التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية بإستخدام الأحياء الدقيقة

إعداد

جمال محمد علي خالد

أهداف ومخرجات الدورة:

الهدف العام: إكساب المتدرب المعارف الإساسية 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 الإنتاجة بإستخدام طرق تحليل إحصائية وتصاميم تجريبية مناسبة
- خصائص الجسيمات النانوية المنتجة بالطرق الفيزيائية والكيمائية المختلفة
- كفاءة الجسيمات النانوية من الناحية الإحيائية

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

من حيث معدل النمو وحاجتها للمساحة

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

من حيث تأثرها بتقلبات المناخ والأمراض

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

من حيث قدرتها على استغلال المخلفات

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

ما الأنظمة الحيوية الآخرى 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

يمكن عزل الميكروبات من عدة مصادر أهمها

- التربة
- من النباتات
- من الإنسان والحيوانات
- المياه

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 السؤالين يحددا 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 بإستخدام مايلي:

-منحنى النمو القياسي

-المعادلات الرياضية المباشرة

تتطلب الطريقة الأولى جهد وتقدير للعدد الكلي في أوقات متعددة ثم رسم العلاقة بين الوقت ولوغاريتم 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 الإجيال 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 لإنها مهمة في اختيار الميكروب المناسب

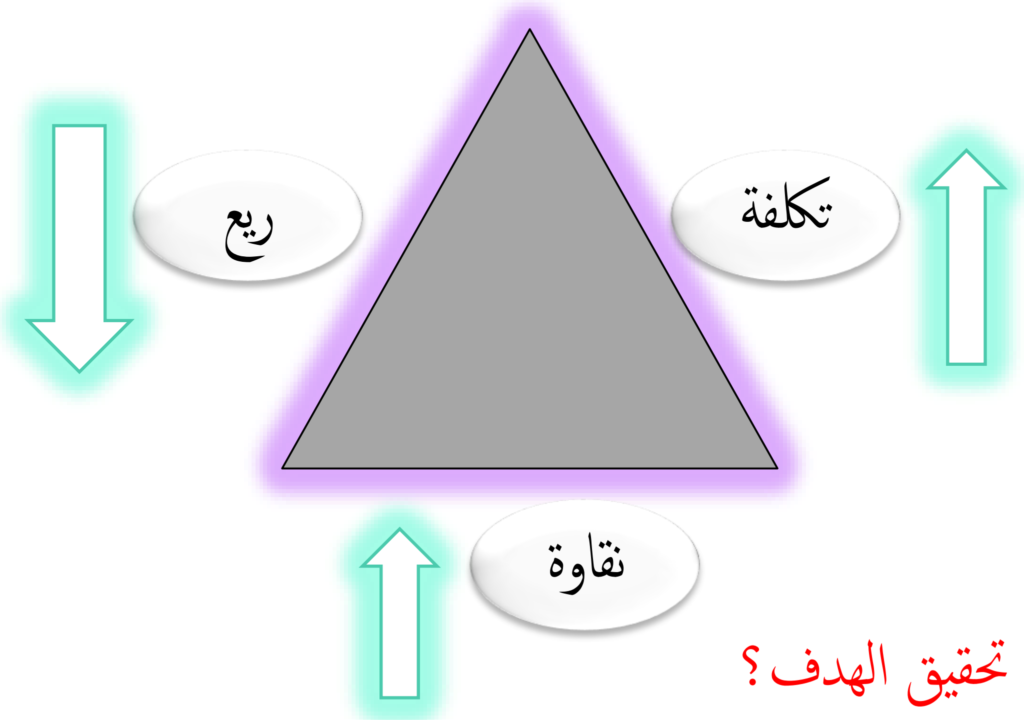
أهم الخصائص في الميكروب المستخدم في إنتاج الجسيمات النانوية

- 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
- يسهل فصله من بيئة النمو
- لديه ثبات فسيولوجي
- لدية ثبات وراثي
- يسهل 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 ريع 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 ماذكر سابقا تساعد على تحقيق الهدف؟

الجسيمات النانوية (تعريف ، خصائص عامة)

جسيمات متناهية الصغر ذات أحجام تتراوح أبعادها مابين 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 تكبيرة 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 وتشييد واستعمال تراكيب ذات خصائص وظيفية أكانت نظم مقيدة في ثلاثة أبعاد، أو في بعدين أو بعد واحد
- -تعتمد خصائصها في الغالب على شكلها وحجمها وتتباين 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...ووغيرها.
- يمكن أنتاجها 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

https://en.wikipedia.org/wiki/Nanoparticle

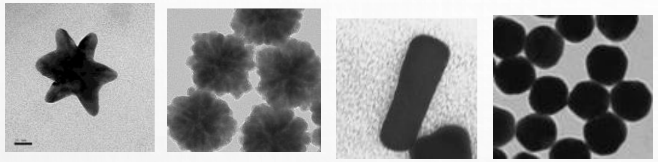
طرق الإنتاج

- يمكن إنتاج الجسيمات النانوية من مواد صلبة أو سائلة سواء أكانت معادن أوعوازل 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)

رغم نجاح الطرق الكيمائية والفيزائية في إنتاج جسيمات نانوية بنقاوة عالية وبإحجام وأبعاد مناسبة إلا أن هناك محددات عامة لهذه الطرق تتعلق بالتالي:

- ✓ -التكلفة
- ✓ -استخدام مواد خطرة وسامة قد تمتص وتظل من ضمن مكونات الأسطح البنائية للجسيمات النانوية

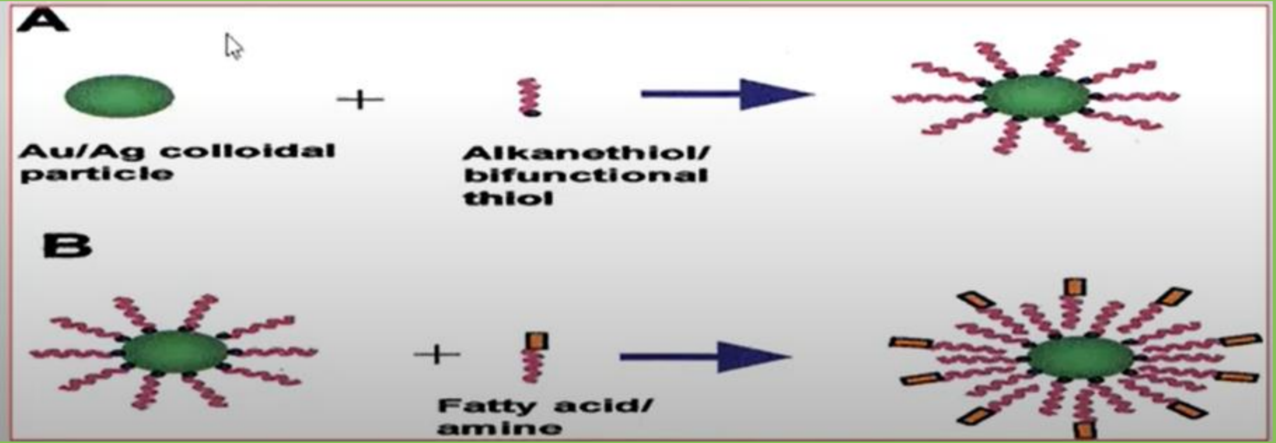
طرق تصنيعية بهذا الإيجاه
Top-down



المدى النانوي

طرق تصنيعية بهذا الإيجاه
Bottom-Up

- طرق ميكانيكية
- التصنيع الحيوي
- الطرق الكيمائية الرطبة
- تكسير المعقدات الحيوية
- طرق التحلل الإشعاعي
- طرق الإنحلال الحراري
- تكاثف الغاز الخامل
- التكاثف من البلازما



https://en.wikipedia.org/wiki/Nanoparticle

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 الراوبط الكيمائية 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 وآمنه من الناحية البيئية وينتج عنها جسيمات منخفضة السمية، بنقاوة مقبولة وتكلفة منخفضة.

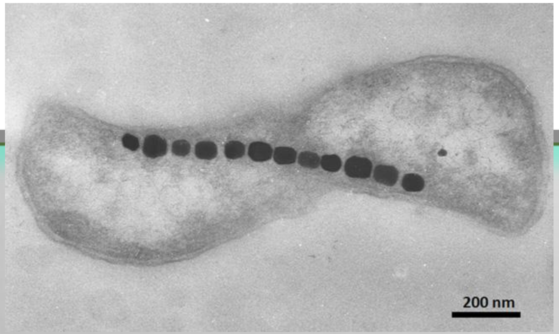
أهم الميكروبات المرشحة لهذا الغرض وخصائصها الإنتاجية الأولية (بالإضافة للخصائص العامة التي ذكرت في البداية)، **مع ملاحظة هامة أن الميكروبات القادرة على تصنيع الجسيمات النانوية قد اكتسبت هذه القدرة من تكيفها مع ظروف الإنتاج في بيئتها الطبيعية (تحويل حيوية للمعادن أو أملاحها إلى جسيمات نانوية):**-

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 اللالكترونات 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

