



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم التطبيقية- هيت
قسم الكيمياء التطبيقية

تحضير مركبات لا عضوية بفعاليات أنزيمية

بحث تقدم به الطلاب

علاء يونس حسين

صدام عبد مطلق

ناطق عزيز خميس

إلى مجلس كلية العلوم التطبيقية- هيت كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس
في الكيمياء التطبيقية

إشراف

أ. د. بلال جاسر محمد الراوي

م. م. عمار عبد الرزاق العاني

٢٠٢٤ م

١٤٤٥ هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ قَالَ رَبِّ اشْرَحْ لِي صَدْرِي ﴿٢٥﴾ وَيَسِّرْ لِي أَمْرِي ﴿٢٦﴾ وَأَحِلِّ

عُقْدَةً مِنْ لِسَانِي ﴿٢٧﴾ يَفْقَهُوا قَوْلِي ﴿٢٨﴾

سورة طه الآيات : (٢٥ - ٢٨)

الإهداء

إلى كل من اضاء بعلمه عقل غيره او هدى بالجواب الصحيح حيرة سائله
فأظهر بسماحته تواضع العلماء وبرحابته سماحة العارفين

إلى أمي التي غمرتني بالحنان والمحبة

إلى أبي الذي لم يبخل عليّ يوماً بشيء

إلى العائلة الكريمة التي ساندتني ولاتزال من اخوة واخوات

إلى كل من كان له اثر طيب على حياتي، والى كل من احبهم قلبي ونسيهم
قلمي

اهدي جهدي المتواضع هذا .

الباحث

الشكر والعرفان

الحمد لله مستحق الحمد وحده، والصلاة والسلام على من لا نبي بعده، وعلى آله وأصحابه أجمعين، نحمده تعالى على جزيل نعمه، ومزيد فضله، لما أمرنا بالصبر الجميل وتسهيل أمرنا، فله الحمد والمئة أولاً وآخرًا.

إعترافاً بالجميل، أقدم خالص شكري لأهل الفضل الذين أحاطوني برعايتهم وأمدوني بآرائهم السديدة، أخص منهم بالذكر استاذي الفاضل (أ.د. بلال جاسر محمد الراوي) المشرف على البحث والذي اخذ بيدي، واحاطني برعايته الابوية، وزادني من خبرته العلمية وآرائه السديدة والتي كانت بحق هي النور الذي اضاء على البحث فزاده بهاءً ورونقاً وجمالاً فجزاه الله عني خير الجزاء وأسأله تعالى أن يمدّه بالصحة والعافية ويوفقه لما يحبه ويرضاه.

كما لا يفوتني أن أشكر الأستاذ (عمار عبد الرزاق توفيق العاني) الذي كان له فضلٌ كبير في هذا البحث.

كامل اود ان اوجه شكري وعظيم امتناني الى اساتذتي الكرام الذين سيتفضلون بمناقشة بحثي والذين سيكونون خير عون لي على تجنب العثرات، واغناء البحث بما فات.

الباحث

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المشرف على مشروع التخرج

أشهد أن إعداد هذا البحث الموسوم بـ(تحضير مركبات لا عضوية بفعاليات انزيمية)، من قبل الطلاب (علاء يونس حسين، ناطق عزيز خميس، صدام عبد مطلق) قد تم تحت إشرافي في كلية العلوم التطبيقية - هيت/ جامعة الأنبار، وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس (علوم كيمياء تطبيقية).

التوقيع:

الاسم : أ.د. بلال جاسر محمد الراوي

المرتبة العلمية : استاذ دكتور

العنوان :جامعة الأنبار /كلية العلوم التطبيقية - هيت

التأريخ: / / ٢٠٢٤

التوقيع:

الاسم : م.م. عمار عبد الرزاق العاني

المرتبة العلمية : مساعد مدرس

العنوان :جامعة الأنبار /كلية العلوم التطبيقية - هيت

التأريخ: / / ٢٠٢٤

إقرار رئيس القسم بناءً على التوصيات المقدمة من مشرف أرشح هذا البحث
للمناقشة

التوقيع:

الاسم: أ. م. د. مروان محمد فرحان

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد دكتور

العنوان: جامعة الأنبار /كلية العلوم التطبيقية- هيت

التأريخ: / / ٢٠٢٤

الملخص:

تم استخدام جسيمات أكسيد الحديد النانوية على نطاق واسع في العديد من المجالات المهمة نظراً لخصائصها الفيزيائية النانوية الممتازة مثل المغناطيسية/المغناطيسية الفائقة. يُفترض عادةً أنها خاملة بيولوجياً في التطبيقات الطبية الحيوية ومع ذلك تم العثور مؤخراً على أن جسيمات أكسيد الحديد النانوية تمتلك أيضاً أنشطة داخلية تشبه الإنزيم وتُعتبر الآن بمثابة محاكيات إنزيمية جديدة. ومن ثم تمت صياغة مصطلح خاص "النانوزايم" لتسليط الضوء على الخصائص الأنزيمية الجوهرية لمثل هذه المواد النانوية.

يهدف هذا البحث الى:-

تحضير جسيمات Fe_3O_4 النانوية باستخدام طريقة صديقة للبيئة وهي الطريقة الخضراء وقياس وتطبيقها كمواد مضادة للأكسدة وكذلك قياس الفعالية الحيوية له لبعض الانزيمات مثل SOD و CAT و POX حيث تم استخدام نبات الجاتروفا في التحضير بسبب احتواءه على وفرة من المركبات الاوكسجينية.

تم استخدام التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية UV-Vis في تشخيص مركب Fe_3O_4 وكذلك تم استخدام المجهر الالكتروني الماسح (SEM) لدراسة التركيب والشكل وايضا تم قياس حيود الاشعة السينية (XRD) لدراسة الطور والحجم البلوري لجسيمات Fe_3O_4 النانوية.

تم الحصول على نتائج جيدة تشير الى ان جسيمات اوكسيد الحديد النانوي (Fe_3O_4) تعمل عملا مشابه للإنزيمات حيث تعمل على تفكك والتخلص من ROS و H_2O_2 التي قد تسبب العديد من الامراض في الجسم لذلك يمكن استخدام هذه الجزيئات وتطبيقها على الكائن الحي وليس فقط مختبريا وبالتالي قياس فعاليتها وقدرتها على التخلص من العوامل المؤكسدة وبعض الجذور الحرة.

المحتويات

I	الآية
II	الإهداء
III	شكر وتقدير
IV	اقرار المشرف
V	الملخص
VI	المحتويات
١	١- المقدمة
٢	٢- مراجعة المصادر:
٣	٢-١ تقنية النانو وتطبيقاتها المختلفة
٨	٢-٣ خصائص الإنزيمات النانوية المختلفة ومزاياها على الإنزيمات
٨	٢-٤ التفاعلات الكيميائية التي يقودها هذان الإنزيمان هي:
١٣	٢-٥ سمية المركب Fe_3O_4
١٨	٣- المواد وطرائق العمل:
١٨	٣-١ تحضير اوكسيد الحديد (Fe_3O_4) النانوي بالطريقة الخضراء
٢٠	٣-٢ طريقة عمل محاكاة Peroxidase:
٢٠	٣-٣ طريقه محاكاة عمل Catalase Method :-
٢٢	٣-٤ طريقة عمل محاكاة SOD
٢٣	النتائج والمناقشة:
٣٠	المصادر (References)

Abbreviations

ROS / Reactant Oxygen Species

DNA / Deoxyribo Nucleic Acid

RNA / Ribo Nucleic Acid

SOD / Super Oxide Dismutase

POD / Peroxidase

CAT / Catalase

OXD / Oxidase

ATP / Adenosine Tri Phosphate

CVD / Chemical Vapor Deposition

TMB / Tetra Methyl Benzidine

تشير المواد النانوية عادة الى المواد ذات الحجم (على الأقل في بعد واحد) الذي يتراوح من ١_١٠٠ نانومتر حيث انه في هذا المقياس قد تمتلك المواد خواصاً كيميائية وفيزيائية وبيولوجية وميكانيكية فريدة تختلف عن الخواص السائبة.

تشير الانزيمات النانوية الى المواد النانوية ذات انشطة محاكاة الانزيمات⁽¹⁾ ولقد اصبح هذا الموضوع شائعاً في السنوات الأخيرة بسبب التصنيع السهل، الانشطة التحفيزية القابلة للضبط⁽²⁾، الاستقرار العالي، التكلفة المنخفضة وسهولة العلاج⁽³⁾.

تعد الانزيمات النانوية بدائل واعدة للإنزيمات الطبيعية في تطبيقات مختلفة⁽⁴⁾ في عملية التمثيل الغذائي الخلوي التي تنطوي على الانزيمات يخضع الاوكسجين لسلسلة من التخفيضات بالإلكترون واحد والتي تؤدي بدورها الى تكون انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS).

تشارك ROS في مسارات إشارات مختلفة استجابة لتغير الظروف الخارجية والتي تعد جزءاً من الاستجابة الالتهابية لمكافحة العدوى ويمكن ان تتفاعل ايضاً مع العديد من الجزيئات الحيوية المهمة بما في ذلك البروتينات والدهون وبوليمرات الحمض النووي (DNA و RNA)^[7]

كما ويمكن للإنزيمات النانوية تعديل مستوى ROS في الخلايا⁽⁵⁾

تنشأ قدرات الانزيمات النانوية على كسح ROS الى حد كبير من انشطة محاكاة ديسموتاز الاكسيد الفائق (SOD) والتي تحول الاكسيد الفائق الى H_2O_2 وبعد ذلك الى O_2 و H_2O وبالتالي تقلل مستوى ROS داخل الخلايا وتعزز قابلية الخلية للنمو.

ينشأ توليد ROS من انشطة البيروكسيداز (POD) الخاصة بها والتي تحول H_2O_2 الى جذر حر من OH وكذلك انشطة الاكوسيداز التي تحول O_2 الى جذر حر من البيروكسيد H_2O_2 خارج الخلية.

يمكن ان تتفاعل ROS مع الجزيئات النشطة بيولوجياً مثل (الكلوكوز، الدوبامين، الكلوتاثيون، وكذلك مع الاديونسين ثلاثي الفوسفات ATP) والمركبات العضوية مثل الفينول والاصباغ، وكذلك مع الملوثات من المحاليل المائية. وبالتالي يمكن للإنزيمات النانوية ان تلعب أدواراً مهمة في الاختبارات المعملية وحماية البيئة⁽⁶⁾.

٢ - مراجعة المصادر:

الانزيمات : هي المسرع الرئيسي لجميع التفاعلات الكيميائية الحيوية تقريباً سواء داخل الخلايا أو خارجها.

ومما يجدر بنا الإشارة اليه ان هذه المحفزات الحيوية عبارة عن بروتينات او جزيئات كبيرة من البروتينات السكرية ذات موقع نشط ويتم انتاجها في جميع الخلايا الحية⁽⁷⁾.

