	10 mm	-	-	-



الشكل 42: أقطار التثبيط بـ (mm) للعينة A

√-التحليل والمناقشة :

من خلال الجدول (9) و الشكل(42) وبالمقارنة مع سلم Mutai (2009)، نلاحظ أن العينة A أعطت فعالية مع بعض السلالات البكتيرية المختبرة ولم تعطي فعالية مع البعض الآخر.

حيث عند *E.coli*: نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز A_1 إذا بلغت قيمته 10 mm مقارنة بالتركيزين A_2 و A_3 حيث بلغ قطرهما التثبيطيين 9 mm و 8 mm على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيطي في التركيز A_4 حيث بلغت قيمته 7 mm. ومنه يمكن القول *أن E.coli* متوسطة التثبيط عند التركيزين A_1 و A_2 وغير تثبيطية للتركيزين A_3 و A_4.

أما عند *S.aureus*: نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز A_1 إذ بلغت قيمته 20 mm مقارنة بالتركيزين A_2 و A_3 حيث بلغت قيم أقطارهم التثبيطية 15 mm و 13 mm على التوالي. بينما سجل أقل قطر تثبيطي في التركيز الأخير A_4 حيث بلغ 8 mm.ومنه يمكن القول أن بكتيريا *S.aureus* ذات تثبيط قوي عند التركيزين A_1 و A_2 و متوسطة التثبيط عند التركيز A_3 و غير تثبيطية عند التركيز A_4.

أما عند *S.typhi*: نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز A_1 إذ بلغ 10 mm مقارنة بالتركيزين A_2 وA_3 حيث بلغ قطر التثبيط لكلاهما 8 mm و 7 mm على التوالي. بينما لم يسجل أي قيم تثبيطية عند التركيز A_4. ومنعه يمكن القول أن بكتيريا *S.typhi* متوسطة التثبيط عند التركيز A_1 وغير تثبيطية عند التركيزين A_2 و A_3.

أما عند *P.a*: لم نلاحظ أي قطر تثبيطي في مختلف التراكيز .

أما عند *Listeria monocytogenes* : نلاحظ تسجل قطر تثبيطي واحد فقط عند التركيز A_1 قدر بـ 10 mm وباقي التراكيز لم تظهر أي أقطار تثبيطية . ومنه يمكن القول أن *L.m* متوسطة التثبيط عند التركيز A_1.

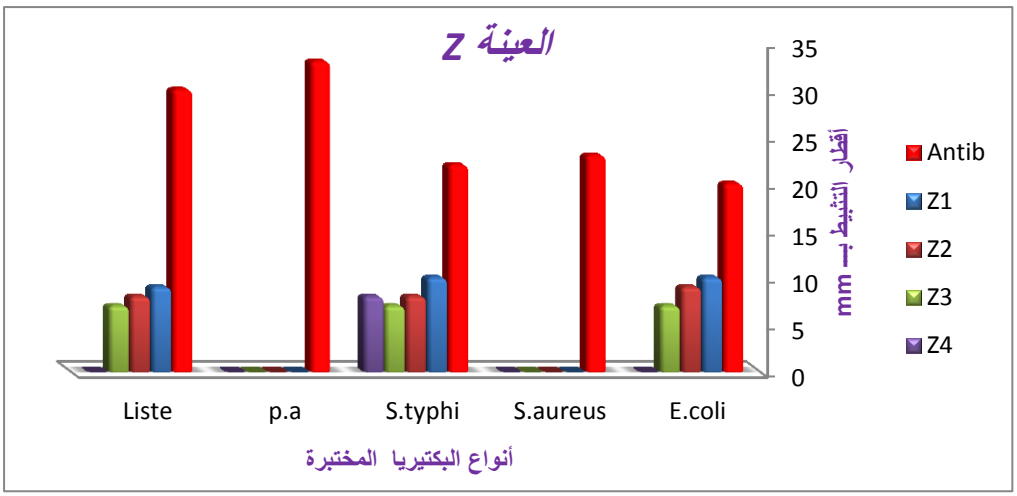
بعد هذا التحليل الشامل يمكننا القول أن بكتيريا *Staphylococcus aureus* لديها أعلى قيم تثبيطية مع العينة A مقارنة مع بكتيريا *E.coli* و بكتيريا *S.typhi* وتكون اقل تثبيطا عند *L.monocytogenes* إلى أن تنعدم عند بكتيريا p.a.

√-العينة Z:

سمحت معاملة السلالات البكتيرية التي قمنا باختبارها على العينة Z بالتراكيز المختلفة إلى رسم جدول يوضح مناطق تثبيطية موضحة في الجدول التالي:

جدول 10: أقطار مناطق التثبيط بـ (mm) للعينة Z

	قطر منطقة التثبيط (mm)			
التراكيز / البكتيريا	Z_1	Z_2	Z_3	Z_4
E.coli	10 mm	9 mm	7 mm	-
S.aureus	-	-	-	-
S.typhi	10 mm	8 mm	7 mm	8 mm
p.a	-	-	-	-
L.monocytogenes	9 mm	8 mm	7 mm	-



الشكل 43: أقطار التثبيط بـ (mm) للعينة Z

√-التحليل والمناقشة:

من خلال الجدول (10) والشكل (43) وبالمقارنة مع سلم Mutai (2009)، نلاحظ أن العينة Z أعطت قيم تثبيطية متوسطة مع بعض السلالات البكتيرية المختبرة ولم تعطي أي تثبيط مع البعض الآخر.