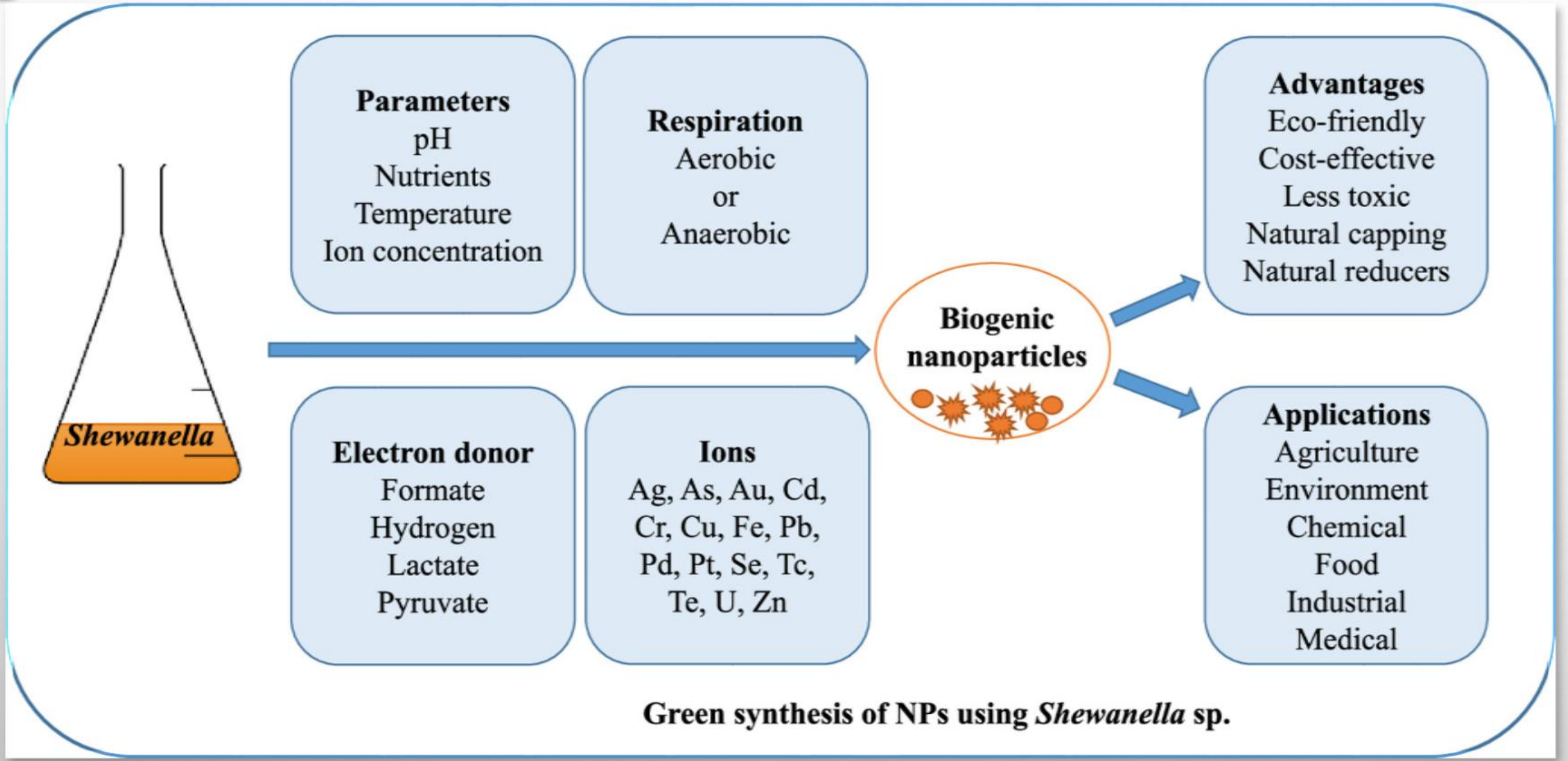


© 2010 Nature Education All rights reserved

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

Ghosh et al., (2021). https://doi.org/10.3389/fchem.2021.626834

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

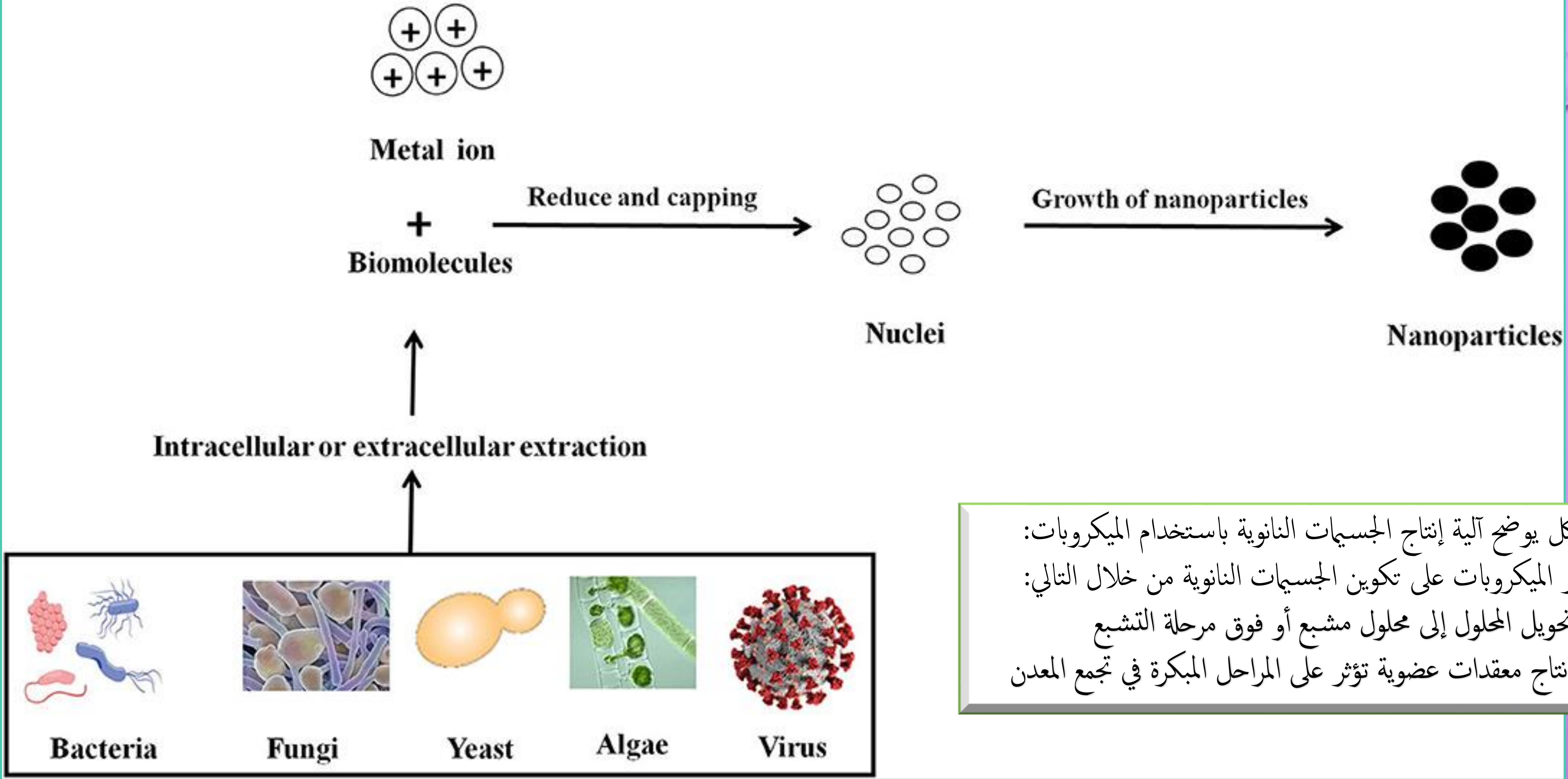


المبدأ الأساسي لعمل هذه المجموعة من الميكروبات هو قدرتها على القيام بعملية التمعدن الحيوي المعروفة بـ والتي يندمج فيها عملية أكسدة العديد من مانحة الألكترونات (مثل اللاكتات ، البيروفات ، الهيدروجين) وإختزال مدى واسع من المعادن (كما هو مشاهد في الشكل) لينتج في النهاية جسيمات نانوية

DOI: https://doi.org/10.1128/AEM.01390-21

Produced NPs	Organism	Chemical(s) used	Aerobic or anaerobic	Electron donor	NP size (nm)	Significance
Copper	*S. oneidensis*	$CuSO_4$	Anaerobic	Lactate	20–40	Catalysis
Copper	*S. loihica*	$CuCl_2{\cdot}2H_2O$	Anaerobic		10–16	Antibacterial activity
Gold	*S. algae*	$HAuCl_4$	Anaerobic	H_2	10–20	Intracellular recovery of gold
Silver	*S. oneidensis*	$AgNO_3$	Aerobic		4 ± 1.5	Antibacterial activity
Magnetic	*S. algae*, *Shewanella* spp.	Ferrihydrite	Anaerobic	Lactate	6–26	Superparamagnetic magnetite particles
Magnetic	*S. piezotolerans*	Ferrihydrite	Anaerobic	Lactate	4–8	Superparamagnetic magnetite particles

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



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

Ghosh et al., (2021). https://doi.org/10.3389/fchem.2021.626834

القائمة التالية مأخوذة عن

Ghosh et al., (2021). https://doi.org/10.3389/fchem.2021.626834

	Nanoparticles	Size	Application	References
Bacteria				
Bacillus subtilis	TiO_2	10–30 nm	Photocatalytic effect on aquatic biofilm	Dhandapani et al., 2012
Lactobacillus sp.	TiO_2	50–100 nm	Antibacterial activity	Ahmad et al., 2014
Lactobacillus sp.	TiO_2	50–100 nm	Immobilization and refolding of enzyme	Ahmad et al., 2013
Escherichia coli	Ag	5–50 nm	Antimicrobial Activity	Saeed et al., 2020
Exiguobacterium aurantiacumm	Ag	5–50 nm	Antimicrobial Activity	Saeed et al., 2020
Brevundimonas diminuta	Ag	5–50 nm	Antimicrobial Activity	Saeed et al., 2020
Thermophilic *Bacillus* sp. AZ1	Ag	9–32 nm	Antimicrobial Activity	Deljou and Goudarzi, 2016
Gordonia amicalis	Ag	5–25 nm	Antioxidant scavenging activity	Sowani et al., 2016
Lactobacillus acidophilus	Ag	45–60 nm	Genomic toxicity	Namasivayam et al., 2010
Acinetobacter sp. SW30	Au	15–40 nm		Wadhwani et al., 2016
Lactobacillus kimchicus DCY51	Au	5–30 nm	Antioxidant activity	Markus et al., 2016
Paracoccus haeundaensis BC74171	Au	20.93 ± 3.46 nm	Antioxidant activity and antiproliferative effect	Patil et al., 2019
Micrococcus yunnanensis	Au	53.8 nm	Antibacterial, Anticancer	Jafari et al., 2018
Mycobacterium sp.	Au	5–55 nm	Anticancer	Camas et al., 2018
Lactobacillus sp.	CdS	2.5–5.5 nm		Prasad and Jha, 2010
Aeromonas hydrophila	ZnO	57.7 nm	Antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Aspergillus flavus*	Jayaseelan et al., 2012