تم استخدام الانزيمات في العمليات الغذائية مثل تنقية وتصفية النبيذ ، البيرة، الخبز وكذلك في انتاج الجبن.

أما في مجال الصناعة فقد استخدمت الانزيمات ولا زالت تستخدم الى وقتنا الحاضر على الاغلب في صناعة الورق واللبن وصناعة النسيج علاوة على استخدامها في مختلف الصناعات الدوائية⁽⁸⁾.

٢-١ تقنية النانو وتطبيقاتها المختلفة

يمكن تعريف الجسيمات النانوية بأنها عبارة عن جسيمات صلبة صغيرة الحجم يتراوح حجمها من ١ الى ١٠٠ نانومتر وتشير تقنية النانو الى مجال علمي ناشئ يتضمن تخليق وتطوير المواد النانوية المختلفة.

في الوقت الحاضر يتم انتاج مواد معدنية نانوية مختلفة باستخدام النحاس والزنك والتيتانيوم والمغنسيوم والذهب والفضة لأغراض متنوعة بدءاً من العلاجات الطبية وكذلك استخدامها في مختلف فروع الانتاج الصناعي مثل بطاريات الوقود الشمسية وبطاريات الاكسيد لتخزين الطاقة وحتى دمجها على نطاق واسع في مواد متنوعة للإستخدام اليومي مثل مستحضرات التجميل او الملابس⁽⁹⁾.

طرق تحضير الجسيمات النانوية

يتم تحضير الجسيمات النانوية بطرق مختلفة يتم تصنيفها الى طريقة من اسفل الى اعلى (bottom-up) وطريقة من اعلى الى اسفل (Top-down).

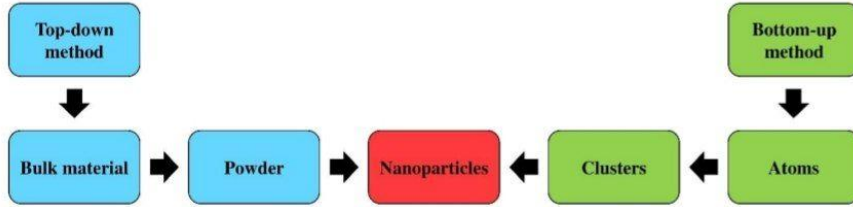


Figure 3. Synthesis process.

مخطط (١)

١. طريقة من اسفل الى اعلى (bottom-up) : وتسمى ايضا الطريقة البناءة وتمثل تراكم المواد من الذرة الى المجموعات الى الجسيمات النانوية.

تعد طريقة sol-gel و الغزل و ترسيب البخار الكيميائي (CVD) و الانحلال الحراري والتخليق الحيوي من اكثر الطرق استخداما من اسفل الى اعلى لإنتاج الجسيمات النانوية⁽¹⁰⁾.

٢. طريقة من اعلى الى اسفل (Top-down) : وتعرف ايضا بالطريقة التحطيمية حيث تمثل اختزال المادة السائبة الى جزيئات بمقياس نانومتري.

وتشمل عدة طرق في التحضير اهمها الطحن الميكانيكي و الطباعة الحجرية النانوية و الاستئصال بالليزر و الرش و التحلل الحراري⁽¹¹⁾.

٣. الطريقة الخضراء لتحضير جزيئات النانو

تم استخدام الطرق التقليدية منذ السنوات العديدة الماضية ولكن الأبحاث أثبتت أن الطرق الخضراء أكثر فعالية لتوليد جزيئات النانو مع ميزة تقليل فرص الفشل والتكلفة المنخفضة وسهولة التوصيف⁽¹²⁾.

لقد شككت الأساليب الفيزيائية والكيميائية لتصنيع جزيئات النانو العديد من الضغوط على البيئة بسبب مستقلباتها السامة.

من المؤكد أن تخليق جزيئات النانو على أساس نباتي ليس إجراءً مزعجاً حيث يتم تصنيع ملح معدني مع مستخلص نباتي وتكتمل الاستجابة في دقائق إلى بضع ساعات في درجة حرارة الغرفة النموذجية.

لقد جذبت هذه الإستراتيجية المزيد من الاهتمام خلال العقد الأخير خاصة بالنسبة للفضة (Ag) والذهب (Au) النانوي والتي تعد أكثر أماناً مقارنة بـ جزيئات النانو المعدنية الأخرى.

يمكن توسيع نطاق توليد الطاقة النووية من التقنيات الخضراء دون عناء كما أنها نكية من الناحية المالية أيضاً.

في ضوء خصائصها الاستثنائية يتم حالياً تفضيل جزيئات النانو المنسقة باللون الأخضر على جزيئات النانو التي يتم تسليمها تقليدياً.

إن استخدام المزيد من المواد الكيميائية الضارة والسامة لصحة الإنسان والبيئة يمكن أن يزيد من تفاعل الجسيمات وسميتها وقد يسبب آثاراً ضارة غير مرغوب فيها على الصحة بسبب افتقارها إلى الضمان وعدم اليقين في تركيبها⁽¹³⁾. تعتبر الطرق

الخضراء للتخليق جذابة بشكل كبير بسبب قدرتها على ذلك تقليل سمية جزيئات النانو.

وبناء على ذلك أصبح استخدام الفيتامينات والأحماض الأمينية والمستخلصات النباتية شائعاً بشكل كبير في أيامنا هذه⁽¹⁴⁾.

Table 1. Categories of the nanoparticles synthesised from the various methods

Category	Method	Nanoparticles
Bottom-up	Sol-gel	Carbon, metal and metal oxide based
	Spinning	Organic polymers
	Chemical Vapour Deposition (CVD)	Carbon and metal based
	Pyrolysis	Carbon and metal oxide based
	Biosynthesis	Organic polymers and metal based
Top-down	Mechanical milling	Metal, oxide and polymer based
	Nanolithography	Metal based
	Laser ablation	Carbon based and metal oxide based
	Sputtering	Metal based
	Thermal decomposition	Carbon and metal oxide based

مخطط (٢)

٢-٢ الانزيمات النانوية (nanozymes)

يمكن ان تعمل الانزيمات كمحفزات بيولوجية لمختلف التفاعلات البيولوجية في الجسم الحي مثل (23)[SOD,POD,SOD,OXD] تتمتع الانزيمات بخاصيتين أساسيتين هما :-

١_تزيد من التفاعل التحفيزي دون أن تستهلك نفسها

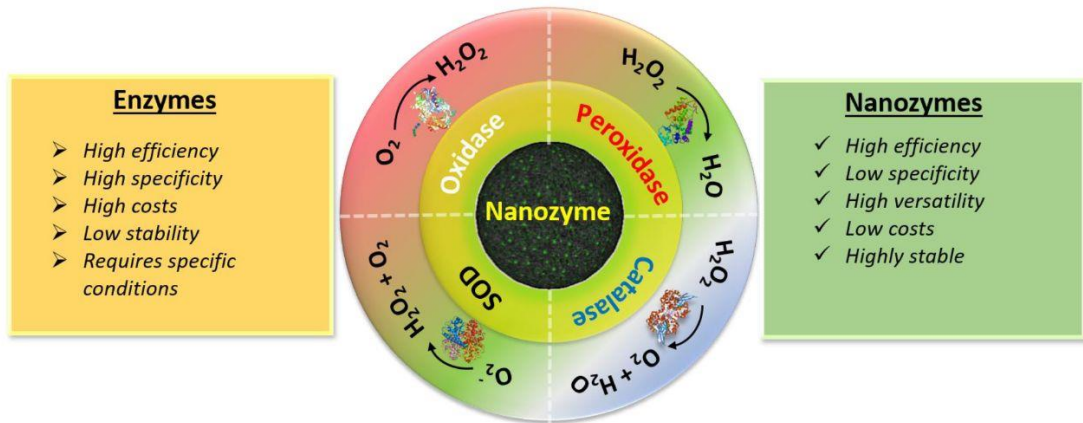
٢_تزيد من معدلات التفاعل دون تغيير التوازن الكيميائي

وبشكل رئيسي تتكون الانزيمات من جزأين هما البروتين والعامل المساعد المعدني حيث يحتوي جزء البروتين على مجموعات وظيفية مختلفة ويسهل امتصاص الركيزة ويوفر موقعا لربط الركيزة في حين ان الجزء المعدني(ايون معدني عموماً أو مركب معدني) يسهل نقل الالكترون⁽¹⁵⁾.

تم استخدام العديد من الانزيمات في تطبيقات مختلفة مثل إنتاج الكيماويات الزراعية والعمليات الصيدلانية وتطبيقات صناعة الاغذية والتطبيقات الطبية الحيوية(16).

ومع ذلك فإن التطبيقات العملية للإنزيمات مقيدة بسبب بعض القيود الخطيرة حيث ان الانزيمات لها عيوب مثل انخفاض الاستقرار التشغيلي وانخفاض الحساسية والتكلفة العالية وبالتالي ظهرت حاجة ماسة الى استراتيجية بديلة لتقليد الانزيمات الطبيعية وتعزيز التفاعلات الحفزية(17).

وهكذا تم تكريس جهود كبيرة لتطوير الانزيمات النانوية التي تشبه الانزيمات الطبيعية حيث تظهر الانزيمات النانوية العديد من المزايا مقارنة بالانزيمات الطبيعية، بما في ذلك تعدد الوظائف، قابلية ضبط الانشطة التحفيزية، التكلفة المنخفضة، قابلية التوسع في الانتاج اضافة الى قابلية إعادة التدوير والاستقرار العالي علاوة على ذلك يمكن لهذه الانزيمات النانوية أن تعمل في الظروف المحيطة ويمكن ضبط نشاط الانزيم النانوي ببساطة عن طريق تغيير شكله وبنيته وتركيبته(18).



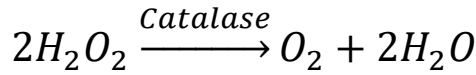
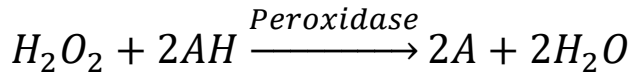
٢-٣ خصائص الإنزيمات النانوية المختلفة ومزاياها على الإنزيمات

أدت مزايا الإنزيمات النانوية الى استخدامها في تطبيقات الطاقة والتطبيقات البيئية والطبية والحيوية على سبيل المثال يمكن ان تستخدم الإنزيمات النانوية للكشف النوعي والكمي عن السموم البيئية مثل الايونات والجزئيات والمركبات العضوية.⁽¹⁹⁾ كما تم استخدام الإنزيمات النانوية ايضا لعلاج الالتهابات البكتيرية مما يوفر خصائص مضادة للميكروبات واسعة النطاق مع سمية خلوية ضئيلة⁽²⁰⁾. كما تم استخدامها في اجهزة الاستشعار الحيوية للكشف السريع والموثوق والحساس للغاية عن الامراض المختلفة⁽²¹⁾.

