



التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية باستخدام الأحياء الدقيقة

إعداد

د جمال محمد علي خالد

أستاذ مشارك علم الأحياء الدقيقة

أهداف ومخرجات الدورة:

الهدف العام: إكساب المتدرب المعارف الأساسية لإنتاج الجسيمات النانوية باستخدام الأحياء الدقيقة
المخرجات المتوقعة:

مع نهاية الدورة نتوقع أن يصبح المتدرب قادرا على تحديد :-

- أهمية وميزات الأحياء الدقيقة في حقل الإنتاج

- خصائص الأحياء الدقيقة المستخدمة في الإنتاج

- دور المتخصص في علم الأحياء الدقيقة في هذا الحقل التصنيعي

- أفضل العوامل والظروف لإنتاجة باستخدام طرق تحليل إحصائية وتصاميم تجريبية مناسبة

- خصائص الجسيمات النانوية المنتجة بالطرق الفيزيائية والكيميائية المختلفة

- كفاءة الجسيمات النانوية من الناحية الإحيائية

لماذا الأحياء الدقيقة مناسبة جدا للإنتاج مقارنة بالخلايا الحية والطرق الأخرى؟

من حيث قدرتها على استغلال المخلفات

- ✓ تتوفر في بيئات متعددة
- ✓ تنمو على مصادر غذائية رخيصة ومتجددة
- ✓ يمكن تكرار التجارب عليها بيسر وسهولة

من حيث تأثرها بتقلبات المناخ والأمراض

- ✓ لا تتأثر بتغيرات وتقلبات الطقس
- ✓ أثناء الإنتاج المعملية أو الصناعي
- ✓ لا تتأثر بالأمراض والأوبئة التي تصيب الحيوانات أو النباتات
- ✓ متحكم بها تماما وصديقة وآمنة في بيئة العمل والبيئة الخارجية

من حيث معدل النمو وحاجتها للمساحة

- ✓ سريعة النمو
- ✓ زمن الجيل لها قصير
- ✓ معدل نموها عالي
- ✓ تتطلب مساحة صغيرة للإنتاج

ما الأنظمة الحيوية الأخرى التي يمكن أن تستخدم في إنتاج الجسيمات النانوية؟ وهل هناك مميزات أخرى للميكروبات وعيوب لم تذكر في الشريحة السابقة؟

- ➤
- ➤
- ➤
- ➤
- ➤
- ➤

المصادر المتوقعة للحصول على الميكروبات التي يحتمل إستخدامها في إنتاج الجسيمات النانوية.

- - قبل ذلك ، مالذي يجب أن يلم به الباحث عن تلك الميكروبات؟
- طرق الإكثار
- حاجة الميكروبات الغذائية وظروف التنمية المناسبة
- طرق العزل والتنقية
- طرق الحفظ
- طرق التعريف والتصنيف

التربة

المياه

يمكن عزل الميكروبات من عدة مصادر أهمها

من النباتات

من الإنسان والحيوانات

المبادئ الأساسية لعزل وتنقية الميكروبات من مصادرها المختلفة

➤ هل تستهدف ميكروب محدد معروف الخصائص

➤ هل تقوم بعملية مسح لإستكشاف البيئة وتحدد قدرة العزلات على إنتاج الجسيمات النانوية
الإجابة عن هذه السؤااين يحدد متطلبات عزل وتنقية الميكروب ولكنها في مجملها تتطلب مايلي:-

- استخدام بيئات غذائية متعددة

- تكييف الأس الهيدروجيني للبيئات

- استخدام ظروف إكثار متعددة (هوائية، لا هوائية، شحيحة الإحتياج للهواء، درجات حرارة مختلفة، ضغوط أزموزية

مختلفة، نشاط مائي مختلف، جهد أكسدة مختلف،،، وغيرها)

- جمع العينات من مناطق مختلفة وفي أوقات مختلفة

- رصد الخصائص الظاهرية وتسجيل تكررات العزل وحساب ذلك بدقة

الطرق العلمية المناسبة لتحديد سرعة نمو ومعدل نمو الميكروب؟

سؤال: ما أهمية ذلك للعملية الإنتاجية؟

➤ تقدير زمن الجيل باستخدام مايلي:

-منحنى النمو القياسي

-المعادلات الرياضية المباشرة

تتطلب الطريقة الأولى جهد وتقدير للعدد الكلي في أوقات متعددة ثم رسم العلاقة بين الوقت ولوغارتم العدد الكلي وتحدد أطوار النمو المختلفة (طور التأقلم وطور التكاثر اللوغارتمي وطور الثبات وطور الموت)، ثم حساب زمن الجيل من الرسم.

- في المعادلة الرياضية يمكن استخدام هذه المعادلة:

$$G=t/N$$

$$N=3.3(Logn1-LogN2)$$

زمن الجيل يساوي الزمن قسمة عدد الأجيال

عدد الأجيال يساوي الفرق بين لوغارتم العدد النهائي للميكروبات والعدد الأولي مضروبا في 3.3

➤ حساب معدل النمو يتطلب تقدير النمو في أوقات مختلفة ثم تقدير فرق النمو من وقت إلى آخر، وأخيرا إيجاد المتوسط العام لتحديد معدل النمو.

➤ **ملاحظة هامة:** يمكن الرجوع إلى أساسيات علم الأحياء الدقيقة لتعلم المهارات السابقة والهدف هنا التذكير بها لأنها مهمة في اختيار الميكروب

المناسب

أهم الخصائص في الميكروب المستخدم في إنتاج الجسيمات النانوية

- غير ممرض
- سريع النمو
- ينمو بسهولة على بيئات رخيصة الثمن ومتجددة
- ينتج أثناء نموه المواد الأيضية اللازمة لإنتاج الجسيمات النانوية
- لا ينتج أثناء النمو مواد سامة
- لديه القدرة على تحمل ظروف الإنتاج
- سهل فصله من بيئة النمو
- لديه ثبات فسيولوجي
- لديه ثبات وراثي
- سهل حفظها لفترات طويلة دون تغير في خصائصه
- يمكن تعديله وراثيا عند الحاجة لذلك

ما الهدف الإستراتيجي الذي يسعى المنتج لتحقيقه؟ وما علاقة ذلك بالشروط السابقة التي يجب أن تتوفر في الميكروب؟

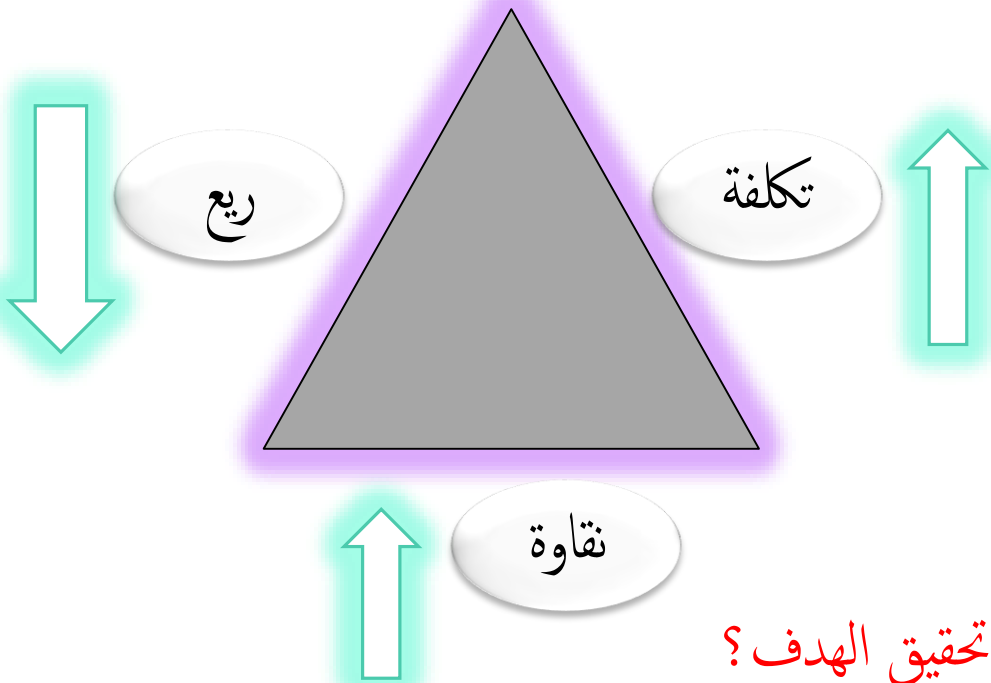
❖ الهدف الأساسي هو إنتاج ربح عالي ونقاوة عالية بأقل تكلفة ممكنة. يمكن تحقيق ذلك من خلال مايلي:

○ البيئة الرخيصة

○ الميكروب المناسب

○ تحديد ظروف إنتاج مثالية

○ تحديد ظروف إستخلاص مثالية



○ ناقش الرسم المرفق؟ هل تعتقد أنه صواب؟

○ هل هناك أمور أخرى غير ما ذكر سابقا تساعد على تحقيق الهدف؟

الجسيمات النانوية (تعريف ، خصائص عامة)

جسيمات متناهية الصغر ذات أحجام تتراوح أبعادها ما بين 1 إلى 100 نانومتر، تمتاز عن الجسيمات الأخرى بما فيها الجسيمات الدقيقة (الميكروية) بخصائصها الفيزيائية والكيميائية والإحيائية المميزة.

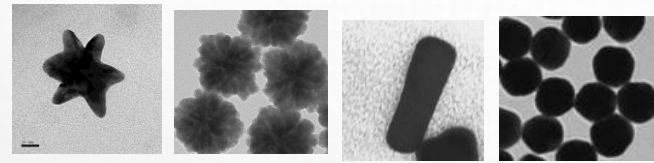
- ❖ -أصغر بكثير من الأطوال الموجية المرئية
- ❖ -لا تشاهد بالمجهر الضوئي
- ❖ -مشاهدتها تتطلب مجاهر ذات قوة تكبير وتوضيح عالية مثل المجهر الإلكتروني
- ❖ -الجسيمات الأكبر من الجسيمات النانوية تبعثر كل أو بعض الضوء المرئي الساقط عليه في حالة وجودها في بيئة شفافة وهذا الأمر لا يتحقق في الجسيمات النانوية
- ❖ -تفصل من المعلق المائي لها بواسطة تقنيات الترشيح النانوية لقدرتها على النفاذ من المرشحات العادية والمرشحات الدقيقة
- ❖ -تنتشر في الطبيعة بشكل كبير، وتنتج من خلال عمليات طبيعية أحيائية وغير إحيائية
- ❖ -تدرس من قبل تخصصات علمية متعددة مثل الكيمياء، والفيزياء والجيولوجيا والأحياء
- ❖ -العلم الذي يدرس هذه الجسيمات يسمى علم التقانة النانوية وهو علم متعدد التخصصات، يهتم بتصميم وتشيد واستعمال تراكيب ذات خصائص وظيفية أكانت نظم مقيدة في ثلاثة أبعاد، أو في بعدين أو بعد واحد
- ❖ -تعتمد خصائصها في الغالب على شكلها وحجمها وتباين في أشكالها وأحجامها تباين واسع وتسمى وفق الشكل مثلا جسيمات نانوية كروية، نانوية عصوية، سلاسل نانوية، ألياف نانوية، و صناديق نانوية، ونجوم نانوية ، أزهار نانوية...وغيرها.
- ❖ يمكن إنتاجها كجسيمات نانوية ناعمة أو شبه صلبة
- ❖ يمكن إنتاجها من تكسير المعقدات الحيوية الكبيرة إلى جسيمات نانوية صغيرة مثل إنتاج النانوسليلوز من لب الخشب
- ❖ يمكن إنتاجها بطرفين، أحدهما كاره للماء والآخر محب للماء

طرق الإنتاج

يمكن إنتاج الجسيمات النانوية من مواد صلبة أو سائلة سواء أكانت معادن أو عوازل كهربائية أو أشباه موصلات.
البناء من الأكبر إلى الأصغر أو البناء من الأصغر إلى الأكبر
طرق كيميائية، فيزيائية، إحيائية
التجميع الذاتي (SELF-ASSEMBLY (FABRICATION TOOL)