قائمة البكتيريا

يتبع .....قائمة البكتيريا

Lactobacillus plantarum	ZnO	7–19 nm		Selvarajan and Mohanasrinivasan, 2013
Lactobacillus sporogenes	ZnO	145.70 nm	Antimicrobial activity	Mishra M. et al., 2013
Bacillus subtilis	Fe_3O_4	60–80 nm		Sundaram et al., 2012
Lactobacillus fermentum	Iron oxide	10–15 nm		Park et al., 2014
Thermoanaerobacter ethanolicus	Magnetite	35–65 nm		Yeary et al., 2005
Shewanella loihica	Cu	10–16 nm	Antibacterial activity	Lv et al., 2018
Bacillus licheniformis	cadmium sulfide	20–40 nm	Antibacterial activity	Shivashankarappa and Sanjay, 2015
Serratia nematodiphila	zinc sulfide	80 ± 10 nm	Antibacterial activity	Malarkodi and Annadurai, 2013
Idiomarina sp. strain PR58-8	Lead(IV) Sulfide	6–10 nm	Bioimaging	Srivastava and Kowshik, 2017
Bacillus sp.	Selenium nanoparticles	80–220 nm	Antioxidant and cytotoxic effect	Forootanfar et al., 2014
Pantoea agglomerans	Selenium nanoparticles	90–110 nm	Antioxidant activity	Torres et al., 2012

قائمة البكتيريا الخيطية

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

قائمة الفطريات (الأعفان)

Fungus				
Penicillium sp.	Ag	25–30 nm	Antibacterial	Singh et al., 2014
Neurospora crassa	Ag	3–50 nm		Castro-Longoria et al., 2011
Verticillium sp.	Ag	25 ± 12 nm	Antimicrobial activity	Mukherjee et al., 2001
Trichoderma longibrachiatum	Ag	10 nm	Antifungal against phyto-pathogenic fungi	Elamawi et al., 2018
Penicillium oxalicum	Ag	60–80 nm	Antibacterial activity	Feroze et al., 2020
Aspergillus niger	Ag	13.2–646.8 nm	Antifungal effect	Gursoy, 2020
Penicillium janthinellum DJP06	Ag	1–30 nm		Pareek et al., 2020
Cladosporium perangustum	Ag	30–40 nm	Antioxidant, anticancer, and nano-toxicological study	Govindappa et al., 2020
Macrophomina phaseolina	Ag	5–40 nm	Antimicrobial properties	Chowdhury et al., 2014
Neurospora crassa	Au	3–100 nm		Castro-Longoria et al., 2011
Trichoderma harzianum	Au	32–44 nm	Antibacterial activity	Tripathi et al., 2018
Morchella esculenta	Au	16.51 nm	Antimicrobial activity and cytotoxic activity	Acay, 2020
Cladosporium sp.	Au	5–10 nm	Photodegradation, *in vitro* anticancer activity and *in vivo* antitumor studies	Munawer et al., 2020
Penicillium janthinellum DJP06	Au	1–40 nm		Pareek et al., 2020
Neurospora crassa	bimetallic Au/Ag	3–110 nm		Castro-Longoria et al., 2011
Coriolus versicolor	CdS	100–200 nm,		Sanghi and Verma, 2009
Thermophilic fungus *Humicola* sp.	CeO_2	12–20 nm		Khan and Ahmad, 2013
Aspergillus niger	ZnO	53–69 nm	Antibacterial activity	Kalpana et al., 2018
C. geniculatus	ZnO	2–6 nm		Kadam et al., 2019
Agaricus bisporus	ZnS	2.9 nm		Senapati et al., 2015
Fusarium oxysporum	ZnS	~38 nm		Mirzadeh et al., 2013
Penicillium chrysogenum	Pt	5–40 nm	Cytotoxicity	Subramaniyan et al., 2018
Aspergillus flavus	TiO_2	62–74 nm	Antimicrobial activity	Rajakumar et al., 2012

فائدة الخمائر

Yeast				
Yarrowia lipolytica (NCYC 789)	Ag	2–5 nm	Activity against *E. coli, S. aureus*	Apte et al., 2013
yeast strain MKY3	Ag	2–5 nm		Kowshik et al., 2002
Yarrowia lipolytica DSM 3286	Ag	12.4 ± 5.22 nm	Antibacterial activity	Bolbanabad et al., 2020
Candida guilliermondii	Ag	10–20 nm	Antimicrobial activity	Mishra et al., 2011
Saccharomyces boulardii	Ag	3–10 nm	Anticancer activity	Kaler et al., 2013
Kluyveromyces marxianus	Ag	3–12 nm	Antimicrobial agent	Ashour, 2014
Candida utilis 22	Ag	6–20 nm	Antimicrobial agent	Ashour, 2014
Candida utilis	Ag	20–80 nm	Antibacterial activity against pathogenic organisms	Waghmare et al., 2015
Saccharomyces cerevisiae	Ag	10–60 nm	Antimicrobial effect	Sowbarnika et al., 2018
Candida glabrata	Ag	2–15 nm	Antibacterial and antifungal	Jalal et al., 2018
Rhodotorula glutinis	Ag	15.45 ± 7.94 nm	Antifungal, catalytic and cytotoxicity activities	Cunha et al., 2018
Rhodotorula mucilaginosa	Ag	13.70 ± 8.21 nm	Antifungal, catalytic and cytotoxicity activities	Cunha et al., 2018
Candida guilliermondii	Au	50–70 nm	Antimicrobial activity	Mishra et al., 2011
Yarrowia lipolytica NCIM	Au	15 nm		Agnihotri et al., 2009
Magnusiomyces ingens LH-F1	Au	10–80 nm	Catalytic activities for the reduction of nitrophenols	Zhang et al., 2016
Saccharomyces cerevisiae	CdS	3.75 nm		Prasad and Jha, 2010
Candida albicans	CdS	50–60 nm	Bactericidal potential against *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus*	Kumar et al., 2019
Baker's yeast	TiO_2	6.7 ± 2.2nm	Antibacterial activity	Peiris et al., 2018
Saccharomyces cerevisiae	TiO_2	12 nm		Jha et al., 2009a
Baker's yeast	Fe_2O_3	2–10 nm	Detection H_2O_2 and Glucose	Mishra et al., 2015
Saccharomyces cerevisiae	Sb_2O_3	100 nm		Jha et al., 2009b
Saccharomyces cerevisiae	Amorphous iron phosphate	50–200 nm		He et al., 2009

قائمة الطحالب

Alga				
Neochloris oleoabundans	Ag	40 nm	Antibacterial	Bao and Lan, 2018
Enteromorpha compressa	Ag	4–24 nm	Antimicrobial, Anticancer	Ramkumar et al., 2017
Nostoc linckia	Ag	5–60 nm	Antibacterial	Vanlalveni et al., 2018
Leptolyngbya	Ag	5–50 nm	Antibacterial, Anticancer	Zada et al., 2018
Spyridia fusiformis	Ag	5–50 nm	Antibacterial	Murugesan et al., 2017
Chaetomorpha linum	Ag	70–80 nm	Efficient anticancer agent	Acharya et al., 2021
Chlorella ellipsoidea	Ag	220.8 ± 31.3 nm	Photophysical, catalytic, and antibacterial activity	Borah et al., 2020
Amphiroa rigida	Ag	25 nm	Antibacterial, cytotoxicity, and larvicidal efficiency	Gopu et al., 2020
Ulva armoricana sp.	Ag	33 nm	Bactericidal activity	Massironi et al., 2019
Spirulina platensis	Au	15.60–77.13 nm	Antiviral activity	El-Sheekh et al., 2020
Sargassum cymosum	Au	7 and 20 nm		Costa et al., 2020
Tetraselmis kochinensis	Au	5–35 nm		Senapati et al., 2012
Stephanopyxis turris	Au	10–30 nm		Pytlik et al., 2017
Galaxaura elongate	Au	3.85–77 nm	Antibacterial	Abdel-Raouf et al., 2017
Cystoseira baccata	Au	8.4 nm	Anticancer	Gonzalez-Ballesteros et al 2017
Spirulina platensis	Pd	10–20 nm	Adsorbent	Sayadi et al., 2018
Chlorella vulgaris	Pd	5–20 nm		Arsiya et al., 2017
Sargassum wightii	ZrO_2	18 nm	Antibacterial	Kumaresan et al., 2018
Chlorella pyrenoidosa	CdSe QD	4–5 nm	Imatinib sensing	Zhang Z. et al., 2018

المسارات التصنيعية المحتملة:

- منتاجات أيضية خارج خلوية تستخدم في الإنتاج (مستخلص خالي من الخلايا الميكروبية)
  - مثال إنتاج جسيمات الفضة النانوية بإستخدام أنواع تابعة لجنس *Pseudomonas* و *Arthrobacter*

- تجميع الجسيمات النانوية خارج الخلية
  - مثال إنتاج جسيمات الفضة النانوية بإستخدام *Pseudomonas stutzeri*

- إنتاج الجسيمات النانوية في منطقة المحيط البلازمي حيث تتواجد أنواع متعددة من الإنزيمات
  - مثال إنتاج جسيمات الفضة النانوية بإستخدام أنواع تابعة لجنس *Bacillus*

- تجميع الجسيمات النانوية داخل الخلية
  - مثال إنتاج جسيمات الفضة والذهب النانوية بإستخدام أنواع تابعة لبكتيريا حامض اللاكتيك (اللبن).

