



جامعة كربلاء
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

تأثير مركبات $RH-SiO_2-Ag^+$ النانوية من مخلفات الرز ضد
بكتريا *Streptococcus mutans* المعزولة من مرضى
تسوس الاسنان

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية العلوم في جامعة كربلاء وهي جزء من
متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

كتبت بواسطة الباحثة
هدى حسين علي إبراهيم الموسوي

بإشراف
أ.د خالد علي حسين

الإشراف الثاني
أ.د.م حيدر حميد محسن

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

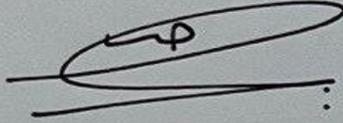
قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا
إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

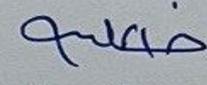
صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ

سورة «البقرة» الآية (32)

إقرار المشرف

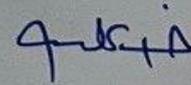
نشهد بأن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافنا في جامعة كربلاء بوصفها جزءاً من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة.


التوقيع:
الاسم: أ.د. حيدر حميد محسن
المرتبة العلمية: استاذ
التاريخ: //


التوقيع:
الاسم: أ.د. م. خالد علي حسين
المرتبة العلمية: استاذ مساعد
التاريخ: //

توصية رئيس قسم علوم الحياة

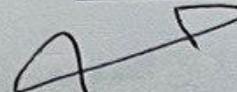
بناء على التوصيات أعلاه، أحيل هذه الدراسة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.


التوقيع:
الاسم: د. خالد علي حسين
المرتبة العلمية: استاذ مساعد
العنوان: رئيس قسم علوم الحياة
التاريخ: // 2023 - 406

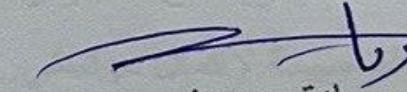
إقرار لجنة المناقشة

نحن اعضاء لجنة المناقشة، نشهد باننا قد اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة بـ (تأثير المركبات النانوية $RH-SiO_2Ag^+$ من مخلفات الرز ضد البكتريا *Streptococcus mutans* المعزولة من مرضى تسوس الاسنان) وقد ناقشنا الطالبة (هدى حسين علي إبراهيم الموسوي) في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 21/6/2023 ونرى انها جديرة لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة .

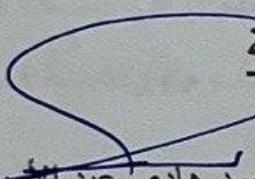
رئيس لجنة المناقشة

التوقيع: 
الاسم: د. كريم طالب خشان
المرتبة العلمية: استاذ
مكان العمل: كلية العلوم / جامعة الكوفة
التاريخ: 2023 / /

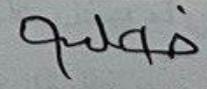
عضو اللجنة

التوقيع: 
الاسم: د. وفاء صادق محسن
المرتبة العلمية: استاذ
مكان العمل: كلية العلوم / جامعة كربلاء
التاريخ: 2023 / /

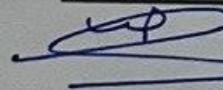
عضو اللجنة

التوقيع: 
الاسم: د. احمد هادي عبد الأمير
المرتبة العلمية: استاذ مساعد
مكان العمل: كلية العلوم / جامعة كربلاء
التاريخ: 2023 / /

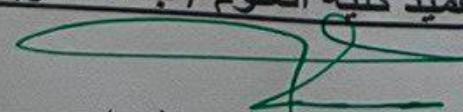
عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع: 
الاسم: د. خالد علي حسين
المرتبة العلمية: استاذ مساعد
مكان العمل: كلية العلوم / جامعة كربلاء
التاريخ: 2023 / /

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع: 
الاسم: د. حيدر حميد محسن
المرتبة العلمية: استاذ
مكان العمل: جامعة كربلاء / كلية العلوم
التاريخ: 2023 / /

مصادقة عميد كلية العلوم / جامعة كربلاء

التوقيع: 
الاسم: د. جاسم حنون هاشم العوادي
المرتبة العلمية: استاذ
التاريخ: 2023 / 8 / 16

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على أشرف الأنبياء والمرسلين نبينا محمد وآل بيته وصحبه ومن تبعه بإحسان إلى يوم الدين وبعد ...

فإنني أحمد الله تعالى وأسجد له شكرا على ما غمرني به من سداد وتوفيق حتى تم اكمال هذه الرسالة فله سبحانه الفضل والمنه

يطيب لي بعد إن من الله علي بإنجاز هذه الرسالة إن أتقدم بجزيل الشكر والعرفان إلى أساتذتي الأفاضل كل من الدكتور (خالد علي حسين) والدكتور (حيدر حميد محسن) الذين وجهوني بملاحظاتهم وتوجيهاتهم السديدة ونصائحهم القيمة التي كان لها تأثير واضح في إتمام هذا البحث واخراجه بهذه الصورة. فجزاهم الله عني خير الجزاء ومتعهم بوافر الصحة والعافية. ويطيب لي إن أتقدم بمزيد من الشكر والتقدير إلى عمادة كلية العلوم ورئاسة قسم علوم الحياة الاتاحة الفرصة لإكمال دراستي...

كل الشكر للعاملين في مختبر مستشفى النسائية والتوليد وبالأخص الأستاذ الأخ (مهند خلف) جعله الله ثمرة في ميزان حسناته.

ولا يفوتني إن أتقدم بخالص الشكر والتقدير والعرفان إلى حضرة الدكتور (علي عبد الكاظم الغانمي) الذي لم ييخل على يوماً بوقته وجهده وفكره وآرائه النيرة.

ولا يسعني في هذا المقام الا إن أتقدم بكل معاني الشكر والعرفان بالجميل لمن لا أستطيع إن أوفي حقه زوجي العزيز على كل ما أسهم به من المعاونة والتشجيع حتى أكمل هذا العمل. داعية من الله العلي القدير إن يطيل عمره ويديم عليه نعمة الصحة والعافية.

وأخيراً بالغ تقديري لكل من ساعدني وأعانني في إنجاز هذه الرسالة فلهم في النفس منزلة وإن لم يسعف المقام ذكرهم فهم أهل للفضل والخير والشكر.

الباحثة

الاهداء

إلى.. من كلكه الله بالهيبه والوقار، و علمني العطاء بدون انتظار، ومن أحمل اسمه بكل افتخار، والدي العزيز أغلى الراحلين على قلبي وأكثر الغائبين حضورا على ذاكرتي رحمك الله يا ابي الغالي

إلى.. من تحت قدمها تكمن الجنة، ومعنى الحب والحنان والتفاني
امي الحبيبة

إلى.. من جعل ربي بينه وبينني مودة ورحمة، إلى أسمى رموز الإخلاص والوفاء، ورفيق
الدرب، ومن ساندني وخطى معي خطواتي،
زوجي العزيز عامر موسى الجبوري

إلى.. من رافقوني في السراء والضراء، وبهم أستمد القوة والعزيمة،
أخي العزيز وأخواتي الغاليات

إلى.. زينتي في الحياة الدنيا، وقرّة عيني، ومن
أرى التفاؤل بأعينهم والسعادة في ضحكتهم،
أولادي وبناتي حفظكم الله لي

2023

هدى

الخلاصة

Summary

الخلاصة:

تضمنت هذه الدراسة تحضير مركبات نانوية من قشور الرز واختبار فعاليتها ونشاطها في تثبيط بكتريا *Streptococcus mutans* التي تسبب تسوس الاسنان , وتم عزل البكتريا *Streptococcus mutans* المسببة لتسوس الأسنان وتشخيصها، إذ تم جمع 100 عينة تسوس من مرضى تم تشخيصهم بتسوس الاسنان وتشخيص البكتريا المعزولة بالطرائق التقليدية ، كما تضمنت أيضاً تحضير وتشخيص أربع مركبات نانوية (RH-SiO₂، RH-SiO₂Ag⁰G ، SiO₂Ag⁺ ، RH-SiO₂ Ag⁰s) و تم تقييم الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية المحضرة والمشار إليها أنفاً ضد البكتريا *Streptococcus mutans* المعزولة وقد أظهرت ما يأتي:

من مجموع 100 عينة مأخوذة من الفم لمرضى يعانون من تسوس الأسنان تتراوح أعمارهم 15-64 سنة في المركز الصحي في حي العباس، من المدة 3/2/2022 ولغاية 3/7/2022 وقد تم الحصول على 45 عينة لبكتريا *Streptococcus mutans*.