٢-٤ التفاعلات الكيميائية التي يقودها هذان الإنزيمان هي:

في الآونة الأخيرة تم دراسة الإنزيمات النانوية القائمة على المواد النانوية على نطاق واسع لإستخدامها في علاج السرطان من خلال التغلب على نقص الاكسجة في الورم حيث يلعب الاركسجين دورا محورياً في تطور السرطان⁽²²⁾.

الأنشطة الأنزيمية للإنزيم الأيوني حالياً يُقال إن الإنزيم الأيوني يحاكي نشاطين إنزيمين: catalase (EC 1.11.1.7) peroxidase (EC 1.11.1.6)، اللذين ينتميان إلى عائلة oxidoreductase. يحتوي هذان الإنزيمان على heme porphyrin كعامل مساعد في موقعهما النشط، وبينما يستخدم كلاهما H_2O_2 كركيزة، فإن الأول فقط يولد جذور حرة للتفاعل مع المتبرع بالهيدروجين (AH)، في حين أن الأخير يولد الأكسجين (المعادلة ١ و ٢). يلعب كل من catalase , peroxidase دوراً مهماً في منع الضرر التأكسدي الخلوي في الكائنات الحية التي تتنفس هوائياً.



(١) peroxidase like activity لـ (جسيمات الحديد النانوية IONzyme): أول نشاط لـ IONzyme تم العثور عليه كان نشاطاً يشبه peroxidase ، والذي يحفز التفاعل اللوني النموذجي الذي يتضمن بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) والكواشف اللونية . يمكن العثور على هذا النشاط في كل من المواد النانوية Fe_3O_4 و Fe_2O_3 ، في حين أن الأخير لديه نشاط أفضل من الأول⁽²³⁾. يتطلب النشاط المشابه للإنزيم الأيوني peroxidase ظروف مثالية بما في ذلك درجة الحرارة المثلى. عند ٣٧-٤٠ درجة مئوية تحت الرقم الهيدروجيني الأمثل (الرقم الهيدروجيني ٣-٦.٥) في محلول حامضي [١٠] للحصول على نشاط يشبه peroxidase الأيون الأمثل، يجب الحفاظ على تركيز H_2O_2 ضمن نطاق مناسب، لأن الكميات المفرطة من H_2O_2 يمكن أن تمنع التفاعل اللوني عندما يعمل ٣، ٣، ٥، ٥- رباعي ميثيل بنزيدين (TMB) كمتبرع للهيدروجين. وجدت تقارير مختلفة نشاطاً يشبه peroxidase الأيونات لمجموعة واسعة من الركائز، بما في ذلك TMB.

تحتوي peroxidase ، كعامل مساعد في المراكز النشطة، على cysteine أو selenium النشط المؤكسد. هناك عدة أنواع من peroxidase مثل ، glutathione peroxidase ، myelo. peroxidase ، halo ، peroxidase ، lactose peroxidase ، وما إلى ذلك (باندي وآخرون، ٢٠١٧).

منذ عام ٢٠٠٧، عندما تم تسجيل نشاط peroxidase الشبيه بالإنزيم لـ Fe_3O_4 ، الجسيمات النانوية لأول مرة، تم تحديد أكثر من ٤٠ مادة نانوية وقد تقرر أن المواد النانوية تتميز بنشاط peroxidase ، بما في ذلك الاستقرار العالي والتكلفة المنخفضة للتخليق (He et al., 2014; Singh, 2016).

يمكن لمضادات الأكسدة المعتمدة على اوكسيد الحديد أن تعمل كمقلدات ل peroxidase، ويمكن أن تقلل من الإجهاد التأكسدي أثناء العمليات الالتهابية والحالات المرضية الأخرى⁽²⁴⁾.

٢- catalase like activity (المعادلة ٢) (٣٥). أظهر التقرير الأول أن كلا من Fe_3O_4 و $\gamma-Fe_2O_3$ ، الجسيمات النانوية المغلفة dimercaptosuccinic acid (DMSA) تتحلل H_2O_2 ، في ظل ظروف الرقم الهيدروجيني المحايدة والأساسية⁽²⁵⁾. في حين أن كلا النوعين من الجسيمات النانوية حفزا هذا التفاعل، فقد ظهر أن Fe_3O_4 تمتلك أعلى نشاط يشبه catalase .

على غرار النشاط الشبيه peroxidase ، لعب نطاق الأس الهيدروجيني دورًا حاسمًا في كفاءة هذا التفاعل. الفهم الحالي هو أن IONzyme يقوم بشكل أساسي بالنشاطين المذكورين أعلاه مع التحكم المناسب في درجة الحموضة.

تم العثور على جسيمات نانوية من أكسيد الحديد ذات نشاط يشبه catalase تحت درجة الحموضة المحايدة⁽²⁶⁾ . باستخدام التحليل الطيفي لرنين الإلكترون، وجدوا أن كلا من Fe_3O_4 و $\gamma-Fe_2O_3$ ، الجسيمات النانوية تحلل H_2O_2 إلى جذور الهيدروكسيل تحت الظروف الحمضية (الرقم الهيدروجيني > ٦.٥)، مما يظهر نشاطاً يشبه peroxides ($Fe_3O_4 > \gamma-Fe_2O_3$). ومع ذلك، تم تحلل H_2O_2 إلى H_2O و O_2 تحت حالة درجة الحموضة المحايدة (الرقم الهيدروجيني ٧.٤)

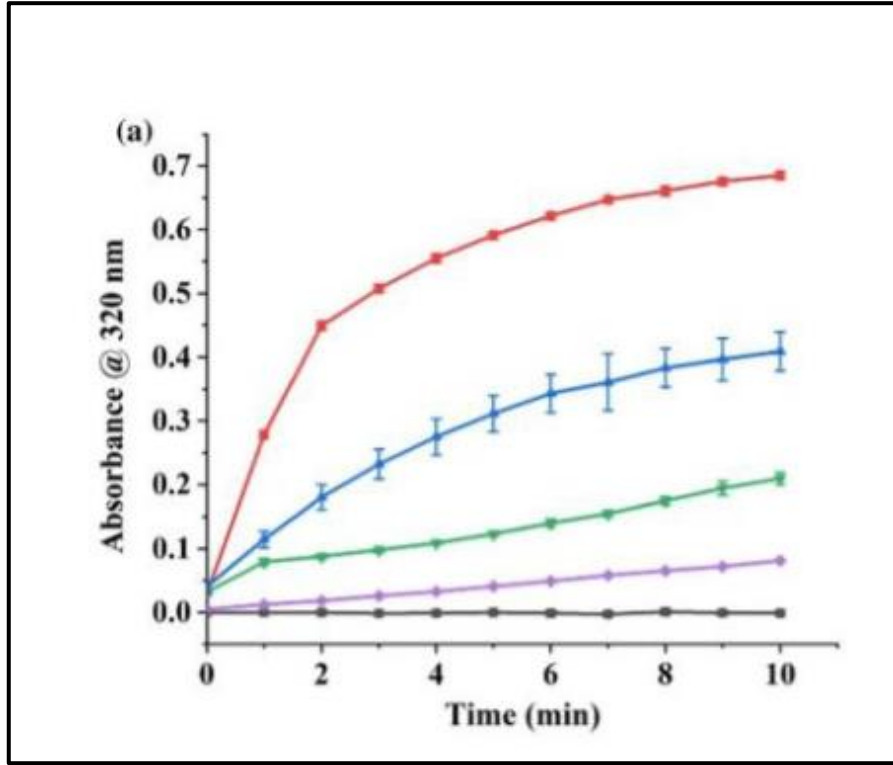
بواسطة الجسيمتين النانويتين، مما يدل على نشاط يشبه catalase. أشارت هذه النتائج إلى أن الأنشطة الشبيهة بالإنزيمات لجسيمات أكسيد الحديد النانوية تعتمد على الرقم الهيدروجيني.

SOD-mimicking activity of Fe₃O₄ NZs-٣

تعد جذور Superoxid واحدة من أكثر الأنواع تدميراً بين أنواع الأوكسجين التفاعلية على الإطلاق. إن فكرة أن Fe₃O₄ NZs يمكن أن تساهم في التخلص من جذور Superoxid هي بلا شك نتيجة مثيرة للاهتمام. وبالتالي للتحقق من ذلك تم أيضاً قياس نشاط محاكاة SOD لـ Fe₃O₄ NZs. تم استخدام طريقتين - تثبيط أكسدة pyrogallol الذاتية ونظام Xanthine-xanthine oxidase الأكثر شيوعاً - لتقييم نشاط محاكاة SOD في Fe₃O₄ NZs. pyrogallol هو مركب غير مستقر للغاية ويتأكسد على الفور إلى purpurogallin بمشاركة نشطة من جذور Superoxid (O₂⁻) (Marklund and Marklund 1974).

في غياب SOD أو أي محاكيات SOD، يتجلى أكسدة pyrogallol من خلال زيادة الامتصاص، مما يعكس الإنتاج السريع لـ purpurogallin. في الدراسة الحالية أيضاً، لوحظت زيادة مطردة في الامتصاص (التي تشير إلى الأكسدة الذاتية pyrogallol). على العكس من ذلك، فإن إزالة جذر Superoxid بواسطة SOD أو مقلدات SOD يؤدي إلى تثبيط أكسدة pyrogallol. تم تثبيط أكسدة pyrogallol بواسطة Fe₃O₄ NZs المشار إليها من خلال انخفاض الامتصاص. يتم تمثيل النسبة المئوية للتخلص من جذور Superoxid بواسطة Fe₃O₄ NZs مقارنة بالإنزيم الطبيعي SOD أثناء أكسدة pyrogallol. في الشكل b أشارت هذه النتيجة إلى قدرة محاكاة SOD الفعالة لـ Fe₃O₄ NZs مما يعزز دور Fe₃O₄ NZs باعتباره مستقبل جذري لـ Superoxid في كل مكان^(٢٧).

تم أيضًا تنفيذ طريقة Xanthine-xanthine oxidase للتحقق من نشاط محاكاة SOD لـ Fe_3O_4 NZs (Yao et al. 2018). في هذا الاختبار، تم تفكيك جذور أنيون Superoxid الناتجة عن تفاعل Xanthine و xanthine oxidase بواسطة Fe_3O_4 NZs. تتم إضافة probe superoxide-specific (hydroethidine -HE) إلى نظام التفاعل. يتفاعل HE مع جذور الأكسيد الفائق المتولدة لإنتاج منتج fluorescent ethidium⁽²⁸⁾.