- تجميع الجسيمات النانوية على سطح الخلية الخارجي وفي الداخل الخلية
  - إنتاج جسيمات نانوية باستخدام أنواع من السيانوبكتيريا

- تلعب نواتج الإيض الثانوية الخارج خلوية دورا هاما في إختزال إيونات المعادن ، تغليف وحماية الإجسام 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 (أيهما يفضل عن الأخر ولماذا)؟

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

- تجميع إيونات 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 بآواصر معينة (مثلا الجسيمات النانوية لكبريتيد الكادميوم تتطلب بآواصر كبريتدية وروابط معقدة تربط بين المجموعة الكربوكسيلية في الكادميوم ثايوليت والمجموعة الأمينية في البروتينات من خلال الآواصر 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

- تعتمد 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 وباعتبارها 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 التصاميم التجريبية التي يمكن من خلالها تحديد أفضل ظروف إنتاجية وتحديد وجود فروق معنوية بين التجارب المختلفة من خلال تحليل التباين باستخدم 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 لايعرف فيها العامل الأكثر تأثيرا 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؟

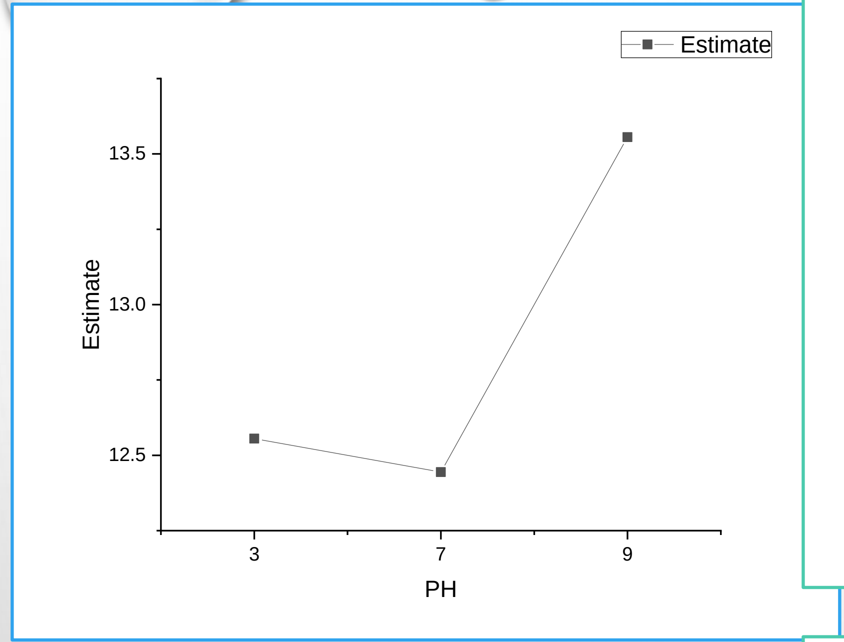
تصميم تجربة عاملية بمستويات عدة لإختيار أفضل ظروف إنتاجية مثال على إنتاج الجسيمات النانوية

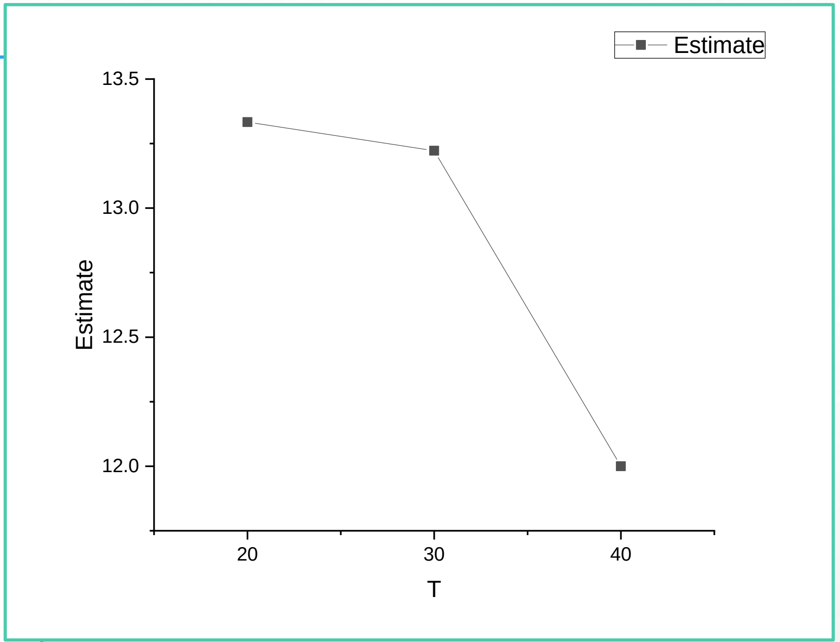
pH	T	C	R (mg/L)
3	20	0.5	12
3	20	1	13
3	20	1.5	12
3	30	0.5	14
3	30	1	13
3	30	1.5	14
3	40	0.5	12
3	40	1	11
3	40	1.5	12
7	20	0.5	13
7	20	1	14
7	20	1.5	15
7	30	0.5	11
7	30	1	11
7	30	1.5	12
7	40	0.5	13
7	40	1	11
7	40	1.5	12
9	20	0.5	16
9	20	1	13
9	20	1.5	12
9	30	0.5	14
9	30	1	13
9	30	1.5	17
9	40	0.5	12
9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

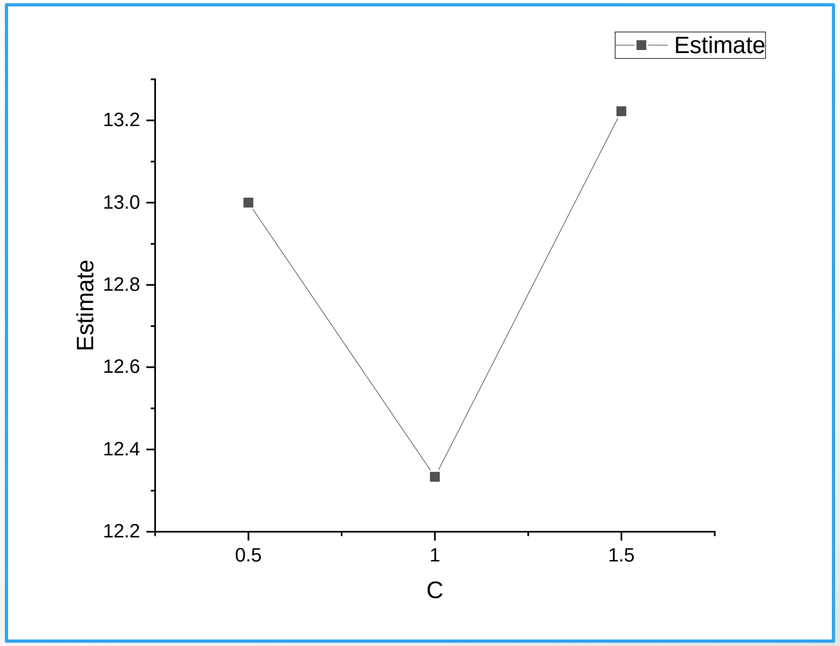
تحليل التباين لثلاثة عوامل باستخدام OriginPro 2018

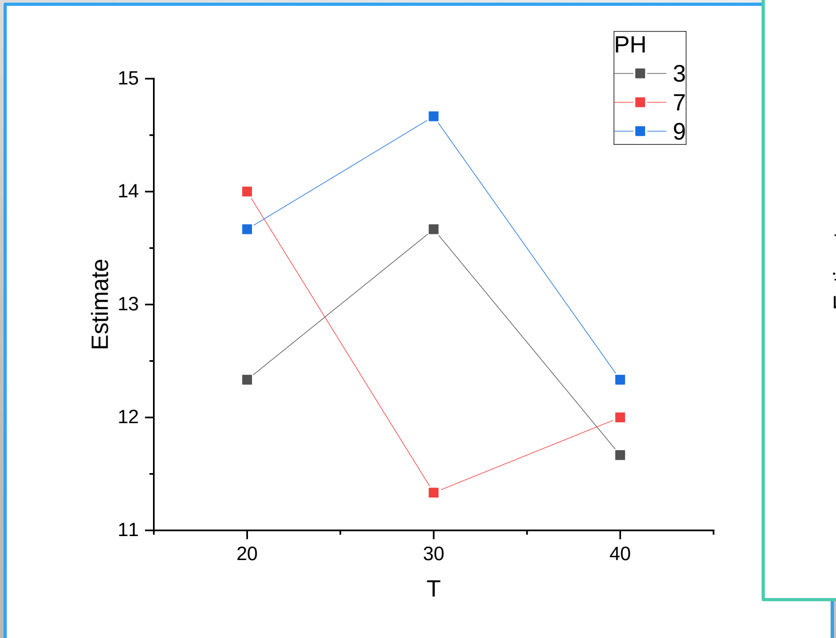
	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	P Value
PH	2	6.74074	3.37037	0	1
T	2	9.85185	4.92593	0	1
C	2	3.85185	1.92593	0	1
PH * T	4	16.14815	4.03704	0	1
PH * C	4	1.48148	0.37037	0	1
T * C	4	5.03704	1.25926	0	1
PH * T * C	8	14.2963	1.78704	0	1
Model	26	57.40741	2.20798	0	1
Error	0	3.63798E-12	-- 0	0	
Corrected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