حيث عند *E.coli*: نلاحظ عند التركيزين الأولين Z_1 و Z_2 أعطت قيم تثبيطية متوسطة يقدر قطرهما 10 mm و 9 mm على التوالي. و أقل قطر تثبيطي أعطته عند التركيز Z_3 إذا بلغت قيمته 7 mm، ولم تعطي أي قطر تثبيطي عند التركيز Z_4. ومنه يمكن القول أن بكتيريا *E.coli* متوسطة التثبيط عند التركيزين Z_1 و Z_2 و غير تثبيطية عند التركيزين Z_3 و Z_4.

أما عند *S.typhi* نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز Z_1 إذا بلغت قيمته 10 mm وأقل منها عند التراكيز الأخرى. ومنه يمكن القول أن بكتيريا *S.typhi* متوسطة التثبيط عند التركيز Z_1 وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى .

أما عند *L.monocytogenes*: نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز Z_1 إذا بلغت قيمته 9 mm أما التركيزين Z_2و Z_3 فأظهروا حساسية أقل من التركز الأول، أما باقي التراكيز لم تظهر أي قيم تثبيطية . ومنه يمكن القول أن بكتيريا *L.monocytogenes* متوسطة التثبيط عند التركيز Z_1 وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى.

أما عند *P.a* و *S.aureus* لم تظهر أي أقطار تثبيطية في أي تركيز .

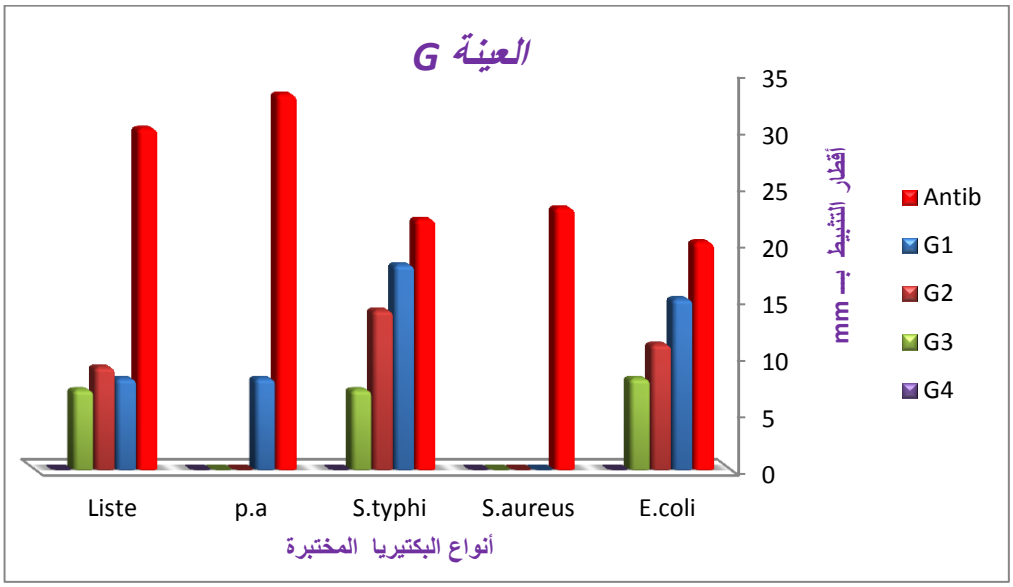
و منه يمكن القول أن بكتيريا *E.coli* و *S.typhi* و *L.monocytogenes* أظهروا أقطار تثبيطية متوسطة للعينة Z ولم تظهر أي قطر تثبيطي مع بكتيريا *P.a* و *S.aureus*.

√-العـينة G:

سمحت معاملة السلالات البكتيرية التي قمنا باختبارها على العينة G بالتراكيز المختلفة إلى رسم جدول التالي و الذي يوضح المناطق التثبيطية للعينة G.

جدول 11: أقطار مناطق التثبيط بـ (mm) للعينة G

	قطر منطقة التثبيط (mm)			
التراكيز / البكتيريا	G_1	G_2	G_3	G_4
E.coli	15 mm	11 mm	8 mm	-
S.aureus	-	-	-	-
S.typhi	18 mm	14 mm	7 mm	-
p.a	8 mm	-	-	-
L.monocytogenes	8 mm	9 mm	7 mm	-



الشكل 44: أقطار التثبيط بـ (mm) للعينة G

√-التحليل والمناقشة:

من خلال الجدول (11) والشكل (44) وبالمقارنة مع سلم Mutai (2009)، نلاحظ أن العينة G أعطت قيم تثبيطية متوسطة مع بعض السلالات البكتيرية المختبرة ولم تعطي أي قيم تثبيطية مع البعض الآخر.

حيث عند E.coli: نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز G_1 إذا بلغت قيمته 15 mm مقارنة بالتركيزين G_2 و G_3 حيث بلغ قطرهما التثبيطي 11 mm و 8 mm على التوالي. بينما لم يسجل أي

قطر تثبيطي مع التركيز G_4. ومنه يمكن القول أن بكتيريا *E.coli* لديها قطر تثبيطي قوي عند التركيزG_1 ومتوسطة التثبيط عند التركيز G_2، وضعيفة التثبيط عند التركيزين G_3 و G_4.

أما عند *S.typhi*: نلاحظ أن أعلى قطر تثبيطي سجل في التركيز G_1 إذ بلغ 18 mm مقارنة بالتركيزين G_2 و G_3 حيث بلغ القطر التثبيطي لكلاهما 14 mm و 7 mm على التوالي. بينما لم يسجل أي قطر تثبيطي عند التركيزG_4.ومنه يمكن القول أن بكتيريا *S.typhi* متوسطة التثبيط عند التركيزين G_1 و G_2 وغير تثبيطية عند التركيزين G_3 وG_4.

أما عند بكتيريا *P.a* و *S.aureus* تقريباً لم تظهر أقطار تثبيطية أصلاً.

