

دراسة الفعالية المضادة للجراثيم للشاش الطبي المحمل بفلم ألجينات الصوديوم الحاوية على جسيمات الزنك النانوية

بشار الشامي*

وسام زم**

وليد خدام***

(تاريخ الإيداع ٦ / ٢ / 2023 - تاريخ النشر ١٤ / ٨ / 2023)

□ ملخص □

تم استخدام بوليمير ألجينات الصوديوم لتصميم وتطوير العديد من مواد تضميد الجروح مثل (الغرويات، ألياف نانوية، أفلام، تركيبات موضعية)، بسبب خصائصه المفضلة مثل التوافق الحيوي وعدم السمية الخلوية. لقد تم استخدامه حتى يومنا هذا بشكل خاص من أجل تسريع شفاء الجروح، بالإضافة لإمكانية تحميله بمواد مضادة للجراثيم مثل الصادات الحيوية، وبعض الخلاصات النباتية المضادة للجراثيم، وجسيمات نانوية معدنية. تهدف هذه الدراسة إلى تصميم فلم من ألجينات الصوديوم المحمل بجسيمات الزنك النانوية والمطبق على الشاش الطبي كفلم مضاد للجراثيم للتطبيقات العلاجية للجروح. جسيمات الزنك النانوية، والتي امتلكت متوسط أبعاد جسيمات حوالي ١٦.٧٥ nm، صُنعت بطريقة الـ (sol-gel) الكيميائية، وتم توصيفها بواسطة المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) وطيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR). ومن ثم تم دمج هذه الجسيمات بتراكيز مختلفة (٠، ٥، ٧.٥، ١٠%) ضمن فلم ألجينات الصوديوم.

أخيراً، تمت دراسة الفعالية المضادة للجراثيم تجاه جراثيم سالبة الغرام (*Escherichia coli*)، وجراثيم موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*). أظهر الفلم المحضر (ZnO/SA film) إمكانات واعدة للتطبيق كضامات جديدة للجروح.

الكلمات المفتاحية: جسيمات الزنك النانوية، ألجينات الصوديوم، طريقة sol-gel، فلم مضاد للجراثيم، شاش طبي

*طالب ماجستير في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، كلية الصيدلة، جامعة البعث، حمص
**دكتوراه، عضو هيئة تدريسية، قسم الكيمياء التحليلية والغذائية، كلية الصيدلة، جامعة طرطوس
***دكتوراه، عضو هيئة تدريسية، قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، كلية الصيدلة، جامعة البعث، حمص

Study of the antibacterial effectiveness of the medical gauze loaded with a film of sodium alginate containing zinc nanoparticles

Bashar Al shami*
Wissam Zam**
Walid khaddam***

(Received 26/4/2023.Accepted 14/8/2023)

□ABSTRACT □

Alginate biopolymer has been used in the design and development of several wound dressing materials such as (foams, topical formulations, nanofibers, films) due to its favourable properties, such as biocompatibility and non-toxicity. It has been particularly attractive in wound healing applications to date. Additionally, it can be loaded by antibacterial materials such as antibiotics, antibacterial plant extracts and metal nano-oxides. The aim of this study was to design sodium alginate (SA) based zinc oxide (ZnO) nanoparticles as antibacterial film for wound healing applications. The ZnO nanoparticles, with an average particle size of about 16.75 nm, were synthesized by sol-gel method and characterized by scanning electron microscope (SEM) and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). They were then incorporated as antibacterial into sodium alginate with different concentration (0, 5, 7.5, 10%). Effectiveness of antibacterial activity was carried out against Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) and Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) to characterize the sample. The prepared ZnO/SA film presents a promising potential for applications as novel wound dressings.

Keywords: ZnO nanoparticles; sodium alginate; sol-gel method; antibacterial film; medical gauze.

*masters student- department of biochemistry and microbiology , Faculty of Pharmacy-al baath University-homs

**Ph.D, Analytical and Food chemistry department, Faculty of Pharmacy, Tartous University

***Ph.D, department of biochemistry and microbiology, Faculty of Pharmacy-al baath University-homs

مقدمة

الزنك عنصر كيميائي عدده الذري ٣٠ ووزنه الذري (g/mol) ٦٥.٧٣ وهو عنصر إنتقالي لونه أبيض مائل للزرقة لامع ويعتبر العنصر ٢٣ كأكثر العناصر توافراً في القشرة الأرضية [١]. ويتواجد الزنك بأشكال عديدة بالطبيعة منها أكسيد الزنك الذي يظهر بثلاثة أشكال كريستالية (Rocksalt, zinc blende, wurtzite). يستخدم أكسيد الزنك عالمياً بشكل يومي، وقد صنفته منظمة الصحة والدواء العالمية (FDA) على أنه مادة آمنة (GRAS)، وأيضاً استخدمت كمادة مضافة للطعام تزيد من القيمة الغذائية للاطعمة، وتساعد على تحسين المظهر والنكهة وخصائص التخزين [٢، ٣]. كما يستخدم أكسيد الزنك كمضاد للجراثيم والفتور، وفي العديد من الاستخدامات الطبية على وجه الخصوص ومنها: مستحضرات التجميل والوقايات الشمسية كمادة مطرية ومرطبة للجلد وماصة للأشعة فوق البنفسجية، بالإضافة إلى توصيل الأدوية والتصوير الشعاعي الطبي وأجهزة الاستشعار الحيوي [٤].

تعرف الجسيمات النانوية بأنها الجسيمات التي يتراوح أبعادها بين nm (١-١٠٠) أي أصغر ب 10^{-9} من المتر وتمتلك هذه الجسيمات عند إنتقالها من حجمها الرئيسي إلى الحجم النانوية خصائص محسنة أو خصائص جديدة كلياً، لذلك تعتبر المواد النانوية عوامل مفيدة للتسريع من عملية شفاء الجروح وذلك بسبب ميزات المتعددة مثل نسبة السطح المرتفعة بالنسبة للحجم، وأيضاً قدرتها على توصيل الأدوية، وهذه الخواص يمكن أن تحسن من ترسيب الكولاجين وإعادة تشكيل النسيج الجلدي، وعلى وجه التحديد خواص الجسيمات النانوية تسمح لها بإخترافية جيدة للجروح وهذا يسمح بتصنيع جزيئات محددة الهدف لتدخل الجروح وتتفاعل معها من خلال التفاعل الحيوي أو إفراز أدوية بشكل موضعي مما يؤثر على تقدم الشفاء [٥]. بالإضافة فإنه يمكن تلبس الأدوية ضمن الجسيمات النانوية وبذلك يمكن حمايتها من البروتياز مما يسمح بوصولها إلى موضع الهدف دون تخريبها وإحداث التأثير البيولوجي المطلوب، أي أن الجسيمات النانوية الحيوية ملائمة لتحسين عملية شفاء الجروح الذي يعود للفعالية المضادة للجراثيم بالإضافة للفعالية المضادة للالتهاب والقدرة على التأثير على عملية تركيب شبكة الخلايا الجديدة (the extracellular matrix (ECM)) وانتشار الخلايا الجذعية وتمايزها [٥].