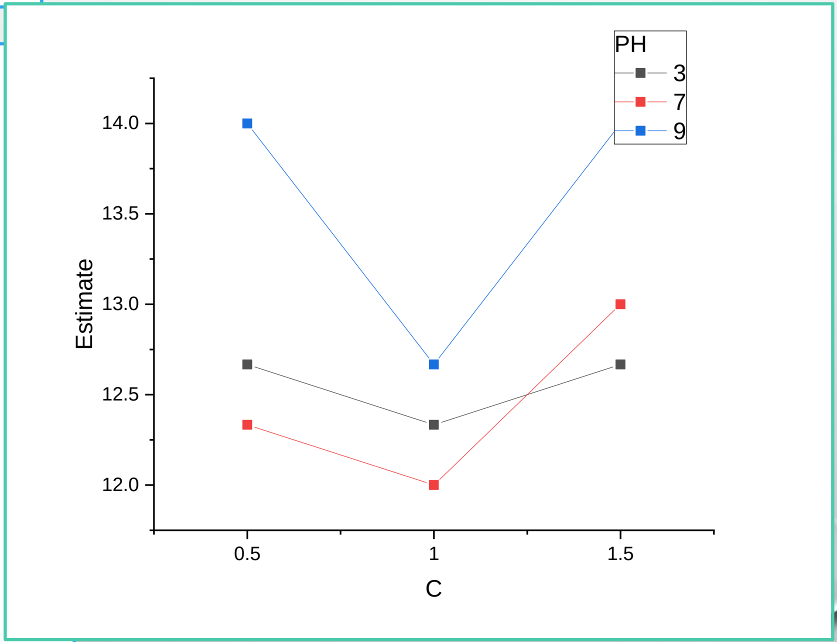
- لاتوجد فروق معنوية بين العوامل وبين التدخلات المختلفة عند مستوى 0.05%
- ماذا تعني لك هذه النتيجة؟

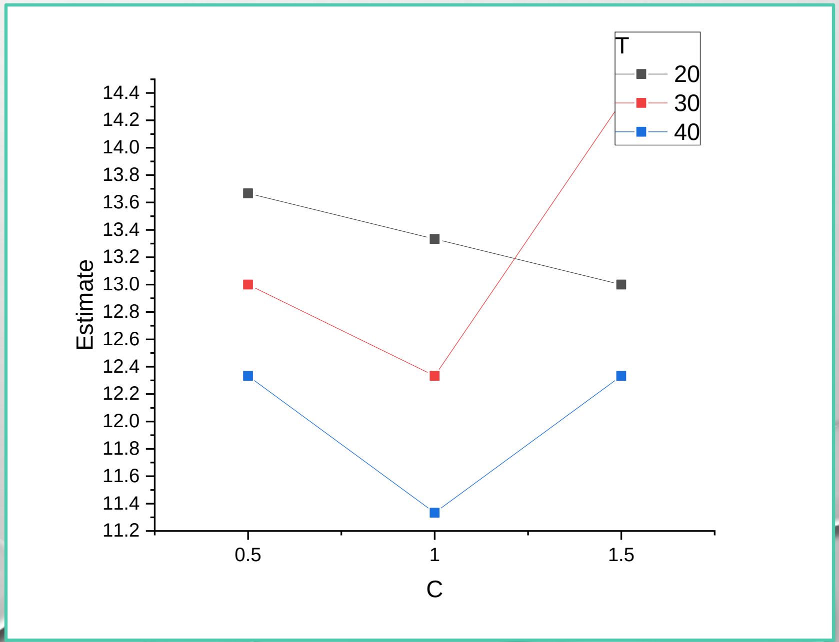

Estimate
13.5
13.0
12.5
3
7
9
PH
Estimate

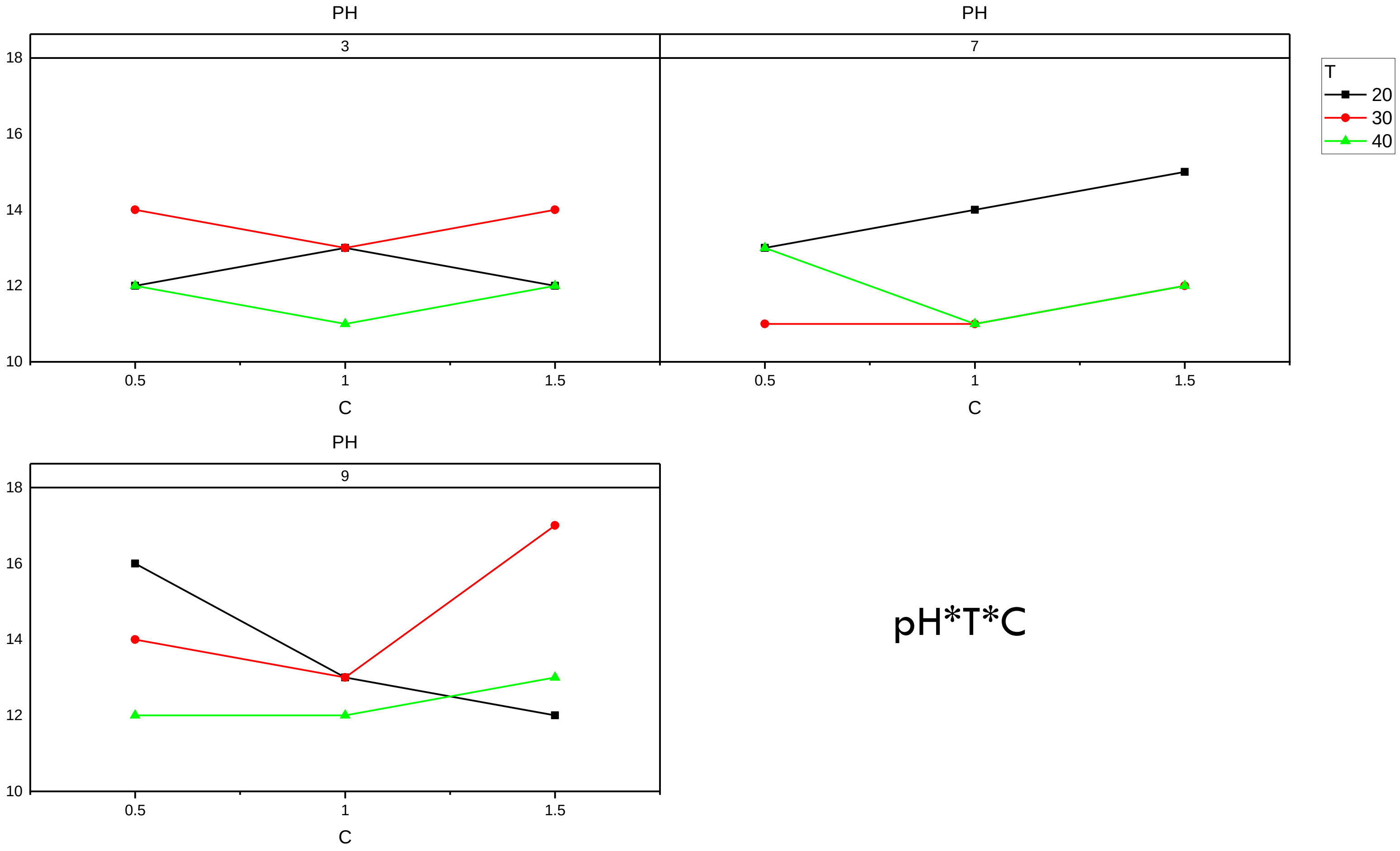

Estimate
13.5
13.0
12.5
12.0
20
30
40
T
Estimate


Estimate
13.2
13.0
12.8
12.6
12.4
12.2
0.5
1
1.5
C
Estimate


PH
3
7
9
15
14
13
12
11
20
30
40
T
Estimate


PH
3
7
9
14.0
13.5
13.0
12.5
12.0
0.5
1
1.5
C
Estimate


T
20
30
40
14.4
14.2
14.0
13.8
13.6
13.4
13.2
13.0
12.8
12.6
12.4
12.2
12.0
11.8
11.6
11.4
11.2
0.5
1
1.5
C
Estimate



pH*T*C

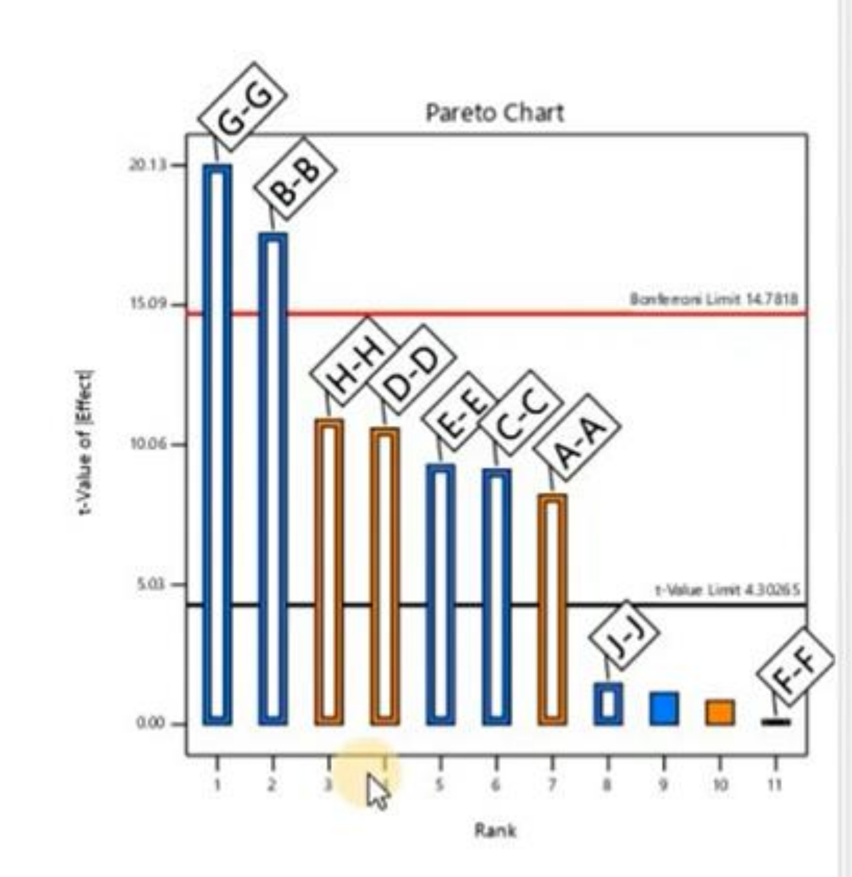
- برامج إحصائية تساعد في الوصول إلى أفضل عوامل إنتاجية