استعملت المركبات النانوية المستخلصة من قشور الرز كمضاد للبكتريا *Streptococcus mutans* وقد شخّصت المركبات النانوية بعدد من التقنيات الفيزيائية، إذ أوضحت نتائج الفحص بمطيافية الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) حصول انزياح في ترددات بعض المجاميع الكيميائية نحو ترددات عالية وأخرى واطئة. كما كشفت مطيافية الأشعة السينية (XRD) عن ظهور مستويات حيود جديدة في طيف المركبات النانوية، وإتضح من نتائج الفحص بمجهر القوة الذرية (AFM) إن معدل أبعاد أقطار دقائق المركبات النانوية كانت مختلفة، أما الفحص باستعمال المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) فقد كشف عن ظهور أشكال كروية وشبه كروية غير منتظمة.

تم اختبار المركبات النانوية المحضرة من قشور الرز كمضاد للبكتريا *Streptococcus mutans*، ودرست الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية في هذه الدراسة ضد عزلات البكتريا *Streptococcus mutans* المعزولة من تسوس الاسنان في هذه الدراسة أيضاً.

تم اجراء ذلك باستخدام كل من المركبات النانوية (RH-SiO₂ و RH-SiO₂-Ag⁺ و RH-SiO₂-Ag⁰G) المحضرة من قشور الرز بتراكيزتضاعفية (8,16,32

S. mutans , 64 , 128 , 256 , 512 و 1,024) ميكروغرام /مل حيث كانت عزلات بكتريا *S. mutans* اقل حساسية لهذه المركبات النانوية ممتثلة بأقل قطر تثبيط بتركيز 8 و 16ميكروغرام /مل وأكثر مقاومة للمركبات النانوية المحضرة عند التركيز 512 و 1,024 ميكروغرام /مل. وكما أوضحت النتائج كشف تحليل السمية للمركبات النانوية المحضرة بعدم احتوائها على مكون سم انحلاي بارز حيث اعطى المركب النانوي RH-SiO₂ نسبة اقل من قيمة الحد الادنى للنشاط الانحلاي hemolytic activity لسلم الخام حيث بلغت 0.4% وبذلك فهو غير سام اما المركب النانوي RH-SiO₂Ag⁺ اعطى نتيجة 1.6% ايضا اقل من الحد الادنى للنشاط الانحلاي hemolytic activity وبذلك يعد غير سام اما المركب النانوي RH-SiO₂Ag^{0G} فهو ايضا غير سام حيث بلغت قيمة السمية 0.8% والمركب النانوي RH-SiO₂Ag^{0s} كذلك غير سام فقد بلغت قيمة اختبار انحلال الدم 1.064% وهي قيمة اقل من الحد الادنى للنشاط الانحلاي hemolytic activity للسموم الخام.

قائمة المحتويات

الصفحة	العنوان	الرقم
المقدمة Introduction		
الفصل الأول: مراجعة المصادر Review Literature		
5	مراجعة المصادر Review Literature	1
5	تسوس الاسنان Dental Caries	2-1
5	مسببات تسوس الأسنان	1-2-1
7	امراضية بكتريا المكورات العقدية: Pathogenesis of <i>Streptococcus. mutans</i>	2-2-1
7	عوامل الضراوة البكتريا المكورات العقدية: Virulence Factor of <i>Streptococcus. mutans</i>	3-2-1
8	انتقال البكتريا المكورات العقدية: Transmission of <i>Streptococcus mutans</i>	4-2-1
9	تخليق الجسيمات النانوية بواسطة المخلفات النباتية	3-1
10	رماد قشر الرز Rice husk ash	1-3-1
11	استخلاص السيليكا من قشر الرز: Extraction of silica from rice husk	2-3-1
12	السيليكا Silica	3-3-1
13	سطح السيليكا the surface of silica	4-3-1
15	التقنية النانوية (Nanotechnology)	4-1
الفصل الثاني المواد وطرائق العمل		
19	المواد وطرائق العمل	2
19	الأجهزة المستخدمة والشركات المصنعة لها	1-2
20	المواد الكيميائية والأوساط الزرعية المستعملة والشركات المصنعة	1-1-2
20	(Kits)	2-1-2
21	طرائق التعقيم: Method of sterilization	2-2
21	طرائق عمل المحاليل	1-2-2
22	تحضير الوسط الزرعى Preparation of Mitis Salivarius Bacitracin Agar (MSBA)	2-2-2
22	تحضير وسط غراء الدم: (Medium Agar Blood)	3-2-2
22	تحضير وسط Hinton muller agar	4-2-2
23	حفظ العزلات: Preservation of isolates	3-2
23	جمع العينات Sample collections	1-3-2

24	Isolation of <i>Streptococcus mutans</i> عزل وتشخيص البكتريا المكورات العقدية	2-3-2
24	Identification of Bacterial Isolates تشخيص البكتريا المعزولة:	4-2
24	Morphological and Microscopic Identification التشخيص المظهري والمجهري:	1-4-2
24	Solutions Stain Gram محلول صبغة غرام	2-4-2
25	Rapid identification of <i>S. mutans</i> التعرف السريع على بكتريا المكورات العقدية:	3-4-2
25	Blood hemolysis test اختبار تحلل الدم:	4-4-2
25	Compact 2Vitek تشخيص البكتريا المعزولة باستعمال جهاز الفايترك -	5-4-2
26	Antibiotic susceptibility test اختبار حساسية المضادات:	6-4-2
26	تحضير المركبات النانوية المشتقة من قشور الرز	5-2
26	Initial treatment of rice husks المعاملة الأولية لقشور الرز:	1-5-2
26	تحضير المادة الأولية السليكا النانوية RH-SiO ₂ بطريقة الهضم بالقاعدة NaOH	2-5-2
27	تحضير جسيمات السليكا النانوية المتحورة مع أيونات الفضة الاحادية RH-SiO ₂ Ag ⁺	3-5-2
27	تحضير جسيمات السليكا النانوية المتحورة مع ذرات الفضة بأستعمال الكلوكون RH-SiO ₂ Ag ⁰ G	4-5-2
28	تحضير جسيمات السليكا النانوية المتحورة مع ذرات الفضة بأستعمال بوروهيدريد الصوديوم RH-SiO ₂ Ag ⁰ S	5-5-2
28	طريقة تقدير الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية ضد البكتريا <i>S. mutans</i>	6-2
29	اختبار السمية للمركبات النانوية	1-6-2
30	التحليل الاحصائي (Statistical Analysis)	2-6-2
الفصل الثالث النتائج ومناقشتها Results and dissection		
32	النتائج ومناقشتها: Results and discussion	3
32	الجانب البكتريولوجي: Bacteriologica Aspectl	1-3
32	العزل والتشخيص: Isolation and diagnosis	1-1-3
33	الخصائص المظهرية: Morphological characteristics	2-1-3
33	التعرف السريع على <i>Streptococcus. Mutans</i>	3-1-3
34	اختبار تحلل الدم: Blood hemolysis test	4-1-3
35	الاختبار البايوكيميائي للعزلات البكتيرية نظام الفايترك 2 Vitek System test	5-1-3

35	اختبار الحساسية للمضادات الحيوية: Antibiotic susceptibility test	6-1-3
36	تشخيص مركبات السيليكا النانوية المحضرة	2-3
36	طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR)	1-2-3
41	تحليل امتزاز / ازالة امتزاز النيتروجين -N2 adsorption/desorption analysis	2-2-3
46	حيود الأشعة السينية (XRD) X-ray diffraction	3-2-3
50	المجهر الإلكتروني الماسح - الأشعة السينية المشتتة للطاقة (SEM) (/ EDX	4-2-3
55	المجهر الإلكتروني النافذ (TEM) Transmission Electron Microscopy	5-2-3
58	مجهر القوة الذرية (AFM)	6-2-3
61	التحليل الحراري: Thermogravimetric analysis (TGA)/Differential thermal a	7-2-3
64	الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية المستخلصة من فطور الرز ضد العزلات بكتريا <i>Streptococcus. mutans</i>	3-3
65	جدول (8-3) الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة من المركب النانوي (RH-SiO ₂) ضد عزلات بكتريا <i>S. mutans</i> حيث تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات	1-3-3
66	جدول (9-3) الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة للمركب النانوي RH-SiO ₂ -Ag ⁺ ضد عزلات بكتريا <i>S. mutans</i>	2-3-3
67	جدول (10-3) الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة للمركب النانوي RH-SiO ₂ -Ag ^{0G} ضد عزلات بكتريا <i>S. mutans</i>	3-3-3
68	جدول (11-3) الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة للمركب النانوي RH-SiO ₂ -Ag ^{0s} ضد عزلات بكتريا <i>S. mutans</i>	4-3-3
69	اختبار السمية انحلال الدم hemolytic activity للمركبات النانوية	4-3
الاستنتاجات والتوصيات Recommendations&Conclusions		
74	الاستنتاجات Conclusions	1
75	التوصيات Recommendations	2
المصادر References		
77	المصادر References	