تعتبر الألبينات بوليميرات حيوية يتم الحصول عليها من مصادر مختلفة للأعشاب البحرية وخاصة في الجدار الخارجي للطحالب البنية بحيث تحتوي على كميات كبيرة منها [٦] ولها العديد من الاستخدامات الطبية الحيوية بسبب خصائصها مثل التوافق الحيوي وعدم سميتها وبيئتها الرطبة، وفعاليتها في تقليل العدوى الجرثومية بالإضافة لفعاليتها الموقفة للنزيف، بحيث أن هذه الخصائص تعد من العوامل الهامة التي يجب توافرها في الضماد. لذلك تم استخدام الألبينات في الضمادات الطبية حتى يومنا هذا بحيث تم استخدامها وتطبيقها على الشاش الطبي بأشكال مختلفة ومتنوعة مثل (أغشية-رغويات-أفلام) والشكل الفلمي هو المفضل إذ يمكن تحميله بمواد مضادة للجراثيم، كما يقوم بعملية تحسين شفاء الجروح والحروق، بالإضافة لكونه نفوذ لبخار الماء وثنائي أكسيد الكربون والأوكسجين [٧].

أهمية البحث

١. إن التكلفة المادية لاستخدام الصادات الحيوية لدى المرضى المصابين بجرح أو حرق مرتفعة

ويمكن إيجاد بدائل مناسبة لتخفيضها

٢. ظهور العديد من السلالات الجرثومية المقاومة لأغلب الصادات

الحيوية المستخدمة حالياً وتصنيفها كأكثر المخاطر المهددة لصحة البشر وحياتهم

٣. الحاجة الملحة لإيجاد مركبات تملك فعالية مضادة للجراثيم في ظل

التناقص المتسارع في أعداد الصادات الحيوية الفعالة تجاه الجراثيم

الهدف من البحث

تحضير أفلام من ألجينات الصوديوم تحتوي على جسيمات الزنك النانوية بغرض تطبيقها على

الجروح والحروق للمساعدة في شفائها.

المواد وطرائق العمل

-المواد

خلات الزنك ثنائي الهيدرات (Loba chemie)

($d=1.84 \text{ g/cm}^3$), ($M=219.50 \text{ g/mol}$), [$\text{Zn (CH}_3\text{COO) } 2.2\text{H}_2\text{O}$]

هيدروكسيد الصوديوم [$M=39.997 \text{ g/mol}$] ، NaOH] (g/cm^3)

2.13=d)

الإيثانول] [$M=46.07 \text{ g/mol}$], $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$]، (Chem-)، (%99P=)

($d=0.789 \text{ g/cm}^3$) lab)

ماء مقطر معقم منزوع الأيونات.

المحاليل المحضرة الحاوية على تراكيز مختلفة لجسيمات الزنك النانوية

أقراص الصادات الحيوية الخاصة للتطبيق على الأطباق (الأميكاسين-

الأوغمنتين-نورفلوكساسين)(Abtek Biologicals ltd)

وسط الزرع Muller Hinton

ألجينات الصوديوم ($M=216.12 \text{ g/mol}$ ، $d=1.0 \text{ g/cm}^3$) [$\text{C}_6\text{H}_9\text{NaO}_7$]

غليسيرول] [$M=92.09 \text{ g/mol}$ ، $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$]، ($d=1.261 \text{ g/cm}^3$)،

كلوريد الكالسيوم] ($M=110.98 \text{ g/mol}$) ([CaCl_2]، ($d=2.15 \text{ g/cm}^3$)،

شاش طبي معقم

-الطرائق

تحضير جسيمات الزنك النانوية

تم تحضير جسيمات الزنك النانوية بطريقة الـ (صول-جيل) الكيميائية بحيث تم استخدام خلات

الزنك ثنائية الهيدرات كمركب طبيعي والايثانول ككاشف والماء المقطر كمحل [٨] وذلك وفق المعادلة

التالية:



تم التحضير من خلال وزن ١٠ g من خلات الزنك ثنائية الهيدرات وإضافتها إلى بيشر يحتوي

٧٥ مل ماء مقطر وضع على المحرك المغناطيسي كهربائي حتى تمام الإتحلال لمدة ١٥ دقيقة. بعد

تمام الإنحلال تمت إضافة محلول هيدروكسيد الصوديوم (٨٠%) إلى محلول خلات الزنك دفعة واحدة مع الإستمرار بالتحريك. أخيراً، تمت إضافة الإيثانول المطلق تدريجياً (قطرة-قطرة) إلى المزيج السابق حتى الوصول إلى $ph=10$. تم جمع المسحوق الأبيض المترسب بعد التثقيب في الأنابيب وتم ترمي ده بدرجة حرارة ٣٠٠ م لمدة ١ ساعة. حيث تم الحصول على مسحوق أبيض لجسيمات الزنك النانوية الشكل (١) (ZnO-NPs). [8].
تم وزن المسحوق الناتج وتم الحصول على مردود ٧.٣٦ g أي بمردود ٧٣.٦%.



الشكل(١): مسحوق الجسيمات النانوية.

توصيف الجسيمات النانوية

١- مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) تم التحليل والتأكد من نتائج التفاعل الكيميائي وذلك بواسطة جهاز مطيافية الأشعة FTIR من نوع SHIMADZU، حيث تم إجراء القياسات بين الـ (3000 cm^{-1} والـ 4000)، بحيث تم تحديد الروابط الكيميائية والمجموعات الوظيفية من خلال مواقع امتصاصها في طيف الأشعة تحت الحمراء.
٢- المجهر الإلكتروني الماسح (SEM): Scanning Electron Microscopy (SEM) تم تصوير عينة من المسحوق الأبيض بواسطة جهاز ذات القدرة التكبيرية X50000 (Scanning Electron Microscopy Tescan VEGA) للتأكد من تشكل الجسيمات النانوية .