٢-٥ سمية المركب Fe_3O_4

تميل العوامل المتأصلة في الأنظمة النانوية التي تتضمن IONPs إلى التدخل بشكل مباشر في سميتها. على سبيل المثال، تبين أن التغيرات في حجم الجسيمات النانوية وشكلها تلعب دورًا مهمًا في سمية الخلايا، حيث تكون IONPs على شكل قضيب أو بحجم النانو أكثر سمية من الجزيئات ذات الشكل الكروي والميكرومترية^(٢٩)، يمكن أن يؤثر تكوين النظام النانوي أيضًا على سمية IONPs. ثبت أن الغلاف المجهرى يانوس الذي يغلف الخلايا الجذعية الوسيطة و IONPs في جزأين مختلفين يسهل مغنطة وحركة الكرات المجهرية (بسبب قدرة التحميل الأعلى لـ IONPs علاوة على ذلك، فإن الشحن السطحي لـ IONPs قد يؤثر على السمية الخلوية والسمية الجينية. تبين أن IONPs المشحونة بشكل إيجابي أكثر سمية، لأنها تخضع لتفاعلات غير محددة والالتقام الامتزازي مع غشاء الخلية سالب الشحنة، وبالتالي زيادة تراكمها داخل الخلايا والتأثير على سلامة غشاء الخلية^(٣٠).

حيث يمكن تفسير سمية IONPs لخطوط الخلايا المختلفة جزئيًا عن طريق إنتاج Reactant Oxygen Species ، الذي يسبب الإجهاد التأكسدي الخلوي^(٣١). عندما تمتصها الخلايا عن طريق الالتقام الخلوي، تميل IONPs إلى التراكم في الليزوزومات وتتحلل في أيونات الحديد . من الناحية النظرية، يمكن لأيونات عبور الأغشية والوصول إلى مناطق مثل نواة الخلية والميتوكوندريا، وتتفاعل مع بيروكسيد الهيدروجين والأكسجين، وبالتالي توليد ROS^{٢٥٠}

على الرغم من أن الإجهاد التأكسدي هو الفرضية الأكثر دراسة حول السمية وتلف الخلايا، إلا أن الحمل الزائد للحديد الناجم عن التعرض لـ IONPs يمكن أن يولد أيضًا تأثيرات ضارة خطيرة ويؤدي إلى موت الخلايا^(٣٢) ، مما يظهر سمية

تعتمد على التركيز في المختبر^(٣٣). بالإضافة إلى ذلك، فإن جرعة عالية من (ONPs) ما يترتب على ذلك من زيادة الحديد) تعزيز ارتفاع التمثيل الغذائي للدهون، وكسر توازن الحديد وتفاقم فقدان وظائف الكبد، حيث يعتبر عامل خطر لتليف الكبد في دراسة نموذجية للفئران^(٣٤).

تتميز NPs لأكسيد الحديد غير المطلي بذوبان منخفض جدًا يمكن أن يؤدي إلى الترسيب (إن لم يكن صغيرًا بدرجة كافية) بسبب قوى الجاذبية وأيضًا ارتفاع معدل التكتل في ظل الظروف الفسيولوجية التي يمكن أن تعيق الأوعية الدموية خاصة في بيئة التعرض السريري. وبالتالي، لاستخدامها بشكل فعال لأي تطبيق سريري ولتحسين التوافق الحيوي والتوزيع الحيوي، فإن SPION مغلفة بطبقة أمفيغرافية؛ ويمكن أيضًا تصميمها للارتباط بجزيئات بيولوجية معقدة مثل الأجسام المضادة أو الببتيدات أو الهرمونات أو الأدوية^(٣٥). إن SPION المتوفر تجاريًا عبارة عن سطح مطلي بمواد مثل السيليكون والديكستران والسيترات والنشا المغطى بالبولي إيثيلين جلايكول ويستخدم بشكل رئيسي كعوامل تباين في الأعضاء المستهدفة مثل الجهاز الهضمي والكبد والطحال والغدد الليمفاوية لكن استقرار هذه الطلاءات فيما يتعلق بمدة صلاحيتها وعواقب انهيارها في المختبر أو الجسم الحي لم يتم التحقق فيها بشكل شامل^(٣٦).

السنة	منطقة الاستخدام	وصف طريقة العمل
1999	لمعالجة تلوث التربة بمعادن ثقيلة	تم تحضير متراكب مخلبي مغناطيسي صلب واستعماله بعد سحقه لمعالجة تلوث التربة بمعادن ثقيلة
2004	يستخدم في الطب	حضر اوكسيد الحديد النانوي المغلف بحامض الستريك لأول مره حيث وجدت الجسيمات النانوية المغناطيسية تطبيقاً في التشخيص الطبي مثل التصوير بالرنين المغناطيسي والعلاجات مثل علاج السرطان .في هذه التطبيقات من الضروري ان يكون هناك نذيب متوافق حيوياً مثل الماء عند درجة الحموضة المثلى للأبتلاع الحيوي المحتمل .حيث تم تطوير طريقة العمل للحصول على محلول مائي يحوي جسيمات متناهية الصغر من جسيمات Fe_3O_4 النانوية في نطاق يتراوح بين 8-10 منتشرة في المحلول
2007	في البناء	الطلاءات النانوية، والمركبات النانوية، وأجهزة الاستشعار النانوية، والمواد الذكية، والمواد المضافة للخرسانة .تُستخدم أصباغ أكسيد الحديد في تلوين الخرسانة والبلاط ومواد البناء الأخرى
2010	في الطاقة	طبقات الطلاء الضوئية، وتحسين كفاءة إنتاج الوقود واستهلاكه، وخلايا الوقود والبطاريات، والهندسة الحيوية النانوية للإنزيمات، والمواد الكهروحرارية، والألواح الشمسية النموذجية، والبطاريات، والهلام الهوائي، وتحويل الحرارة المهدرة في أجهزة

<p>الكمبيوتر، والسيارات، والمنازل، ومحطات الطاقة، وما إلى ذلك، إلى الطاقة الكهربائية القابلة للاستخدام تم تحضير اوكسيد الحديد النانوي بأستعمال الترسيب المشترك وبحجم 8nm واستخدم لمعالجة تلوث المحاليل بمجموعة من ايونات المعادن الثقيلة وتوصلوا الى ان كفاءة الامتزاز تعتمد على كهروسالبية الايونات ودرجة الحرارة المحلول والدالة الحامضية</p>	<p>لمعالج تلوث المحاليل</p>	<p>2013</p>
<p>تم تحضير Fe₃O₄ المغناطيسي عن طريق الترسيب الكيميائي المشترك واستعمل لأمتزاز ايونات الرصاص من المياه وتوصلوا الى ان الكفاءة لأمتزاز ايونات الرصاص ازداد 100% بأرتفاع حموضة المحلول</p>	<p>لأمتزاز ايونات الرصاص من المياه</p>	<p>2016</p>
<p>استخدم اوكسيد الحديد النانوي المغناطيسي لأمتزاز الاصبغ والمعادن الثقيلة والنفايات الصناعية وكان الحد الاقصى لسحب الملوثات خلال فترة زمنية قدرها نصف ساعة مع اقل كمية من السطخ الماز ، وقد تبين انه كلما كبرت مساحة السطوح المازة كلما ازدادت كفاءة الامتزاز كما ان الكفاءة للسطوح تزداد بزيادة كمية الجسيمات النانوية وطول زمن التجربة</p>	<p>امتزاز الاصبغ والمعادن الثقيلة والنفايات الصناعية</p>	<p>2017</p>
<p>تم تحضير متراكب لأوكسيد الحديد المغناطيسي المغلف بالشاي الاخضر متعدد الفينولات</p>	<p>امتزاز الاصبغ</p>	<p>2018</p>

<p>استخدم اوكسيد الحديد النانوي المغناطيسي Fe_3O_4 في انظمة توصيل الادوية الخاصة بطب الاسنان اذا توصل البحث الى امكانية هذه الدقائق على حمل ادوية متعددة في وقت واحد ، مع التحكم الكافي بالأفراج عن هذه الادوية في الأنسجة الجسمية المستهدفة ، ويشمل ذلك الوقاية على الامراض المرتبطة بالكائنات الحية الدقيقة مثل البكتريا والفطريات .</p>	<p>توصيل الادوية الخاصة بطب الاسنان</p>	<p>2018</p>
<p>تم تحضير متراكب اوكسيد الحديد المغناطيسي مع نسب مختلفة الدكسترين ، واستخدم لازالة صبغة المثيلين الازرق من محاليلها المائية ووجد ان كفاءة الامتزاز تزداد بزيادة الحامضية ودرجات الحرارة وكمية الدكسترين في المتراكب المحضر</p>	<p>لازالة صبغة المثيلين الازرق من محاليلها المائية</p>	<p>2019</p>

(١-٢) نظرة تاريخية لاستخدام جسيمات اوكسيد الحديد في مختلف المجالات^(٣٧).

٣- المواد وطرائق العمل:

٣-١ تحضير اوكسيد الحديد (Fe_3O_4) النانوي بالطريقة الخضراء

تم استخدام نبات الجاتروفا حيث تم تجفيف اوراق نبات الجاتروفا اولاً ثم تم غلي الاوراق في ١٠٠ مل من الماء المقطر بدرجة حرارة ٨٠_١٠٠ درجة مئوية مع التحريك ولمدة ساعتين بعدها تم ترشيح المحلول وتصفية بقايا النبات وتجفيفه.

بعد ذلك تم اخذ 92g من نبات الجاتروفا واذابتها في ١٠٠ مل ثم اخذ 25 مل من المحلول وترشيحه ثم تم خلط 1.622g من كلوريد الحديدك ($FeCl_3$) مع 1.39g من كبريتات الحديد ($FeSO_4$) بنسبة ١:٢ ثم نضيف محلول الجاتروفا قطرة قطرة على المزيج بعدها نضيف $NaOH$ لجعل الوسط قاعدي مع مراقبة ال PH بواسطة ورق عباد الشمس الى ان يصبح ١٠ او ١١ ثم بعد ذلك يتم تجفيف المحلول وجمع المادة الصلبة النانوية المتكونة في انابيب اختبار وغسلها بالماء والايثانول لكي نتخلص من $NaOH$ ثم بعدها نحرق المادة في الفرن لمدة ٤ ساعات تقريبا بدرجة حرارة من ٣٠٠_٤٠٠ لكي نتخلص من بقايا النبات في المادة النانوية وبذلك تم الحصول على مركب (Fe_3O_4) النانوي وتم الاستدلال عليه عن طريق تقريب المغناطيس من المادة فكانت تتجذب للمغناطيس مما يدل على انه تم الحصول على المادة المطلوبة.



٢-٣ طريقة عمل محاكاة Peroxidase :

- نحضر محلول من OPD بوزن $0.0014g$ ويتم اذابتها في $25ml$ من الماء المقطر
- نحضر محلول H_2O_2 بتركيز $40um$ ونأخذ $41um$ ونكمل الحجم الى $10ml$ بأضافة ماء مقطر.
- يتم معايرة الجهاز بأستخدام الماء المقطر
- يتم قياس الامتصاص لـ OPD اولاً بأضافة $540uL$ منه ثم نضيف $30uL$ من H_2O_2 لـ OPD ونقيس الامتصاص (يفترض عدم ظهور قمة).
- نضيف $30uL$ من Fe_3O_4 للمحلول ونقيس الامتصاص.