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	الرقم
12	طرق استخلاص السيليكا	1-1
19	الأجهزة والأدوات المستعملة والشركات المصنعة لها	1-1-2
20	المواد الكيميائية والأوساط الزرعية المستعملة والشركات المصنعة	1-1-2
20	العدد (Kits)	3-1-2
36	يوضح فحص الحساسية لبكتريا <i>S. mutans</i> للعزلات (Sm4, Sm7, Sm3, Sm9)	3-3
51	نتائج تحليل EDX للمادة RH-SiO ₂	4-3
52	نتائج تحليل EDX للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁺	5-3
53	نتائج تحليل EDX للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁰	5-3
55	نتائج تحليل EDX للمادة RH-SiO ₂ Ag ⁰ _s	7-3
65	الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة من المركب النانوي (RH-SiO ₂) ضد عزلات بكتريا <i>S. mutans</i>	8-3
66	الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة للمركب النانوي RH-SiO ₂ -Ag ⁺ بكتريا <i>S. mutans</i>	9-3
67	الفعالية التثبيطية للمركب النانوي RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _G ضد بكتريا <i>S. mutans</i>	10-3
68	الفعالية التثبيطية للمركب النانوي RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _s ضد بكتريا <i>S. mutans</i>	11-3
70	يوضح قيمة السمية للمركبات النانوية المحضرة	12-3

قائمة الاشكال

الصفحة	العنوان	الرقم
10	شكل نبات الرز	1-1
10	أهم استعمالات السيليكا	2-1
13	بنية السيليكا	3-1
14	تصنيف مجموعات silanol الموجودة على سطح السيليكا	4-1
15	يوضح تسمية Q المستخدمة لتحديد بيئة ذرات السيليكون في السيليكا	5-1
16	يوضح استعمالات الدقائق النانوية	6-1
17	آلية تأثير مركبات النانوية على الاحياء المجهرية	7-1
33	مستعمرات بكتريا <i>S. mutans</i> على اكار MSB agar	1-3
33	المستعمرات الوردية لبكتريا <i>S. mutans</i>	2-3

34	اختبار اكار الدم لبكتريا <i>S. mutans</i>	3-3
38	طيف FT-IR للمركب RH-SiO ₂	4-3
39	طيف FT-IR للمركب النانوي RH-SiO ₂ -Ag ⁺	5-3
40	طيف FT-IR للمركب النانوي RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _G	6-3
41	طيف FT-IR للمركب النانوي RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _S	7-3
42	أنواع ايزوثيرمات الامتزاز حسب تصنيف منظمة IUPAC	8-3
42	حلقات الهسترة في ايزوثيرمات الامتزاز	9-3
43	امتزاز/ازالة امتزاز النيتروجين والشكل الداخلي (توزيع المسام) للمادة RH-SiO ₂	10-3
44	امتزاز/ازالة امتزاز النيتروجين وتوزيع حجم المسام (الشكل الداخلي) للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁺	11-3
45	امتزاز/ازالة امتزاز النيتروجين وتوزيع حجم المسام الشكل(داخلي) للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _G	12-3
46	امتزاز/ازالة امتزاز النيتروجين وتوزيع حجم المسام الشكل (الداخلي) للمادة RH-SiO ₂ Ag ⁰ _S	13-3
47	طيف XRD للمركب RH-SiO ₂	14-3
48	طيف XRD للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁺	15-3
49	طيف XRD للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _G	16-3
49	طيف XRD للمادة RH-SiO ₂ Ag ⁰ _S	17-3
50	الصور المجهرية SEM للمادة RH-SiO ₂	18-3
51	طيف EDX ل RH-SiO ₂	19-3
52	الصورة المجهرية SEM للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁺	20-3
52	طيف EDX ل RH-SiO ₂ -Ag ⁺	21-3
53	الصورة المجهرية SEM للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _G	22-3
54	طيف EDX الخاص ب RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _G	23-3
54	الصورة المجهرية SEM للمادة RH-SiO ₂ Ag ⁰ _S	24-3
55	طيف EDX الخاص ب RH-SiO ₂ Ag ⁰ _S	25-3
56	الصور المجهرية بتقنية TEM للمركب RH-SiO ₂	26-3
57	الصور المجهرية بتقنية TEM للمركب RH-SiO ₂ -Ag ⁺	27-3
57	الصور المجهرية بتقنية TEM للمركب RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _G	28-3
58	الصور المجهرية بتقنية TEM للمركب RH-SiO ₂ -Ag ⁰ _S	29-3
59	صور مجهرية AFM ثنائية الأبعاد a وثلاثية الأبعاد b للمركب RH-SiO ₂	30-3
60	صور مجهرية AFM ثنائية الأبعاد a وثلاثية الأبعاد b للمركب RH-SiO ₂ -Ag ⁺	31-3

60	صور مجهرية AFM ثنائية الأبعاد a وثلاثية الأبعاد b للمركب RH-SiO ₂ -Ag ⁰ G	32-3
61	صور مجهرية AFM ثنائية الأبعاد a وثلاثية الأبعاد b للمركب RH-SiO ₂ -Ags	33-3
62	منحنيات TGA DTA للمادة RH-SiO ₂	34-3
63	منحنيات TGA DTA للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁺	35-3
63	منحنيات TGA DTA للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁰ G	36-3
64	منحنيات TGA DTA للمادة RH-SiO ₂ -Ag ⁰ s	37-3

قائمة المختصرات

ت	الاختصار	الاسم كامل
2	AFM	Atomic Force Microscopy
3	BET	Brunauer–Emmett–Teller
4	DTG	Derivative Thermogravimetry
5	EDX	Energy Dispersive X-ray
6	IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
7	RH	Rice Husk
8	RHA	Rice Husk Ash
9	SEM	Scanning Electron Microscopy
10	TGA	Thermal Gravimetric Analysis
11	wt.	weight
12	XRD	X-ray Diffraction
13	SDA	Sabouraud Dextrose Agar
14	DMSO	Dimethyl sulfoxide
15	MSBA	Mitis Salivarius Bacitracin agar
16	FT-IR	Fourier transform infrared spectroscopy

المقدمة

Introduction

1- المقدمة

يعد تسوس الاسنان من الامراض المعدية الأكثر شيوعا التي تصيب الانسان على مستوى العالم بما في ذلك الرجال والنساء والأطفال والبالغون (Manton, 2018). إذ يحدث تسوس الاسنان نتيجة لتفاعلات بين تركيب الاسنان والغشاء الحيوي (Biofilm) الميكروبي المتكون على سطح الاسنان وكذلك تأثير سكريات اللعاب وعوامل وراثية (Pitts and Zero, 2016), ويعتمد هذا المرض على نظافة الفم والنظام الغذائي واعتبرت بكتريا *S.mutans* العامل الأساسي المسبب للمرض عن طريق استعمارها سطح الاسنان, إذ استخدمت المواد النانوية كعوامل علاجية كمركبات بديلة للأدوية إذ تعمل كمضادات للميكروبات مثل الفطريات و البكتيريا إذ تمتلك العديد من السلالات البكتيرية القابلية على الالتصاق بأي سطح طبيعي وتكوين الغشاء الحيوي (Biofilm) لحمايتها من العوامل الخارجية, لذا فإن المواد النانوية تعمل كعوامل مضادة للأحياء المجهرية microorganisms من خلال التقليل التصاق البكتريا وتكوين الغشاء الحيوي إذ تعمل على تثبيط تكوين البروتين البكتيري عن طريق الارتباط بالرابيوسوم البكتيري, إذ اثبت ان المركبات Ag NPs تتفاعل مع الحمض النووي مما يؤدي الى عملها كمضاد للميكروبات حيث تمتص الخلايا الميكروبية المركبات SiO₂-Ag بواسطة القوة الكهرومغناطيسية الموجودة على سطح هذه المركبات ويتم إطلاق ايونات الفضة Ag من المركبات Ag NPs ونقلها الى السيتوبلازم. إذ تتفاعل ايونات الفضة Ag بشكل مباشر مع الميتوكوندريا داخل الخلية الميكروبية مما يؤدي الى تكوين وتوليد ROS وبالتالي تثبيط تكرار الحمض النووي (T. Parandhaman et al, 2015), وبشكل خاص امتلكت الجسيمات الفضة النانوية تطبيقات واسعة من خلال عملها كمضادات للفيروسات والفطريات والبكتريا المسببة للأمراض المختلفة. أن من بين المعادن النانوية تم استعمال الجسيمات الفضة النانوية، لأن الفضة لها نشاط واسع الطيف كمضاد للميكروبات ضد مجموعة واسعة من الكائنات الدقيقة microorganisms وحظيت الجسيمات الفضة النانوية باهتمام غير محدود بسبب خصائصها الكيميائية الاستثنائية مثل الثبات الكيميائي، والنشاط التحفيزي والتوصيل الممتاز، والأهم كمضاد للميكروبات والفطريات وكذلك تُعرف الفضة بأنها غير سامة وغير ضارة لجسم الإنسان بتركيزات منخفضة على عكس الجسيمات النانوية المعدنية الأخرى (Francie et al., 2015).