أما عند *L.monocytogenes*: أظهرت قيم تثبيطية ضعيفة قدرت بأعلى قطر تثبيطي عند التركيز G_2 بقطر 9 mm و أقل منها عند التركيزين G_1 و G_3. ومنه يمكن القول أن بكتيريا *L.monocytogenes* متوسطة التثبيط عند التركيز G_2 وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى.

نتيجة عامة:

أظهرت نتائج هذا العمل بالمقارنة مع الدراسات السابقة [79] أن فرق تأثير جسيمات النانو على بكتيريا $Gram^+$ وبكتيريا $Gram^-$، تبين أن ZnO له تأثير كبير على $Gram^+$ مقابل $Gram^-$،كما تبين أن القدرة التثبيطية لـZnO@APTES@GO أكبر من ZnO و GO على حدى.

وبصفة عامة ووفقاً لسلم Mutai (2009) تتراوح القدرة التثبيطية لجميع جسيمات النانو المدروسة بين قدرة تثبيطية متوسطة كما في حالة لـZnO@APTES@GO ضد بكتيريا E.coli بتركيز 2mg/ml أما تأثير بقية جسيمات النانو مركبة أو فردية بتراكيزها المختلفة ضعيف ضد بقية سلالات البكتيرية المدروسة.

خلاصة الفصلين التطبيقيين:

قمنا بتفعيل جسيمات أكسيد الجرافين النانوية بواسطة أكسيد الزنك النانوي في وجود APTES في درجة حرارة الغرفة باستخدام طريقة بسيطة وسريعة، حيث تم التشخيص باستخدام جهاز حيود الاشعة السينية و امتصاصية الأشعة تحت الحمراء. تم تحديد بعد جسيمات أكسيد الزنك النانوية بقيمة تساوي 124.8 nm وبعد جسيمات أكسيد الجرافين النانوي بقيمة تساوي 27.13 nm .

تم تقدير فعالية هذه المركبات ضد التطفر، حيث أظهرت النتائج أنه بالمقارنة مع المكونات الفردية فأن المركب ZnO@APTES@GO قد أعطت فعالية جيدة ضد التطفر أي يمكن استعماله ضد السرطان.

أظهرت المركبات أيضاً خصائص مضادة للبكتيريا جيدة عند اختبارها بطريقة الانتشار باستخدام الاقراص مما يوحي بأن المركب ZnO@APTES@GO مرشح لأن يطبق في مجال الطب المضاد للبكتيريا و المضاد للتطفر و أيضاً يطبق في مجال صناعة المطهرات وغيرها.

الخاتمة

الخـــاتـــمة

في هذا العمل قمنـــا بتحضير جسيمات أكسيد الجرافين النانوية المفعلة بجسيمات أكسيد الزنك النانوية عبر APTES لأول مرة، حيث تم تصنيع أكسيد الزنك النانوي بطريقة الترسيب انطلاقاً من خلات الزنك ثنائي الهيدرات كما حضرت جسيمات أكسيد الجرافين بطريقتي Hummers و modified Hummers .

تم تشخيص هذا المركبات المحضرة باستعمال حيود الأشعة السينية التي تم بواسطتها معرفة النظام البلوري للمركبات ومعرفة بعد الجسيمات التي قدرت بـ 124.8 نانومتر لأكسيد الزنك النانوية و 27.13 نانومتر لأكسيد الجرافين النانوي، وبتحديد المجموعات الوظيفية اعتماداً على امتصاص الأشعة تحت الحمراء.

أعطت نتائج دراسة الفعالية المضادة للتطفر بالطريقة الكهروكيميائية قيم المعاملات الترموديناميكية، الطاقة الحرة للترابط ΔG (18.38 Kj/mol-)وثابت الترابط K(1659.58 L/mol), و أن الرابطة ذو طبيعة فيزيائية إلكتروستاتيكية و أن هذا المركب ZnO@APTES@GO يمكن أن يكون مضاد للتطفر و يمكن استعماله ضد السرطان.

ومن أجل تدعيم دراستنا تم دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا حيث تم اختبار خمس سلالات بكتيرية ممرضة وهذا باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص، تم تحديد الاقطار التثبيطية لمختلف التراكيز عند كل المركبات المحضرة، ZnO، GO، ZnO@APTES@GO، حيث أظهروا وفقا لسلم Mutai (2009)، أقطار تثبيطية متفاوتة بين المتوسطة و الضعيفة وحتى منعدمة التثبيط ضد السلالات البكتيرية المختبر، وجدنا أنه عند تفعيل المركبات المحضرةZnO@APTS@GO أعطى فعالية أكبر من كل مركب على حدى، حيث أعطى أعلى قطر تثبيطي مع أعلى تركيز (2mg/ml) وهذا عند السلالة البكتيرية *S.aureus* قدر القطر التثبيطي بـ20 mm، و أقل منطقة تثبيط كانت على مستوى السلالة البكتيرية E.coli عند أقل تركيز (0.25 mg/ml) قدر بـ 7 mm ولم يعطي أقطار تثبيطية مع السلالات البكتيرية الممرضة الأخرى .

وفي الأخير يبقى أملنا في أن يتواصل البحث العلمي في هذا المجال وخاصة في تطبيق فعالية جسيمات أكسيد الجرافين المفعل بجسيمات أكسيد الزنك النانوية في وجود APTES على أنواع أخرى مختلفة من البكتيريا والفطريات مع دراستها بالمجهر الالكتروني لمعرفة كيفية عملها ضد الميكروبات وكذلك تطبيقها في مجال تطفر الـADN.

قائمة المراجع

قائمة المراجع:

[1]Y. Zhang et al, "Biomedical applications of zinc oxide nanomaterials," Current molecular medicine, vol. 13, no. 10, pp. 1633–1645, 2013.