طرق تصنيعية بهذا الإيحاء
Bottom-Up



المدى النانوي

طرق تصنيعية بهذا الإيحاء
Top-down

رغم نجاح الطرق الكيميائية والفيزيائية في إنتاج جسيمات نانوية بنقاوة عالية وبأحجام وأبعاد مناسبة إلا أن هناك محددات عامة لهذه الطرق تتعلق بالتالي:
✓ -التكلفة
✓ -استخدام مواد خطيرة وسامة قد تمتص وتظل من ضمن مكونات الأسطح البنائية للجسيمات النانوية

الطرق الكيميائية الرطبة

التصنيع الحيوي

طرق ميكانيكية

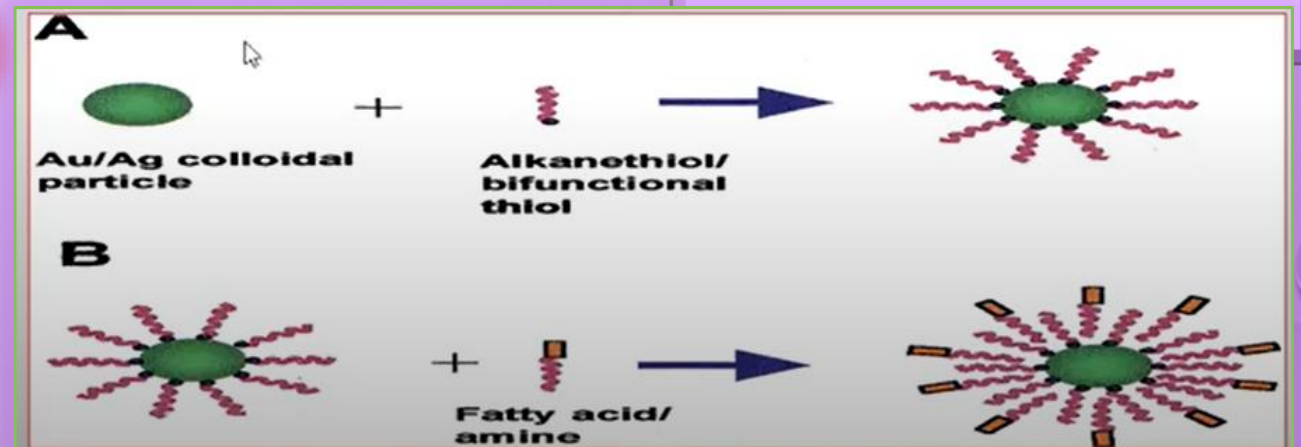
تكسير المعقدات الحيوية

طرق التحلل الإشعاعي

طرق الإنحلال
الحراري

تكاثف الغاز الحامل

التكاثف من البلازما



ما أهم الخصائص العامة لعملية التجميع الذاتي للجسيمات النانوية باستخدام طريقة الفبركة وهل يمكن تطبيقها باستخدام الأحياء الدقيقة؟

-
-
-
-
-
-
-
-
-
-

ما أهم الخصائص العامة لعملية التجميع الذاتي للجسيمات النانوية باستخدام طريقة الفبركة وهل يمكن تطبيقها باستخدام الأحياء الدقيقة؟

- ✓ طبيعية
- ✓ تجمع وترتيب ذاتي للمواد المستهدفة
- ✓ تحدث في المواد العضوية وغير العضوية
- ✓ الناتج النهائي له لابد أن يكون ثابت وذو شكل وحجم محدد ومميز
- ✓ يمكن أن تحدث من خلال الروابط الكيميائية التساهمية أو غير التساهمية
- ✓ يمكن إنتاج الجسيمات النانوية باستخدام الأحياء الدقيقة ثم عمل فبركة للجسيمات المنتجة أو أنتاج مجموعات وظيفية هامة باستخدام الأحياء الدقيقة وربطها في الجسيمات النانوية

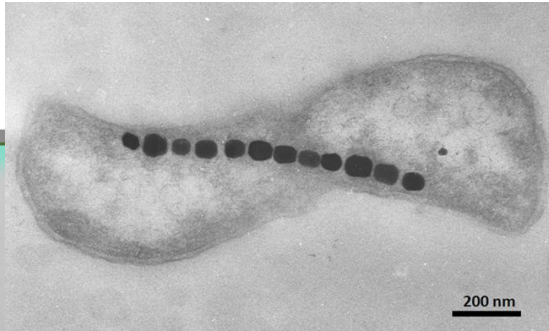
التصنيع الحيوي الميكروبي للجسيمات النانوية

بكتيريا، بكتيريا خيطية، أعفان، خمائر، طحالب

الهدف الأهم في إنتاج الجسيمات النانوية يتمثل في استخدام طرق سريعة وآمنة من الناحية البيئية وينتج عنها جسيمات منخفضة السمية، بنقاوة مقبولة وتكلفة منخفضة.

أهم الميكروبات المرشحة لهذا الغرض وخصائصها الإنتاجية الأولية (بالإضافة للخصائص العامة التي ذكرت في البداية)، مع ملاحظة هامة أن الميكروبات القادرة على تصنيع الجسيمات النانوية قد اكتسبت هذه القدرة من تكيفها مع ظروف الإنتاج في بيئتها الطبيعية (تحويل حيوية للمعادن أو أملاحها إلى جسيمات نانوية):-

- 1- الميكروبات القادرة على إختزال المعادن والتي تتواجد طبيعيا في البيئة وتقوم بعملية إزالة الملوثات المعدنية (المعالجة الحيوية) وتصنيع أكسيد معدنية. هناك ميكروبات تستطيع أكسدة الحوامض العضوية كمانح للإلكترونات وإختزال المعادن اللاعضوية كمستقبل للإلكترونات مثل جنس *Shewanella*
- 2- الميكروبات التي لها القدرة على تطوير طريقة خلوية مباشرة لإزالة سمية المعادن من خلال أكسدة المعادن السامة وتحويلها جسيمات نانوية
- 3- الميكروبات القادرة على إفراز جزيئات حيوية كعوامل تغليف وتثبيت للجسيمات النانوية
- 4- الميكروبات القادرة على التحكم في شكل وحجم الجسيمات النانوية

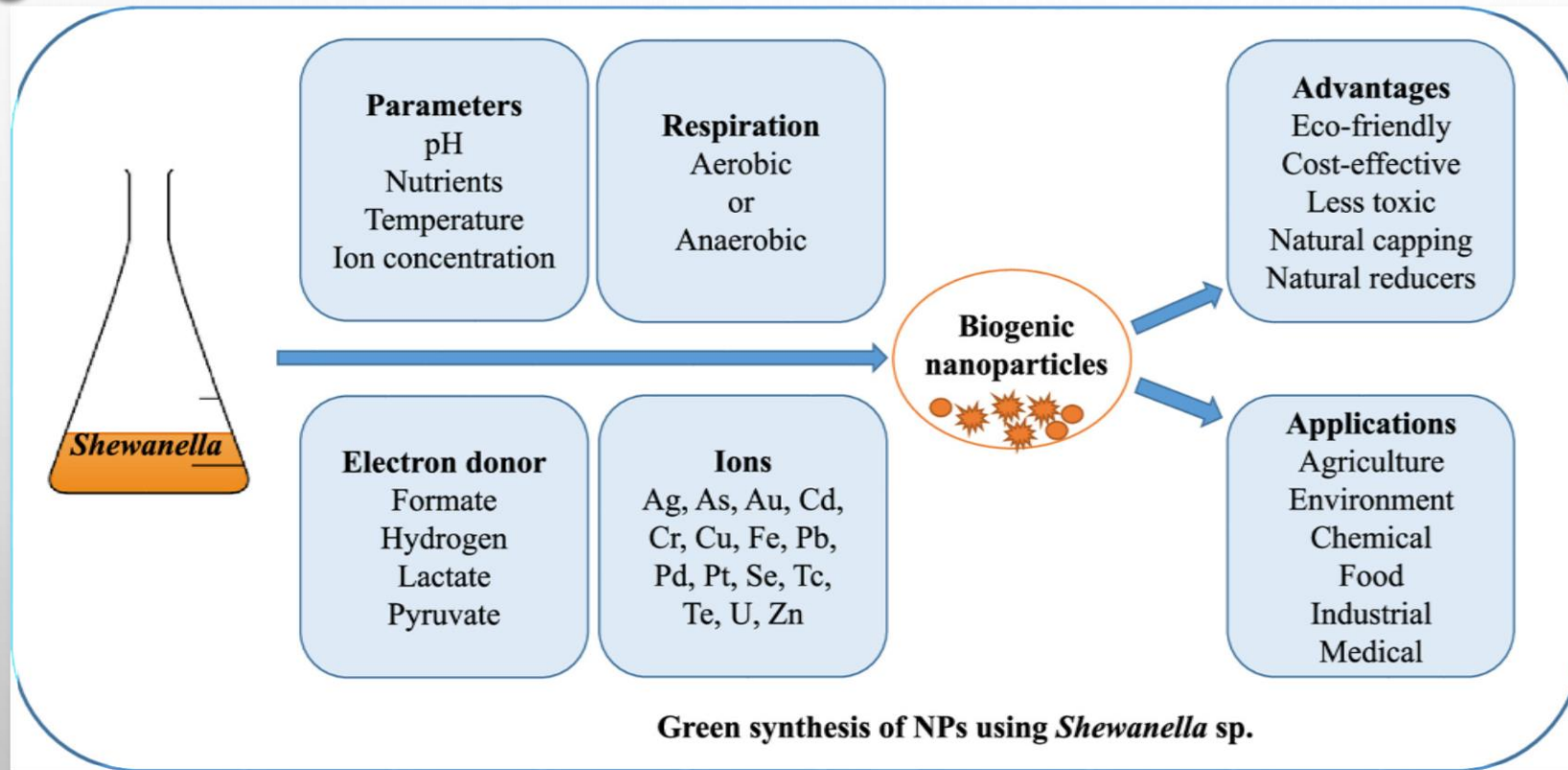


أثنا عشر جسيم نانوي من أكسيد الحديدي الثلاثي مرتبة على طول محور خلية بكتيرية تابع لمجموعة البكتيريا المغناطيسية

Magnetotactic bacteria

© 2010 Nature Education All rights reserved

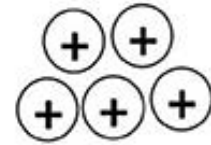
تحويل المعادن إلى جسيمات نانوية بواسطة أنواع تابعة لجنس الـ *Shewanella* (هذه الأنواع تمتاز بقدرتها على اختزال المعادن وتعرف بـ Metal-reducing bacteria



المبدأ الأساسي لعمل هذه المجموعة من
الميكروبات هو قدرتها على القيام
بعملية التمدن الحيوي المعروفة بـ والتي
يندمج فيها عملية أكسدة العديد من
مانحة الألكترونات (مثل اللاكتات ،
البيروفات ، الهيدروجين) واختزال
مدى واسع من المعادن (كما هو
مشاهد في الشكل) لينتج في النهاية
جسيمات نانوية

Produced NPs	Organism	Chemical(s) used	Aerobic or anaerobic	Electron donor	NP size (nm)	Significance
Copper	<i>S. oneidensis</i>	CuSO ₄	Anaerobic	Lactate	20-40	Catalysis
Copper	<i>S. loihica</i>	CuCl ₂ ·2H ₂ O	Anaerobic		10-16	Antibacterial activity
Gold	<i>S. algae</i>	HAuCl ₄	Anaerobic	H ₂	10-20	Intracellular recovery of gold
Silver	<i>S. oneidensis</i>	AgNO ₃	Aerobic		4 ± 1.5	Antibacterial activity
Magnetic	<i>S. algae</i> , <i>Shewanella</i> spp.	Ferrihydrite	Anaerobic	Lactate	6-26	Superparamagnetic magnetite particles
Magnetic	<i>S. piezotolerans</i>	Ferrihydrite	Anaerobic	Lactate	4-8	Superparamagnetic magnetite particles