في هذا البحث تم تحضير مركبات نانوية مشتقة من قشور نبات الرز المحلي (صنف الياسمين) بطريقة الهضم بالقاعدة، وهذه المركبات النانوية الناتجة تستعمل في مجالات عديدة ولاسيما في مجال الطب كعلاج الأمراض مثل الأمراض المعوية وأمراض لثة الأسنان والأمراض الجلدية وغيرها من الامراض ويعد الرز من أكثر النباتات المزروعة انتشارا في العالم وهو مصدر غذائي لمليارات الناس (Leser.s.,2013) ويشكل قشر الرز (RH) 20% من وزن الرز وهي مخلفات زراعية يسبب وجودها مشاكل إذ يتم التخلص منها عن طريق حرقها مما يؤدي الى تلوث البيئة بسبب الأدخنة الناتجة عن حرقها لاحتوائها غاز احادي

أوكسيد الكربون السام الذي يشكل خطراً على صحة الإنسان عند استنشاقه , إذ يحتوي الدخان النَّاجم عن حرق قشور الرز على أحادي أوكسيد الكربون عادة إذ يؤدي هذا الغاز إلى تلف الجهاز العصبي المركزي وأيضا يؤدي إلى تلف خطير بالأنسجة وإتلاف الجهاز التنفسي الإنسان، لذا يجب تلافي هذه المشاكل من خلال استخدام قشور الرز كمصدر بديل غير مكلف للسيليكا التي يمكن استخدامها في الصناعات المختلفة (Pode .R ., 2016) , وبحسب تقارير منظمة الصحة والغذاء العالمية (FAO) يبلغ الإنتاج العالمي السنوي من الرز 582 مليون طن و2.5% من هذا الإنتاج يكون بهيئة قشور, أي ما يقارب 12.5 مليون طن من قشور الرز (Imyim, A. and Prapalimrungsi, E .,2010) وهذه القشور محدودة المصالح التجارية , وعند حرقها في الحقول تسبب تلوث البيئة , لهذا فإن الحصول على تطبيقات لهذه المخلفات يكون حماية للبيئة , إذ تكون هذه القشور RHS ذات سرعات عالية ومحتوى عالٍ من الرماد HAS , ويحتوي رماد هذه القشور على 95% سيليكا, ويعد مصدراً جيداً للسيليكا وهذه السيليكا لها أهمية لتثبيت (تقييد) مركبات نانوية إذ إن السيليكا يتوقع إن تكون مرشح جيد لدعم هذه المواد النانوية (Di He *et al.*, 2013). إذ تشكل مقاومة المضادات الحيوية واحدة من التهديدات المهمة لحياة الإنسان (Huh, A. J., and Kwon, Y. J. 2011) والتي يمكن إن ينتج عنها زيادة بقاء المريض في المستشفيات وزيادة التكاليف العلاجية وحتى الموت (Klaiber, P., *et al* 2021)، إذ يؤدي زيادة انتشار الممرضات ومسببات الأمراض من الكائنات الدقيقة microorganisms كالبكتريا والفايروسات والفطريات وإنتاج سلالات جديدة منها تمتلك عوامل مقاومة لمضادات الحيوية وزيادة العدوى بين الأشخاص مما أدى إلى زيادة الطلب على إيجاد علاجات جديدة تعمل كمضادات ميكروبية لتقليل من خطر انتشار الأمراض المعدية ، ولهذا تقدم تقنية النانو حلاً ثورياً جديداً لهذه المشكلات (Wu, K., Werner *et al* .,2021).

تعد السيليكا مواد مضادة للميكروبات وتوجد بشكل واسع في الطبيعة, و في السنوات الأخيرة على الرغم من أستعمال المضادات الحيوية الكيميائية على نطاق واسع في علاج العدوى المسببة للأمراض فقد نشأت مقاومة للأدوية بسبب تعاطي المضادات الحيوية بكثرة, وأصبحت هذه المقاومة تشكل تهديداً محتملاً لبقاء الإنسان حيث أثبتت العديد من الدراسات التي اجريت على المركبات النانوية المحملة بأيونات الفضة لها نشاط مضاد للجراثيم وبفعالية مرتفعة في الجسم الكائن الحي ولديها توافق حيوي جيد, إذ ركزت البحوث الحديثة حول إنتاج جزيئات الفضة النانوية التي تم تصنيعها بأستعمال نباتات *Arcea eatech* و *Benin casa* وجد (Swolana *et al.*, 2020) إن جزيئات الفضة النانوية تقاوم تطور الغشاء الحيوي biofilm للبكتريا *Staphylococcus*, إذ اظهرت المركبات السيليكا النانوية (SiO_2) المحضرة بطريقة كيميائية من قشور الرز فعالية مضادة لبكتريا *E. coli*, *staph aureus* (Sharma *et al.*, 2019) .

إذ تتميز المركبات النانوية بتعزيزها النشاط العلاجي عن طريق إطالة عمر النصف للعقار وتحسين قابلية الذوبان للأدوية الكارهة للماء، وإطلاق الادوية بطريقة مستدامة و محفزة , وبالتالي يمكن تقليل الاثار الجانبية

السامة لأدوية (Shi *et al* ,.2010), إذ يمكن توظيف المضادات الحيوية الهجينة الناتجة عن تحميل المضادات الحيوية المختلفة على الجسيمات النانوية غير عضوية كأداة مستقبلية واعدة لعلاج الالتهابات البكتيرية المختلفة والسيطرة عليها (AL-Zubaidy *et al* ,.2016), ونظراً لأهمية تسوس الأسنان ومن أجل التغلب على تسوس الاسنان الذي تسببه بكتريا *S. mutans*, واكتشاف علاج فعال مضاد للبكتريا *S. mutans* فقد هدفت هذه الدراسة إلى تحقيق الأهداف الآتية

الهدف من البحث: Aims of study

تحضير جسيمات الفضة النانوية المطعمة مع السليكا النانوية المستخلصة من مصدر طبيعي ورخيص (المخلفات النباتية الا وهي قشور الارز) ودراسة إمكانية اعتماد تلك المركبات النانوية المحضرة لمعالجة البكتريا المسببة لتسوس الاسنان (*S. mutans*) كبديل عن العلاجات الكيميائية ذات التأثيرات الجانبية على صحة الانسان من خلال المحاور الآتية.

- 1- عزل و تشخيص بكتريا *Streptococcus mutans* المسببة لتسوس الاسنان بالطرق المختبرية.
- 2- تحضير مركبات النانوية من قشور الرز, و استعمالها كمضاد حيوي ضد بكتريا *Streptococcus mutans* وتشخيص المركبات النانوية المحضرة بالطرائق الطيفية والفحوصات المجهرية.
- 3-دراسة النشاط التثبيطي للمركبات النانوية المحضرة ضد عزلات البكتريا *Streptococcus mutans* المسؤولة عن تسوس الاسنان.

1- مراجعة المصادر literatures review

2-1 تسوس الاسنان Dental Caries

يعود تاريخ طب الأسنان إلى عام 5000 قبل الميلاد عندما كإن التفكير في إن سبب تسوس الأسنان هو "دودة الأسنان". فقد تم الإبلاغ عن مصطلح "تسوس الأسنان" لأول مرة في الأدبيات حوالي عام 1634، وهو مشتق من الكلمة اللاتينية "caries"، والتي تعني التسوس، لقد تم استعمال المصطلح في البداية لوصف الثقوب في الأسنان، ويُقال إن تسوس الأسنان هو واحد من أقدم الأمراض وأكثرها شيوعاً عند البشر. (Kidd E.A et al. 2010)، تسوس الأسنان هو مرض معدي ينتج عن بكتيريا ملتصقة بالأسنان والتي تقوم بتخمير السكريات لإنتاج حامض، والذي يؤدي بمرور الوقت إلى إزالة المعادن من بنية الأسنان، تسوس الأسنان هو مصطلح يشير إلى كل من المرض والآفة الناتجة (Pitts et al., 2017)، إذ تحدث عملية التسوس في biofilm، والذي يكون نشطاً بشكل دائم مع كل تقلب في درجة الحموضة يحدث تسوس الأسنان عندما تتغير الكائنات الحية الدقيقة التي تعيش عادة في تجويف الفم في حالة الاستتباب إلى مجموعة حامضية وحمضية ومسببة للسرطان بسبب الاستهلاك المتكرر للسكريات، مشكلة تسوس الأسنان من المشكلات المرضية التي تسببها بكتريا *Streptococcus mutans*، إذ يحدث تسوس الأسنان عادةً عندما يصُبح إنتاج الحامض العضوي الذي يعمل على إزالة الكالسيوم من الأنسجة الصلبة الأسنان لذلك تكون البكتريا المسببة لتسوس الأسنان متحملة الاحماض جراء عملية تسوس الأسنان في بيئة حامضية (Kidd, E.A, and Fejerskov, 2016). وتعد بكتريا *Streptococcus mutans* بكتريا حامضية قادرة على العمل عند درجة حموضة تصل حوالي 6 ويمكنها أيضا العمل على تحلل السكر glycolysis عند درجة حموضة تصل إلى 4 أو اقل (Vera, J.et al, 2012). إذ يمكن ان يتطور التسوس إلى هياكل الأسنان مما يؤدي إلى ألم لب السن والتهاب النسيج الخلوي المحيط بالسن وهو أيضا احد مضاعفات تسوس الأسنان الغير معالجة حيث ينتشر الإفراز الالتهابي الى اللغافة العميقة لمنطقة الرأس و الرقبة (Cawson R. A and Odell , 2002) , غالبا ما يتم استخراج الأسنان المتضررة من التسوس عندما تسبب ألام وعدم الراحة , إذ يسبب تسوس الأسنان صعوبات في الأكل والنوم وفي مراحل متقدمة يتكون الكيس الجراحي (الخراجات) مسبب ألم وأصابه جهازية حادة .