[2]Y.Yang et al, "Graphene based materials for biomedical applications," Materials Today, vol. 16, no. 10, pp. 365–373, 2013.

[3]G.Xiuquan et al, "ZnO based heterojuntions and their application in vironmental photocatalysis",Nanotechnology,Vol. 27,no. 40,pp 0957-4484,2016.

[4] ر.ف.أحمد سيد، "تكنولوجيا النانو في مجال المعلومات والاتصالات: الفرص والتحديات"، اعلم، العدد11، ص 43-90،2012.

[5]G.A.Mansoori, "Principles of Nanotechnology: Molecular-based study of Condensed Matter in Small Systems" World Scientific publishing company,2005.

[6] ص.سلامة، "النانو تكنولوجي: مقدمة في فهم علم النانو تكنولوجي"، تقديم البروفيسور منير نايفة، بيروت- لبنان، الدار العربية للعلوم ناشرون، الطبعة الأولى،1430هـ-2009م.

[7] J. Morris et al "Nanotechnology White Paper". US EPA, Washington, DC. www.epa.gov/osa/pdfs/nanotech/epa-nanotechnology-whitepaper-0207.pdf

[8]ف .ن .الرفاعي، "مفاهيم أساسية في تقنية النانو"، جامعة ذي قار، كلية العلوم، العراق،2016.

[9] م. ش. الاسكندراني، "تكنولوجيا النانو من أجل غداً أفضل "، علم المعرفة، العدد374، أفريل2010

[10] C. M. Branche, "Approaches to safe nanotechnology, managing the health and safety concerns associated with engineered nanomaterials", Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH) Publication No. 2009–125, 2009.

[11] B.D.eddine, "Elaboration et Etude de Nanoparticules Au/TiO_2 et Ag/TiO_2", présenté pour obtenir le Diplôme de Magister en physique, université Mentori, Constantine,2012.

[12] European commission, Nanotechnologies, principales, Application ,implications and Hands-on Activités, 2013

[13] j.Moore, R.Moore, "Nanotechnology101", science 101,westport, Connecticut, London , 2007.

[14] A.Alagarasi ,"iniroduction to nanomatrials ", December 2013, https://researchgate.net//publication/259118068.

[15] ط.بـ.ط .المطيري، "دور تقنية النانو في الحد من الكوارث"، ورقة عمل مقدمة للجنة الحلقة العلمية المنعقدة بكلية التدريب في جامعة نايف العربية للعلوم الأمنية(استخدام التقنيات الحديثة في مواجهة الكوارث) في الفترة من 6 إلى 8 فيفري 2012، الجامعة الإسلامية العالمية بماليزيا.

[16] N.M.ctakovic,"physical properties of nanomaterial",vojnote hinic kiglasnik/;iltqri/technical courier ,vol. 1,pp.159-171,2019.

[17] م .بن صالح الصالحي، ع. بن صالح الطويان ،"مقدمة في تقنية النانو "،جامعة الملك سعود، كلية العلوم، قسم الفيزياء والفلك، 2007م.

[18] D.A.Richarads et al, "Antibody fragements as nanoparticle targeting ligands: a step in the light direction", chemical science, vol.8,pp63-77,2017. .

[19]M.Ricaud, "Olivier wits chger, les nanomateriaux definition, risques toxicologique, caractérisation de l'exposition " INRS, Septembre 2012.

[20] S.lanone, J.Boczowski, "Applications utilisant les nanotechnologies" par secteur d'ativité questions de santé publique, France,2010.

[21] K.Ibrahim et al, " Nanoparticles: properties, application and toxicities", Arabian journal of chemistry, May2017.

[22] H.Sadegh, "Development of graphene oxide form graphit: A Review synthesis, characterization and its Application in waste wate", treatment, july2016.

[23] D.K.Gupta et al, " synthesis and characterization of graphene oxide nanoparticles and their : Antibacterial Activitiy ",vol.1, pp16-24,2015

[24] S.Bykkan et al, "synthesis and characterization of graphene oxide and its Antimicrobial Activity Against Klebseille, and Shaphylocoure" internation journal of Advance Biotechnology and Research,2013.

[25] D.C.Marcano et al, "Improved synthesis of graphene oxide", ACNONA, Vol.4,no.8,2010.

[26] S.ling, "structure and synthesis of graphene oxide", pingheyuan100, chaoyang district, beijing100124.

[27] P.Brisebois,"synthèse et fonctionnalisation chimique de L'oxyde de graphene: préparation de materiaux hybrides à base d'oxyde de graphéne et de nanoparticules métalliques", thèse présentée comme exigence particule du Doctora en chimie, université du quebec a montréal, Avrial2017.

[28] I.A.Vacchi et al, "chemical functionalization of graphene family members", physicals scinces reviews, 2017.

[29] W.C.Hou et al, "photochemical transformation of graphene oxide in sunlight", environmental science and technology, American chemical society 2015.

[30] J.André N'Diaye, "synthèse et application du graphene en tant que mousse Absorbandnde de contaminants en milieu a que x et ainsi qu'électrode pour la détection électrochimique de peroxyde d'Hydrogéne", mémoire présente, comme exigence partielle dela maitrise chimie, université du quèbec à Monteréal, Aout 2016.

[31] N.I.Zaaba et al,"synthesis of graphene oxide using modified Hummers method: solvent influence" , procedia engineering vol. 184, pp.469-477,2017.

[32] N.Hachim et al, "Abrief review on recent graphene oxide based material nanocomposites synthesis and applications ", J.Mater environ Sci,vol.7 ,no.9 ,pp. 3225-3243,2016

[33] G.Reina," promises, facts and challenges for graphene in biomedical applications", Royal society of chemistry, vol.46, no.15, pp.4400-4466,2017.