٣-٣ طريقه محاكاة عمل Catalase Method :-

المواد :- H_2O_2 , Phosphate Buffer

التحضير والعمل :-

- ١- تم تحضير Phosphate Buffer بوزن ($0.34g$) من KH_2PO_4 وأذابته في $50ml$ ماء مقطر و ($0.435g$) K_2HPO_4 وأذابته في $50ml$ ماء مقطر بعد ذلك يتم مزج المحلولين بأخذ $31ml$ من KH_2PO_4 و $19ml$ من K_2HPO_4 لتحضير Phosphate Buffer بتركيز ($50mM$) و $.PH = 7$
- ٢- تم تحضير محلول H_2O_2 بأخذ $80ml$ من 30% بيروكسيد الهيدروجين ومزجها مع $20ml$ من Phosphate Buffer المحضر أعلاه للحصول على تركيز ($50mM$) من H_2O_2 .
- ٣- يتم تحضير سلسلة محاليل مخففه من Fe_3O_4 كالتالي :-

نأخذ (Fe_3O_4) (200ppm) من 3200 ml ونضيف لها 800 um 99% أيثانول للحصول على تركيز 160 ppm ، نأخذ من تركيز 2ml 160 ppm وأضافه 2ml أيثانول للحصول على تركيز 80 ppm.

يتم قياس عند طول موجي 240 nm ولكن يجب الأخذ بالاعتبار تحضر التراكيز على مرتين واحده للقياس والأخرى Blank حيث لكل تركيز نأخذ له Blank بنفس التركيز بعد مزج H_2O_2 مع Phosphate Buffer ونأخذ من المزيج 0.5 ml وأضافه 0.5 ml من (Fe_3O_4) (Sample) ونقيسها بتغير الامتصاص مع الزمن لكل 0.5 ثانية أما Blank فيحتوي فقط على Fe_3O_4 بنفس تركيز المادة المقاسة.

محاكاة عمل Catalase (الطريقة اللونية):

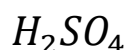
المواد: $KMnO_4$ محمضة ، H_2O_2 ، H_2SO_4 (لتحميض البرمنغنات)

تحضير المحاليل: $KMnO_4$ بتركيز (1.8M)

$$w.t = M \times Mw.t \times V(l)$$

$$= 0.0018 \times 157.9 \times 0.05 = 0.014g$$

نذوب (0.014g) من ($KMnO_4$) في 45ml H_2SO_4 ml + D.W



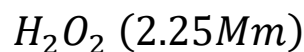
$$M = \frac{\% \times D \times 10}{Mw.t} = \frac{98 \times 1.835 \times 10}{98} = 18.35mM$$

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$0.1 \times 10 = 18.35 \times V_2$$

$$V_2 = 0.054ml = 54ul$$

نأخذ 54ul من H_2SO_4 نمزجها مع 10ml D.W



$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$9700 \times V_1 = 2.25 \times 50$$

$$V_1 = 11.5ml$$

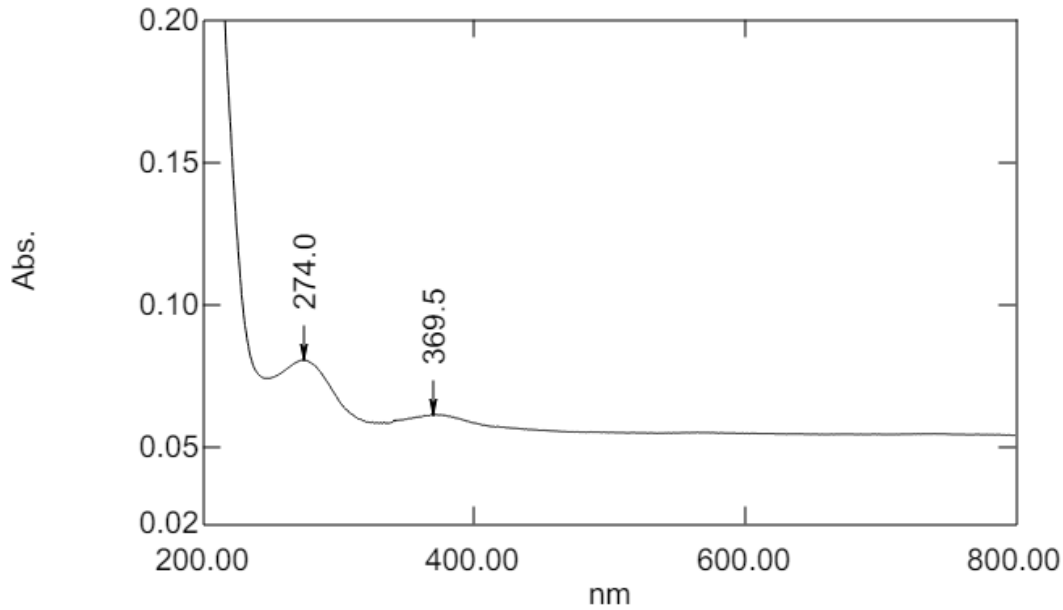
نأخذ 11.5ul من H_2O_2 نمزجها مع 50ml D.W

٣-٤ طريقة عمل محاكاة SOD

تم تحضير مركب pyrogallol بتركيز ٦٠Mm واذابته في HCl المخفف ثم تحضير محلول من دقائق النانو بعدها تم اضافة ٥٠ul من pyrogallol و ٢٩٠٠ مايكروليتر من محلول بفر (Tris - EDTA Hcl) و ٥٠ مايكروليتر من محلول النانو ليصبح الحجم الكلي 3ml (٣٠٠٠ ul) في انبوبة اختبار ثم تم القياس عند طول موجي 325 nm بعد ذلك تم تغيير القياسات بأخذ ٢٨٥٠ مايكروليتر من محلول (Tris - EDTA Hcl) و ٥٠ul من pyrogallol ١٠٠ ul من محلول النانو وتم القياس عند نفس الطول الموجي.

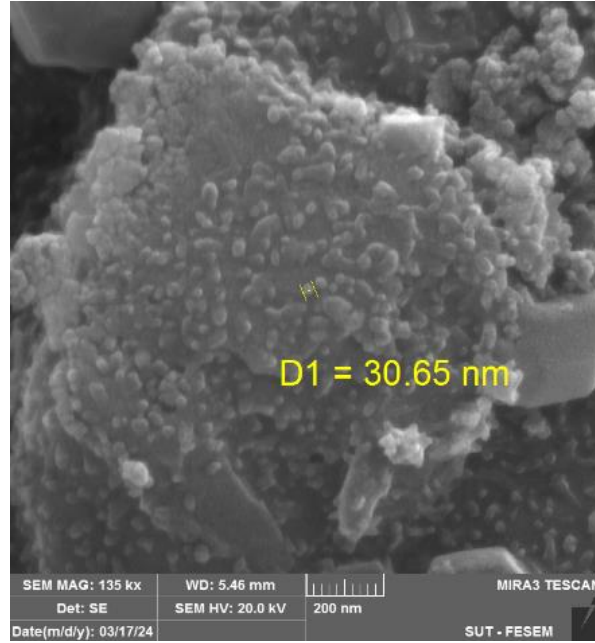
النتائج والمناقشة:

١. مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية (يرمز لها اختصاراً UV/Vis) هي نوع من أنواع المطيافيات والتي تصنف تحت مطيافية الامتصاص، والذي يحدث في مجال طيف الأشعة فوق البنفسجية وفي الطيف المرئي، هذا يعني أن هذه المطيافية تستخدم الضوء في المجالين المرئي وفي المجالات المقاربة من طيف الأشعة فوق البنفسجية، وحتى أجزاء من طيف الأشعة تحت الحمراء القريب (NIR). إن الامتصاص أو الانعكاس في المجال المرئي يؤثر على الإحساس باللون الظاهر على المواد الكيميائية، حيث تحدث انتقالات إلكترونية نتيجة تأثير الإشعاع الكهرومغناطيسي^(٣٨).

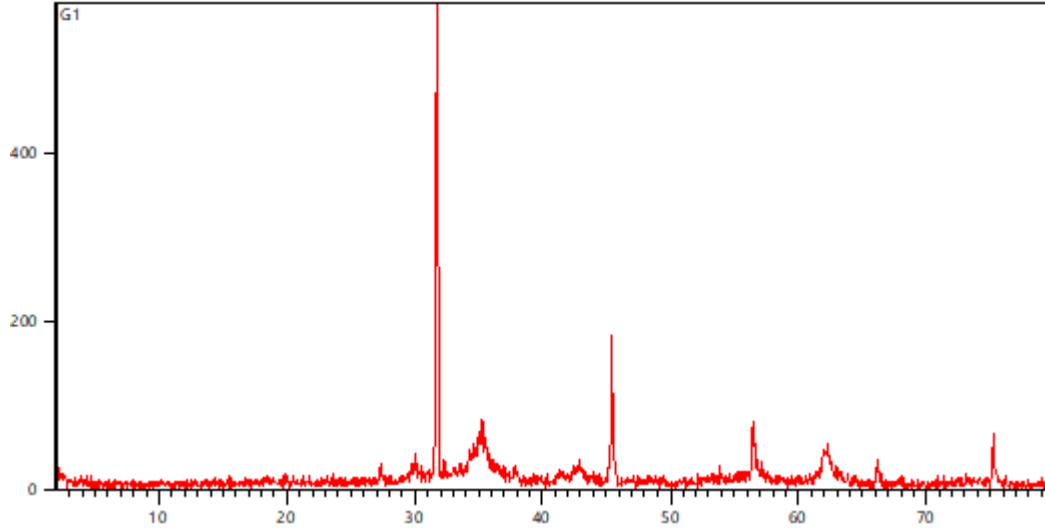


٢. المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) هو نوع من أنواع المجاهر الإلكترونية التي تنتج صور عينة عن طريق مسح ذلك مع شعاع مركز من الإلكترونات. تتفاعل الإلكترونات مع الذرات في العينة، وتنتج إشارات مختلفة تحتوي على معلومات حول تضاريس السطح وتكوينه. يتم مسح شعاع الإلكترون بشكل عام باستخدام المسح النقطي ويتم الجمع بين موقع الشعاع مع الإشارة لإنتاج