1-2-1 مسببات تسوس الأسنان: Etiology of necrosis caries

يعد السكرز مساهماً رئيسياً في تسوس الأسنان ونخرها، وذلك بسبب وجود العديد من الأحياء المجهرية الفموية مثل المكورات العقدية الفموية التي تمتلك إنزيم خارج extracellular enzyme قادر على احداث انفصال بالروابط الكلوكوسيدية glycosidic bond للسكرز وتسخير الطاقة الإنتاج بوليمر الجلوكوز (glucans and Mutans) والفركتوز تسمى هذه المجموعة من الإنزيمات بإنزيمات

glucosyltransferases والتي يُرمز لها بي (GTFs) والتي تمثل هذه العلاقة بين السكروز وتسوس الأسنان (glucans and *S. mutans*)، إذ إن تكوين بوليمر يسمح للبكتيريا المسببة للتسوس بالتراكم على الغشاء الحيوي لتكوين كتلة خطيرة من البكتيريا المسببة لتسوس الأسنان و يمكن للبكتيريا أن تستعمر في تجويف الفم إذ تسبب في تآكل سطح المينا للأسنان، وإن تكوين الكتلة الخطرة للبكتيريا المرتبطة بشكل خاص مع glucosyltransferases and sucrose هو السبب البيولوجي biological reason في حدوث الإصابة بالتسوس (Burt, 2005).

وكما يلعب اللعاب Saliva عدة أدوار مهمة في عملية التسوس يتم إفرازه بمعدلات مختلفة وبمكونات مختلفة اعتماداً على وجود و عدم وجود عوامل محفزة ويساعد على موازنة عملية التسوس وله دور حاسم إعادة تمعدن لأنه يوفر محلولاً مفرط التشبع مستقراً من أيونات الكالسيوم والفوسفات وكذلك أيونات الفلوريد من مصادر خارجية (Smith, L. et al., 2018).

كما تعد بكتيريا المكورات العقدية من أهم مسببات تسوس الأسنان وهي بكتيريا إيجابية لصبغة الغرام لا هوائية إختياريه غير متحركة وغير بوجية وسالبة الاختبار الكاتاليز catalase-negative موجودة غالباً في التجويف الفموي الأنسان، وفي عام 1924 عزل العالم كلارك كائناً حياً من الأفات النخرية وأطلق عليها اسم *Streptococcus mutans*، وذلك لأنه اعتقد إن الخلايا البيضية الشكل التي لوحظت كانت أشكالاً متحولة من العقيدات (Clarke J. K, 1924)، ومع ذلك في أواخر الخمسينات اكتسبت *S. mutans* اهتماماً واسع النطاق داخل المجتمع العلمي وبحلول الستينيات صورت الدراسات المخبرية السريرية والحيوانية *S. mutans* على إنها مسببات رئيسة مهمة في تسوس الأسنان (Lemos et al., 2019). وتعد مساهماً كبيراً في تسوس الأسنان البشر من المعروف إن *S. mutans* لديها أسلوب حياة يعتمد على الأغشية الحيوية (Bowen and Koo, 2011) وبالأخص اللويحة السنوية والذي هو عبارة عن الغشاء الحيوي متعدد الأنواع يتكون على الأسطح الصلبة الأسنان الموجودة في تجويف الفم، إذ تتفاعل هذه البكتيريا مع الغشاء البروتيني الذي يحتوي على البروتينات اللعابية والبروتينات الغشاء الخارجي للبكتيريا الموجودة على سطح السن، والتي تعرف بالحببيات والذي يمكن أن يلتصق به هذه الكائنات الحية مع الأنواع الميكروبية الأخرى الموجودة في الفم (Back, C. R., et al., 2009). وهكذا سوف تتمكن *S. mutans* من الظهور على قشرة الأسنان عندما تتوفر السكريات الغذائية ولاسيما السكروز إذ يمكن أن تصبح *S. mutans* الكائن الحي الأكثر عددياً مما قد يؤثر سلباً على الأنواع الأخرى من المكروبات المتعايشة في فم الأنسان (Nobbs et al., 2009) وتعتمد قدرة *S. mutans* على إحداث المرض بقدرتها على الارتباط بالأسنان بشكل لا رجعة فيه والبقاء على قيد الحياة في البيئة الحمضية الناتجة من عملية التمثيل الغذائي للسكريات الموجودة في النظام الغذائي البشري.

2-2-1-1 Pathogenesis of *Streptococcus*. :العقدية: بكتريا المكورات

mutans

الإمراضية هي قدرة الكائنات الحية الدقيقة microorganisms على احداث المرض في الكائن المضيف، تعد الكائنات الحية الدقيقة عن مرضها من خلال الضراوة (Rudney, J.D et al ., 2010) وربما يحدث المرض أكثر من ذلك وهذه العوامل تتضمن قدرة الكائن المجهرى على غزو الأنسجة , ويتضمن أيضاً اليات الاستعمار (الانضمام والتكاثر الأولي) الإنتاج الخارج خلوي extracellular production مما يسهل الغزو والقدرة على الوجود والهرب أو النفاذ من دفاع المضيف السمية Toxigenesis هي القدرة على تخليق السموم إذ تعرف بكتريا *S. mutans* بأن لها القدرة على تكوين أو تشكيل الغشاء الحيوي biofilm و تعمل هذه الاغشية الحيوية الميكروبية بمثابة حواجز مجهرية توفر الحماية للمجموعات الميكروبية المحصورة داخل الحاجز مما يجعلها أكثر قوةً ويصعب علاجها (Ouwehand, A. C at el., 2016) .

3-2-1-1 عوامل الضراوة بكتريا المكورات العقدية: Virulence Factor of

Streptococcus. mutans

تشير الدراسات السريرية إلى إن بكتريا *S.mutans* من الكائنات الحية المسببة للسرطان اللثة من بين أنواع البكتيرية الأخرى الموجودة في البلاك على أسطح الأسنان , وذلك لأنها تمتلك مجموعة متنوعة من عوامل الضراوة virulence factors التي تمكنها من إنشاء المستعمرات والتراكم بأعداد كبيرة على سطح الأسنان , واستعمال مجموعة واسعة من مصادر الكربوهيدرات وإنتاج الحامض والتكاثر عند انخفاض درجة الحموضة pH إذ إن زيادة درجة الحموضة المتكونة بسبب تراكم البكتريا في البلاك على أسطح الأسنان , تمكنها من النجاح في اظهار عوامل الضراوة التي تجعلها ممرضة الإنسان فقد اثبتت الدراسات التي أجراها Harper and Loesche demonstrated إن بكتريا *S. mutans* هي الأكثر حمضية من السلالات العصوية اللبنية , كما إنها تكون أسرع نمواً عند درجات حموضة قليلة pH من أي بكتريا فموية أخرى غير *mutans* (De Soet, J.J ,et al ., 2000) وإن الصفة التي تفصل بكتريا *S. mutans* عن بكتريا البلاك الفموية الأخرى هي القدرة على تجمع بأعداد كبيرة بوجود السكرز الغذائي وهذا الامر يتطلب الالتصاق بسطح السن, أو مستعمرات البلاك والتمسك والالتصاق بين الخلايا المنقسمة (Marsh. P.D., 2004) (Kolenbrander et al.,2010). إن وجود البكتريا في القناة الهضمية والتي بدورها تنفتح على البلعوم والمريء بنسبه 9% إذ يدل على وجود علاقة تكافلية بين البكتريا والخمائر *S. mutans* والذي يؤدي إلى تراكم مشترك بين الفطريات البكتيرية يؤدي إلى ارتفاع القدرة على تسرطن في ظل وجود العديد من المكورات العقدية الضارة وغير الضارة في تجويف الفم مما يجعلها مسببات الأمراض الانتهازية

التي تحصل في أوضاع معينة والتي تقوم بتحويل العقيدات المتعايشة إلى مسببات مرضية والتهابات اللثة وترتبط المكورات العقدية الفموية مثل *Streptococcus mutans* بالتهابات قححية في مواقع مختلفة بما في ذلك الفم والقلب والمفاصل والجلد والجهاز العصبي المركزي.