- هناك مجموعة من الطرق الإحصائية التي يمكن من خلالها تحديد أفضل الظروف والعوامل والتي من خلالها تتحسن العملية الإنتاجية بشكل كبير (مثلا 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 والسلبي على المنتج باستخدام تصميم Plackett-Burman

-خلاصة هذه المرحلة موضحة كمثال في المخطط المجاور المعروف بـ Pareto Chart ةيتضح فيه العوامل التي لها تأثير سلبي والعوامل التي لها تأثير أيجابي (السلبي(ذات اللون الأزرق) زيادة قيمتها يؤثر على المنتج سلبا 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				

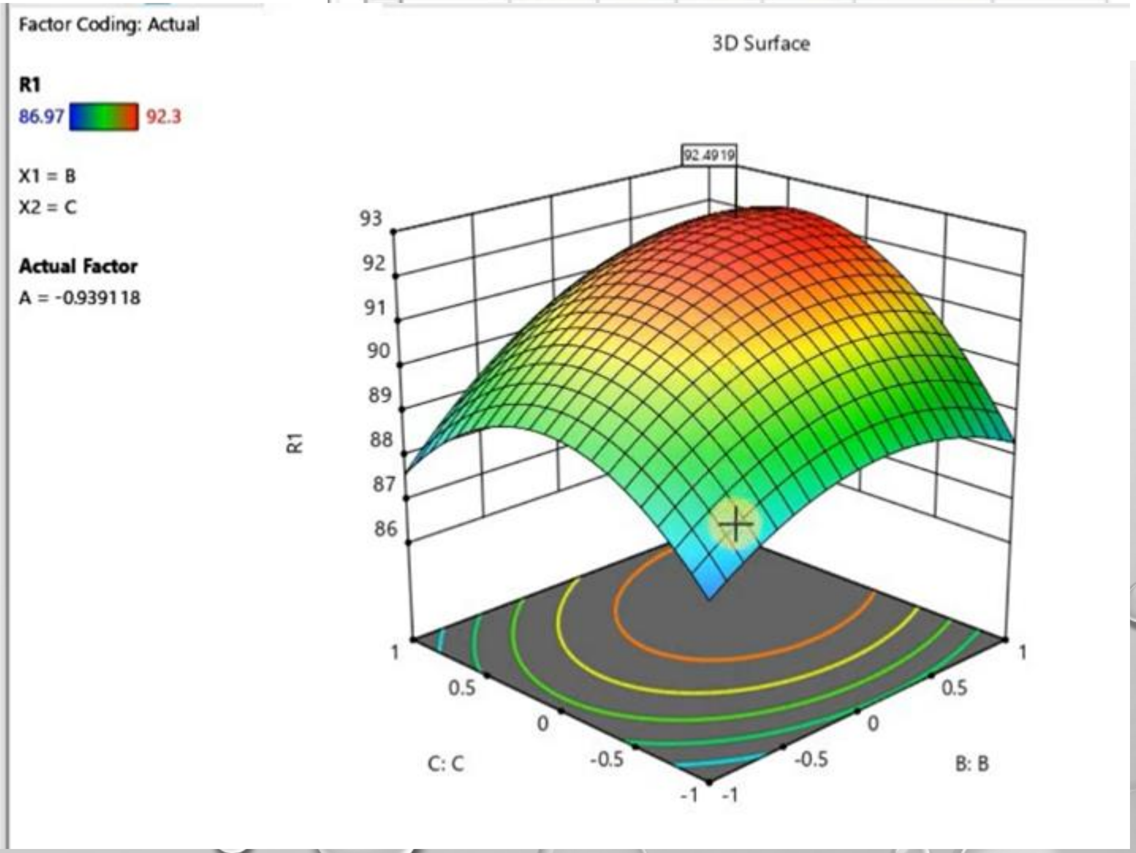
Coefficients | Coded Equation | Actual Equation

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	



❖ هذه النتائج مأخوذة كمثال من تجارب تعليمية للدكتورة محمد حافظ

➢ الكشف عن الجسيمات النانوية وتوصيفها

➢ 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.

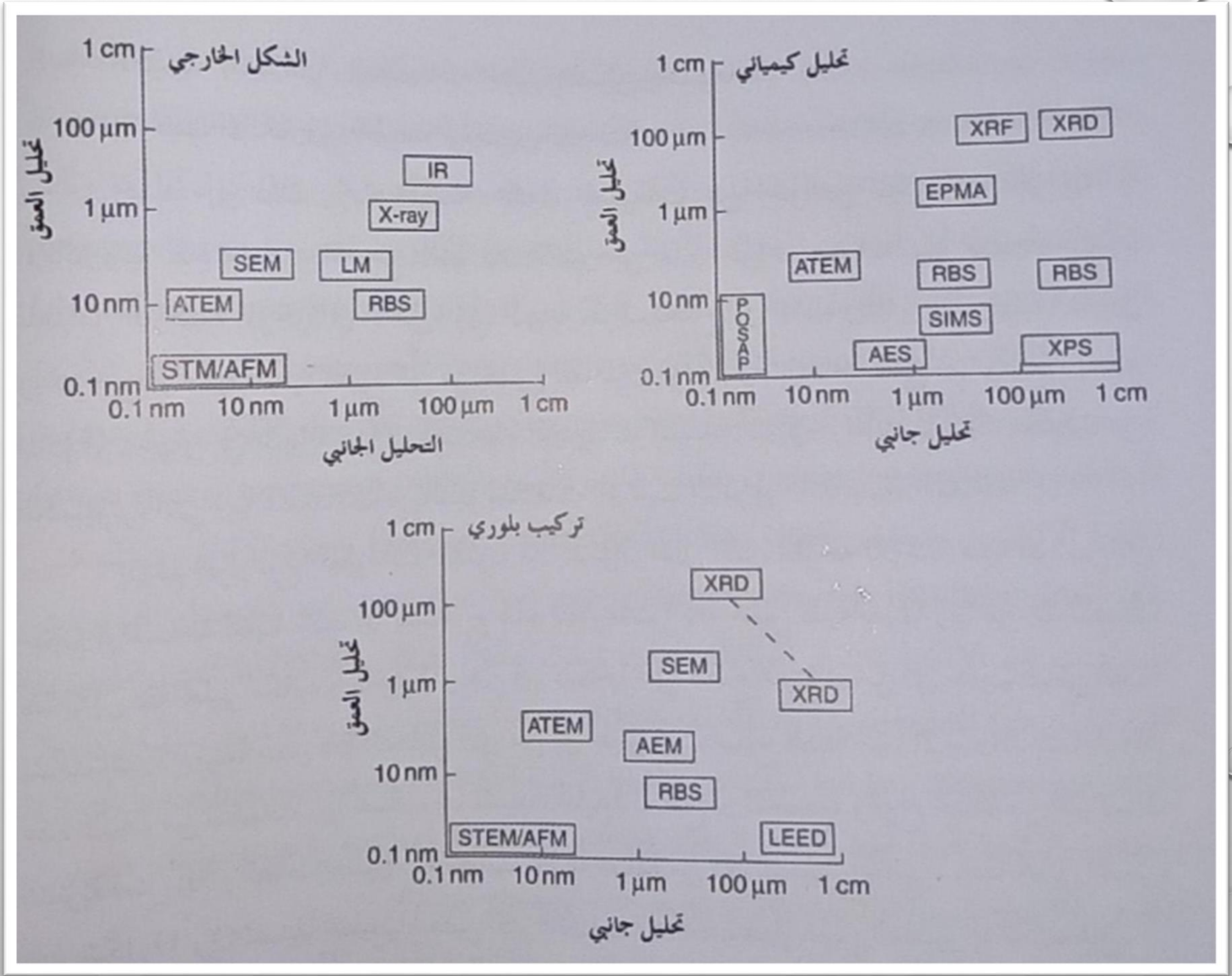
✓ تقنيات التصوير

- 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

Chen 2017, DOI: 10.5772/intechopen.74101



علم تقانة النانو، 2018 ترجمة القحطاني هادي، و الزهراني خالد. منشورات جامعة الملك سعود

التحليل الطيفي للأشعة المرئية وفوق البنفسجية للجسيمات النانوية

- الكشف عن المجموعة الوظيفية
- الكشف عن المركبات المجهولة
- تقدير التراكيز
- تقدير النقاوة

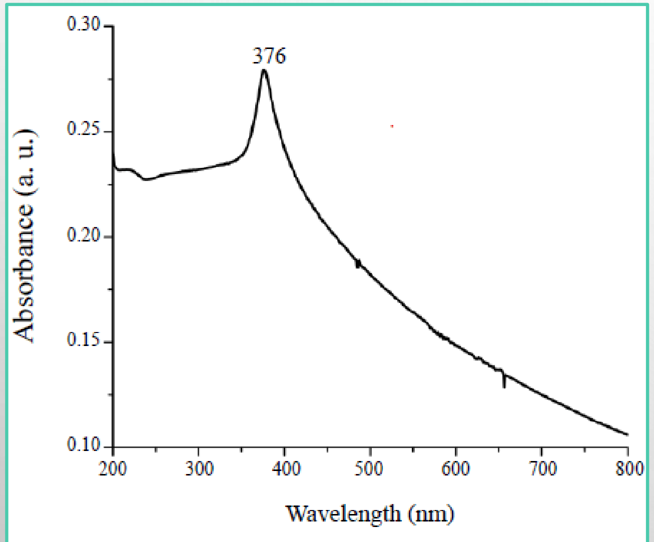


Figure 4: UV-Vis of ZnO nanoparticles.