<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.01390-21#T1>



Metal ion

+
Biomolecules

Reduce and capping



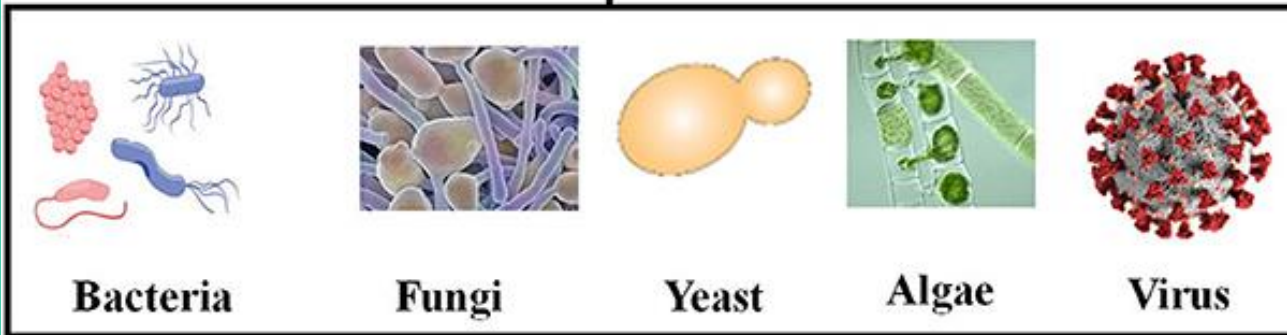
Nuclei

Growth of nanoparticles



Nanoparticles

Intracellular or extracellular extraction



Bacteria

Fungi

Yeast

Algae

Virus

شكل يوضح آلية إنتاج الجسيمات النانوية باستخدام الميكروبات:
تؤثر الميكروبات على تكوين الجسيمات النانوية من خلال التالي:
1- تحويل المحلول إلى محلول مشبع أو فوق مرحلة التشبع
2- إنتاج معقدات عضوية تؤثر على المراحل المبكرة في تجمع المعدن

	Nanoparticles	Size	Application	References
Bacteria				
<i>Bacillus subtilis</i>	TiO ₂	10–30 nm	Photocatalytic effect on aquatic biofilm	Dhandapani et al., 2012
<i>Lactobacillus</i> sp.	TiO ₂	50–100 nm	Antibacterial activity	Ahmad et al., 2014
<i>Lactobacillus</i> sp.	TiO ₂	50–100 nm	Immobilization and refolding of enzyme	Ahmad et al., 2013
<i>Escherichia coli</i>	Ag	5–50 nm	Antimicrobial Activity	Saeed et al., 2020
<i>Exiguobacterium aurantiacumm</i>	Ag	5–50 nm	Antimicrobial Activity	Saeed et al., 2020
<i>Brevundimonas diminuta</i>	Ag	5–50 nm	Antimicrobial Activity	Saeed et al., 2020
Thermophilic <i>Bacillus</i> sp. AZ1	Ag	9–32 nm	Antimicrobial Activity	Deljou and Goudarzi, 2016
<i>Gordonia amicalis</i>	Ag	5–25 nm	Antioxidant scavenging activity	Sowani et al., 2016
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Ag	45–60 nm	Genomic toxicity	Namasivayam et al., 2010
<i>Acinetobacter</i> sp. SW30	Au	15–40 nm		Wadhvani et al., 2016
<i>Lactobacillus kimchicus</i> DCY51	Au	5–30 nm	Antioxidant activity	Markus et al., 2016
<i>Paracoccus haeundaensis</i> BC74171	Au	20.93 ± 3.46 nm	Antioxidant activity and antiproliferative effect	Patil et al., 2019
<i>Micrococcus yunnanensis</i>	Au	53.8 nm	Antibacterial, Anticancer	Jafari et al., 2018
<i>Mycobacterium</i> sp.	Au	5–55 nm	Anticancer	Camas et al., 2018
<i>Lactobacillus</i> sp.	CdS	2.5–5.5 nm		Prasad and Jha, 2010
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ZnO	57.7 nm	Antimicrobial activity against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Aspergillus flavus</i>	Jayaseelan et al., 2012

يتبع.....قائمة البكتيريا

<i>Lactobacillus plantarum</i>	ZnO	7–19 nm		Selvarajan and Mohanasrinivasan, 2013
<i>Lactobacillus sporogenes</i>	ZnO	145.70 nm	Antimicrobial activity	Mishra M. et al., 2013
<i>Bacillus subtilis</i>	Fe ₃ O ₄	60–80 nm		Sundaram et al., 2012
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Iron oxide	10–15 nm		Park et al., 2014
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i>	Magnetite	35–65 nm		Yeary et al., 2005
<i>Shewanella loihica</i>	Cu	10–16 nm	Antibacterial activity	Lv et al., 2018
<i>Bacillus licheniformis</i>	cadmium sulfide	20–40 nm	Antibacterial activity	Shivashankarappa and Sanjay, 2015
<i>Serratia nematodiphila</i>	zinc sulfide	80 ± 10 nm	Antibacterial activity	Malarkodi and Annadurai, 2013
<i>Idiomarina</i> sp. strain PR58-8	Lead(IV) Sulfide	6–10 nm	Bioimaging	Srivastava and Kowshik, 2017
<i>Bacillus</i> sp.	Selenium nanoparticles	80–220 nm	Antioxidant and cytotoxic effect	Forootanfar et al., 2014
<i>Pantoea agglomerans</i>	Selenium nanoparticles	90–110 nm	Antioxidant activity	Torres et al., 2012

قائمة البكتيريا الخيطية

Actinomycetes

<i>Rhodococcus</i> sp.(Actinomycete)	Au	5–15 nm		Ahmad et al., 2003b
<i>Gordonia amarae</i>	Au	15–40 nm	Application in rapid sensing of copper ions	Bennur et al., 2016
<i>Gordonia amicalis</i>	Au	5–25 nm	Antioxidant scavenging activity	Sowani et al., 2016
<i>Streptomyces viridogens</i> HM10	Au	18–20 nm	Antibacterial activity	Balagurunathan et al., 2011
<i>Actinomycetes</i> sp.	Ag	10–20 nm	Antibacterial activity	Abdeen et al., 2014
Marine Isolate <i>Streptomyces albidoflavus</i>	Ag	10–40 nm		Prakasham et al., 2012
<i>Streptomyces</i> sp. LK3	Ag	5 nm	Acaricidal activity against <i>Rhipicephalus microplus</i> and <i>Haemaphysalis bispinosa</i>	Karthik et al., 2014
<i>Streptomyces</i> sp. JAR1	Ag	60–70 nm	Antimicrobial activity	Chauhan et al., 2013
<i>Nocardiopsis</i> sp. MBRC-1	Ag	45 nm	Antimicrobial activity	Manivasagan et al., 2013
Actinomycetes	Ag	5–50 nm	Antibacterial activity	Narasimha et al., 2013
<i>Streptomyces</i> sp. VITPK1	Ag	20–45 nm	Anticandidal activity	Sanjenbam et al., 2014
Marine endophytic actinomycetes	Cu	Nanorange size	Antibacterial efficacy	Rasool and Hemalatha, 2017

Fungus

<i>Penicillium</i> sp.	Ag	25–30 nm	Antibacterial	Singh et al., 2014
<i>Neurospora crassa</i>	Ag	3–50 nm		Castro-Longoria et al., 2011
<i>Verticillium</i> sp.	Ag	25 ± 12 nm	Antimicrobial activity	Mukherjee et al., 2001
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Ag	10 nm	Antifungal against phyto-pathogenic fungi	Elamawi et al., 2018
<i>Penicillium oxalicum</i>	Ag	60–80 nm	Antibacterial activity	Feroze et al., 2020
<i>Aspergillus niger</i>	Ag	13.2–646.8 nm	Antifungal effect	Gursoy, 2020
<i>Penicillium janthinellum</i> DJP06	Ag	1–30 nm		Pareek et al., 2020
<i>Cladosporium perangustum</i>	Ag	30–40 nm	Antioxidant, anticancer, and nano-toxicological study	Govindappa et al., 2020
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Ag	5–40 nm	Antimicrobial properties	Chowdhury et al., 2014
<i>Neurospora crassa</i>	Au	3–100 nm		Castro-Longoria et al., 2011
<i>Trichoderma harzianum</i>	Au	32–44 nm	Antibacterial activity	Tripathi et al., 2018
<i>Morchella esculenta</i>	Au	16.51 nm	Antimicrobial activity and cytotoxic activity	Acay, 2020
<i>Cladosporium</i> sp.	Au	5–10 nm	Photodegradation, <i>in vitro</i> anticancer activity and <i>in vivo</i> antitumor studies	Munawer et al., 2020
<i>Penicillium janthinellum</i> DJP06	Au	1–40 nm		Pareek et al., 2020
<i>Neurospora crassa</i>	bimetallic Au/Ag	3–110 nm		Castro-Longoria et al., 2011
<i>Coriolus versicolor</i>	CdS	100–200 nm,		Sanghi and Verma, 2009
Thermophilic fungus <i>Humicola</i> sp.	CeO ₂	12–20 nm		Khan and Ahmad, 2013
<i>Aspergillus niger</i>	ZnO	53–69 nm	Antibacterial activity	Kalpna et al., 2018
<i>C. geniculatus</i>	ZnO	2–6 nm		Kadam et al., 2019
<i>Agaricus bisporus</i>	ZnS	2.9 nm		Senapati et al., 2015
<i>Fusarium oxysporum</i>	ZnS	~38 nm		Mirzadeh et al., 2013
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Pt	5–40 nm	Cytotoxicity	Subramaniyan et al., 2018
<i>Aspergillus flavus</i>	TiO ₂	62–74 nm	Antimicrobial activity	Rajakumar et al., 2012

Yeast

<i>Yarrowia lipolytica</i> (NCYC 789)	Ag	2–5 nm	Activity against <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	Apte et al., 2013
yeast strain MKY3	Ag	2–5 nm		Kowshik et al., 2002
<i>Yarrowia lipolytica</i> DSM 3286	Ag	12.4 ± 5.22 nm	Antibacterial activity	Bolbanabad et al., 2020
<i>Candida guilliermondii</i>	Ag	10–20 nm	Antimicrobial activity	Mishra et al., 2011
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Ag	3–10 nm	Anticancer activity	Kaler et al., 2013
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Ag	3–12 nm	Antimicrobial agent	Ashour, 2014
<i>Candida utilis</i> 22	Ag	6–20 nm	Antimicrobial agent	Ashour, 2014
<i>Candida utilis</i>	Ag	20–80 nm	Antibacterial activity against pathogenic organisms	Waghmare et al., 2015
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ag	10–60 nm	Antimicrobial effect	Sowbarnika et al., 2018
<i>Candida glabrata</i>	Ag	2–15 nm	Antibacterial and antifungal	Jalal et al., 2018
<i>Rhodotorula glutinis</i>	Ag	15.45 ± 7.94 nm	Antifungal, catalytic and cytotoxicity activities	Cunha et al., 2018
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Ag	13.70 ± 8.21 nm	Antifungal, catalytic and cytotoxicity activities	Cunha et al., 2018
<i>Candida guilliermondii</i>	Au	50–70 nm	Antimicrobial activity	Mishra et al., 2011
<i>Yarrowia lipolytica</i> NCIM	Au	15 nm		Agnihotri et al., 2009
<i>Magnusiomyces ingens</i> LH-F1	Au	10–80 nm	Catalytic activities for the reduction of nitrophenols	Zhang et al., 2016
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CdS	3.75 nm		Prasad and Jha, 2010
<i>Candida albicans</i>	CdS	50–60 nm	Bactericidal potential against <i>Salmonella typhi</i> and <i>Staphylococcus aureus</i>	Kumar et al., 2019
Baker's yeast	TiO ₂	6.7 ± 2.2nm	Antibacterial activity	Peiris et al., 2018
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	TiO ₂	12 nm		Jha et al., 2009a
Baker's yeast	Fe ₂ O ₃	2–10 nm	Detection H ₂ O ₂ and Glucose	Mishra et al., 2015
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Sb ₂ O ₃	100 nm		Jha et al., 2009b
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Amorphous iron phosphate	50–200 nm		He et al., 2009