يمكن لبكتيريا *S. mutans* الالتصاق داخل لوحة الأسنان معتمدة على وجود السكر، أو عدم وجود السكر فقد يؤدي الالتصاق غير المعتمد على وجود السكر بالمكونات اللعابية داخل قشرة المينا إلى بدء عملية التعلق والالتصاق، ولكن الالتصاق المعتمد على السكر قد يكون المسؤول بشكل رئيس على إنشاء استعمار على سطح السن، فيعد تناول السكر واحد من العوامل التي ترتبط بمستوى مستعمرات (Caufield and Bromage., 2012). وقد يؤدي الالتصاق بالكلوكان glucan المشكل مسبقاً على سطح السن أيضاً إلى تسهيل الاستعمار (Banas and Vickerman ,. 2003). إن قدرة *S. mutans* على بناء وتصنيع الكلوكانات glucans من السكر يزيد من كفاءة الالتصاق، ويعزز نسبة وجود *S. mutans* داخل لوحة الأسنان وبالتالي سوف يلعب الالتصاق المعتمد على السكر دوراً مهماً في بدء عملية التغيرات في البلاك التي سوف تؤدي إلى تسوس الأسنان (Krzysciak et al., 2014) (Chikindas et al., 1997).

4-2-1 انتقال البكتريا المكورات العقدية: Transmission of *Streptococcus*

mutans

تعتمد بكتريا *Streptococcus mutans* على قوانين في الانتشار بين العديد من المضيفين , إذ إنها تفضل الأسطح الصلبة غير المتساقطة الإنشاء مستعمرات دائمة , وهذه الحقيقة أدت إلى افتراض إن بكتريا *S. mutans* لا يمكن اكتشافها لدى الأطفال الرضع حتى ظهور الأسنان اللبنية , كذلك كشفت دراسات أخرى إن بكتريا *S. mutans* يمكنها أيضاً تستعمر في أخاديد اللسان عند الرضع قبل ظهور الأسنان اللبنية (Berkowitz, 2003) , وعندما تظهر الأسنان اللبنية عادة ما بين عمر السنة و السنتين يمكن أن تشكل بكتريا *S. mutans* المستعمرات على الأسنان والتي سوف تؤدي إلى تسوس الأسنان وعلى الأخص من خلال تسوس الأسنان في الطفولة المبكرة.

يشير ظهور مستويات البكتريا التي يمكن اكتشافها على الأسنان إلى إمكانية حدوث الحفر التجاويف، وأن اكتشاف بكتريا *S. mutans* في العمر المبكر يعزز الاستنتاج القائل بأن أكثر أنواع انتقال العدوى شيوعاً للبكتريا هي عمودياً من الأم إلى الطفل على الأرجح بعد الولادة (Çolak, H et al., 2013) إذ تتشابه plasmid DNA مع الأجناس المختلفة مما يعني الانتقال الرأسي في المقام الأول, و نتيجة لذلك فإن الأمهات اللواتي لديهن كميات عالية من البكتريا أو اللواتي يعانين من تسوس الأسنان من المحتمل إن ينقلن المشاكل نفسها المرتبطة بها إلى أطفالهن, وكذلك إن *S. mutans* تظهر القدرة على الانتقال الأفقي , وغالبا ما يكون لدى الأطفال في فصل المدرسة نفسه والفئة العمرية نفسها سلالات متطابقة من البكتريا موجودة

في لعابهم (Baca et al., 2012) والأطفال الذين ليس لديه *S. mutans* غالباً ما تشترك خمس سلالات مع كل من الأم والأب عند اكتساب البكتريا (Van Loveren et al., 2000).

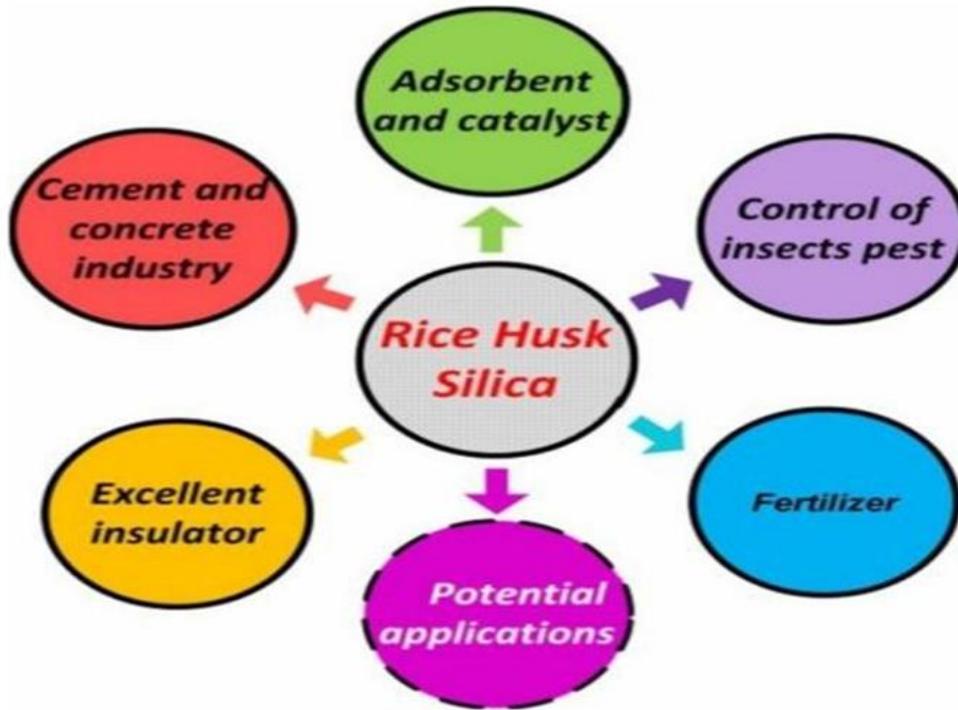
3-1 تخليق الجسيمات النانوية بواسطة المخلفات النباتية:

كشفت معظم الدراسات على النباتات الطبية إمكانيتها في تخليق جسيمات الفضة والذهب النانوية والعديد من المعادن التي تستعمل في الطب النانوي (Ali Mubarak et al., 2010) الأكثر اهتماماً وذلك للعديد من الأسباب , إذ تكون هذه الطرائق سهلة في درجة حرارة الغرفة وضغطها من دون أية متطلبات تقنية صارمة أو سريعة وكذلك لوصفها صديقة للبيئة وسهلة وغير مكلفة تعمل المستخلصات النباتية المستعملة على نوع الجسيمات النانوية , ويكون المستخلص النباتي العامل الأكثر حيوية الذي يؤثر على شكل الجسيمات النانوية المركبة (Mukunthan and Balaji . , 2012) في السنوات الأخيرة , إذ حظي التخليق الأخضر green syntheses للجسيمات النانوية بأستعمال أجزاء مكونات نباتية مختلفة اهتمام كبير وذلك بسبب بساطته وتوليف AgNPs بأستعمال أجزاء نباتية مختلفة ومتنوعة وهناك العديد من الأبحاث التي إشارة إلى تخليق الجسيمات النانوية بأستعمال المستخلصات النباتية مثل rice husk, Basella alba, و zea mays Oryza sativa (Leela and Vivekanandan. 2008), و يعد الرز الغذاء للناس في الكثير من البلدان للعديد من القرون ولهذا تعد مادة آمنة وصديقة للبيئة للتركيبات الصيدلانية والعلاجات الطبية وكذلك من أكثر النباتات المزروعة انتشاراً في العالم (Bazargan, A. et. al, 2015) , ويغطي 1% من سطح الأرض ويأتي في المرتبة الثانية بعد القمح من إذ المساحة والإنتاج يتم إنتاج ما يقارب 600 مليون طن من الرز إذ يكثر إنتاج الرز في آسيا وهو المحصول الوحيد الذي يمكن زراعته خلال موسم الامطار في المناطق الاستوائية الرطبة ويمكن زراعته خلال موسم الصيف في العراق كما موضح في الشكل (1-1) ويُعد قشر الرز هو المنتج الرئيس الناتج من طحن الرز أثناء عملية تنقية الرز, ويتم إزالة هذه القشور التي تكون بشكل اغماد طبيعية تحيط بحبوب الرز اثناء نموها إذ ليس لها أية مصلحة استهلاكية. (N. Yalcin and V. Selvinc.,2001) إذ لكل طن من الرز يتم تكوين ما يقارب (0.23) طن من القشر يتميز قشر الرز باحتوائه على المواد المتطايرة بنسب عالية وبحجم موحد تقريباً ونقاط انصهار عالية للرماد وتحتوي قشور الرز أعلى نسبة من المركبات غير العضوية التي تمثل حوالي 26% (wt.) من الهيكل الجاف بينما الوزن المتبقي 74% (wt.) من وزن المخلفات يكون عبارة عن مركبات عضوية والغير عضوية يوضح الجدول ادناه التركيب الكيميائي لقشر الرز الخام (Chandrasekhar et. al, 2003).