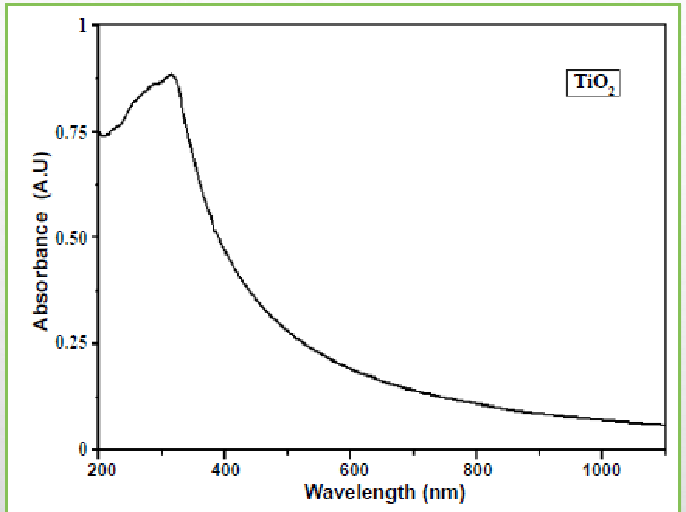
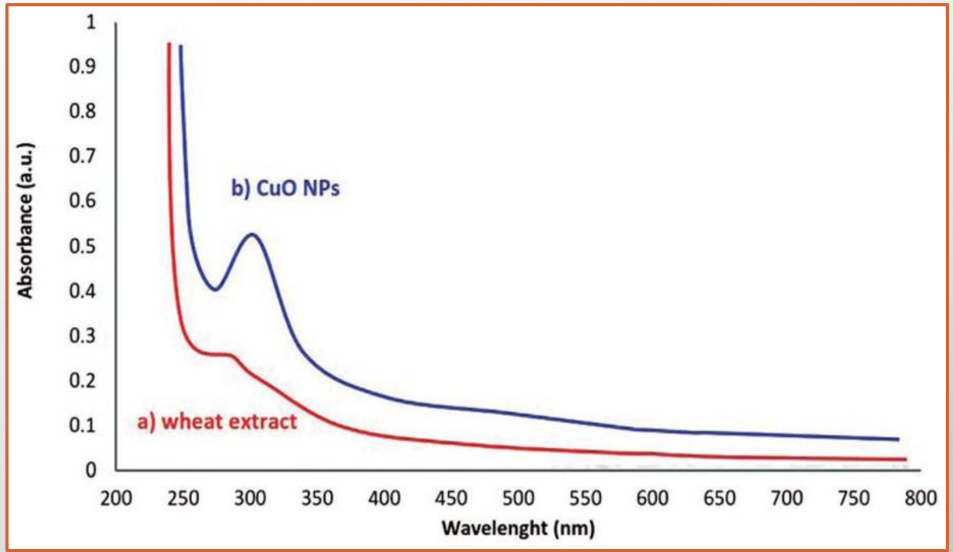
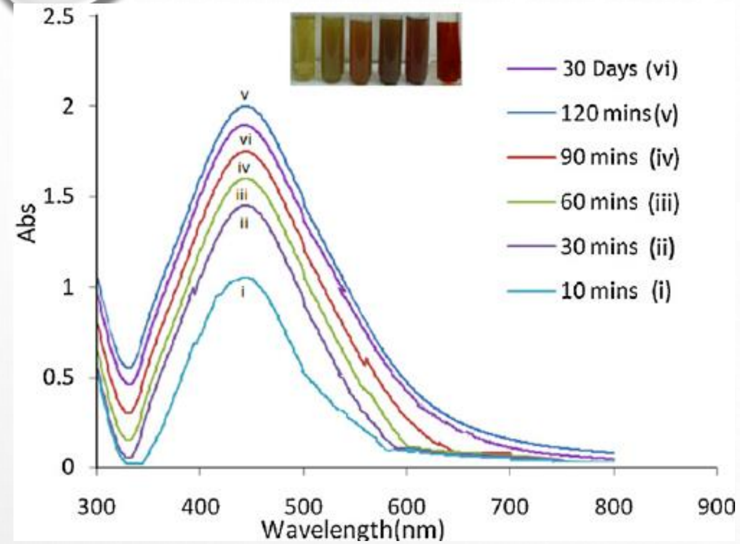


Figure 5: Uv-Vis of TiO_2.

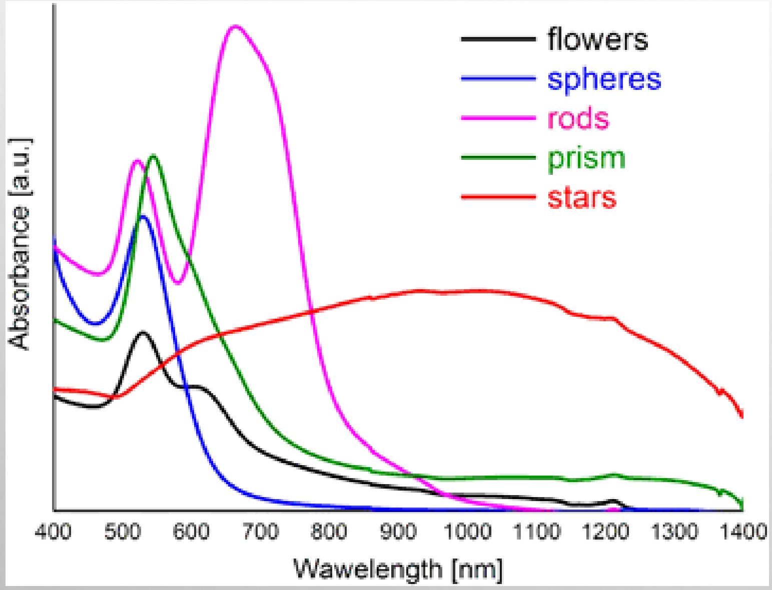


Abbas 2019,*doi: 10.4172/2324-8777.1000268*

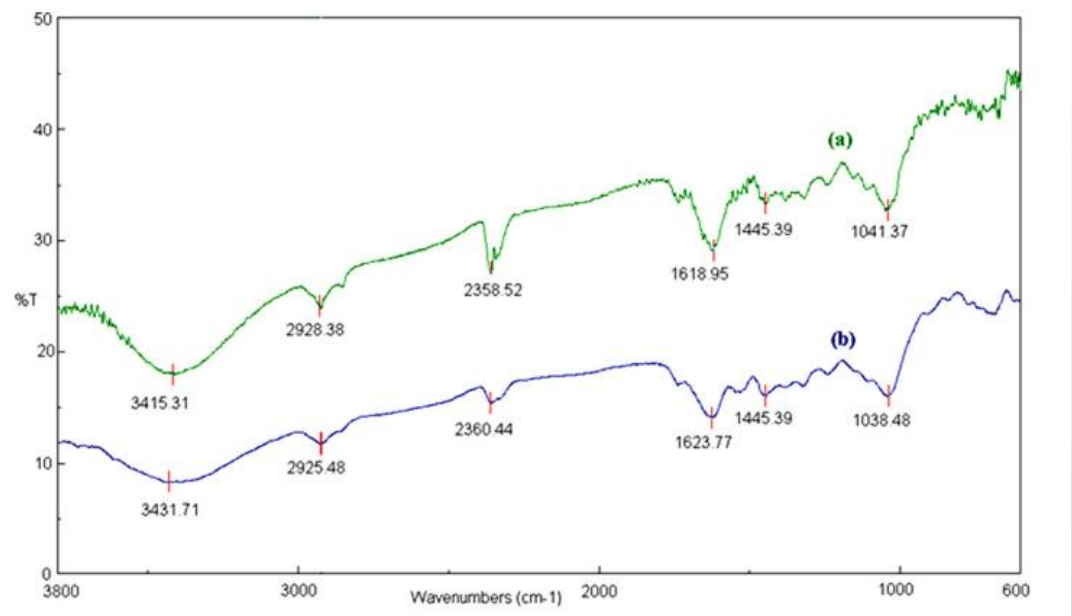
أمثلة لبعض نتائج توصيف جسيمات نانوية لدراسات علمية منشورة