Alga

<i>Neochloris oleoabundans</i>	Ag	40 nm	Antibacterial	Bao and Lan, 2018
<i>Enteromorpha compressa</i>	Ag	4–24 nm	Antimicrobial, Anticancer	Ramkumar et al., 2017
<i>Nostoc linckia</i>	Ag	5–60 nm	Antibacterial	Vanlalveni et al., 2018
<i>Leptolyngbya</i>	Ag	5–50 nm	Antibacterial, Anticancer	Zada et al., 2018
<i>Spyridia fusiformis</i>	Ag	5–50 nm	Antibacterial	Murugesan et al., 2017
<i>Chaetomorpha linum</i>	Ag	70–80 nm	Efficient anticancer agent	Acharya et al., 2021
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	Ag	220.8 ± 31.3 nm	Photophysical, catalytic, and antibacterial activity	Borah et al., 2020
<i>Amphiroa rigida</i>	Ag	25 nm	Antibacterial, cytotoxicity, and larvicidal efficiency	Gopu et al., 2020
<i>Ulva armoricana</i> sp.	Ag	33 nm	Bactericidal activity	Massironi et al., 2019
<i>Spirulina platensis</i>	Au	15.60–77.13 nm	Antiviral activity	El-Sheekh et al., 2020
<i>Sargassum cymosum</i>	Au	7 and 20 nm		Costa et al., 2020
<i>Tetraselmis kochinensis</i>	Au	5–35 nm		Senapati et al., 2012
<i>Stephanopyxis turris</i>	Au	10–30 nm		Pytlik et al., 2017
<i>Galaxaura elongate</i>	Au	3.85–77 nm	Antibacterial	Abdel-Raouf et al., 2017
<i>Cystoseira baccata</i>	Au	8.4 nm	Anticancer	Gonzalez-Ballesteros et al. 2017
<i>Spirulina platensis</i>	Pd	10–20 nm	Adsorbent	Sayadi et al., 2018
<i>Chlorella vulgaris</i>	Pd	5–20 nm		Arsiya et al., 2017
<i>Sargassum wightii</i>	ZrO ₂	18 nm	Antibacterial	Kumaresan et al., 2018
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	CdSe QD	4–5 nm	Imatinib sensing	Zhang Z. et al., 2018

المسارات التصنيعية المحتملة:

✓
تجميع الجسيمات
النانوية على
سطح الخلية
الخارجي وفي
الداخل الخلية

✓
تجميع
الجسيمات
النانوية داخل
الخلية

✓
إنتاج الجسيمات النانوية في
منطقة المحيط البلازمي حيث
تتواجد أنواع متعددة من
الإنزيمات

✓
تجميع
الجسيمات
النانوية خارج
الخلية

✓
منتجات أجنبية
خارج خلوية
تستخدم في الإنتاج
(مستخلص خالي
من الخلايا
الميكروبية)

❖
إنتاج جسيمات
نانوية
باستخدام أنواع
من
السيانوبكتيريا

❖
مثال إنتاج
جسيمات الفضة
والذهب النانوية
يستخدم أنواع
تابعة لبكتيريا
حامض
اللاكتيك
(اللبن).

❖
مثال إنتاج جسيمات
الفضة النانوية
يستخدم أنواع تابعة
لجنس *Bacillus*

❖
مثال إنتاج جسيمات
الفضة النانوية
يستخدم
*Pseudomonas
stutzeri*

❖
مثال إنتاج جسيمات الفضة
النانوية باستخدام أنواع تابعة
لجنس *Pseudomonas*
Arthrobacter

□ تلعب نواتج الأيض الثانوية الخارج خلوية دورا هاما في إختزال أيونات المعادن ، تغليف وحماية
الجسام النانوية المنتجة، وزيادة ثباتها.

قارن بين الإنتاج الخارجي خلوي والداخل خلوي باستخدام الأحياء الدقيقة؟

❖ من حيث ثبات التركيب والحجم والشكل

❖ من حيث طريقة التصنيع وتصميم خطوط الإنتاج

❖ من الناحية التجارية (أيها يفضل عن الآخر ولماذا)؟

➤ الآليات المحتملة التي تتبعها الميكروبات لإنتاج الجسيمات النانوية
(تعتمد اعتماد كبير على نوع الميكروب وظروف الإنتاج، وقدرتها على تجاوز سمية المعادن الثقيلة)

○ تجميع أيونات المعدن على السطح أو داخل الخلية ثم إختزالها إلى جسيمات نانوية بواسطة مجموعة من الإنزيمات المختلفة.

○ عدد كبير من عمليات الإنتاج أنجزت بنجاح لكن لم يتم تأكيد وفهم الآلية التي أتبعها الميكروب للإنتاج

○ في الميكروبات الخيطية مثل الفطريات من المحتمل أن التفاعل الكهروستاتيكي بين الأيونات وجدار الخلية سالب الشحنة هو مفتاح تصنيع الجسيمات النانوية على طول الخيط الفطري

○ تعتمد الآلية المتبعة على نوع الجسيمات النانوية والميكروب وعدد كبير من العوامل وتتنوع بين دور الإنزيمات وربط الجسيمات بأواصر معينة (مثلا الجسيمات النانوية لكبريتيد الكادميوم تتطلب بأواصر كبريتيدية وروابط معقدة تربط بين المجموعة الكربوكسيلية في الكادميوم ثايوليت والمجموعة الأمينية في البروتينات من خلال الأواصر الهيدروجينية).

➤ مضخة التدفق

➤ تغيير الذوبان (تفاعلات الاختزال والأكسدة)

➤ تعديل السمية (تفاعلات الاختزال والأكسدة)

➤ امتصاص بيولوجي

➤ التراكم البيولوجي

➤ الترسيب

Nitrate reductase enzyme

NADH and NADH-dependent nitrate reductase enzymes

التحكم في حجم وشكل الجسيمات النانوية

تعمد الخصائص الألكترونية والبصرية للجسيمات النانوية على حجمها وشكلها. ورغم أن الطرق الفيزيائية والكيميائية قادرة على التحكم في تلك الخصائص، وإنتاج الجسيمات النانوية بكفاءة وفي وقت قصير إلا أن المحددات المتعلقة بسميتها وابعبارها طريق ليست صديقة للبيئة يجعل من الطرق البيولوجية والميكروبية بشكل خاص طرق واعدة ومناسبة.

وجد أن التحكم في عوامل الإنتاج يؤدي إلى إنتاج الجسيمات بالأحجام والأشكال المرغوبة ومن تلك العوامل :

■ درجة الحموضة

■ درجة الحرارة

■ تركيز المادة الأولية المستخدمة في الإنتاج

■ وقت التعرض

■ درجة التحريك والتقليب

■ التعرض للضوء

■ أطوار نمو الميكروب

■ تركيب بيئة الإكثار

تصميم تجربة عاملية بمستويات عدة لإختيار أفضل ظروف إنتاجية

Factorial Experimental Design

- تعد التجارب العاملية بمستويات متعددة من أهم التصميم التجريبية التي يمكن من خلالها تحديد أفضل ظروف إنتاجية وتحديد وجود فروق معنوية بين التجارب المختلفة من خلال تحليل التباين باستخدام برامج إحصائية مثل SPSS أو OriginPro وغيرها.
- العوامل: مصطلح واسع يستخدم لوصف المتغير المستقل الذي يتم التلاعب به في التجربة من قبل الباحث أو من خلال الاختيار.
- التأثيرات الرئيسية: يشير التأثير الرئيسي للعامل إلى التغيير الناتج استجابة لتغير في مستوى العامل.
- التفاعل: يحدث التفاعل بين العوامل عندما لا يكون الاختلاف في الاستجابة بين مستويات عامل واحد هو نفسه في جميع مستويات العامل الآخر.
- هناك ثلاثة أنواع رئيسية من التفاعلات:
 - ✓ تفاعل التضاد..
 - ✓ التفاعل التآزري:
 - ✓ التفاعل الذي يؤثر على الحد الأعلى

تطبق التجارب العاملية بكفاءة في التجارب الإستكشافية التي لا يعرف فيها العامل الأكثر تأثيراً على إنتاج الجسيمات النانوية أو على خصائصها. في التجارب المكثفة التي نهدف منها إلى تحديد أفضل العوامل للإنتاج. استخدام هذا النوع من التجارب يقلل الجهد والوقت ، وهو سهل التحليل لوجود خطأ تجريبي واحد فقط ، ودقيق لإنخفاض قيمة الخطأ التجريبي ، نقدر التفاعلات بين العوامل المختلفة (كما سبق ذكره).

ما هي عيوب هذه التجارب؟

تصميم تجربة عاملية بمستويات عدة لإختيار أفضل ظروف إنتاجية
مثال على إنتاج الجسيمات النانوية