الشكل (1-1) نبات الرز

تشتمل المركبات العضوية الموجودة في قشور الرز على السليلوز و (wt.) 50% hemicellulose و (wt.) 20% lignin والباقي 3% (wt.) يمثل المركبات العضوية الأخرى مثل الزيت والبروتينات (AI- Hmedawi, 2012) تتكون طبقات RH من أربعة أنواع هيكلية ليفية، تشبه الاسفنج والخلوية (Fernandes I.J *et. al.*, 2016) وللسيلكا المصاحبة لقشور الرز إستعمالات صناعية عديدة كما موضح في الشكل (2-1).



الشكل (2-1) اهم استعمالات السيلكا

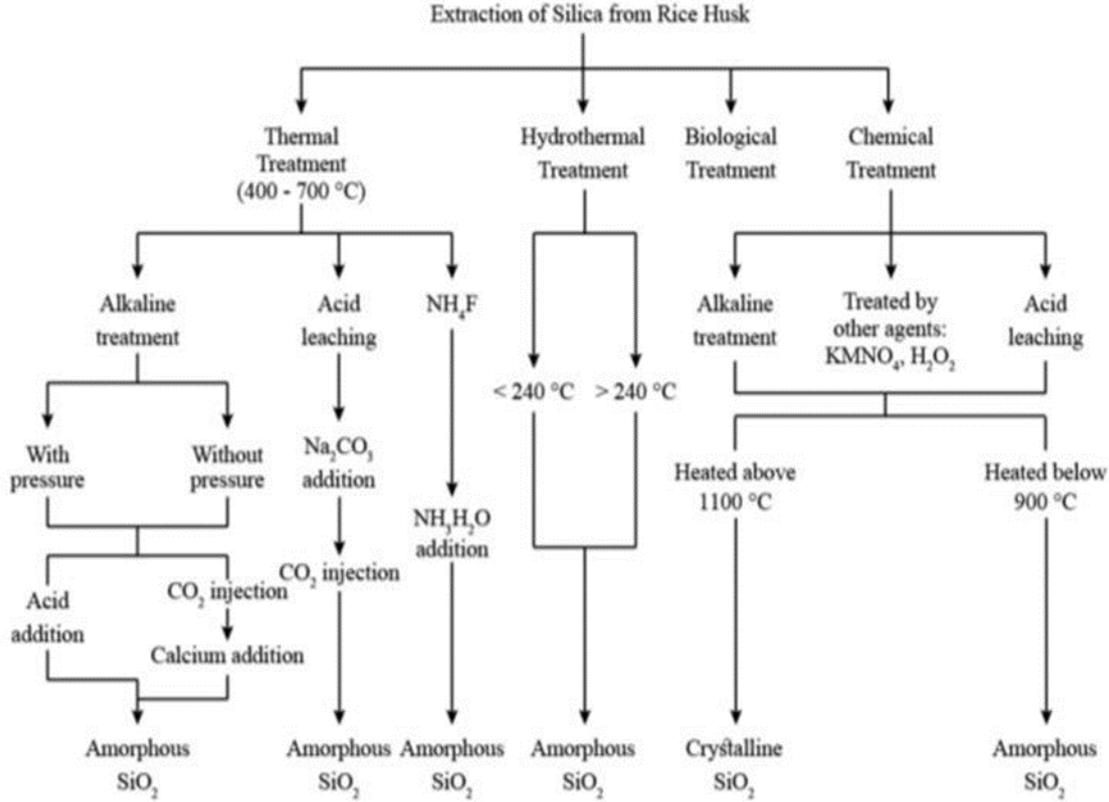
1-3-1 رماد قشر الرز Rice husk ash:

يمكن الحصول على رماد قشر الرز (RHA) عن طريق حرق القشور بدرجة حرارة (500- 800 C⁰) إذ يتم الحصول على RHA كمنتج نفايات من محطات طاقة الكتلة الحيوية biomass لنبات الرز وبسبب قلة المساحة ومحدوديتها قد يكون صعباً في التخلص من RHA في مدافن النفايات، وقد تسبب هذه المشكلة في الكثير من المشاكل البيئية الخطرة إذ يحتوي RHA على كمية كبيرة من السيليكا غير المتبلورة والكربون وتكوين معدني ثانوي اخر للسيليكا غير المتبلورة والكربون تطبيقات تجارية وعلمية (Pode .R, 2016), ولهذا يمكن استعمال RHA كمصدر بديل غير مكلف للسيليكا الغير متبلورة الإنتاج المواد ذات أهمية تكنولوجية والتي تكون السيليكا أساس في تكوينها, إذ تكون السيليكا المكون الرئيس للرماد والذي يمثل (94%) منه بينما تتكون ال 6% المتبقية من شوائب غير عضوية المتبقية (Della V.P et. al., 2002) و (De Souza M.F et. al., 2002) يمكن الحصول على RHA عن طريق معالجة قشر الرز حرارياً بدرجات حرارة عالية أو يمكن استخلاصه كيميائياً على شكل سيليكات الصوديوم بأستعمال طريقة الهضم بالقواعد القلوية عادة ما يكون RHA اكثر ملائمة بالمقارنة مع RHA وهو مصطلح عام يصف كل أشكال رماد المنتج من RHA يعتمد شكل RHA والذي تم الحصول عليه بدرجة كبيرة على درجات الحرارة, إذ تتشكل السيليكا غير المتبلورة عند (550-800 C⁰) درجة مئوية بينما تتشكل السيليكا المتبلورة عند درجة حرارة أعلى (Shen.Y., 2017).

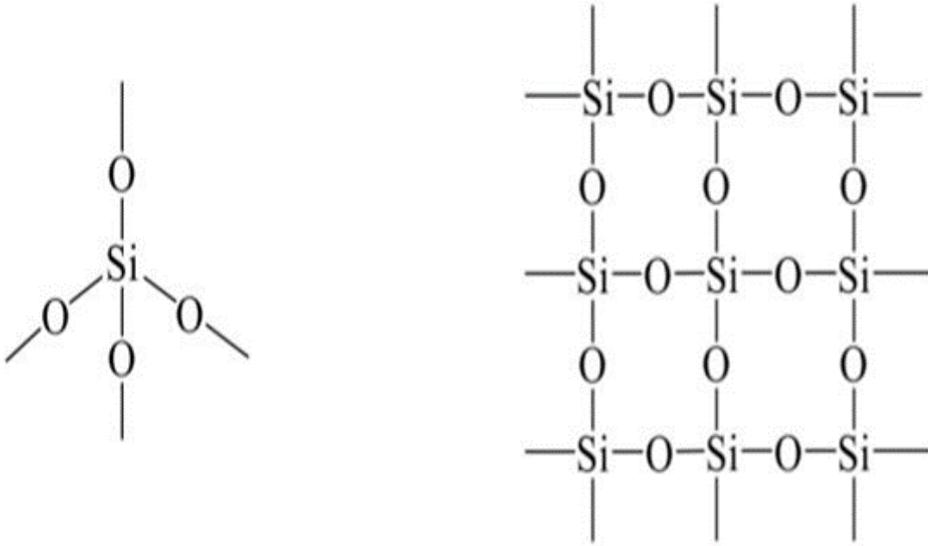
2-3-1 استخراج السيليكا من قشر الرز: Extraction of silica from rice husk

هنالك العديد من الطرائق في إستخراج السيليكا من RHA وهذه الطرائق تتضمن إزالة الشوائب قبل وبعد العمليات الحرارية، و تعد الطريقة الكيميائية التي تتكون من ترشيح بسيط للحمض وما بعد التلدين من أنجح الطرائق وابتسطها للاستخراج وتجميع السيليكا النانوية من (Shen, Y.,2017) والجدول (1-1) يبين بعض طرق استخراج السيليكا (Mehta ,P.K and Pitt, N., 1976).

الجدول (1-1) طرق استخلاص السيليكا

**3-3-1 السيليكا Silica:**

السيليكون (Si) هو أكثر ثاني عنصر مهم في قشرة الأرض بعد الأكسجين (O)، ويتم إطلاقه في التربة عن طريق العمليات البيولوجية أو الكيميائية، وبعد ثاني أكسيد السيليكا (SiO₂) الموضح في الشكل (1-6) من أكثر المواد وفرةً على قشرة الأرض وواحد من أهم المركبات الكيميائية غير العضوية متعددة الاستعمالات ويمكن أن يوجد في بعض الأحيان بشكل هلام، بلوري وغير بلوري (et, BS, Todkar, 2016).



الشكل (3-1) بنية السيليكا

4-3-1 سطح السيليكا the surface of silica

يتكون سطح السيليكا من نوعين من المجموعات الوظيفية أي مجموعات silanol (Si-OH) و siloxane (Si-O-Si) تم اكتشاف أن مسار التعديل الرئيس يحدث من خلال استجابة جزء معين لسطح السيليكا مع مجموعات silanol (Adam F. et al., 2009)، ويتم إنشاء مجموعات silanol بواسطة طريقتين أساسيتين يتم إجراءها على السطح.