تحضير فلم ألجينات الصوديوم المحمل بجسيمات الزنك النانوية
تم تحضير الأفلام بتركيز مختلفة من جسيمات أكسيد الزنك النانوية (٠، ٥، ٧.٥، ١٠%) وذلك باستخدام ألجينات الصوديوم بتركيز ٣% والجليسرين كملدن بتركيز ١٠%. بعد ذلك تم أخذ أربع قطع شاش معقمة بحجم cm^2 (٨*١٣) وإضافة ٢٠ مل من المحاليل السابقة لكل قطعة شاش وفق الترتيب والانتظار لمدة ١٠ دقائق ريثما ينتشر الشاش المحلول. أخيراً تم الحصول على الأفلام بطريقة التهلم الشاردي باستخدام كلوريد الكالسيوم بتركيز ٥% الشكل(2). وقد طبقت هذه الأفلام على ثلاثة أنواع جرثومية منمطة وهي:

Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027●

Escherichia coli ATCC 8739●

Staphylococcus aureus ATCC 6538●

تقدير الفعالية الجرثومية

دراسة الفعالية الجرثومية لجسيمات الزنك النانوية من خلال الانتشار بالحفر (Well Diffusion

Method) .

حيث تم إجراء ٤ حفر في كل طبق زرع بقطر ٠.٦ mm للحفرة الواحدة بواسطة أنابيب معقمة وتم ترقيمها على الجهة الخلفية من الطبق بواسطة القلم بناءً على أرقام وتم أخذ ١٠٠ µl من كل بيشر الذي يحتوي على المحاليل قبل تطبيقها على الشاش ووضعها في الحفرة الموافقة لرقم العينة بحيث العينة رقم ٠ كان عبارة عن شاهد سلبي وأيضاً تم إضافة شاهد إيجابي وهو عبارة عن صاد حيوي مرجعي مناسب لكل جرثومة على حده



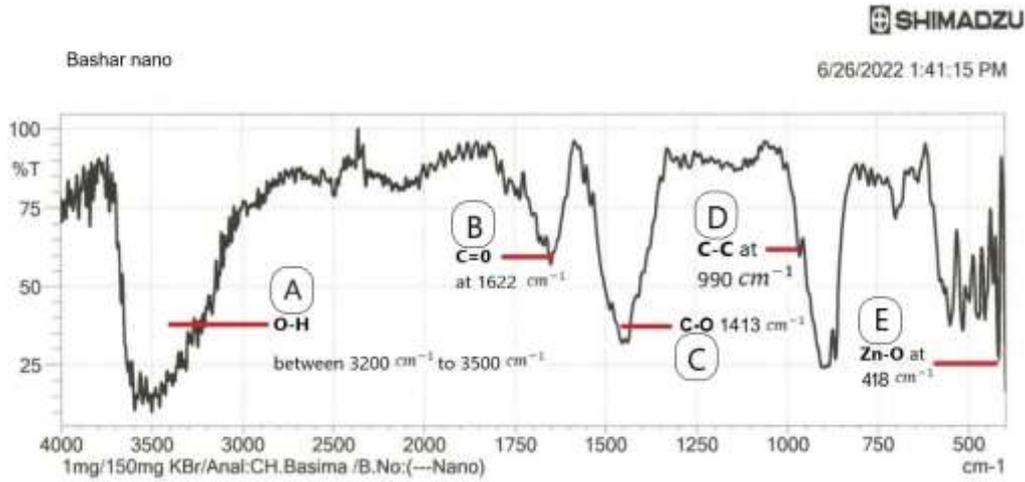
الشكل (٢): الشاش الطبي المحضر.

النتائج والمناقشة

مردود الجسيمات النانوية

تم الانطلاق من استخدام خلات الزنك ثنائية الهيدرات كمصدر للزنك بكمية ١٠ غرامات، وتم الحصول في النهاية على ٧.٣٦ غرام من الجسيمات النانوية أي بنسبة مئوية ٧٣.٦%. يتقارب هذا المردود مع المردود الذي حصل عليه [٩] خلال تصنيع الجسيمات النانوية بالطريقة الكيميائية (٨١.٠١%)، أما المردود الذي حصل عليه الباحث نفسه خلال تجربته في تصنيع الجسيمات النانوية بالطريقة الحيوية بالاستخلاص على البارد ((24.66%)، والساخن ((24.30% فكان أقل بكثير من المردود الذي تم الحصول عليه لدى اتباع الطريقة الكيميائية في التحضير. أما بالنسبة للباحث 2011 S. López-Cuenc فقد كان المردود الذي حصل عليه عالياً جداً تقريباً ٨٥% وقد يعود السبب لاتباعه طريقة كيميائية في التصنيع [١٠]. قام الباحث Qiang Wang et al ٢٠٢٢ وزملاؤه بالتصنيع بالطريقة النباتية من أوراق القهوة، وتم الحصول على أفضل مردود عند تطبيق شروط مثالية من الـ pH ودرجة الحرارة هو (٤٣.٥%) ويعتبر هذا المردود ضعيف وقد يعود السبب لاستخدامهم الطريقة النباتية في التصنيع [١١].

تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء



الشكل (٣): طيف FTIR لجسيمات الزنك النانوية قبل التنقية والترميد.

تم رصد أطوال القمم التالية:

A. قمة شديدة الامتداد على شكل بطن بين طول موجة 3200 cm^{-1} و 3500 cm^{-1} تدل

على الرابطة O-H

B. قمة متوسطة الامتصاص عند 1622 cm^{-1} تدل على الرابطة C=O

C. قمة شديدة الامتصاص عند 1413 cm^{-1} تابعة للرابطة C-O

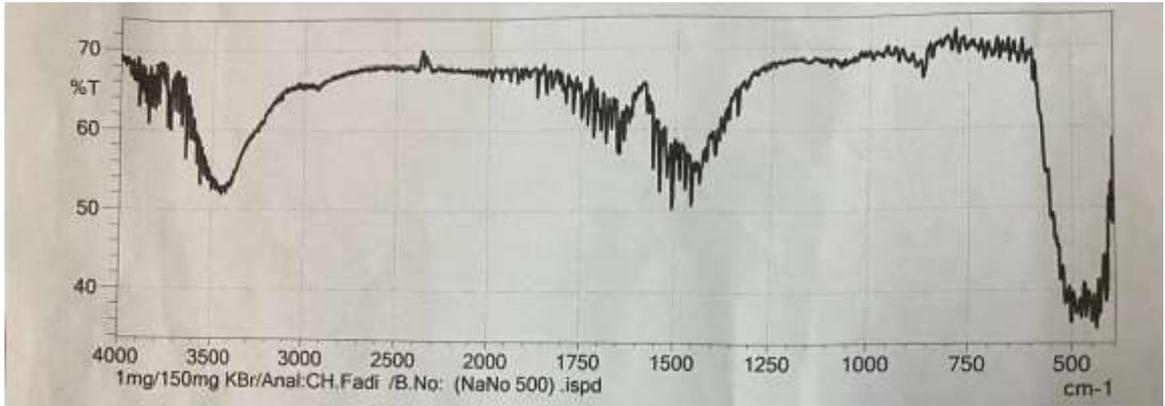
D. قمة ضعيفة عند 990 cm^{-1} تابعة للرابطة C-C

E. قمة شديدة الامتصاص عند 418 cm^{-1} تابعة للرابطة Zn-O

تشابهت قمم FTIR التي تم الحصول عليها في الشكل (٣) مع تلك التي حصل عليها [١٢] الذي اتبع طريقة مشابهة لاصطناع جسيمات الزنك النانوية. كما تماثلت قمم FTIR التي تم الحصول عليها في الشكل (٣) مع [١٣] الذي استخدم نفس طريقة التصنيع بخلاف استخدام هيدروكسيد البوتاسيوم عوضاً عن هيدروكسيد الصوديوم كمركب طبيعي لإجراء تفاعل الحلمة.