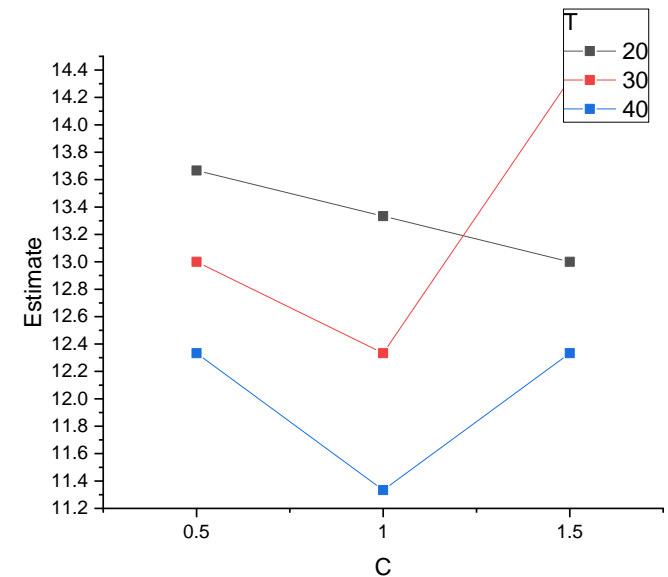
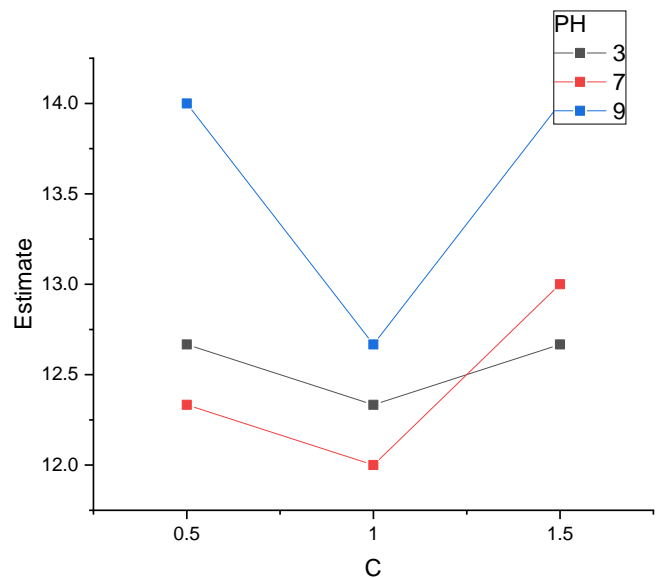
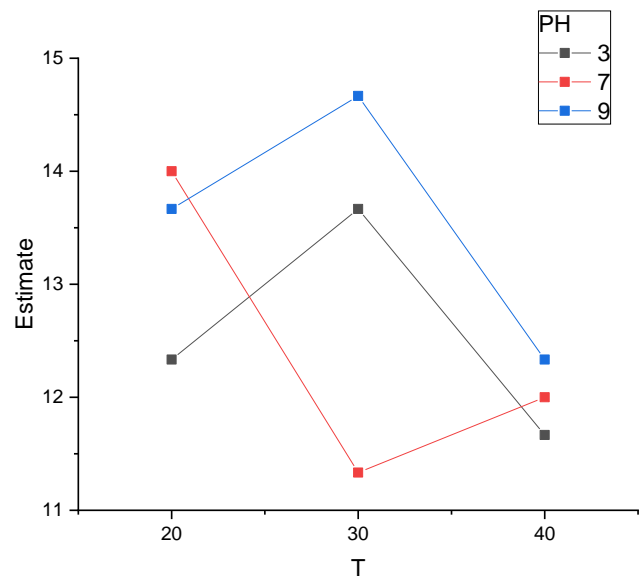
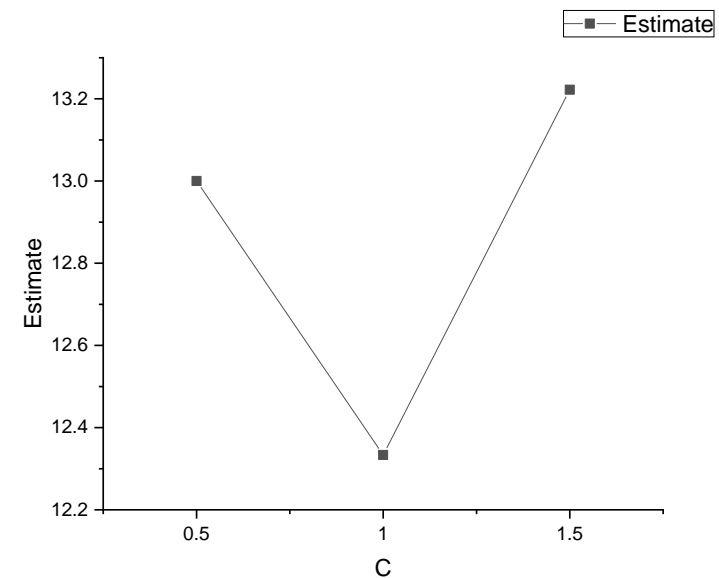
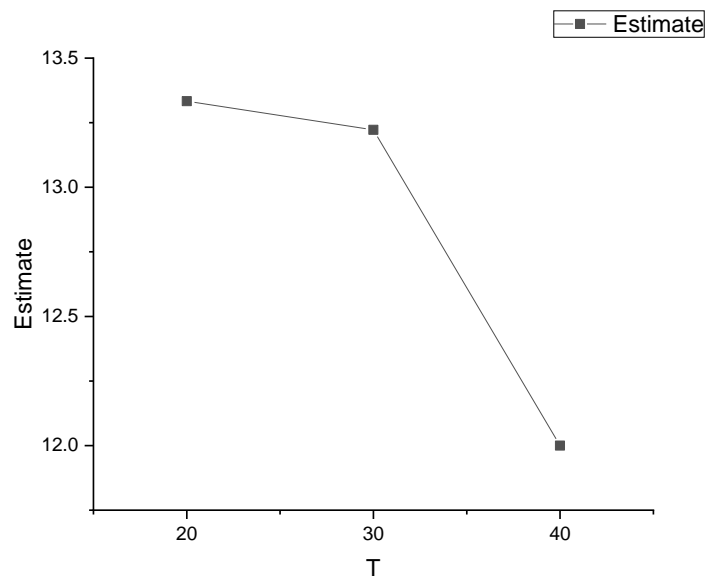
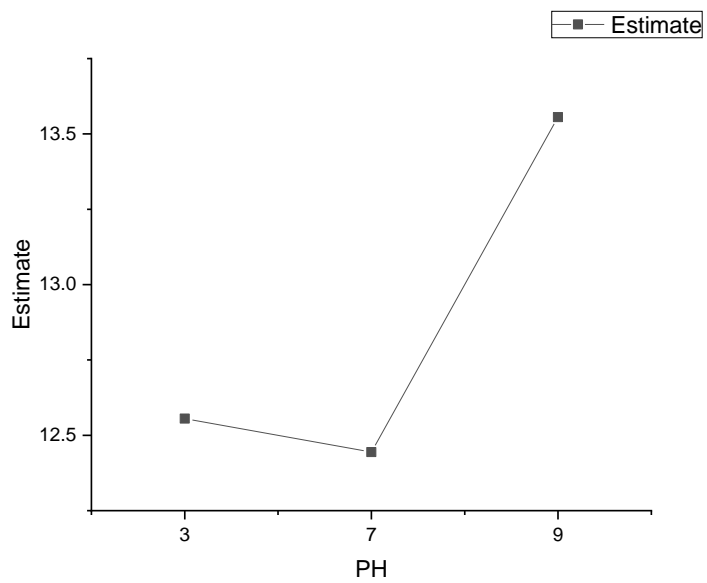
pH	T	C	R (mg/L)
3	20	0.5	12
3	20	1	13
3	20	1.5	12
3	30	0.5	14
3	30	1	13
3	30	1.5	14
3	40	0.5	12
3	40	1	11
3	40	1.5	12
7	20	0.5	13
7	20	1	14
7	20	1.5	15
7	30	0.5	11
7	30	1	11
7	30	1.5	12
7	40	0.5	13
7	40	1	11
7	40	1.5	12
9	20	0.5	16
9	20	1	13
9	20	1.5	12
9	30	0.5	14
9	30	1	13
9	30	1.5	17
9	40	0.5	12
9	40	1	12
9	40	1.5	13

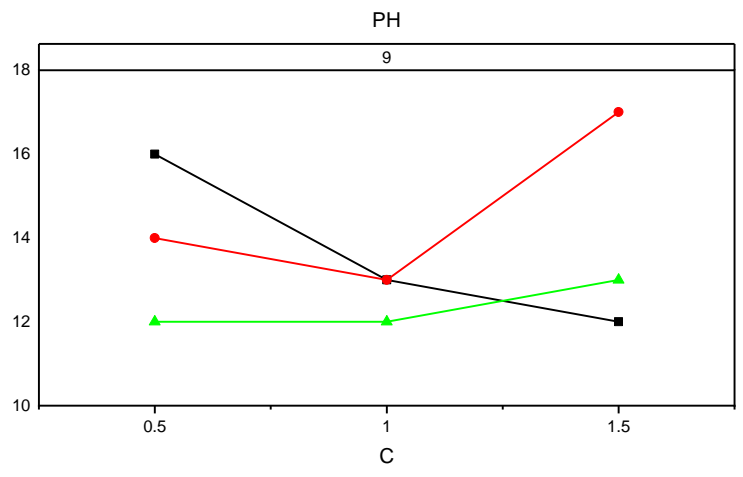
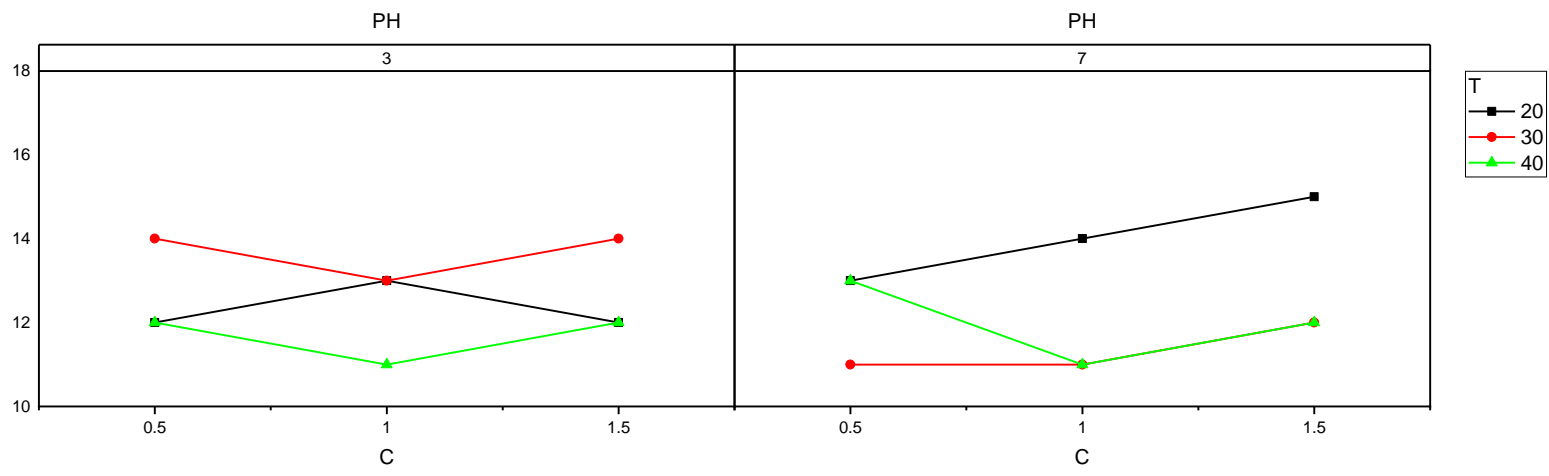
تحليل التباين لثلاثة عوامل باستخدام
OriginPro 2018

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P Value
PH	2	6.74074	3.37037	0	1
T	2	9.85185	4.92593	0	1
C	2	3.85185	1.92593	0	1
PH * T	4	16.14815	4.03704	0	1
PH * C	4	1.48148	0.37037	0	1
T * C	4	5.03704	1.25926	0	1
PH * T * C	8	14.2963	1.78704	0	1
Model	26	57.40741	2.20798	0	1
Error	0	3.63798E-12	--	0	0
Corrected Total	26	57.40741	0	0	0

لا توجد فروق معنوية بين العوامل وبين التدخلات المختلفة عند مستوى 0.05%

ماذا تعني لك هذه النتيجة؟





pH*T*C

برامج إحصائية تساعد في الوصول إلى أفضل عوامل إنتاجية

هناك مجموعة من الطرق الإحصائية التي يمكن من خلالها تحديد أفضل الظروف والعوامل والتي من خلالها تتحسن العملية الإنتاجية بشكل كبير (مثلًا التصميم الأفضل للعوامل الفعالة باستخدام مربع بنكن للاستجابة السطحية (Response Surface Pox Behnken design):-

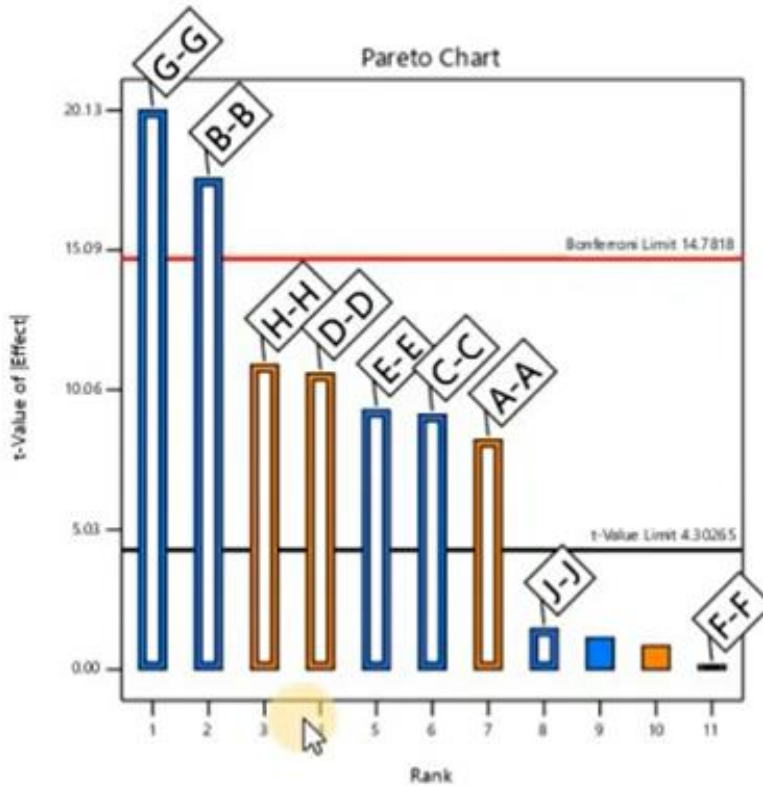
Design-Expert 13

Minitab 17

تعتمد هذه الطرق في العموم على فرز العوامل الفعالة وتحديد تأثيرها الإيجابي والسلبى على المنتج باستخدام تصميم Plackett-Burman

خلاصة هذه المرحلة موضحة كمثل في المخطط المجاور المعروف بـ Pareto Chart. يتضح فيه العوامل التي لها تأثير سلبي والعوامل التي لها تأثير إيجابي (السلبى ذات اللون الأزرق) زيادة قيمتها يؤثر على المنتج سلباً أما الإيجابي (ذات اللون البرتقالي) فإن زيادة قيمتها يحسن من المنتج.

- في المرحلة اللاحقة نختار ثلاث عوامل مهمة بثلاث مستويات ونستخدم تصميم Box-Behnken ولا بد في هذه المرحلة أن توجد فروق معنوية بين العوامل في تحليل التباين لنموذج الرباعي.