UV spectra of AgNPs



UV-Vis absorption spectra of gold nanoparticles with different shapes

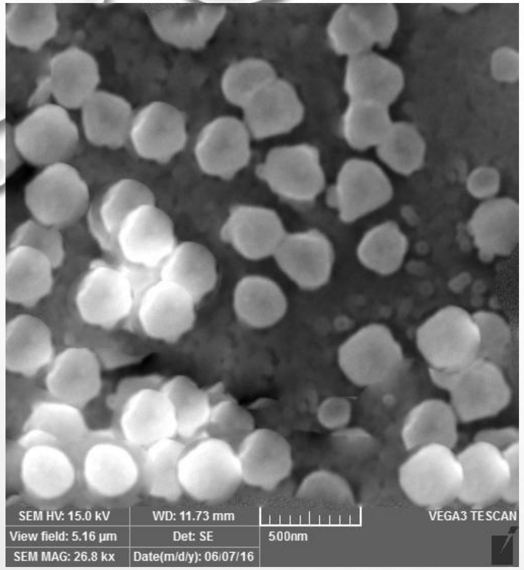


FTIR spectra of AgNPs

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

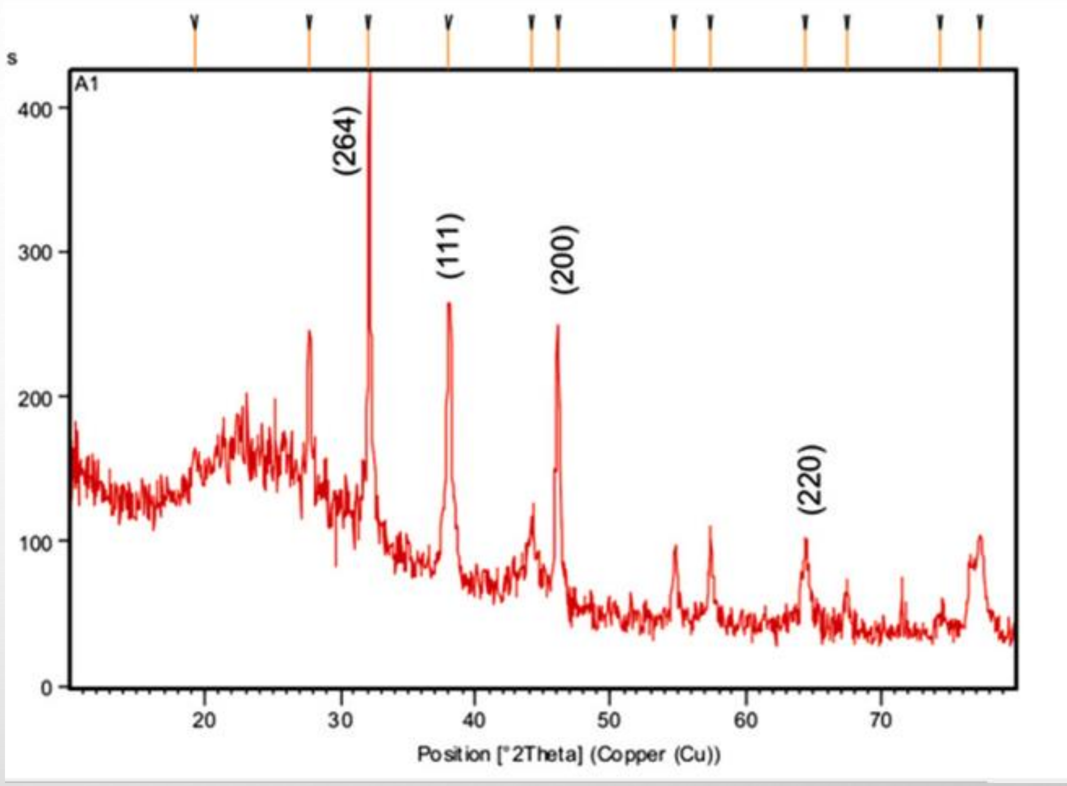
Journal of Materials Science: Materials in Medicine 28(6):92, DOI:10.1007/s10856-017-5902-y

أمثلة لبعض نتائج توصيف جسيمات نانوية لدراسات علمية منشورة



SEM micrograph image of AgNPs

AFM micrograph image of AgNPs



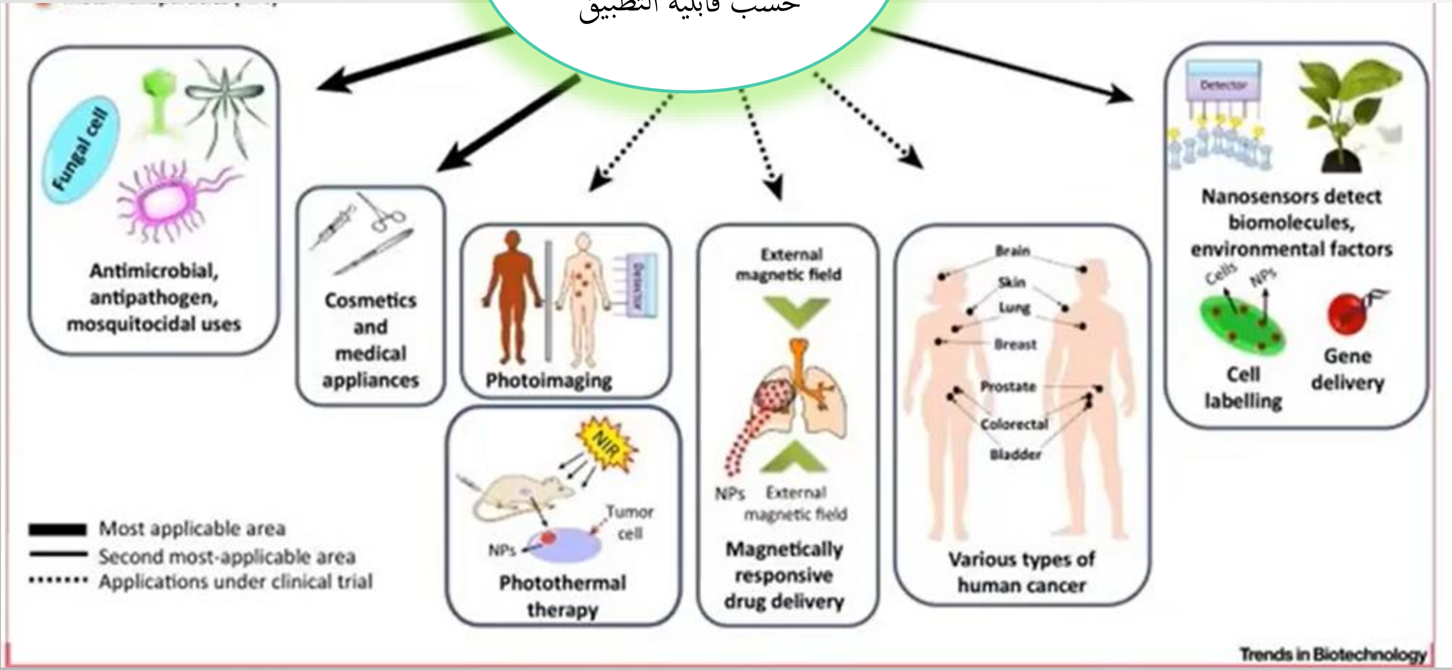
XRD spectrum of AgNPs

➢ التطبيقات الإحيائية للجسيمات النانوية

ظهر حديثا مفهو الطب النانوي Nanomedicine ويقصد به استخدمات الجسيمات النانوية في مجالات طبية واعدة تشمل مكافحة المرضات المقاومة للأدوية وتحسين عمل الأدوية من خلال تسهيل وصولها للأعضاء المستهدفة، وفي حالات التشخيص عبر تقنيات المعلمات 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 الإدوية 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 لنانوية
حسب قابلية التطبيق



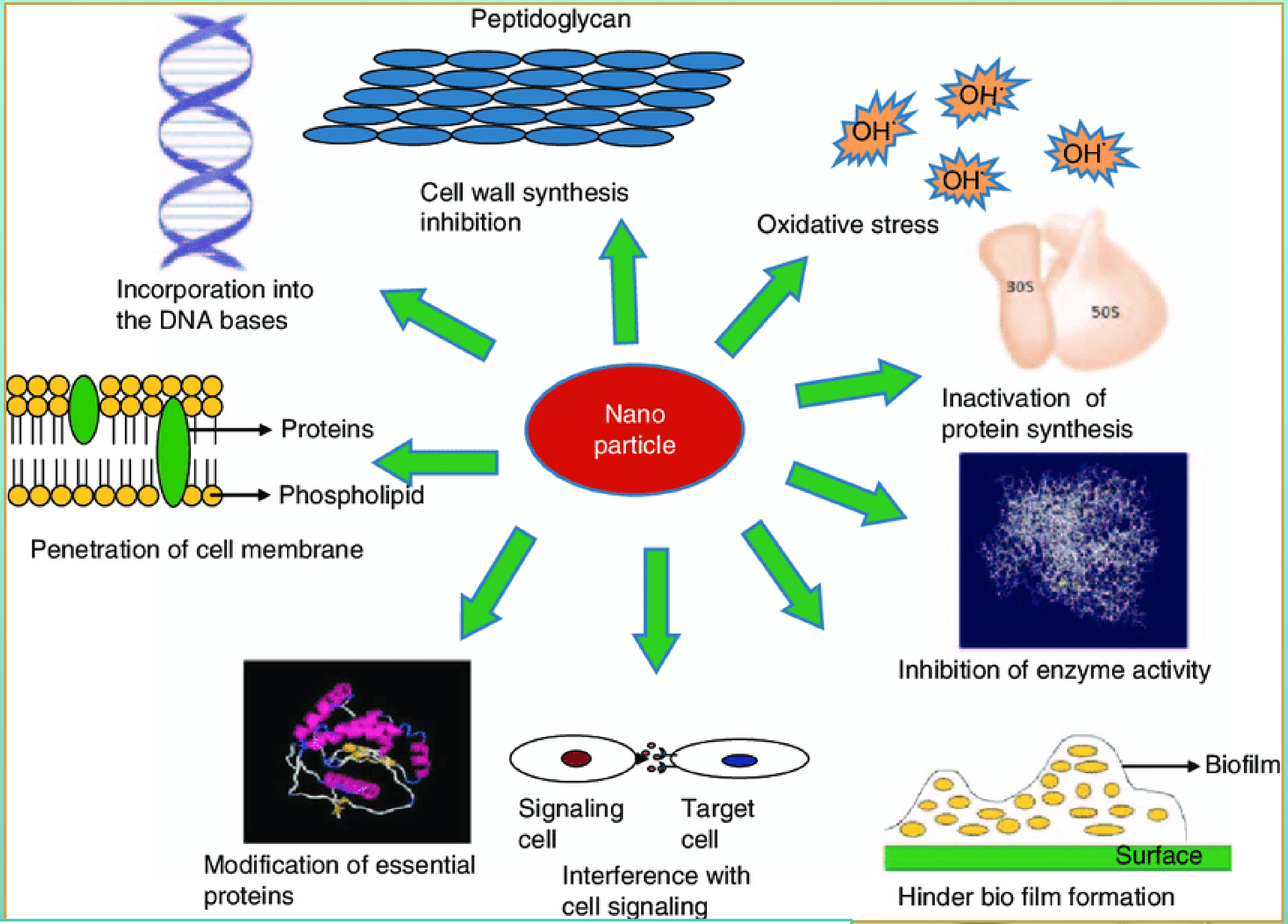
توصيل الإدوية Drug Delivery

- 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، مم 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.

➢ عوامل مضادة للميكروبات والخلايا السرطانية Antimicrobial and anticancer agent

- ❖ مقاومة المرضات 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 المرضات 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.**



July 2014, Journal of Nanoscience and Nanotechnology 14(7):4745-56, DOI:10.1166/jnn.2014.9527

عوامل محسنة لمعدل التفاعلات Reaction Rate Enhancement Agent

- استخدمت الجسيمات النانوية في تحسين معدلات التفاعل في جميع أنواع التفاعلات المعروفة
- حسنت الجسيمات النانوية المغناطسية معدل التفعالات الميكوربية
- 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 للفانيلين 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 لإنزيم ال 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 المعلمات 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 الميكوربات 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،

سائلا الله تعالى أن تكون أهداف ومخرجات الدورة قد تحققت على أكمل وجه.

والله من وراء القصد