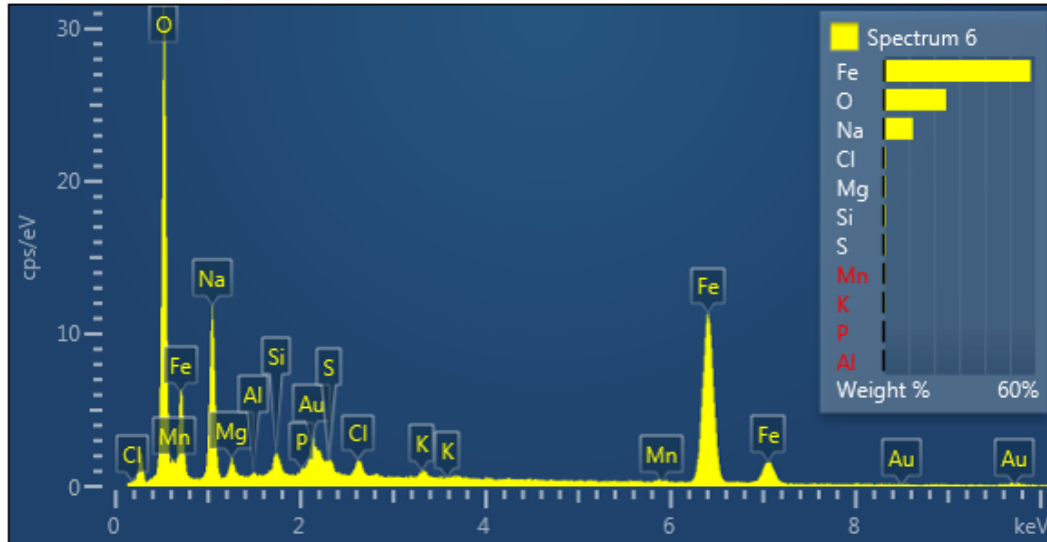
صورة. يمكن تحقيق فصل أفضل من ١ نانومتر. ويمكن مشاهدة العينات في فراغ عال، في فراغ منخفض، في ظروف رطبة (في المجهر الإلكتروني الماسح البيئي)، وفي مجموعة واسعة من درجات الحرارة المنخفضة جدًا أو المرتفعة^(٣٩).



٣. حيود الأشعة السينية (XRD) هو طريقة تحليل مستخدمة على نطاق واسع لتقييم تبلور وهيكل العينات الصلبة. في هذه التقنية ، تنتج ظاهرة حيود الأشعة السينية البلورية من عملية تشتت يتم فيها تشتيت الأشعة السينية بواسطة إلكترونات الذرات الموجودة في العينة دون تغيير الطول الموجي. نظرًا لأن الأطوال الموجية للأشعة السينية قابلة للمقارنة مع التباعد بين الذرات لمادة صلبة بلورية ، فإن الأشعة السينية الساقطة تنحرف في اتجاهات محددة. يُعد نمط الانعراج ، المعطى من خلال مواضع وشدة تأثيرات الانعراج ، خاصية أساسية للمادة ولا يسمح فقط بالوصف ولكن أيضًا بالكشف الكامل عن هيكلها^(٤٠).



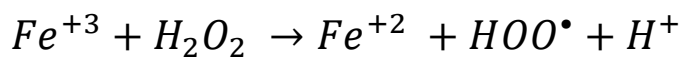
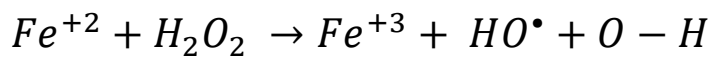
لتحديد العناصر بشكل دقيق استخدمت تقنية EDX



٤- نشاط محاكاة البيروكسيدز: قام الباحث (Haijiao-Dong وآخرون) حيث

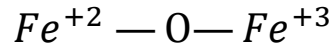
يمكن تلخيص الآلية التحفيزية لنشاط الشبيه بالبيروكسيدز لمركب Fe_3O_4 النانوي على النحو التالي^(٤١):

١- تفاعل يشبه الفنتون على السطح



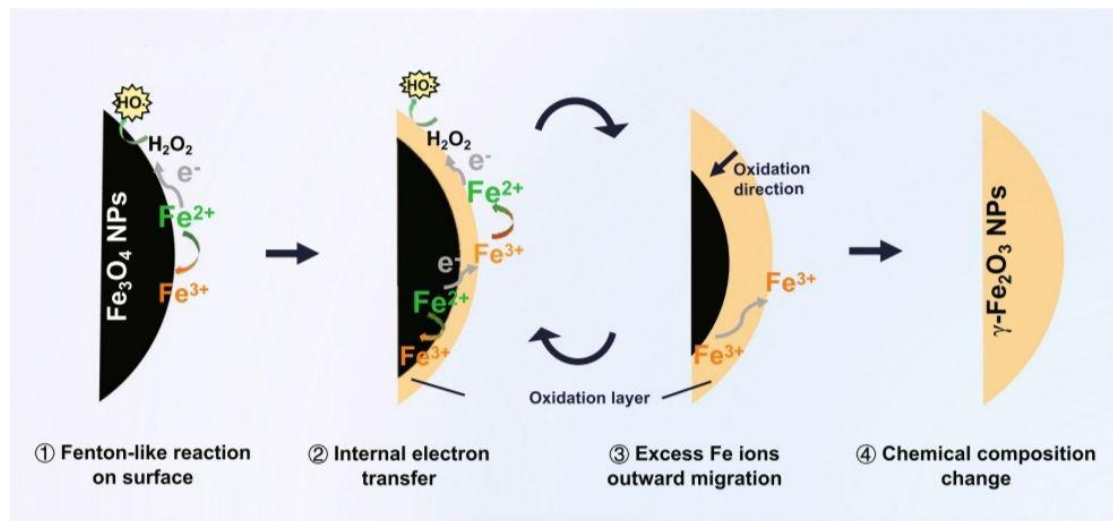
حيث ان H_2O_2 يستقبل الالكترونات من سطح Fe^{+2} و يمتز على سطح الجسيمات ثم ينفصل الى HO^\bullet نشط للغاية لأكسدة الركائز حيث ان Fe^{+2} يتأكسد الى Fe^{+3} على السطح

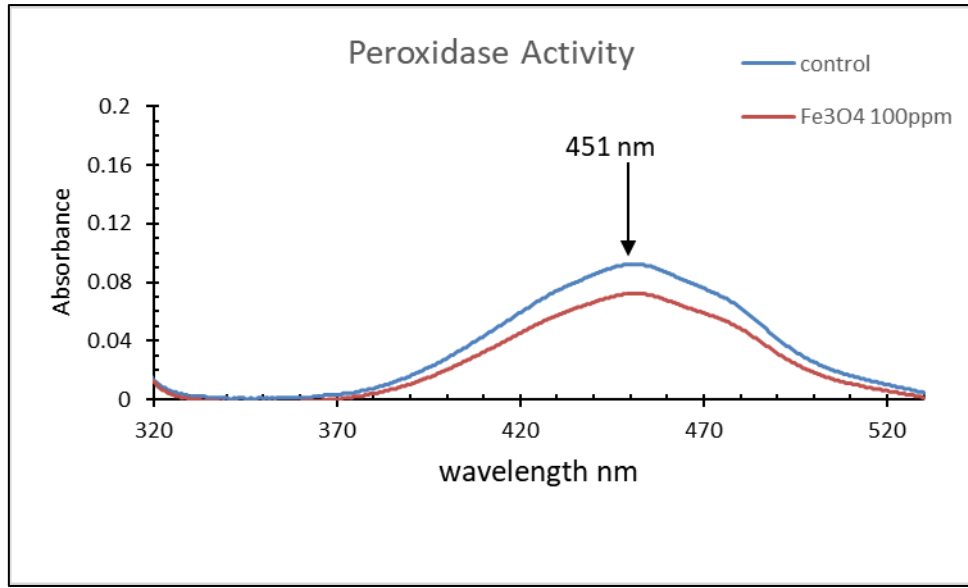
٢- نقل الالكترونات الداخلية بعد ذلك ينقل Fe^{+2} المجاور داخل السطح الكترولناته الى سطح Fe^{+3} عبر سلسلة



٣- زيادة ايونات الحديد الى الخارج مع اكسدة Fe^{+2} الداخلية في الموقع للحفاظ على الحياد الالكتروني يجب ان يهاجر Fe^{+3} الزائد في الشبكة الى الخارج الى السطح مما يترك شواغر كاتيون.

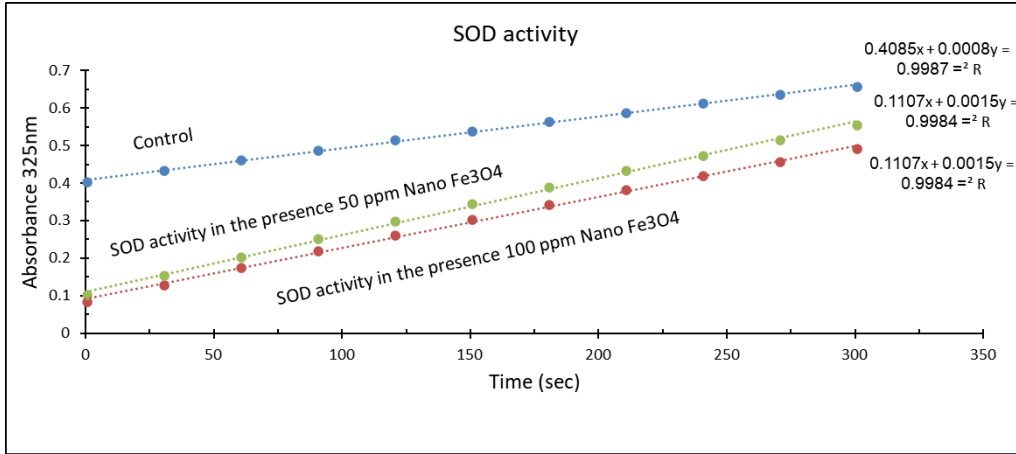
٤- تغيير التركيب الكيميائي مع التفاعل التحفيزي المستمر الشبيه بالبيروكسيديز تتأكسد جسيمات النانو Fe_3O_4 من السطح الى الداخل وتتحول اخيراً الى كما Fe_2O_3 النانوي . ويعتقد ان عملية الاكسدة التي يتم تشغيلها بالتفاعل الانزيمي لجسيمات Fe_3O_4 النانوي مماثلة لأكسدة الهواء التقليدية ذات درجة الحرارة المنخفضة للمغناطيس حيث ربما تكون هجرة ايونات الحديد خطوة تحد من المعدل .