ANOVA for Quadratic model

Response 1: R1

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	35.78	9	3.98	39.74	0.0058	significant
A-A	2.51	1	2.51	25.07	0.0153	
B-B	2.15	1	2.15	21.52	0.0189	
C-C	14.39	1	14.39	143.83	0.0012	
AB	1.86	1	1.86	18.62	0.0229	
AC	1.33	1	1.33	13.33	0.0355	
BC	2.37	1	2.37	23.70	0.0166	
A ²	0.7756	1	0.7756	7.75	0.0688	
B ²	3.24	1	3.24	32.35	0.0108	
C ²	10.42	1	10.42	104.13	0.0020	
Residual	0.3002	3	0.1001			
Cor Total	36.08	12				

Coefficients Coded Equation Actual Equation

Term	Value
R1	=
	+92.04
	-0.5600 * A
	+0.5187 * B
	+1.34 * C
	-0.6825 * AB
	+0.5775 * AC
	+0.7700 * BC
	-0.5825 * A ²
	-1.19 * B ²
	-2.14 * C ²

Solutions Starting Points

100 Solutions found

Number	A	B	C	R1	Desirability	
1	-0.939	0.543	0.362	92.492	1.000	Selected
2	-0.933	0.844	0.156	92.357	1.000	
3	-0.243	0.280	0.426	92.456	1.000	
4	-0.852	0.474	0.415	92.485	1.000	

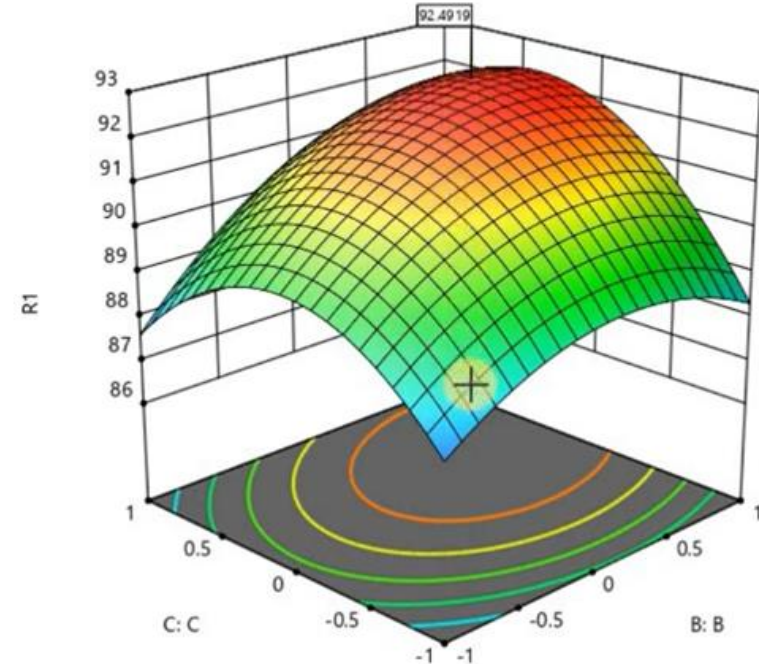
Factor Coding: Actual

R1
86.97  92.3

X1 = B
X2 = C

Actual Factor
A = -0.939118

3D Surface



هذه النتائج مأخوذة كمثال من تجارب تعليمية للدكتورة محمد حافظ

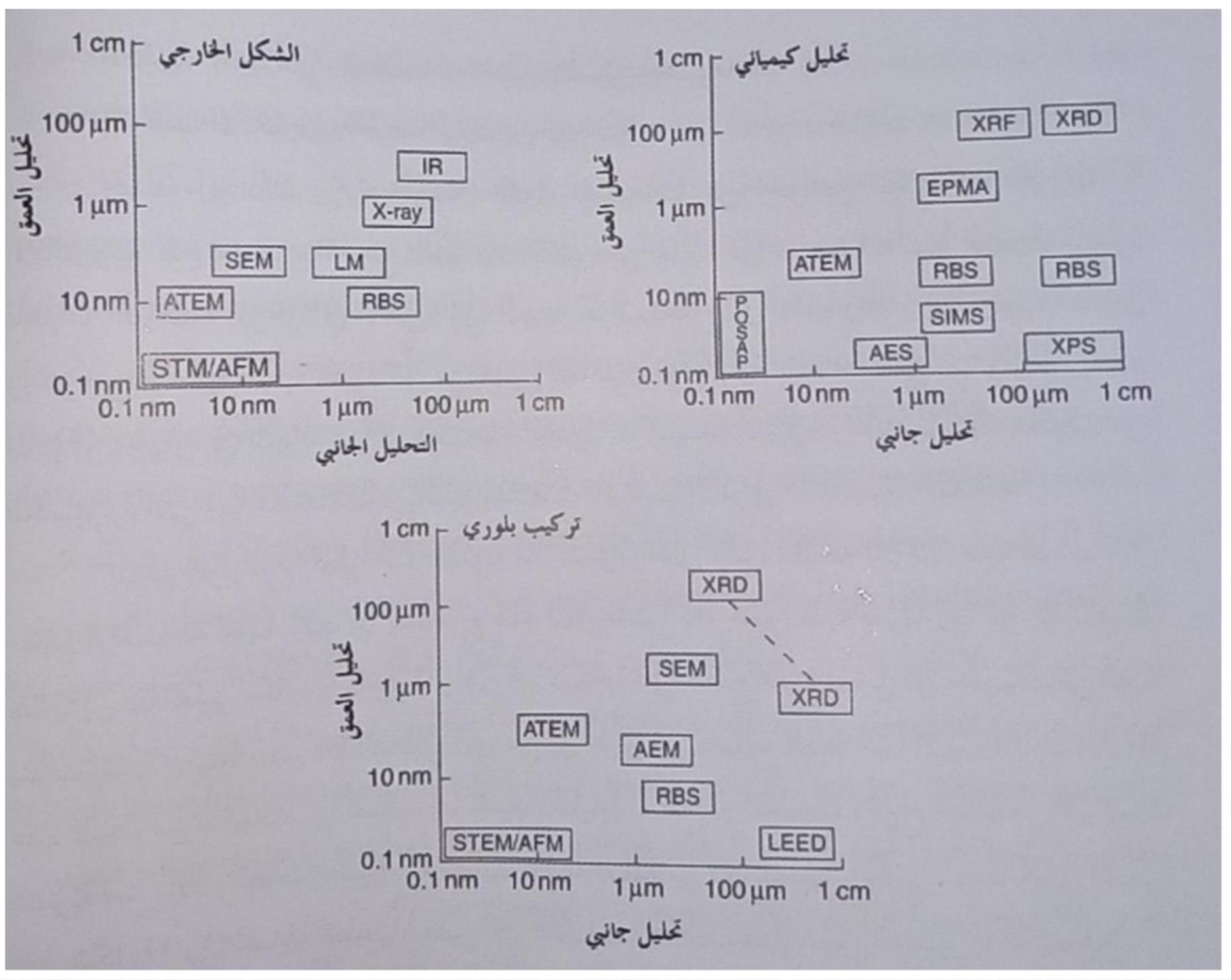


- يهدف توصيف الجسيمات النانوية المنتجة إلى تحديد البناء ووصف الشكل الظاهري، والتركيب البلوري، والكيميائي و التركيب الإلكتروني، بالإضافة إلى تحديد الخواص الميكانيكية الحرارية أو ميكانيكا الإلكترونات.
- يمكن تصنيف التقنيات المستخدمة لتوصيف الجسيمات النانوية إلى تقنيات تستهدف دراسة الشكل الخارجي وتقنيات تحدد الخصائص الكيميائية وتقنيات خاصة بدراسة التركيب البلوري.
- ✓ تقنيات التصوير

- Scanning, transmission electron microscope
- Dynamic light scattering
- Energy-dispersive X-ray spectroscopy
- X-ray absorption and X-ray fluorescence
- X-ray diffraction
- X-ray computed microtomography
- Scanning transmission X-ray microscopy
- Nano secondary ion mass spectrometry

✓ تقنيات البلازما المقترنة بالحث

- Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry
- Single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry



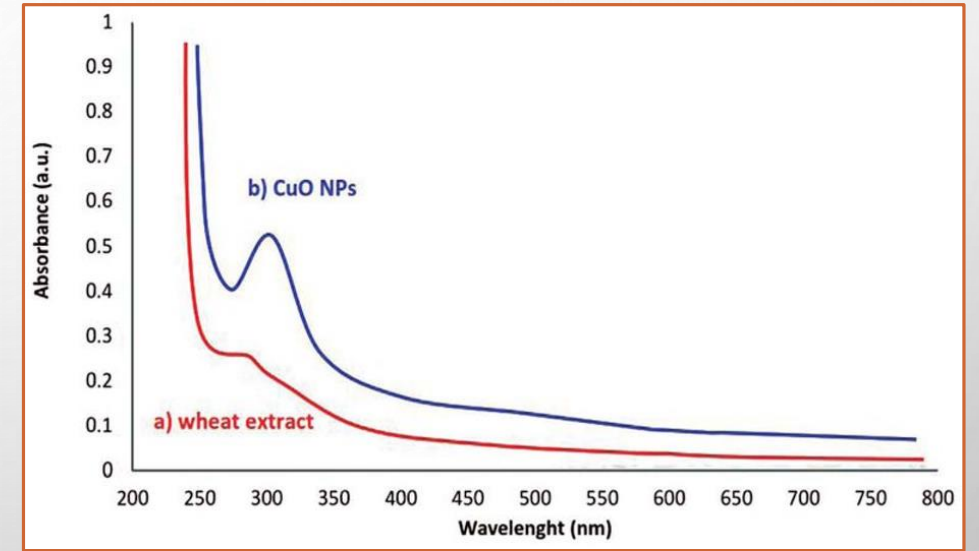
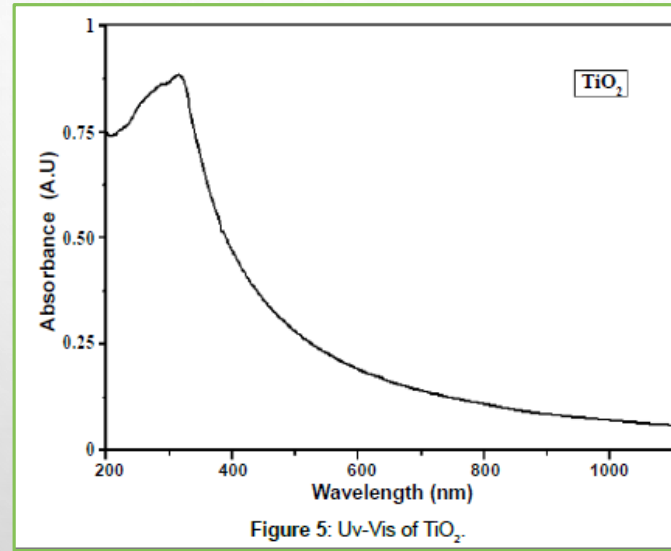
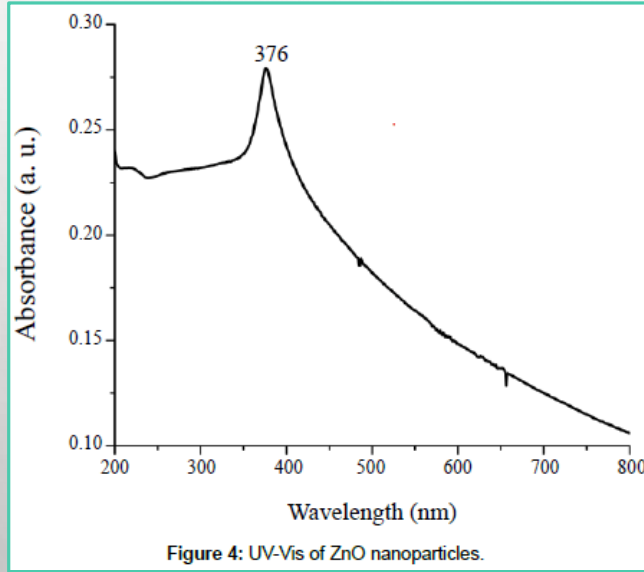
التحليل الطيفي للأشعة المرئية وفوق البنفسجية للجسيمات النانوية