أما بالنسبة للباحث [١٤] فقد كانت قمم FTIR مختلفة بشكل كبير ماعدا القمة الرئيسية التي تعود لجسيمات الزنك النانوية لـ ZnO)) ويعود السبب في ذلك لإستخدام الباحث طريقة اصطناع حيوي تعتمد على تصنيعها بواسطة فطر الرشاشية السوداء . *Aspergillus niger*

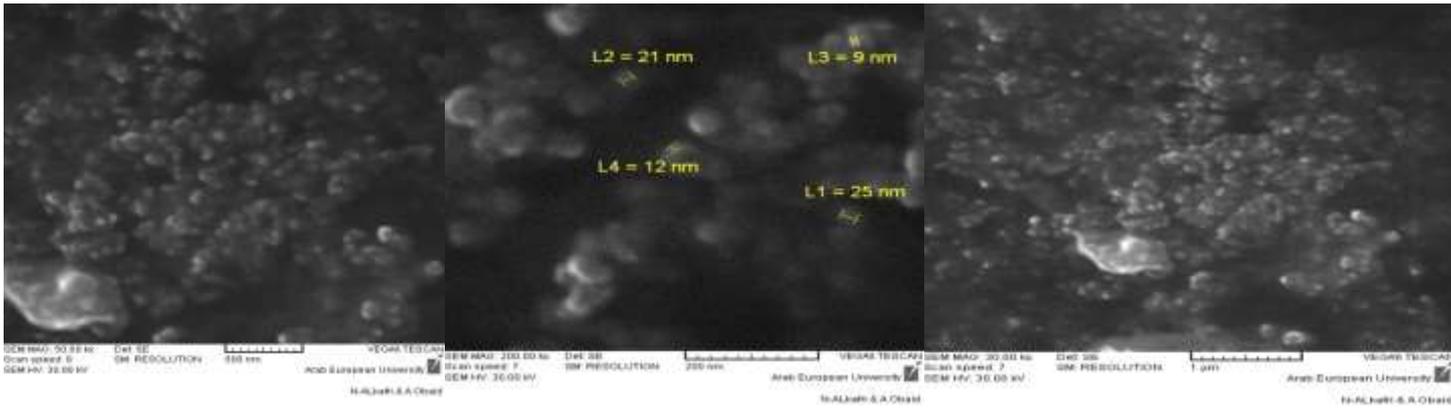
أما بالنسبة للقمم بعد التنقية والترميد الشكل (٤) (فقد تم الحفاظ على القمة الرئيسية ذات الامتصاص 418 cm^{-1} التابعة للرابطة Zn-O وتوافقت هذه النتيجة مع العديد من المراجع السابقة بحيث قام الباحث [١٥] بتصنيع جسيمات الزنك النانوية بالطريقة النباتية باستخدام نبتة (*Deverra tortuosa*) وعند الحصول على الجسيمات النانوية والترميد تم توافق القمة الرئيسية مع بحثنا العائدة لـ Zn-O وكذلك الباحث [١٦] الذي قام بتصنيع الجسيمات بطريقة التحريض الضوئي (Photocatalytic) وأيضاً الباحث [١٧] الذي صنع الجسيمات حيويًا من خلاصة ورقية لنبتة الـ *Becium grandiforum*.



الشكل (٤): طيف FTIR لجسيمات الزنك النانوية بعد التنقية والترميد.

تحليل صورة المجهر الإلكتروني الماسح

كما هو موضح في صور الساحة المجهرية، الشكل (٥) يوجد هناك جسيمات كروية الشكل نانوية، حيث تم قياس أبعاد أربعة منها وكانت على النحو التالي: $L1=25\text{nm}$, $L2=21\text{nm}$, $L3=9\text{nm}$, $L4=12\text{nm}$ بمتوسط 16.75nm .



الشكل ٥: صورة المجهر الإلكتروني الماسح لجسيمات الزنك النانوية بعدة تكبيرات.

يُظهر المجهر الإلكتروني الماسح شكل وأبعاد الجسيمات النانوية، وهذان الأمران يتعلق بهما أمور عدة أثناء التصنيع منها زمن التفاعل ودرجة حرارة الترميد والملح المستخدم وتركيزه.

١- زمن التفاعل: وهو الوقت اللازم لحدوث كل خطوات التصنيع، حيث أظهرت الدراسات بأن تشكل الجسيمات النانوية يبدأ خلال دقائق بعد إضافة الملح المعدني الذي يعتبر مصدراً للمادة النانوية، وتزداد حجماً كلما زاد زمن التفاعل حسب [١٨]، وأيضاً بحسب [١٩] الذين صنعوا جسيمات زنك نانوية بطريقة الترسيب الكيميائية باستخدام أسيتات الزنك مع هيدروكسيد البوتاسيوم، وتم تجفيف الناتج النهائي عند درجة حرارة 60°C لمدة ٨ ساعات، وتم في هذه الدراسة إيضاح المراحل التي يمر بها تشكل الجسيمات النانوية، حيث كانت مرحلة التنوي هي المرحلة الأولى، ويتم هذه المرحلة خلال ثوان من بداية التفاعل بحيث تتشكل النواة التي تعتبر كقالباً للنمو الكريستالي أما بالنسبة للمرحلة الثانية فتتضمن نمو الجسيمات النانوية فوق المتوسط للحجم البلوري (5.2nm) وتم أيضاً ذلك أيضاً في

دراسة [٢٠] وتتم هذه المرحلة أيضاً خلال ثوان ومن ثم تبدأ المرحلة الثالثة وفيها يتم استهلاك سريع لملاح الزنك في المحلول، عندها يبدأ حجم الجسيمات بالازدياد من ٥.٢nm إلى ٧.٧nm وأي تغيير في توقيت هذه المراحل يؤدي للحصول على جسيمات نانوية بحجم أكبر ونتج لدى الباحثين جسيمات بأبعاد nm (٢,٤,٦,٨) ساعة عند التصنيع بنفس الشروط وطريقة التصنيع مع اختلاف توقيت التصنيع (٢,٤,٦,٨) ساعة على التوالي، أي كلما زاد زمن التفاعل زاد حجم الجسيمات وتقاربت النتيجة عند التصنيع لمدة ساعتين مع نتيجة البحث الحالي من حيث أبعاد الجسيمات.