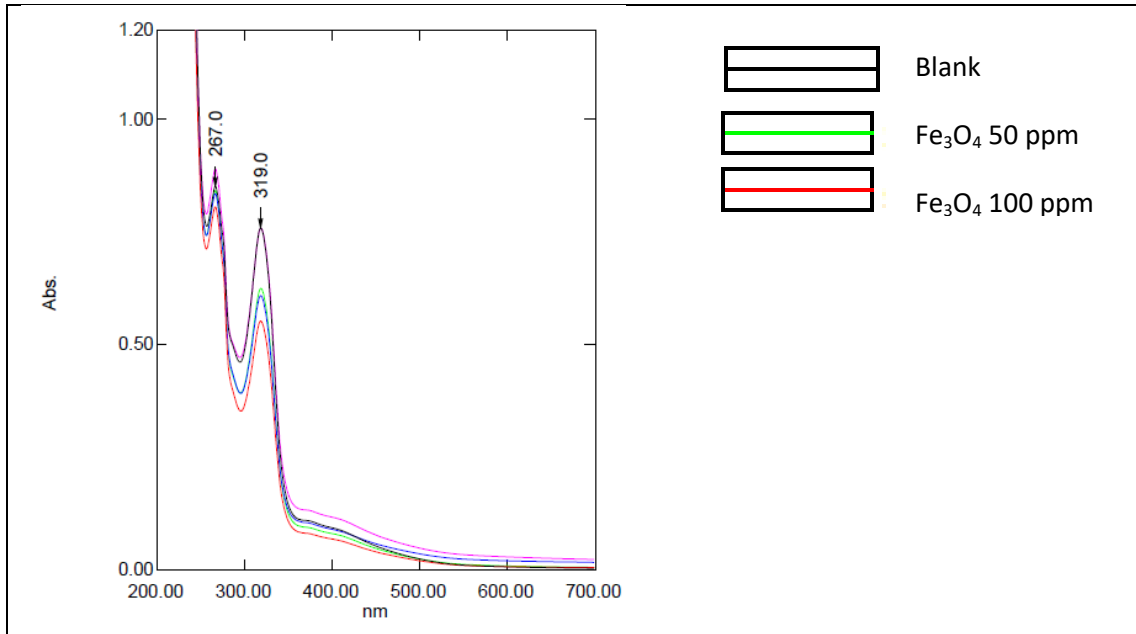


تحفز الجسيمات النانوية الشبيهة بنشاط البيروكسيداز تكوين مركب أصفر بشدة تتناسب طردياً مع تركيز البيروكسيداز عند قياسه عند ٤٥٠ نانومتر. الشكل يبين تأثير التراكيز المختلفة من أكسيد السيريوم النانوي ومحاكاة انزيم البيروكسيداز.

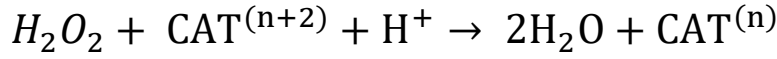
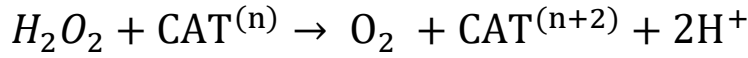
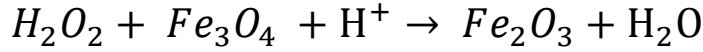
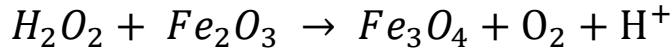
٥- نشاط محاكاة جذر الأوكسيد الفائق (SOD): قام (ديبا موندكاد وآخرون) بفحص نشاط محاكاة SOD لجسيمات الحديد النانوية Fe_3O_4 من خلال قياس أكسدة للبيروجالول ان أكسدة للبيروجالول الذاتية التي اقترحها بالأصل (ماركلوند) يمكن للأنزيم الطبيعي SOD الذي يمكنه التخلص من هذه الجذور ان يمنع الأكسدة الذاتية للبيروجالول هنا يعمل جذر انيون الأوكسيد الفائق ($-O_2^{\bullet}$) الناتج في العملية بمثابة سلسلة انتشار جذر الأوكسيد الفائق^(٤٢). يبين الشكل المرفق فعالية إضافة المركب النانوي لتقليل تأثير تكون superoxide وتشير النتائج الى ان التناسب طردي بين زيادة تركيز المادة النانوية واكتساح الجذور الحرة



ولتأكيد سلامة ودقة الإجراءات في تقييم المادة النانوية المحضرة كمواد لانزيم SOD تم اجراء التجربة حسب المصادر وتم القياس عند الطول الموجي ٣٢٥ nm الا ان الطريقة في مختبرنا وعند اجراء المسح ولتأكيد الدقة اتضح ان اعلى قمة للامتصاص كانت عند ٣١٩ nm ولمختلف التراكيز وكما في الشكل:



طريقة الكاتالاز / قام راشد وآخرون بقياس فعالية انزيم الكاتالاز باستخدام الطريقة اللونية بواسطة KMnO₄ في نطاق طول موجي من ٤٠٠ - ٧٠٠ حيث تم تحديد نشاط الكاتالاز لأوكسيد الحديد والبيروكسيد حسب المعادلات:



وتم الحصول على نتائج جيدة ومطابقة لطريقة راشد واخرون^(٤٣).

باستخدام التركيز ١٠٠ ppm لأكسيد الحديد المغناطيسي النانوي المحضر تم قياس فعالية انزيم الكاتاليز من خلال حساب قيمة k والتي بلغت $(7.58 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1})$ وتعتبر مقارنة ومشابهة لفعالية انزيم الكاتاليز

الاستنتاجات:

١. تم تحضير أكسيد الحديد المغناطيسي بحجم نانوي وبطريقة سريعة وصدقية للبيئة ومن خلال قياسات التوصيف.

٢. المركب المحضر له فعالية مشابهة للانزيم catalase من خلال حساب ثابت سرعة التفاعل.

٣. المركب المحضر له فعالية انزيم SOD من خلال إكتساح الجذور الحرة التي تم التحقق منها من خلال متابعة الامتصاصية لمركب pyrogallol

٤. المركب المحضر اظهر فعالية الانزيم peroxidase من خلال الامتصاصية للمركب الناتج من اكسدة OPD

التوصيات:

١. نوصي بتحضير المركب بطرق أخرى صديقة للبيئة باستخدام مستخلصات نباتية أخرى للحصول على حجم نانوي جيد وطريقة سريعة وتضمن نقاوة المنتج.

٢. دراسة فعالية المركب المحضر بتطبيقات حيوية مختبرية وعلى الحيوانات المختبرية.

المصادر (References)

- (1) a) H. Wei, E. Wang, Chem. Soc. Rev. 2013, 42, 6060; b) H. J. Dong, C. Zhang, Y. Y. Fan, W. Zhang, N. Gu, Y. Zhang, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 105; c) S. R. Li, Y. C. Huang, J. R. Liu, E. K. Wang, H. Wei, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 129; d) Y. Tang, Z. Y. Qiu, Z. B. Xu, L. Z. Gao, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 118; e) A. P. Li, Q. X. Yuchi, L. B. Zhang, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 193; f) L. Bixenmann, J. Y. He, M. M. Liang, W. Tremel, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 148; g) B. W. Yang, Y. Chen, J. L. Shi, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 237; h) R. Yang, S. F. Cai, C. Wang, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 170; i) X. Q. Meng, K. L. Fan, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 218; j) X. M. Shen, X. J. Gao, X. F. Gao, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 204; k) Y. Y. Huang, Y. H. Lin, F. Pu, J. S. Ren, X. G. Qu, Prog Biochem Biophys 2018, 45, 256.
- (2) a) H. Fei, J. Dong, Y. Feng, C. S. Allen, C. Wan, B. Voloskiy, M. Li, Z. Zhao, Y. Wang, H. Sun, P. An, W. Chen, Z. Guo, C. Lee, D. Chen, I. Shakir, M. Liu, T. Hu, Y. Li, A. I. Kirkland, X. Duan, Y. Huang, Nat. Catal. 2018, 1, 63; b) Z. Zhang, X. Zhang, B. Liu, J. Liu, J. Am. Chem. Soc. 2017, 139, 5412; c) K. Fan, H. Wang, J. Xi, Q. Liu, X. Meng, D. Duan, L. Gao, X. Yan, Chem. Commun. 2016, 53, 424; d) L. Hu, H. Liao, L. Feng, M. Wang, W. Fu, Anal. Chem. 2018, 90, 6247; e) Y. Hu, X. J. Gao, Y. Zhu, F. Muhammad, S. Tan, W. Cao, S. Lin, Z. Jin, X. Gao, H. Wei, Chem. Mater. 2018, 30, 6431.
- (3) a) S. Jung, I. Kwon, Sci. Rep. 2017, 7, 44330; b) A. Sun, L. Mu, X. Hu, ACS Appl. Mater. Interfaces 2017, 9, 12241; c) J. Yao, Y. Cheng, M. Zhou, S. Zhao, S. Lin, X. Wang, J. Wu, S. Li, H. Wei, Chem Sci 2018, 9, 2927.

- (4) a) X. Wang, Y. Hu, H. Wei, *Inorg. Chem. Front.* 2016, 3, 41; b) J. Wu, S. Li, H. Wei, *Chem. Commun.* 2018, 54, 6520; c) Y. Zhou, B. Liu, R. Yang, J. Liu, *Bioconjugate Chem.* 2017, 28, 2903; d) H. Y. Shin, T. Y. Yoon, M. I. Kim, *KSBB Journal* 2015, 30, 1.
- (^o) a) F. Wang, E. Ju, Y. Guan, J. Ren, X. Qu, *Small* 2017, 13; b) J. Zhao, X. Cai, W. Gao, L. Zhang, D. Zou, Y. Zheng, Z. Li, H. Chen, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2018, 10, 26108.
- (6) G. Bystrzejewska-Piotrowska, J. Golimowski, P. L. Urban, *Waste Manage.* 2009, 29, 2587.
- (7) Dwevedi, 2016 ; Homaei, Sariri, Vianello, & Stevanato, 2013.
- (8) Robinson, P.K. *Enzymes: Principles and biotechnological applications.* *Essays Biochem.* 2015, 59, 1–41
- (9) Dubchak S., Ogar A., Mietelski J.W. and Turnau K. Influence of silver and titanium nanoparticles on arbuscular mycorrhiza colonization and accumulation of radiocaesium in *Helianthus annuus*, *Span. J. Agric. Res.*, 8(1), 103-108.
- (10) Ramesh S 2013 *Sol-Gel Synthesis and Characterization of* 2013.
- (11) Mann S, Burkett S L, Davis S A, Fowler C E, Mendelson N H, Sims S D, Walsh D and Whilton N T 1997 *Sol - Gel Synthesis of Organized Matter* 4756 2300–10.
- (12) Abdelghany TM, Al-Rajhi AMH, Al Abboud MA, et al. Recent advances in green synthesis of silver nanoparticles and their applications: about future directions. A review. *Bionanoscience.* 2018;8:5–16.
- (13) Hussain I, Singh NB, Singh A, et al. Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnol Lett.* 2016;38: 545–560.
- (14) Baruwati B, Polshettiwar V, Varma RS. Glutathione promoted expeditious green synthesis of silver nanoparticles in water using microwaves. *Green Chem.* 2009;11:926–930.
- (15) Robinson, P.K. *Enzymes: Principles and biotechnological applications.* *Essays Biochem.* 2015, 59, 1–41. [CrossRef] [PubMed].
- (16) Chapman, J.; Ismail, A.E.; Dinu, C.Z. *Industrial Applications of Enzymes: Recent Advances, Techniques, and Outlooks.* *Catalysts.* Cormode, D.P.; Gao, L.; Koo, H. *Emerging Biomedical Applications of Enzyme-Like Catalytic Nanomaterials.* *Trends Biotechnol.* Alcalde, M.; Ferrer, M.; Plou, F.J.; Ballesteros, A. *Environmental biocatalysis:*