تقدير النقاوة

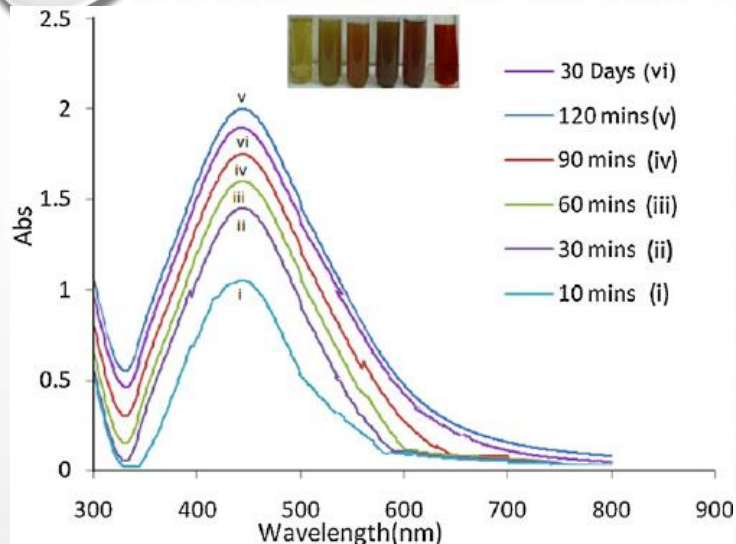
تقدير التراكيز

الكشف عن المركبات المجهولة

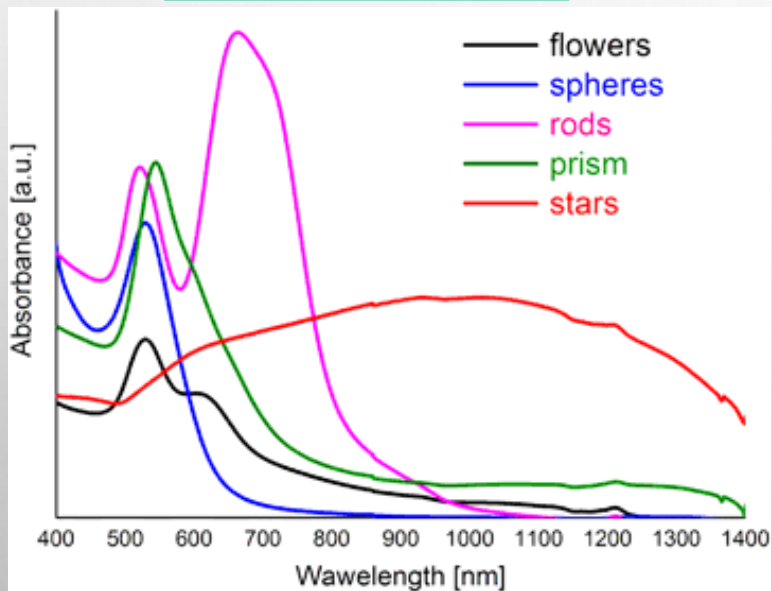
الكشف عن المجموعة الوظيفية



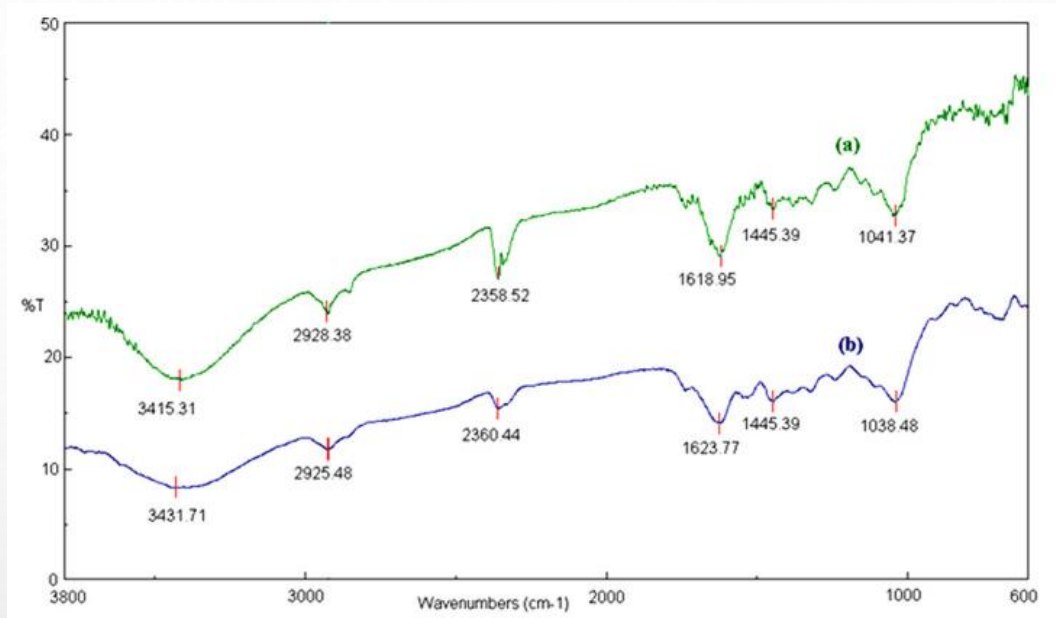
أمثلة لبعض نتائج توصيف جسيمات نانوية لدراسات علمية منشورة



UV spectra of AgNPs



UV-Vis absorption spectra of gold nanoparticles with different shapes

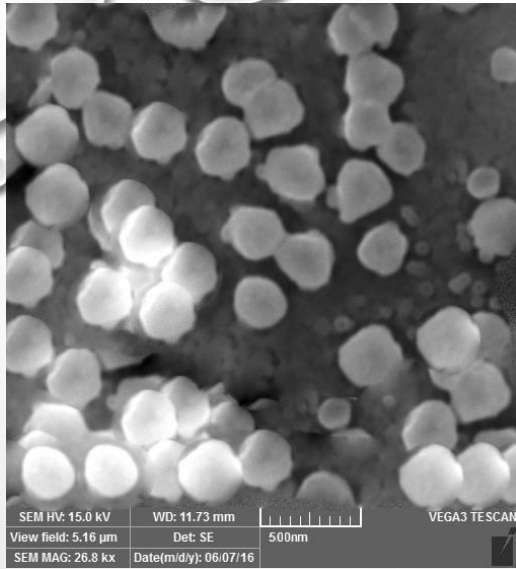


FTIR spectra of AgNPs

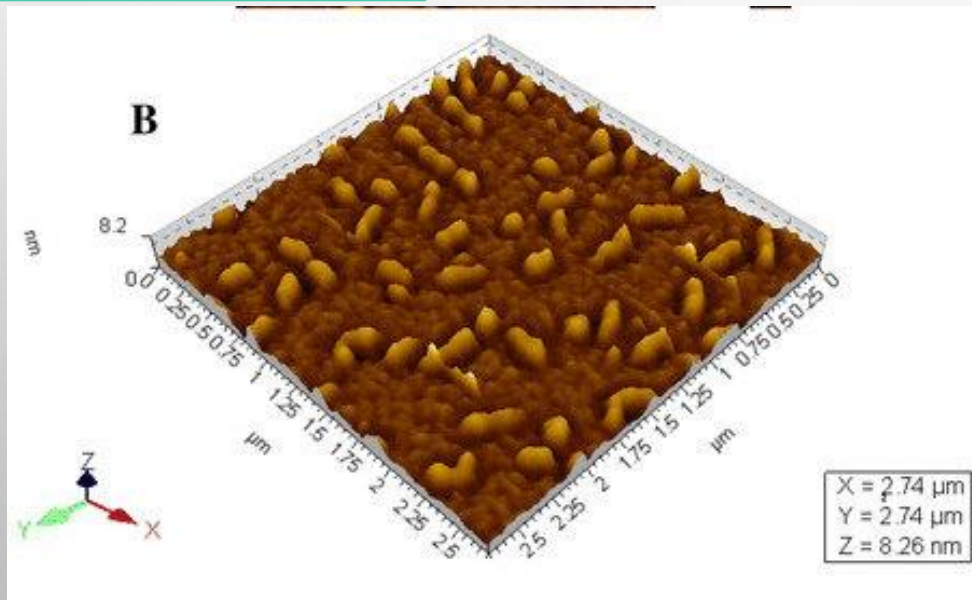
<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.03.017>

Journal of Materials Science: Materials in Medicine 28(6):92, DOI:10.1007/s10856-017-5902-y

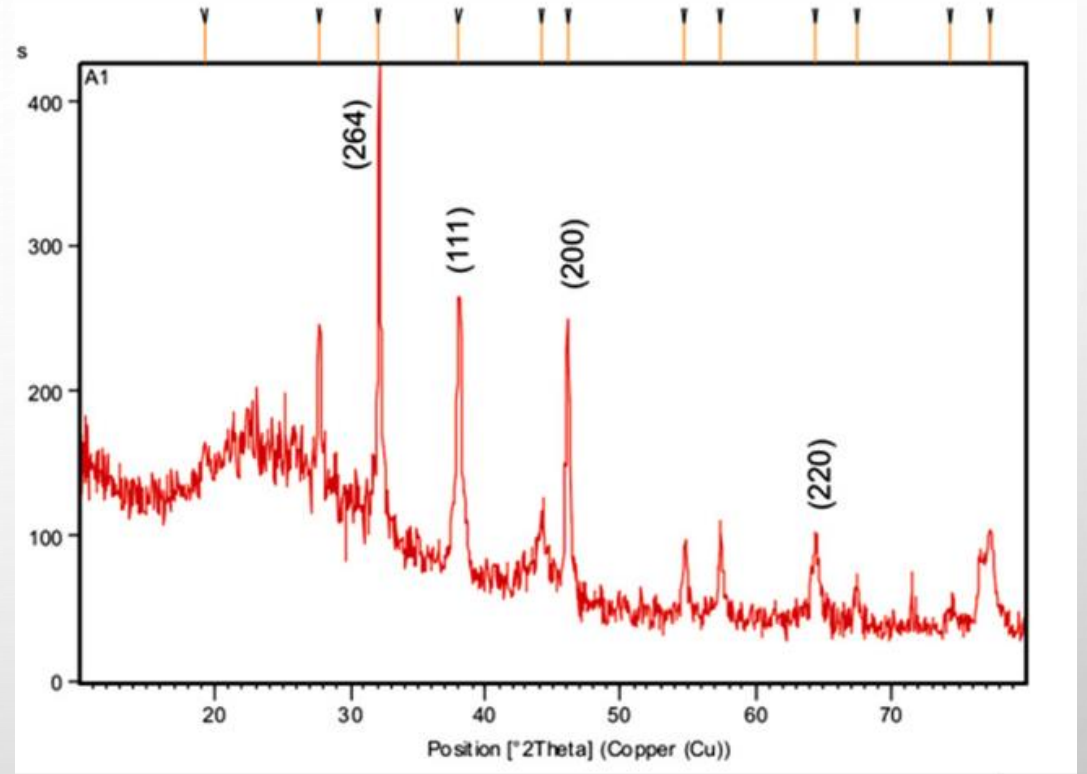
أمثلة لبعض نتائج توصيف جسيمات نانوية لدراسات علمية منشورة



SEM micrograph image of AgNPs



AFM micrograph image of AgNPs



XRD spectrum of AgNPs

التطبيقات الإحيائية للجسيمات النانوية

ظهر حديثاً مفهوم الطب النانوي Nanomedicine ويقصد به استخدامات الجسيمات النانوية في مجالات طبية واعدة تشمل مكافحة الأمراض المقاومة للأدوية وتحسين عمل الأدوية من خلال تسهيل وصولها للأعضاء المستهدفة، وفي حالات التشخيص عبر تقنيات المجلات الوميضية الأحيائية. كما أن لها مستقبل واعد وفق كثير من الدراسات في مجال توصيل الجينات، ومكافحة الخلايا السرطانية، والكشف عن الأمراض، وهندسة الأنسجة، وتحسين جودة التصوير بالرنين المغناطيسي وغيرها من التطبيقات.