٢- درجة حرارة الترميد: يعرف الترميد بأنه معاملة المادة بدرجة حرارة مضبوطة ضمن شروط خاصة، حيث تندمج الجسيمات خلال الترميد وتزداد حجماً وبخاصة الحجم البلوري وذلك بحسب [٢١] ويدعى هذا الإجراء بتخشين الجسيمات، حيث أن الجسيمات الصغيرة جداً بالحجم تمتلك طاقة ضعيفة وتكون غير مستقرة بالمقارنة مع الجسيمات ذات الحجم الأكبر والمخشنة بشكل مناسب، أوضحت العديد من الدراسات تأثير الترميد على شكل الجسيمات وبالتالي تأثيرها على الخصائص الفيزيائية والكيميائية، وتم تأكيد ذلك في دراسة [٢٢] الذي قام أيضاً بدراسة تأثير حرارة الترميد على خصائص الجسيمات النانوية بحيث صنع الجسيمات بطريقة الـ SOL-gel الكيميائية فظهرت جسيمات زنك نانوية بأبعاد بين (١٧nm-٢٤) عند الترميد بدرجة حرارة ٣٠٠°C وهذه الطريقة هي نفس الطريقة التي تم اتباعها وبأنفس الشروط وتطابقت نتائجها مع نتائج التي تم الحصول عليها وعندما صنع الباحث الجسيمات بنفس الطريقة السابقة مع رفع درجة الترميد إلى ٥٠٠°C ازداد الحجم النانوي إلى ٣٠nm تقريباً.

بالإضافة لذلك [٢٣] صنع الباحثان ٣ عينات لجسيمات زنك نانوية بنفس طريقة التصنيع الكيميائية مع اختلاف درجة الترميد فقط وكانت النتائج كالتالي: درجات الحرارة التي تم التصنيع عندها (٢٠٠، ٤٠٠، ٥٠٠°C) وكانت نتائج حجم الجسيمات (٤٤، ٤١، ٣٠nm) وهذه النتائج تؤكد تأثير درجة حرارة الترميد على حجم الجسيمات النانوية.

٣- تأثير تغيير الملح المستخدم وتركيزه: وضع الباحث [٤] تأثير استخدام أملاح مختلفة كمصدر للزنك، وظهرت الجسيمات بشكل هيكل سداسي (Hexagonal structure) عندما استخدم الباحث ملح كلوريد الزنك (ZnCl₂)، وبين الباحث السبب في ذلك حيث أنه عند التصنيع يتشكل مركب وسطي Zn₅(OH)₈Cl₂.H₂O ويندمج مع الكريستالات النانوية ليعطي الشكل السداسي المميز .

وعند التصنيع باستخدام نترات الزنك (Zinc nitrate) أعطت النتائج شكلين يعتمد ظهور أحدهما على تركيز النترات، فعند استخدام تركيز منخفض من النترات (١,٣M) تظهر الجسيمات بشكل أوراق (Nano sheets) وعند استخدام تركيز مرتفع (٥M) تجتمع الجسيمات بشكل أكبر وتظهر على شكل قضبي (Nanorods)، وتوافق ذلك مع دراسة [24].

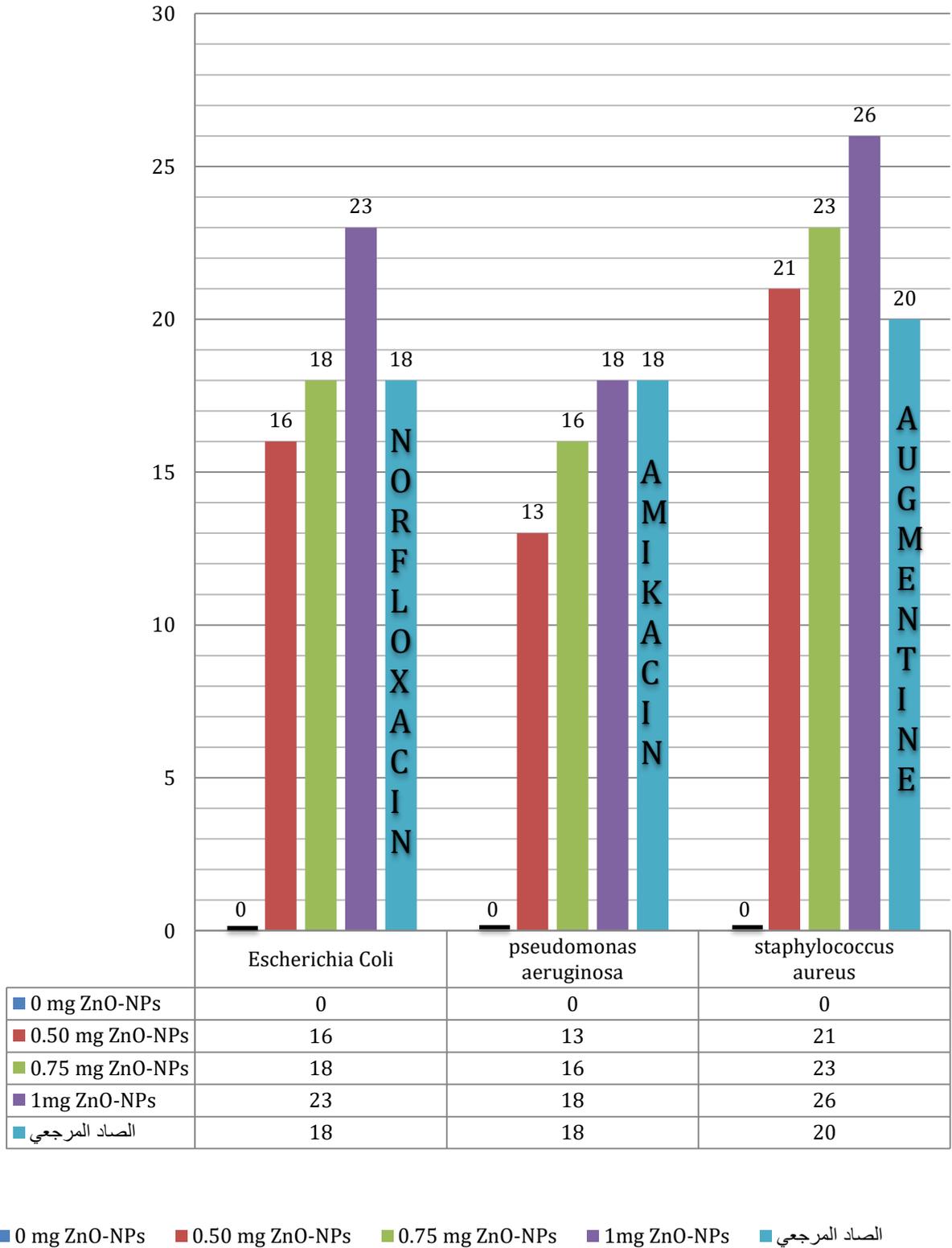
أجرى الباحث [١٢] بحثاً يتضمن تحضير جسيمات زنك نانوية بنفس الطريقة والشروط التي تم اتباعها في هذا البحث وظهرت لديه نتائج متطابقة لما تم الحصول عليه خلال هذا البحث، كما تشابهت مع نتائج الباحثين الذين استخدموا نفس طريقة العمل ونفس المركبات الطبيعية بخلاف واحد فقط وهو استخدام الميثانول عوضاً عن الإيثانول ككاشف وكانت أشكال الجسيمات جميعها كروية، وأبعاد الجسيمات كانت بين ١٥ الى ٢٥ نانومتراً والتي تقاربت كثيراً من نتائج هذا البحث بالشكل وأبعاد الجسيمات. أي أن تغيير الكاشف لم يكن له تأثير على شكل الجسيمات النانوية [٢٥].