[34] H.Luo, "Atheoretical study of graphene oxide chemical structure", A thesis submitted for the de gree of master of philosophy at the university of queensl and in 2017.

[35] M.E.M.Ahemed," structural and optical properties of ZnO nano-powder synthesized by combustion and sol-gel method", master, Degree (M.Sc) in physics, sudan university of science and technology college of graduat studies, september 2018.

[36] هـ.ج.سلمان، "دراسة أثر التشويب بمادة الكبريت والنحاس على الانتقالات الالكترونية لغشاء ZnO " ، جامعة القادسية، كلية التربية، قسم الفيزياء.

[37] م.سمية، إنماء البلورات النانوية في المحاليل حالة ZnO، مذكرة ماستر أكاديمي، تخصص فيزياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،2016.

[38]M.V.Lozano, "Nanostructured ZnO films obtained by electrophoretic Deposition of tailored ZnO nanoparticles ", para optaral titulo de Doctor international en ciencias quimicas, Universidad Autonoma de Madrid,2013.

[39] P. Uikey, Dr.K.Vishwakarma," Review of Zinc oxide (ZnO) nanoparticles Applications and properties", international journal of emerging technology in computer science and electronics(IJETCSE), vol.21, no. 2, April 2016.

[40]R.A.T.P.Rupasinghe,"Dissolution and aggregation of Zinc oxide nanoparticels at circumneutral PH A study of size effects the presence and absence of citric Acid", the university of Iowa, A thesis submitted in partical fulfillment of the requirements for the Master of science, july2011.

[41] A. Elkaien,"contribution au développement des Matériaux nano-composites à base de ZnO et polymère", présenté pour obtenir le diplôme de Magister en physique, spécialité, sciences des matériaux, université des frere Mentouri constantine.

[42] Z. Lin Wang," nanostructures of Zinc oxide", Materials today,vol.7,no.6, pp.26-33,2004.

[43] B.V.Kumar et al,"ZnO nanoparticle as catalyst for Efficient Green one-pot Synthesis of coumarins Through Knoevenagel Condensation", Journal of chemical sciences ,vol.123,no.5,pp.645-621,2011.

[44] Z.khaled, " Elaboration et caracterisation des nanopoudres de ZnO par Voie chimique Sol-gel", département des sciences de la matiére, université Med-Khider,Biskra,2014.

[45] A.Krol et al," Zinc oxide nanoparticle: synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism", A dv colloid interface science,vol. 249,pp.37-52, 2017.

[46] R.Myriam,"Aide au repérage des nanomatériaux " en entreprise ED6174, INRS(2014).

[47] A.Bouabdallah,"caracterisation structural et optique de nanocristaux de ZnO", thème présenté pour obtenir le diplôme de magister en physique option: matériaux université constantine1, 2013.

[48] B.Samiha," determination of the molecular composition and the quartez concentration in the different granular types of ouargla dunes sand using spectroscopic techniques ",thesis doctorate LMD in physics, specialty: spectroscopy of material, 2016.

[49] Apps. Who .int/mediacent/news/releases/2007/pr44/ar/index.html.

[50] آ.بلفار، "دراسة القدرة المضادة للأكسدة والبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات limonia strum guyoniaum (Dur.)"، رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه ل.م.د، قسم الكيمياء، تخصص: التحاليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 2018.

[51] ش. بن ساسي، "تقييم الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة"، رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه ل.م.د، قسم الكيمياء، تخصص: التحاليل الفيز وكيميائية وفعالية العينات الجزيئية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،2018.

[52] cells, cells2004. blogspot.com.

[53] ع. عثماني، "دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لمختلف مستخلصات بعض النباتات الطبية في المناطق الشبه الجافة cynodom dactylon (L.)pers و juncus maritimes Asch و Buschem"، أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم، تخصص كيمياء، جامعة قاصدي مرباح،2017.

[54] R.Ross, What is E.coli? live science contributor,2019 .

[55] س.م .بوعبد الله ،"دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر camellia sinensis على النشاط المضاد للبكتيريا، رسالة مقدمة لنيل شهادة الماستر ،تخصص البيولوجيا وفيزيولوجيا الحيوان، فرع فيزيولوجيا أمراض الخلية 2011/2010.

[56] Antibio-Responsiblf.fr; Staphylococcus Aurus (staphylocoque doré) Sanofi.

[57] SCIECE photo LIBRARY, Limted2019, salmonella-typhi bacterium-sem.

[58] J.Berger, pseudomonas aeruginosa Bacteria , sem photograph , fineartamerica .com.

[59] https://www.marefa.org/listeria-monocytogenes 05/06/2019.

[60] D.G.Holli, et al," halophilic vibrio species isolated form blood cultures", journal of Clinical Microbiology,vol.3,no.4,pp.425-431,1976.

[61] case study: How DO Bacteria, Become Resistant?, www, biologycomer .com.

[62] A.W.Bauter et al, "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single Disk method",journal of clinical pathology ,vol.45,no.4,pp493-496,1966.

[63] F.Djenadi,"contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne du genévrier (Juniperus Phonique): essai des huiles essentielles et composés phénoliques", université Amira de Béjaia Algérie-Master en Mémoire Online, Biologie et Médecine. .

[64] ت.آ.و.كاولينج ، " الخلية مقدمة قصيرة جداً "، ترجمة مصطفى محمد فوائد، مراجعة شيماء عبد الحكيم طه، 2015م.

[65] Q. Wang et al, "Spectroscopic and Electrochemical studies on the Binding Mechanism of DNA with an Anthraquinone Biological Dye, nuclear Fast Red" , int. J.Electrochem.sic , vol.6,pp.5470-5481,2011.