توصيل الأدوية Drug Delivery

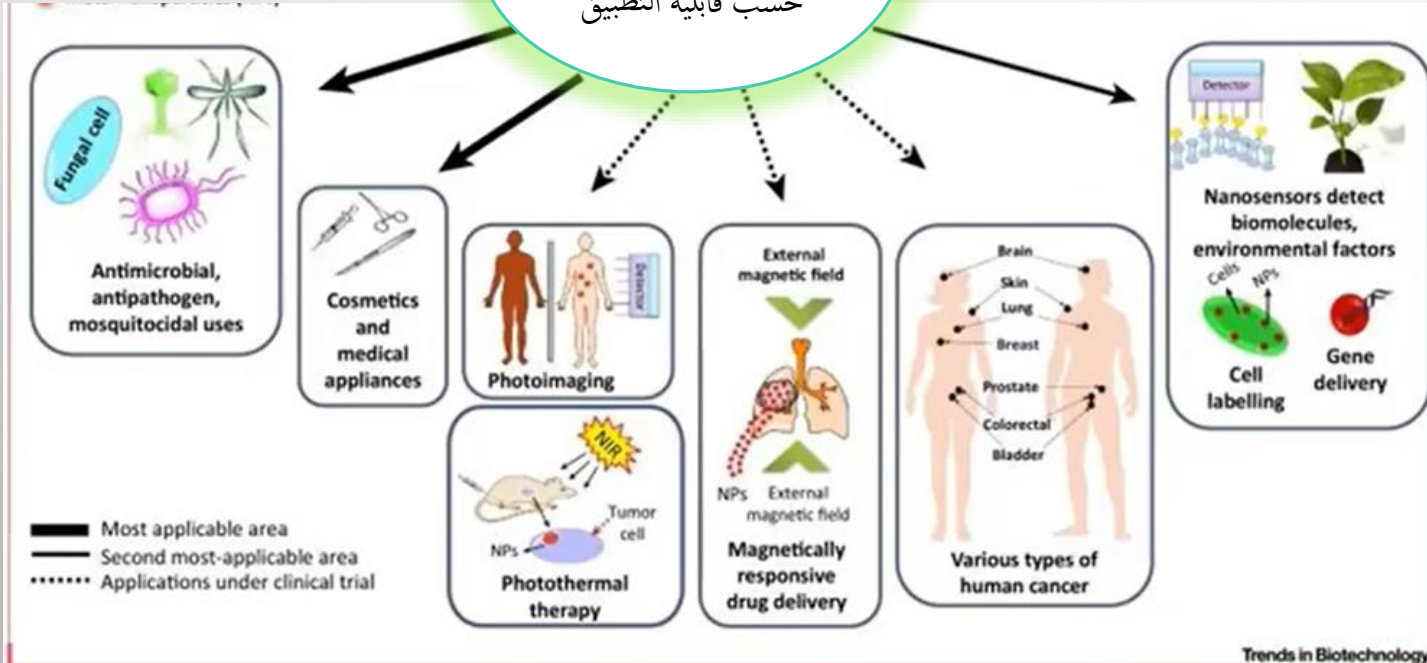
عوامل مضادة للميكروبات والخلايا السرطانية Antimicrobial and anticancer agent

عوامل محسنة لمعدل التفاعلات Reaction Rate Enhancement Agent

مجسات (مستشعرات) حيوية Biosensor

الفصل والكشف المغناطيسي Magnetic Separation and Detection

تصنيف التطبيقات
الحيوية للجسيمات نانوية
حسب قابلية التطبيق



Drug Delivery توصيل الأدوية

✓ نظرًا لصغر حجمها، يمكن لحاملات الجسيمات النانوية الحاملة للأدوية تجاوز جميع الحواجز البيولوجية التي تعيق عادةً توصيل الأدوية إلى الموقع المستهدف.

✓ وتمتاز بارتفاع مساحة سطحها إلى نسبة الحجم، مما يحسن من الحركة والتوزيع ويقلل السمية.

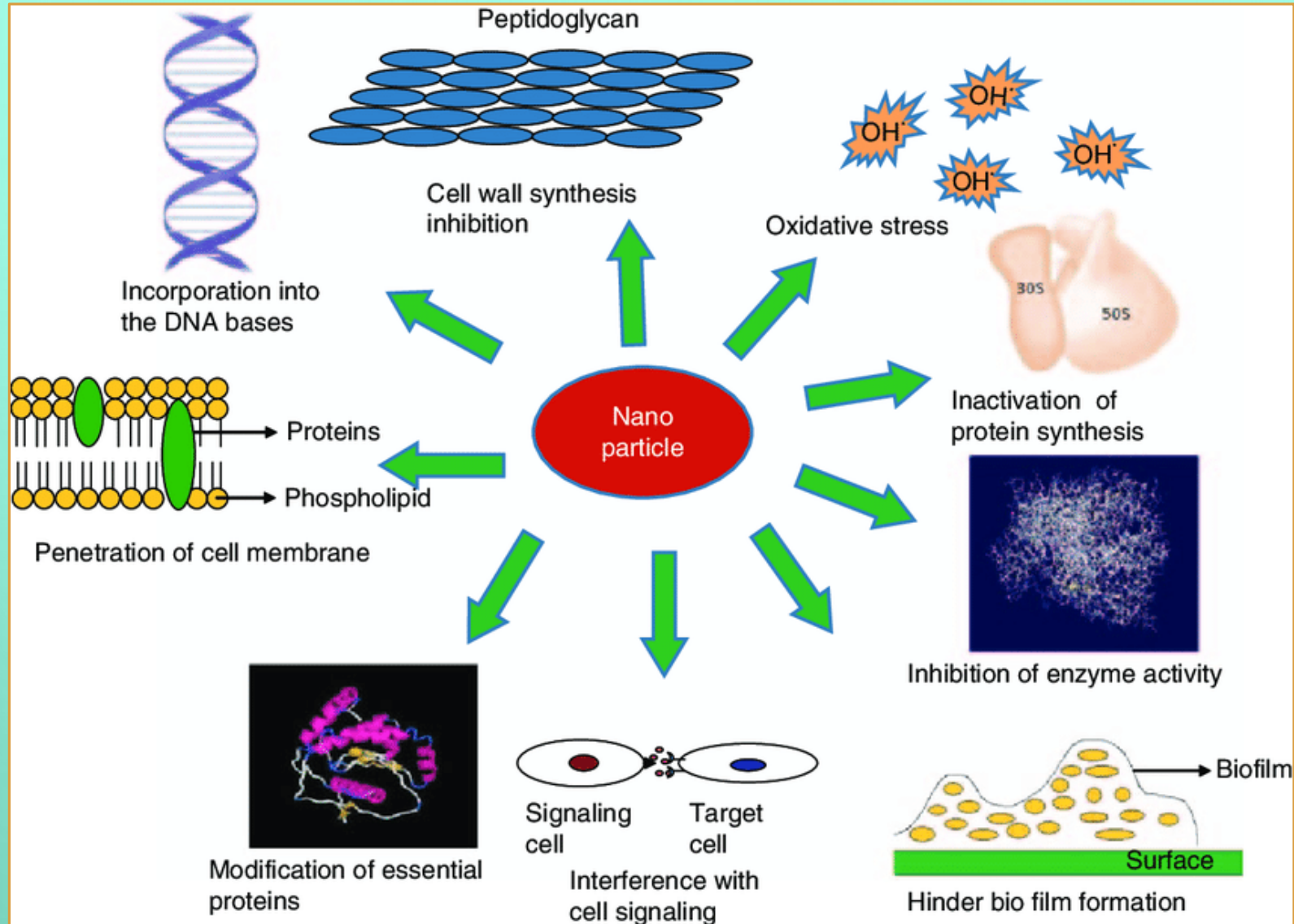
✓ تحسن قابلية الذوبان للمركبات الكارهة للماء وتجعلها مناسبة للإعطاء بالحقن.

✓ علاوة على ذلك، فهي تزيد من استقرار مجموعة متنوعة من العوامل العلاجية مثل الببتيدات وقليلة النيوكليوتيدات.

- ❖ مقاومة الممرضات الميكروبية للأدوية خطر يهدد العالم أجمع بما ذلك البلدان المتقدمة إلا أن الأمر أكثر خطورة في البلدان غير المتقدمة.
- ❖ أظهرت البحوث نتائج واعدة برهنت على كفاءة الجسيمات النانوية (على سبيل المثال جسيمات الفضة النانوية التي تنتج باستخدام *Trichoderma viride*) في مكافحة الممرضات المقاومة للأدوية.
- ❖ حسنت الجسيمات النانوية فعالية بعض الأدوية من خلال آلية الفعل التآزري ومن تلك المضادات الحيوية التي تحسنت فعاليتها ، ampicillin, kanamycin, erythromycin, and chloramphenicol.
- ❖ يمكن للجسيمات النانوية أن تصل إلى أماكن في البيئة لا تصلها أي من المطهرات الأخرى، ويمكن أن تدعم بها كثير من السطوح بحيث تمنع التلوث الميكروبي
- ❖ استطعت العديد من الجسيمات النانوية تثبيط الخلايا السرطانية مثل خلايا سرطان الثدي وغيرها، وكل يوم تأتي التقارير العلمية بنتائج مبشرة في هذا السياق.

➤ الآليات المحتملة لنشاط الجسيمات النانوية المضادة للممرضات الميكروبية.

➤ من خلال هذه المخطط، ناقش الآثار الجانبية للجسيمات النانوية على خلايا الإنسان والحيوان.



عوامل محسنة لمعدل التفاعلات Reaction Rate Enhancement Agent

- ❖ استخدمت الجسيمات النانوية في تحسين معدلات التفاعل في جميع أنواع التفاعلات المعروفة
- ❖ حسنت الجسيمات النانوية المغناطيسية معدل التفاعلات الميكروبية
- ❖ تمتلك الجسيمات النانوية قوة إدمصاص عالية جدا على السطح الخارج للخلية مما يؤهلها لكثير من المهام الحيوية مثل ضمان إنتشار الخلايا في محاليلها بدون خلط وإمكانية جمعها مرة أخرى للإستخدام بنفس الكفاءة السابقة تقريبا.

مجسات (مستشعرات) حيوية Biosensor

- ❖ ثبت أن لها قدرة عالية في الكشف عن بيروكسيد الهيدروجين وهذا يمنحها تطبيقات واسعة في علوم الغذاء والدواء والبيئة.
- ❖ صنعت سبيكة فضة وذهب نانوية بواسطة خلايا الخميرة واستخدمت كمستشعر كهروكيميائي حساس للـ vanillin، وطورت قدرتها للكشف عن المركب في أقل من خمس دقائق وبتركيز تصل إلى حدود 40 نانومول.
- ❖ طور الباحثون مجس للكشف عن الجلوكوز من خلال تحفيز جسيمات الذهب النانوية للإنزيم الـ glucose oxidase، تصل دقة هذا المجس حتى 17 ميكرومول.

الفصل والكشف المغناطيسي Magnetic Separation and Detection

- ❖ الجسيمات النانوية المغناطيسية من خلال قدرتها على الإرتباط بالمركبات الحيوية يمكن تطبيقها في مجال المعلنات الحيوية
- ❖ الكشف السريع والحساس عن الملوثات في البيئة مثل الهرمونات سموم المنظفات وغيرها من خلال تقييد الأجسام المضادة في جسيمات مغناطيسية بكتيرية تعرف بـ bacterial magnetic particles
- ❖ تقييد الأجسام المضادة وحيدة النسيلة في الجسيمات المغناطيسية البكتيرية أدى إلى الكشف عن الـ Xenoestrogens (مركبات صناعية أو طبيعية عند دخوله للجسم تعمل كهرمون الأستروجين أو تحفز نشاطه)

الخلاصة

- تقسيم المتدربين إلى مجموعات لوضع خلاصة لهذه الدورة تتضمن ما يلي:
- لماذا الميكروبات مفضلة في العملية الإنتاجية؟
- ما خصائص الميكروبات التي تستخدم في الإنتاج؟
- كيف تحدد الميكروب المناسب لإنتاج الجسيمات النانوية؟
- ما طرق إنتاج الجسيمات النانوية بشكل عام ولماذا نفضل الميكروبات عن غيرها؟
- كيف يمكن الوصول إلى أفضل ظروف وعوامل إنتاجية، للتحكم في شكل وحجم الجسيمات النانوية المنتجة بالميكروبات؟
- ما التطبيقات التي يمكن أن نستخدم فيها الجسيمات النانوية المنتجة من الميكروبات؟

وفي الختام
خالص تمنياتي لكم جميعاً بالتوفيق والسداد،
شاكراً لكم حسن الإستماع،
سائلاً الله تعالى أن تكون أهداف ومخرجات الدورة قد تحققت على
أكمل وجه.
والله من وراء القصد