تقدير الفعالية الجرثومية

تمتلك جسيمات الزنك النانوية فعالية مضادة للجراثيم السلبية والايجابية الغرام كما هو موضح في (الشكل ٦) مما تطابق مع العديد من الدراسات السابقة [26-28]، وكانت الفعالية المضادة للجراثيم تجاه *Staphylococcus aureus* (+G) أعلى من الفعالية المضادة لجراثيم *Escherichia coli* و *Pseudo aeruginosa* (-G)، وكما ذكرنا سابقاً بأن فعالية جسيمات الزنك النانوية تعتمد بشكل رئيسي على تفاعلها مع الجدار الخلوي الجرثومي، حيث الجراثيم إيجابية الغرام تمتلك جدار خلوي سميك يتكون من طبقات متعددة من الببتيدوغليكان على خلاف الجراثيم سلبية الغرام التي تمتلك جدار خلوي معقد يتضمن طبقة رقيقة من الببتيدوغليكان محاطة بغلاف خارجي يتركب من الليبوبولي سكاريد. [29]

تقدير الفعالية المضادة للجراثيم

أقطار التنشيط بالمليمتر



الشكل ٦: فعالية جسيمات أكسيد الزنك النانوية المثبطة لنمو أنواع جرثومية مختلفة.

في حالة الجراثيم إيجابية الغرام، تتفاعل جسيمات الزنك النانوية مع الطبقات الخارجية والتي تمتلك عدد كبير من المسام التي تؤمن مساراً سهلاً لتسرب وإختراق هذه الجسيمات للمحتويات الداخل خلوية، مما يتسبب في نهاية المطاف لموت الخلية الجرثومية بعدة آليات تم إيضاحها سابقاً.

أما في حالة الجراثيم سلبية الغرام، تتفاعل جسيمات الزنك النانوية مع الجدار الخلوي الجرثومي الذي يتكون من عدة طبقات من الليبيدات الفوسفورية والليبيدات السكرية والليبوبروتينات والتي تؤخر الجسيمات من العبور إلى داخل الخلية الجرثومية وتفاعلها مع المكونات الخلوية الداخلية ولهذا السبب تبدي الجراثيم سلبية الغرام مقاومة أكبر بالمقارنة مع الجراثيم إيجابية الغرام والذي وضح بالعديد من الدراسات السابقة [٣٠، ٣١] وتتمثل الفعالية المضادة للجراثيم لجسيمات الزنك النانوية بعدة آليات تشمل إفراز الجذور الأوكسجينية الحرة وتحرر أيونات الزنك ثنائية الشحنة.

تعود سمية الجذور الأوكسجينية الحرة على الجراثيم لفعاليتها الشديدة وخصائصها المؤكسدة، وتم إيضاح ذلك في العديد من الدراسات [٣٢] حيث تقوم هذه الجذور الحرة بأحداث الإجهاد التأكسدي الذي بدوره يقوم بتدمير المكونات الخلوية مثل الليبيدات و ال DNA والبروتينات كنتيجة لدخولها داخل الغلاف الخلوي وأيضاً أكسدة الليبيدات الجرثومية تنتج لبيدات فوق مؤكسدة (Lipid peroxidation) التي هي العامل الرئيسي المسبب للتغيرات في الغشاء الخلوي الذي يعطل بالنهاية الوظائف الخلوية الحيوية وتزداد الفعالية الجرثومية كلما صغر حجم الجسيمات النانوية [٣٣]. كما بينت الدراسات أن إفراز الجذور الأوكسجينية الحرة يتم من سطح ال ZnO-Nps واقترحوا ارتباطاً بين تفاعل الفوتون والفعالية المضادة للجراثيم [٣٤].

أما تحرر أيونات الزنك ثنائية الشحنة فهي أحد الأسباب الرئيسية للآلية المضادة للجراثيم لجسيمات الزنك النانوية [٣٥-٣٧] بحيث يحدث تجاذب كهرومغناطيسي بين الجدار الخلوي الجرثومي المشحون سلباً وأيونات الزنك المشحونة إيجابياً بحيث ترجع هذه الأيونات وتتعاقد شحنتها ومن ثم تتأكسد إلى شحنتها الأساسية والتي بدورها تسبب تشكّل حويصلات ضمن الجدار الخلوي للجراثيم . هناك العديد من الدراسات التي أكدت بأن تسرب أيونات الزنك ثنائية الشحنة (Zn^{+2}) في وسط النمو الجرثومي مسؤولة عن السمية النانوية ووجدت تناسب عكسي أيضاً بين حجم الجسيمات وتحرر الأيونات كما الجذور الأوكسجينية الحرة.

وحسب دراسة الباحث [٣٨] فإن إفراز الأيونات (Zn^{+2}) يتعلق بسببين رئيسيين هما الخصائص الفيزيوكيميائية للجسيمات وكيميائية وسط التفاعل. أوضح الباحث [٣٩] أن الجسيمات ذات البنية الكروية (spherical shape) تعطي أيونات (Zn^{+2}) بشكل أكبر من الجسيمات ذات البنية القضيبية (rod shape).