- From remediation with enzymes to novel green processes. *Trends Biotechnol.* 2006, 24, 281–287. [CrossRef]
- (17) Liang, M.; Yan, X. Nanozymes: From New Concepts, Mechanisms, and Standards to Applications. *Acc. Chem. Res.* 2019, 52.
- (18) Lou-Franco, J.; Das, B.; Elliott, C.; Cao, C. Gold Nanozymes: From Concept to Biomedical Applications. *Nano-Micro Lett.* 2020.
- (19) Meng, Y.; Li, W.; Pan, X.; Gadd, G.M. Applications of nanozymes in the environment. *Environ. Sci. Nano* 2020, 7, 1305–1318.
- (20) Yang, D.; Chen, Z.; Gao, Z.; Tammina, S.K.; Yang, Y. Nanozymes used for antimicrobials and their applications. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2020, 195, 111252. [CrossRef] [PubMed].
- (21) Tao, X.; Wang, X.; Liu, B.; Liu, J. Conjugation of antibodies and aptamers on nanozymes for developing biosensors. *Biosens. Bioelectron.* 2020, 168, 112537. [CrossRef].
- Mahmudunnabi, R.G.; Farhana, F.Z.; Kashaninejad, N.; Firoz, S.H.; Shim, Y.-B.; Shiddiky, M.J.A. Nanozyme-based electrochemical biosensors for disease biomarker detection. *Analyst* 2020, 145, 4398–4420.
- (22) Yadav T P, Yadav R M and Singh D P 2012 Mechanical Milling : a Top Down Approach for the Synthesis of Nanomaterials and Nanocomposites 2 22–48.
- (23) Chen ZW, Yin JJ, Zhou YT, Zhang Y, Song L, Song MJ, et al. Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing.
- Wei H, Wang E. Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics and their applications in H₂O₂ and glucose detection. *Anal Chem.* 2008; 80: 2250-4.
- (24) van Bloois, E., Pazmiño, D. E. T., Winter, R. T., & Fraaije, M. W. (2010). A robust and extracellular heme-containing peroxidase from *Thermobifida fusca* as prototype of a bacterial peroxidase superfamily. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(5), 1419–1430
- Pandey, V. P., Awasthi, M., Singh, S., Tiwari, S., & Dwivedi, U. N. (2017). A comprehensive review on function and application of plant peroxidases . *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, 6, 308.

- Jiang, B., Duan, D., Gao, L., Zhou, M., Fan, K., Tang, Y., Xi, J., Bi, Y., Tong, Z., Gao, G. F., Xie, N., Tang, A., Nie, G., Liang M., & Xie, N. (2018). Standardized assays for determining the catalytic activity and kinetics of peroxidase-like nanozymes. *Nature Protocols*, 1.
- He, W., Wamer, W., Xia, Q., Yin, J. J., & Fu, P. P. (2014). Enzyme-like activity of nanomaterials. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 21-186, (2)32
- Lu, X., Mestres, G., Singh, V. P., Effati, P., Poon, J. F., Engman, L., & Ott, M. K. (2017). Selenium- and tellurium-based antioxidants for modulating inflammation and effects on osteoblastic activity. *Antioxidants*, 6(1), 13.
- (25) Chen ZW, Yin JJ, Zhou YT, Zhang Y, Song L, Song MJ, et al. Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity. *Acs Nano*. 2012; 6: 4001-12.
- (26) Chen ZW et al. Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity. *ACS Nano*.
- (27) Marklund S, Marklund G (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47:469–4740
- (28) Li H, Zhang W, Fu Y et al (2020a) A novel method for simultaneously screening superoxide anion scavengers and xanthine oxidase inhibitors using hydroethidine as a fluorescent probe coupled with high-performance liquid chromatography-mass spectrometry.
- (29) Lee, J.H.; Ju, J.E.; Kim, B.I.; Pak, P.J.; Choi, E.K.; Lee, H.S.; Chung, N. Rod-shaped iron oxide nanoparticles are more toxic than sphere-shaped nanoparticles to murine macrophage cells. *Environ. Toxicol. Chem.* 2014, 33, 2759–2766. [CrossRef] [PubMed].
- (30) Hong, S.C.; Lee, J.H.; Lee, J.; Kim, H.Y.; Park, J.Y.; Cho, J.; Lee, J.; Han, D.W. Subtle cytotoxicity and genotoxicity differences in superparamagnetic iron oxide nanoparticles coated with various functional groups. *Int. J. Nanomed.* 2011, 6, 3219–3231.
- (31) Apopa, P.L.; Qian, Y.; Shao, R.; Guo, N.L.; Schwegler-Berry, D.; Pacurari, M.; Porter, D.; Shi, X.; Vallyathan, V.; Castranova, V.; et al. Iron oxide nanoparticles induce human microvascular endothelial cell

- permeability through reactive oxygen species production and microtubule remodeling. *Part. Fibre Toxicol.* 2009, 6, 1.
- (32) Singh, N.; Jenkins, G.J.; Asadi, R.; Doak, S.H. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano Rev.* 2010, 1, 5358. [CrossRef] [PubMed].
- (33) Dwivedi, S.; Siddiqui, M.A.; Farshori, N.N.; Ahamed, M.; Musarrat, J.; Al-Khedhairy, A.A. Synthesis, characterization and toxicological evaluation of iron oxide nanoparticles in human lung alveolar epithelial cells. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2014, 122, 209–215. [CrossRef] [PubMed].
- (34) Wei, Y.; Zhao, M.; Yang, F.; Mao, Y.; Xie, H.; Zhou, Q. Iron overload by superparamagnetic iron oxide nanoparticles is a high risk factor in cirrhosis by a systems toxicology assessment. *Sci. Rep.* 2016, 6, 29110.
- (35) Sadeghiani N, Barbosa LS, Silva LP, Azevedo RB, Morais PC, Lacava ZGM. Genotoxicity and inflammatory investigation in mice treated with magnetite nanoparticles surface coated with polyaspartic acid. *J. Magnetism Magnetic Materials* 2005; 289: 466 8.
- (36) Wang YX, Hussain SM, Krestin GP. Superparamagnetic iron oxide contrast agents: physicochemical characteristics and applications in MR imaging. *Eur Radiol* 2001; 11: 2319 31.
- (37) Pisanic TR 2nd, Blackwell JD, Shubayev VI, Fiñones RR, Jin S . Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons. *Biomaterials.* 2007;28(16):2572–2581.
- Wang D, Kou R, Choi D, et al. Ternary self-assembly of ordered metal oxide– graphene nanocomposites for electrochemical energy storage . *ACS Nano.* 2010;4(3):1587–1595.
- A. Goodarzi, Y. Sahoo, M.T. Swihart and P.N. Prasad.,(2004). "Aqueous ferrofluid of citric acid coated magnetite particles",*Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 789.129-134.
- Singh K.,Kula Kamal Senapati,Kanak Chandra SarmaVolume.,(2018). Article ID 6249821, 16 pages *Journal of Research Article Chemistry.*
- Giraldo, L., Erto, A., & Moreno-Piraján, J. C. ,(2013). “Magnetite nanoparticles for removal of heavy metals from aqueous solutions: synthesis and characterization. *Adsorption*”,19(2-4), 465-474.

- Fan, L., Song, J., Bai, W., Wang, S., Zeng, M., Li, X., ... & Lu, H. ,(2016). "Chelating capture and magnetic removal of non-magnetic heavy metal substances from soil".Scientific reports, 6, 21027.
- Bagbi, Y., Sarswat, A., Mohan, D., Pandey, A., & Solanki, P. R. ,(2016). "Lead (Pb²⁺) adsorption by monodispersed magnetite nanoparticles: Surface analysis and effects of solution chemistry".Journal of Environmental Chemical Engineering, 4(4), 4237-4247.
- Arias, L. S. Pessan J. P. Ana Paula. M. V, Taynara M.T. de L. Alberto C. B. D and Douglas R. M, (2018). "Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: A Perspective on Synthesis, Drugs, Antimicrobial Activity, and Toxicity" Antibiotics 10.3390/antibiotics.7020046
- Musab. L,(2018). "Preparation and physical properties study of Magnetic Iron Oxid Nanocompsites and using them to Adsorption of heavy Metals and dyes from their Aqueous Solutions", Desalintion and Water Treatment.
- Khan,S. H.,Pathak, B.,and Fulekar, M. H. ,(2017).“Spherical Surfaced Magnetic (Fe₃O₄) Nanoparticles as Nano Adsorbent Material for Treatment of Industrial Dye Effluents”.International Journal of Nanoscience and Nanotechnology,13(2),169- 175
- (38) koog ‘Douglas A.’ Holler ‘F. James’ Crouch ‘Stanley R. (2007). Principles of Instrumental Analysis (٦ .٤th). Belmont, CA: Thomson Brooks/Cole.١٧٣-١٦٩ .
- (39) McMullan, D. (2006). "Scanning electron microscopy 1928–1965". Scanning. ١٨٥-١٧٥ :٣ .ع ١٧ .ج. DOI:10.1002/sca.4950170309. PMC:2496789.
- (40) Zhou X, Wu G, Wu J, Yang H, Wang J, Gao G, Cai R, Yan Q. Multiwalled carbon nanotubes–V₂O₅ integrated composite with nanosized architecture as a cathode material for high performance lithium ion batteries. J Mater Chem A. 2013;1:15459–68.
- (41) Redl, F. X. et al. Magnetic, electronic, and structural characterization of nonstoichiometric iron oxides at the nanoscale. J. Am. Chem. Soc. 126, 14583–14599 (2004).
- (42) Ma B, Li S, Wang S et al (2018) Efect of Fe₃O₄ nanoparticles on composition and spectroscopic characteristics of extracellular

polymeric substances from activated sludge. *Process Biochem* 75:212–220.

- (43) Glorieux C, Calderon PB. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biol Chem*. 2017;398:1095–108.

Republic Of Iraq
Ministry of Higher & Scientific Research
University of Anbar
College of Applied Sciences – Heet
Department of Applied Chemistry



Preparation of inorganic compounds with enzymatic activities

A research submitted by

Saddam Abd Mutlaq

Nateq Aziz Khames

Alaa Younis Hussein

To the council of the College of Applied Sciences – Heet, in Partial fulfillment of the requirements for the degree of B.S.c. in "Applied Chemistry"

Supervision by

Prof. Dr, Bilal Jasir Mohammed

M.M. Ammar Abdulrazaq Al ani

2024 AD

1445 H