[66] J.Ignasse,"Watson et Crike, et la double hélice de l'ADN", Journées nationales de l'archéologie,25/04/2013.

[67] S.Samadi et al," Antimutagenic activity of formic and Methonalic extract of muxle, livre and cartilage of Sphyrna lewini with the Ames text", Iranian Journal of fisheries science ,2011.

[68]H.HAYES,"ADN et chromosomes", INRA, laboratoire de génétique Biochimique et de cytogénétique, 78352, Jouy-en-Joues cedex.

[69] ع.حسين، " المطفرات "، كلية التربية الأساسية، قسم العلوم العامة، جامعة بابل، .alrubaie@yahoo.com

[70] هـ.همامي، "تصنيع، تشخيص، تقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للطفرات لبعض مشتقات N – فيروسنيل ميثيل نتروانيلين "، أطروحة معدة لنيل شهادة الدكتوراه، قسم الكيمياء، تخصص: كهروكيمياء تحليلية ومحيط، جامعة الشهيد حمه لخضر، الوادي، 2017.

[71].د.م. ايمان ،"الوراثة والبيولوجيا الجزيئية"، جامعة حماه – كلية الهندسة الزراعية .

[72] م.حني ،"تحضير و تشخيص و تقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للطفرات لبعض مشتقات – N فيروسنيل ميثيل بنزونتريل "، أطروحة معدة لنيل شهادة الدكتوراه، قسم الكيمياء، تخصص: كهروكيمياء تحليلية ومحيط، جامعة الشهيد حمه لخضر، الوادي، 2017.

[73] H.BarraK et al, "synthesis, characterization, and functinalization of ZnO Nanoparticles by N-(trimethoxysilyprpyl) thylenediamine triacetic acid (TMSEDTA) : Investigation of the interaction between phloroglucinol and ZnO , @TMSEDTA, Arabian Journal of chemistry ,2016.

[74] B. paulchamy et al, "A simple Approach to Stepwise synthesis of Graphene oxide Nanomaterial" Journal of Nanomedicine and Nanotechnology,vol.6,no.1, pp. 2127-7439,2015.

[75] M.Sohail et al, "Modified and improved Hummers synthesis of graphene oxide for capacitiors applications", Madern Electronic materials,vol.3, pp.110-116,2017.

[76] A-Speakman, S.ph.D.13-4009A Estimating Crystallite size using XRD, center for materials Science and engineering.

[77] H.Lange gql vqnostato to potenwios tato,voltalab ,ww.directindustry.it /prod /hach.lange product 5842.414035.hmtl.03/06/2019

[78] B.Giriya G. Jayant ,I. Gowda "Spectroscopic, voltammetry and molecular docking study of binding interaction of antipsychotic drug with bovine serum albumin" J. Electrochem. Sci. Eng,vol.6,no.pp.155-164,2016

[79] S.kasraei et al, "Antibacterial properties of composite resins in corporating silver and zinc oxide nanoparticles on streptococcus mutans and lactobacillus",RDE,pp.2234-7658 (print)

الملاحق

الملحق (01): الأجهزة المستعملة:

الشكل 01:صورة فوتوغرافية لجهاز الأمواج فوق الصوتية

الشكل02: صورة فوتوغرافية لجهاز الميزان الحساس

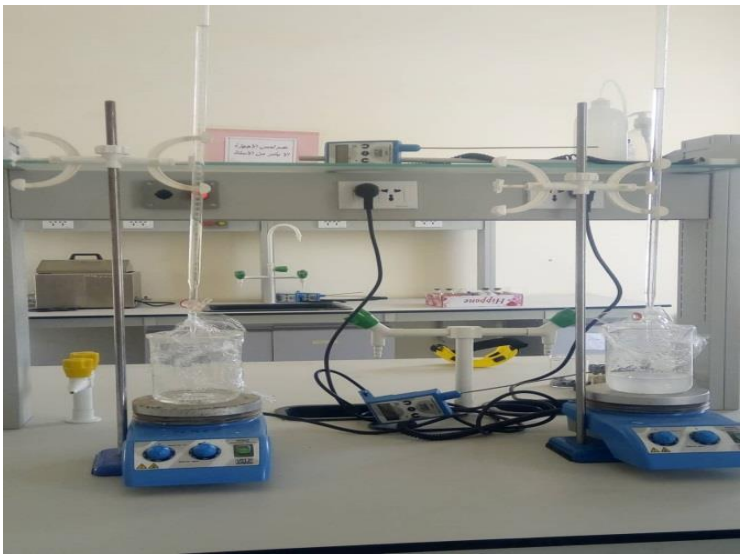
الشكل 03: صورة فوتوغرافية للحاضنة

الشكل 04: صورة فوتوغرافية للجهاز الطرد المركزي

الشكل 05:صورة فوتوغرافية لجهاز انعراج الأشعة السينية

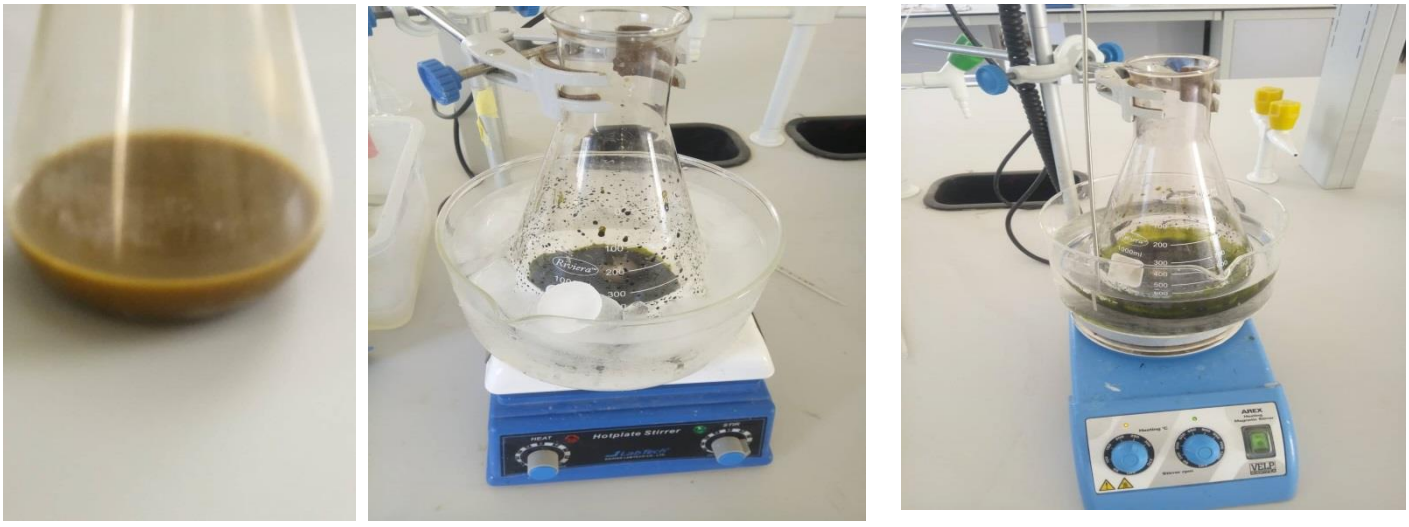
الشكل 06: صورة فوتوغرافية لجهاز الأشعة تحت الحمراء

الملحق(02): صورة فوتوغرافية للتركيب التجريبي لتحضير أكسيد الزنك النانوية:



الشكل 07: صورة فوتوغرافية للتركيب تجربة تحضير أكسيد الزنك

الملحق(03): صورة فوتوغرافية لبعض مراحل تجربة تحضير جسيمات أكسيد الجرافين:

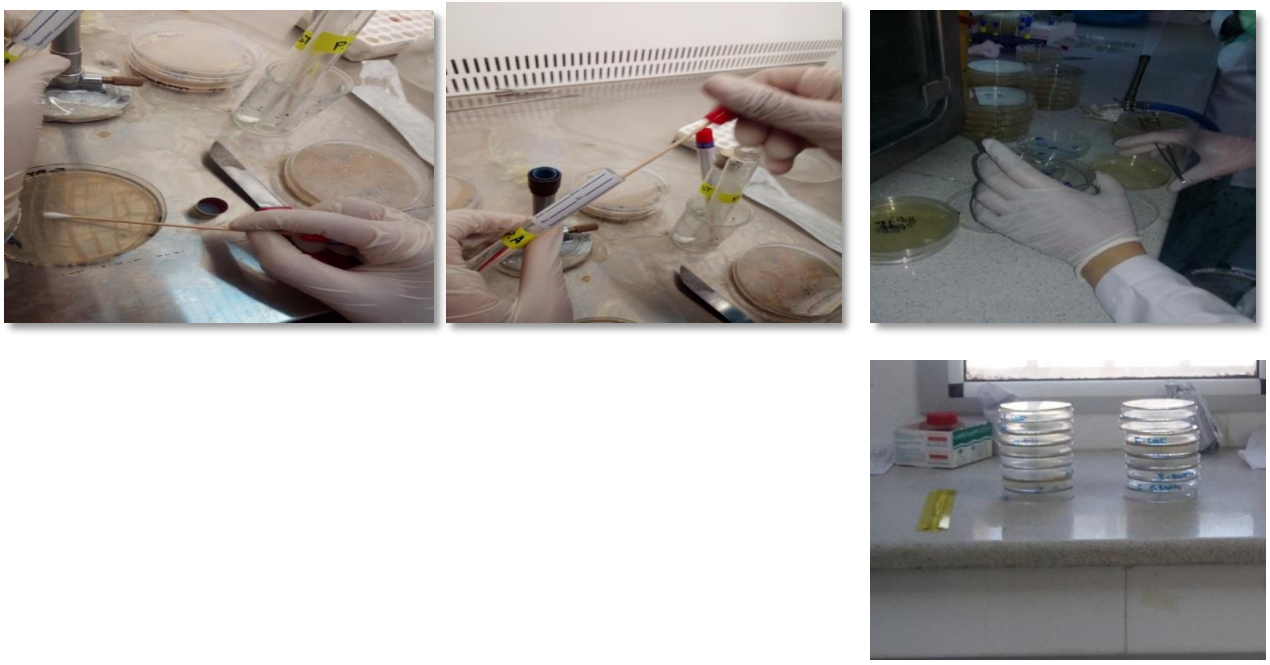


الشكل 08: صورة فوتوغرافية لبعض مراحل تجربة تحضير جسيمات أكسيد الجرافين

الملحق(04): الخلية الكهروكيميائية:

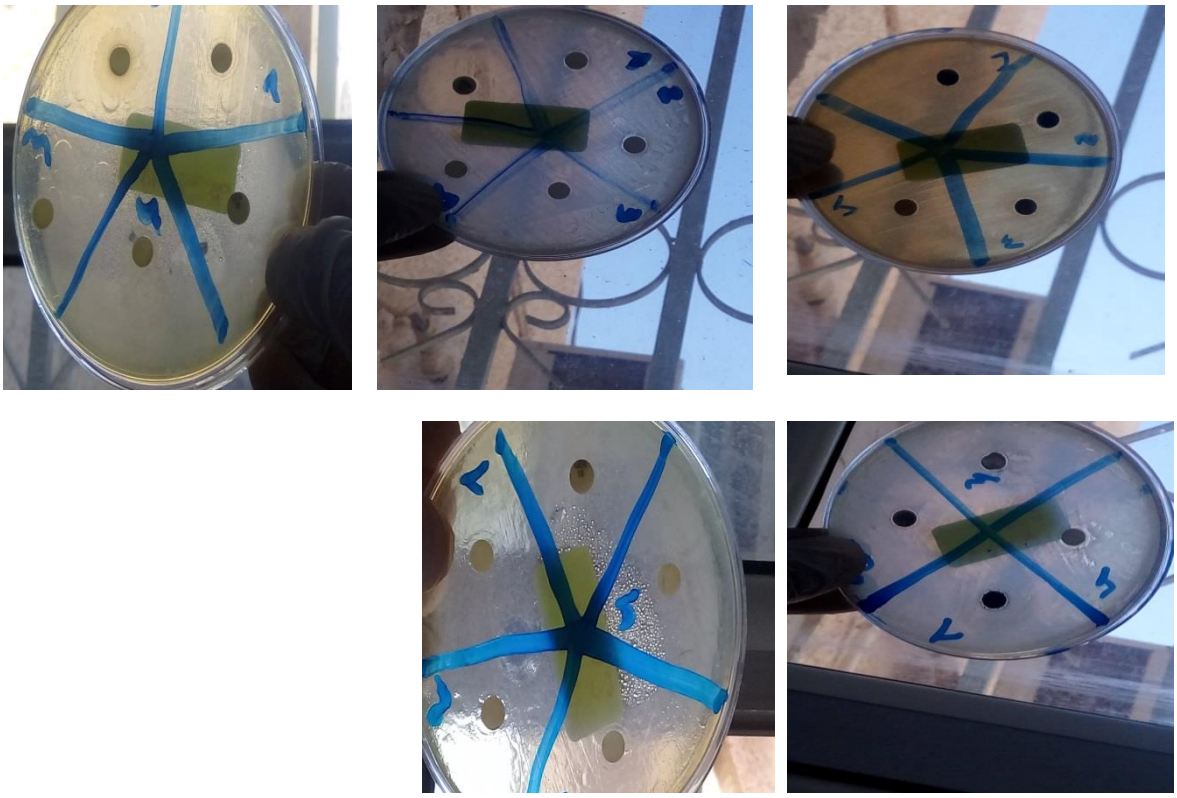
الشكل 09: صورة فوتوغرافية الخلية الكهروكيميائية

الملحق(05): أهم المراحل لدراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا:



الشكل 10: أهم المراحل لدراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا

الملحق (06): صور فوتوغرافية لبعض أقطار مناطق التثبيط (mm) للعينات



الشكل 11: صور فوتوغرافية لبعض أقطار مناطق التثبيط (mm)

الملخص:

تم في هذا العمل تسليط الضوء على تقدير الفعالية البيولوجية ضد التطفر والمضادة للبكتريا لجسيمات المركب ZnO@APTS@GO النانوية المحضرة لأول مرة انطلاقاً من جسيمات أكسيد الجرافين GO النانوية بطريقة "**هيمرز**" المفعلة بجسيمات ZnO النانوية بواسطة APTES وتشخيصها باستخدام تقنية حيود الأشعة السينية DRX و الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه FTIR .أعطت قياسات أبعاد جسيمات أكسيد الزنك النانوية قيمة تقدر بـ 124.8 نانومتر و أكسيد الجرافين النانوية قيمة تقدر بـ 27.13 نانومتر.

تم تقدير الفعالية المضادة للتطفر لجسيمات المركب*ZnO@APTS@GO* عن طريق التفاعل مع الحمض النووي منقوص الأوكسجين(DNA)لتحديد معامل الترابط(K) والطاقة الحرة للترابط (ΔG) بطريقة كهروكيميائية و اختبار الفعالية المضادة للبكتريا بطريقة الانتشار بالأقراص.

أعطت دراسة الفعالية ضد التطفر نتائج ايجابية حيث قدرت قيمة الطاقة الحرة للترابط بـ 18.38Kj/mol- وأن نوع التفاعل تلقائي ذو طبيعة فيزيائية مما يؤكد فعاليته ضد التطفر، بالإضافة أعطت الفعالية المضادة للبكتيريا قيم تثبيطية متفاوتة بين المتوسطة والضعيفة لبعض أنواع السلالات البكتيرية *E.coli* ، *S.aureus*، *S.typhi*.

الكلمات المفتاحية: أكسيد الزنك ، أكسيد الجرافين، ZnO@APTS@GO،الفعالية البيولوجية,طريقة كهروكيميائية التفعيل.

Abstract

The present study focus on the evaluation of the antimicrobial and the anti-mutagenic activities of ZnO@APTS@GO nanoparticle prepared for the first time from Graphene Oxide (GO) nanoparticles by hummers method with a size of 27.13 nm functionalized by ZnO nanoparticles with a size of 124.8 nm, via APTES. And were characterized by diffraction of X-rays and Fourier transform infrared spectra (FTIR).

The anti-mutagenic activity of the synthesized nanoparticles were evaluated from the interaction between deoxyribonucleic acid and ZnO@APTS@GO NPs, and the binding parameters such as the free binding energy and the ratio of binding constant were determined using electrochemical technique. The negative values of the Gibbs energy - 18.38Kj/mol indicate the spontaneity and the physical nature of interaction.

The obtained results of the anti-bacterial activities which effected by disks diffusion method confirmed a *varied* inhibition values (medium to weak) *between* the *different studies* bacterial *strains* such as E. coli, A.aureus, S.typhi

Keywords: Zinc Oxide, Graphene Oxide, ZnO@APTS@GO, biological activity, electrochemical method, functionalization.