بيّن الباحث [٤٠] أيضاً التأثير الكبير لدرجة حرارة الترميد على الفعالية المضادة للجراثيم عند التحضير بطريقة ال sol-gel الكيميائية بحيث قام بتحضير جسيمات زنك نانوية بدرجات ترميد مختلفة ودراسة فعاليتها المضادة للجراثيم وتوصل إلى أنه أفضل درجة حرارة والتي أعطت أعلى فعالية مضادة للجراثيم هي $300^{\circ}C$ والتي توافقت مع هذا البحث وقد تكون السبب في الفعالية القوية المضادة للجراثيم. كما قد يعود سبب اختلاف الفعالية لأبعاد الجسيمات النانوية الكبير (94 ± 2) nm بحيث أوضح الباحث [٤١] تأثير أبعاد الجسيمات ودورها في الفعالية المضادة للجراثيم بحيث أنه كلما صغرت أبعاد الجسيمات

كانت نسبة (مساحة سطح/حجم) كبيرة أي تماس أكبر مع الجراثيم بالإضافة لزيادة إفراز أيونات الزنك ثنائية الشحنة و(H_2O_2 , HO_2^- , O_2^-) Reactive Oxygen Species التي لها دور في الفعالية المضادة للجراثيم بارز.

أظهرت العديد من الدراسات كما في [٤٢، ٤٣] أن الطريقة الكيميائية أعطت فعالية مضادة للجراثيم أفضل بالمقارنة مع الطريقة النباتية.

الاستنتاجات

- أبدت طريقة (Sol-gel) الكيميائية دوراً مهماً في مجال تصنيع جسيمات الزنك النانوية بمرود جيد جداً ٧٣.٦% وتكلفة منخفضة وسهولة التطبيق
- أبدت جسيمات الزنك النانوية التي تم تصنيعها فعالية مضادة للجراثيم جيدة الجرثومية تجاه جراثيم (E.coli, S.aureus, P. aeruginosa)
- تم الحصول على فيلم من ألجينات الصوديوم مطبق على الشاش بشكل متجانس وذو ثبات مناسب وقابل للتحميل بالمواد الدوائية
- أبدت طريقة (Sol-gel) الكيميائية دوراً مهماً في مجال تصنيع جسيمات الزنك النانوية بأشكال كروية وبمتوسط أبعاد حوالي ١٧ nm

التوصيات والمقترحات

- الدراسة على طيف أوسع من الجراثيم
- دراسة حيوية على جروح حيوانات التجربة (in-vivo)
- استعمال بوليميرات أخرى لتحضير الشاش مثل (PVP)
- استخدام الطريقة النباتية لتصنيع جسيمات الزنك النانوية كطريقة نظيفة للبيئة
- استخدام جسيمات الزنك النانوية لتحضير أشكال صيدلانية أخرى مثل الأغشية والرغويات ومقارنة فعاليتها
- تحضير شاش طبي يحتوي جسيمات زنك نانوية ومواد أخرى مساعدة ذات فعالية مضادة للجراثيم مثل الخلاصات النباتية
- دراسة تأثير الجسيمات النانوية على الفطريات

الخاتمة

الشاش الطبي المحمل بفلم ألجينات الصوديوم الحاوية على جسيمات الزنك النانوية الذي تم تحضيره في هذه الدراسة أظهر فعالية واضحة مضادة لأنواع عديدة من الجراثيم إيجابية وسلبية الغرام (Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Staphylococcus aureus)، لذلك يمكن اعتباره كمادة واعدة من حيث إمكانية استخدامها للتسريع من التئام الجروح والحروق والمحافظة على عقامتها إلا أن ذلك بحاجة لدراسات أخرى تتعلق بالثبات والأمان قبل تطبيقه على النسيج الحية (in-vivo).

المراجع

- [1] K. Kaur, R. Gupta, S. A. Saraf, and S. K. Saraf, "Zinc: the metal of life," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 13, no. 4, pp. 358-376, 2014.

- [2] A. Kołodziejczak-Radzimska and T. Jesionowski, "Zinc oxide—from synthesis to application: a review," *Materials*, vol. 7, no. 4, pp. 2833-2881, 2014.
- [3] V. Parihar, M. Raja, and R. Paulose, "A brief review of structural, electrical and electrochemical properties of zinc oxide nanoparticles," *Reviews on Advanced Materials Science*, vol. 53, no. 2, pp. 119-130, 2018.
- [4] S. Majumder, P. Basnet, J. Mukherjee, and S. Chatterjee, "Effect of zinc precursor on morphology of ZnO nanoparticles," in *AIP Conference Proceedings*, 2020, vol. 2273, no. 1, p. 040006: AIP Publishing LLC.
- [5] I. De Luca *et al.*, "Nanotechnology development for formulating essential oils in wound dressing materials to promote the wound-healing process: A review," *Applied Sciences*, vol. 11, no. 4, p. 1713, 2021.
- [6] X. Gao, C. Guo, J. Hao, Z. Zhao, H. Long, and M. Li, "Adsorption of heavy metal ions by sodium alginate based adsorbent—a review and new perspectives," *International journal of biological macromolecules*, vol. 164, pp. 4423-4434, 2020.
- [7] B. A. Aderibigbe and B. Buyana, "Alginate in wound dressings," *Pharmaceutics*, vol. 10, no. 2, p. 42, 2018.
- [8] J. Hasnidawani, H. Azlina, H. Norita, N. Bonnia, S. Ratim, and E. Ali, "Synthesis of ZnO nanostructures using sol-gel method," *Procedia Chemistry*, vol. 19, pp. 211-216, 2016.
- [9] J. L. Venkataraju, R. Sharath, M. Chandraprabha, E. Neelufar, A. Hazra, and M. Patra, "Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles," *Journal of Biochemical Technology*, vol. 3, no. 5, pp. 151-154, 2014.
- [10] S. López-Cuenca *et al.*, "High-yield synthesis of zinc oxide nanoparticles from bicontinuous microemulsions," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2011, 2011.
- [11] Q. Wang, S. Mei, P. Manivel, H. Ma, and X. Chen, "Zinc oxide nanoparticles synthesized using coffee leaf extract assisted with ultrasound as nanocarriers for mangiferin," *Current Research in Food Science*, vol. 5, pp. 868-877, 2022.
- [12] V. Keerthika, A. Ananth, and M. Rajan, "Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles," *Journal of Nanoscience and Technology*, pp. 439-442, 2018.
- [13] N. M. Shamhari, B. S. Wee, S. F. Chin, and K. Y. Kok, "Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles with small particle size distribution," *Acta Chimica Slovenica*, vol. 65, no. 3, pp. 578-585, 2018.
- [14] V. Kalpana, B. A. S. Kataru, N. Sravani, T. Vigneshwari, A. Panneerselvam, and V. D. Rajeswari, "Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using culture filtrates of *Aspergillus niger*: Antimicrobial textiles and dye degradation studies," *OpenNano*, vol. 3, pp. 48-55, 2018.
- [15] Y. A. Selim, M. A. Azb, I. Ragab, and M. HM Abd El-Azim, "Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using aqueous extract of *Deverra tortuosa* and their cytotoxic activities," *Scientific reports*, vol. 10, no. 1, pp. 1-9, 2020.
- [16] T. Varadavenkatesan, E. Lyubchik, S. Pai, A. Pugazhendhi, R. Vinayagam, and R. Selvaraj, "Photocatalytic degradation of Rhodamine B by zinc oxide nanoparticles synthesized using the leaf extract of *Cyanometra*

ramiflora," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 199, p. 111621, 2019.

[17] M. H. Kahsay, "Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles using aqueous extract of *Becium grandiflorum* for antimicrobial activity and adsorption of methylene blue," *Applied Water Science*, vol. 11, no. 2, pp. 1-12, 2021.

[18] K. Chitra and G. Annadurai, "Antibacterial activity of pH-dependent biosynthesized silver nanoparticles against clinical pathogen," *BioMed research international*, vol. 2014, 2014.

[19] U. Manzoor, F. Tuz Zahra, S. Rafique, M. T. Moin, and M. Mujahid, "Effect of synthesis temperature, nucleation time, and postsynthesis heat treatment of ZnO nanoparticles and its sensing properties," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2015, 2015.

[20] I. S. Smolkova, N. E. Kazantseva, V. Babayan, J. Vilcakova, N. Pizurova, and P. Saha, "The role of diffusion-controlled growth in the formation of uniform iron oxide nanoparticles with a link to magnetic hyperthermia," *Crystal Growth & Design*, vol. 17, no. 5, pp. 2323-2332, 2017.

[21] A. J. Ruys, *Alumina ceramics: biomedical and clinical applications*. Woodhead Publishing, 2018.

[22] R. Ashraf, S. Riaz, Z. N. Kayani, and S. Naseem, "Effect of calcination on properties of ZnO nanoparticles," *Materials Today: Proceedings*, vol. 2, no. 10, pp. 5468-5472, 2015.

[23] M. R. Parra and F. Z. Haque, "Aqueous chemical route synthesis and the effect of calcination temperature on the structural and optical properties of ZnO nanoparticles," *Journal of Materials Research and Technology*, vol. 3, no. 4, pp. 363-369, 2014.

[24] R. Singh and S. Dutta, "The role of pH and nitrate concentration in the wet chemical growth of nano-rods shaped ZnO photocatalyst," *Nano-Structures & Nano-Objects*, vol. 18, p. 100250, 2019.

[25] G. Singh and S. P. Singh, "Synthesis of zinc oxide by sol-gel method and to study its structural properties," in *AIP Conference Proceedings*, 2020, vol. 2220, no. 1, p. 020184: AIP Publishing LLC.

[26] B. Lallo da Silva *et al.*, "Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: An overview," *International journal of nanomedicine*, pp. 9395-9410, 2019.

[27] K. S. Siddiqi, A. ur Rahman, n. Tajuddin, and A. Husen, "Properties of zinc oxide nanoparticles and their activity against microbes," *Nanoscale research letters*, vol. 13, pp. 1-13, 2018.

[28] D. Rutherford *et al.*, "Growth inhibition of gram-positive and gram-negative bacteria by zinc oxide hedgehog particles," *International Journal of Nanomedicine*, pp. 3541-3554, 2021.

[29] P. Kanmani and J.-W. Rhim, "Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles," *Carbohydrate polymers*, vol. 106, pp. 190-199, 2014.

[30] B. L. da Silva *et al.*, "Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: An overview," *International journal of nanomedicine*, vol. 14, p. 9395, 2019.

[31] M. G. Demissie, F. K. Sabir, G. D. Edossa, and B. A. Gonfa, "Synthesis of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *lippia adoensis* (koseret)

and evaluation of its antibacterial activity," *Journal of Chemistry*, vol. 2020, pp. 1-9, 2020.

[32] A. Sirelkhatim *et al.*, "Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism," *Nano-micro letters*, vol. 7, no. 3, pp. 219-242, 2015.

[33] N. Padmavathy and R. Vijayaraghavan, "Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study," *Science and technology of advanced materials*, 2008.

[34] Y. Xie, Y. He, P. L. Irwin, T. Jin, and X. Shi, "Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*," *Applied and environmental microbiology*, vol. 77, no. 7, pp. 2325-2331, 2011.

[35] M. Li, L. Zhu, and D. Lin, "Toxicity of ZnO nanoparticles to *Escherichia coli*: mechanism and the influence of medium components," *Environmental science & technology*, vol. 45, no. 5, pp. 1977-1983, 2011.

[36] M. Premanathan, K. Karthikeyan, K. Jeyasubramanian, and G. Manivannan, "Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation," *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 7, no. 2, pp. 184-192, 2011.

[37] B. Aydin Sevinç and L. Hanley, "Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles," *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 94, no. 1, pp. 22-31, 2010.

[38] J. Pasquet *et al.*, "Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the Challenge Tests related to their physicochemical properties," *International journal of pharmaceuticals*, vol. 460, no. 1-2, pp. 92-100, 2014.

[39] X. Peng, S. Palma, N. S. Fisher, and S. S. Wong, "Effect of morphology of ZnO nanostructures on their toxicity to marine algae," *Aquatic Toxicology*, vol. 102, no. 3-4, pp. 186-196, 2011.

[40] A. Ismail, A. Menazea, H. A. Kabary, A. El-Sherbiny, and A. Samy, "The influence of calcination temperature on structural and antimicrobial characteristics of zinc oxide nanoparticles synthesized by Sol-Gel method," *Journal of Molecular Structure*, vol. 1196, pp. 332-337, 2019.

[41] Q.-u.-A. Naqvi *et al.*, "Size-dependent inhibition of bacterial growth by chemically engineered spherical ZnO nanoparticles," *Journal of biological physics*, vol. 45, no. 2, pp. 147-159, 2019.

[42] H. M. Abdelmigid, N. A. Hussien, A. A. Alyamani, M. M. Morsi, N. M. AlSufyani, and H. A. Kadi, "Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using pomegranate fruit peel and solid coffee grounds vs. chemical method of synthesis, with their biocompatibility and antibacterial properties investigation," *Molecules*, vol. 27, no. 4, p. 1236, 2022.

[43] K. R. Ahammed *et al.*, "Microwave assisted synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles in a noble approach: utilization for antibacterial and photocatalytic activity," *SN Applied Sciences*, vol. 2, pp. 1-14, 2020.