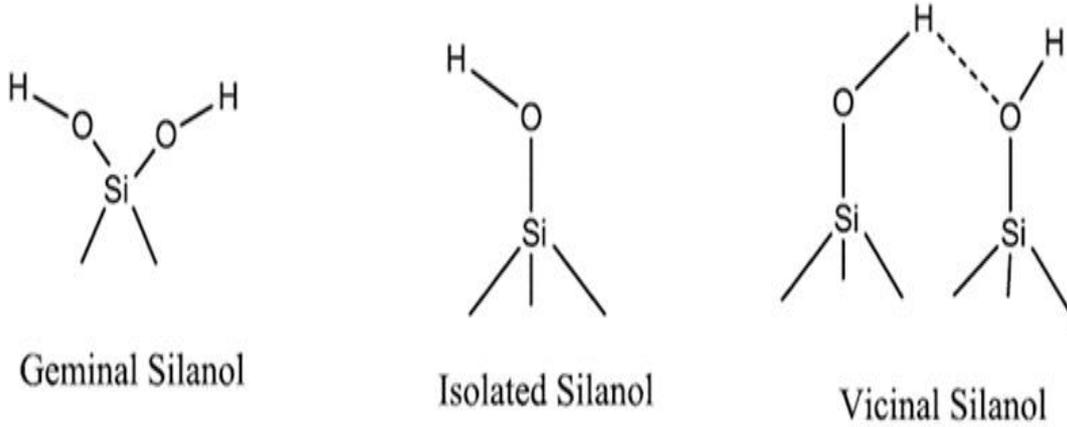
أولاً: يتم إنشاء هذه المجموعات أثناء تخليق السيليكا على سبيل المثال أثناء بلمره التكتيف لـ $Si(OH)_4$. ثانياً: قد تتشكل المجموعات السطحية كنتيجة لإعادة هيدروكسيل السيليكا منزوعة الهيدروكسيل عند معالجتها بالماء أو المحاليل المائية (Zhuravlev L T., 1993)، ويمكن تصنيف مجموعات silanol الموجودة على سطح السيليكا إلى ثلاثة أنواع.

1- المجموعات المعزولة isolated groups أو الحرة free silanols إذ تحتوي على ذرة السيليكون السطحية على ثلاثة روابط في الهيكل الكتلي والرابطة الرابعة متصلة بـ OH مفرد.

2- المجموعات الجسرية Vicinal silanols أو bridged silanols.

وتكون مجموعتان من silanols متصلتان بذرات السيليكون مميزة قريبة بدرجة كافية من الرابطة الهيدروجينية.

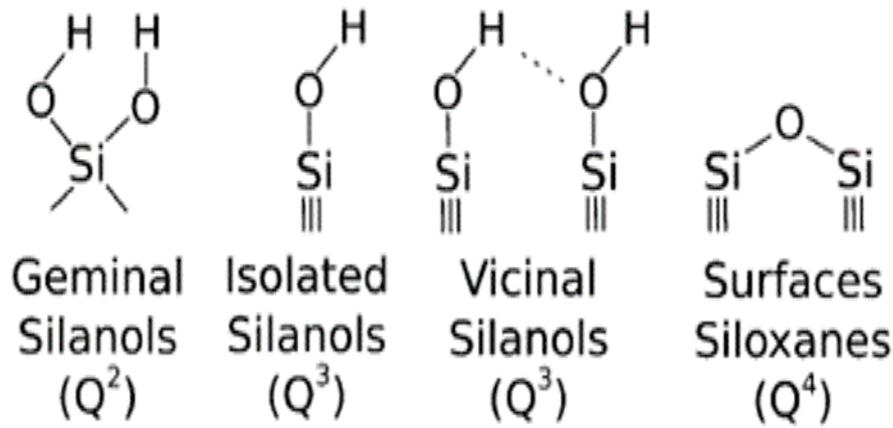
Geminal silanol-3 تتكون من مجموعتين هيدروكسيل متصلتين بمجموعة واحدة من ذرة سيليكون والتي تكون قريبة جداً من بعضها البعض لتكوين رابطة هيدروجينية من ناحية أخرى.



الشكل (4-1) تصنيف مجموعات silanol الموجودة على سطح السيليكا

تظهر السيليكا ثلاثة أنواع من مجموعات Siloxane ($\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$) وفقاً لدراسة NMR لنواة السيليكا ^{29}Si nuclei ويتم تمثيل مجموعات Siloxane هذه على إنها Q إذ يشير (n) إلى رقم روابط التجسير (O-Si-) المرتبطة بذرة السيليكون المركزية أي Q4 تعني أربعة روابط Siloxane بذرة السيليكون اما Q3 تعني ثلاثة روابط Siloxane متصلة بذرة السيليكون المركزية اما Q2 تعني اثنان روابط Siloxane متصلة بذرة السيليكون المركزية بشكل عام يمكن تحديد عدد المجموعات Siloxane من المعادلة التالية

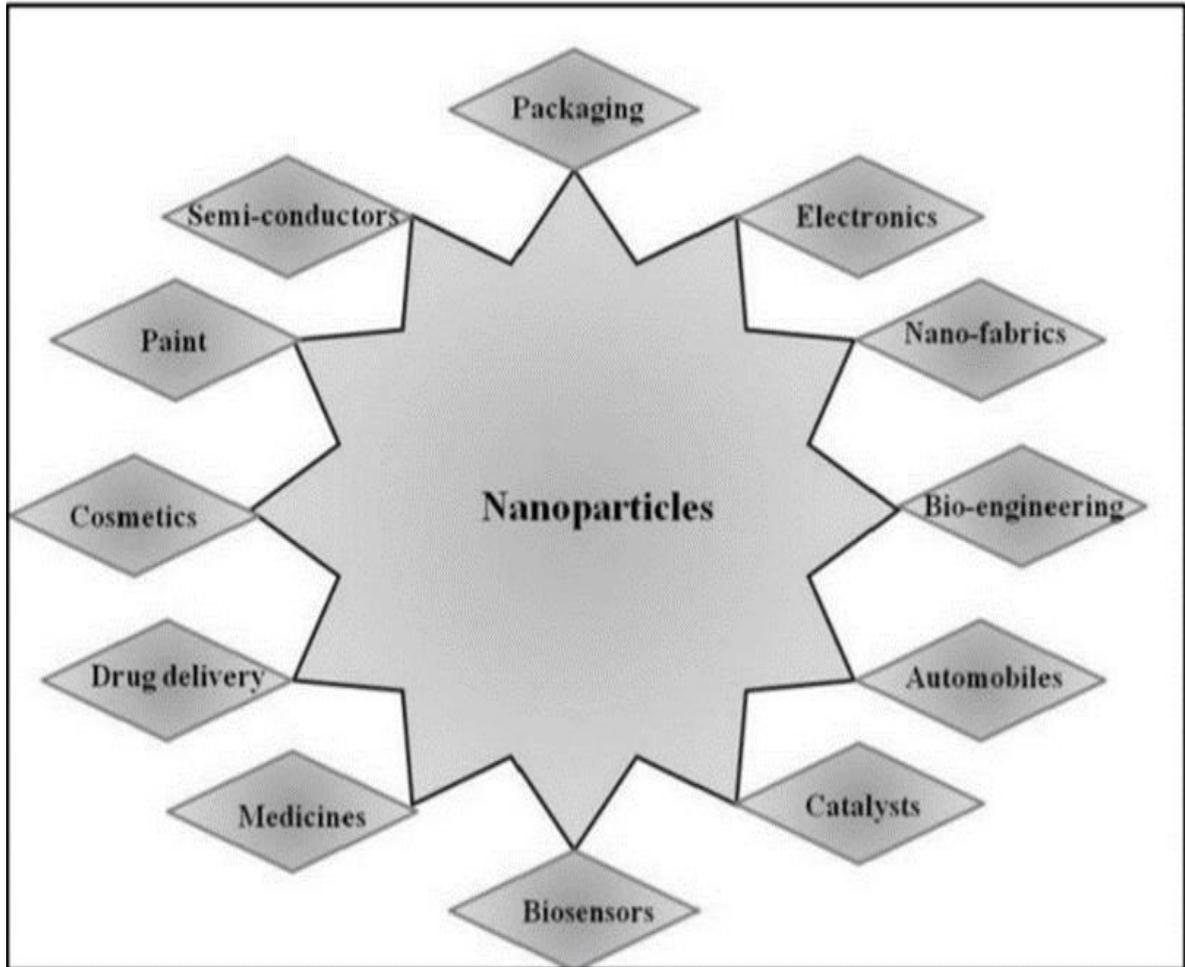
$$Q_n = \text{Si} (\text{OSi})_n (\text{OH})_{4-n} \text{ (Cui, J., Hu et al., 2012)}$$



الشكل (5-1) تسمية Q المستخدمة لتحديد بيئة ذرات السيليكون في السيليكا

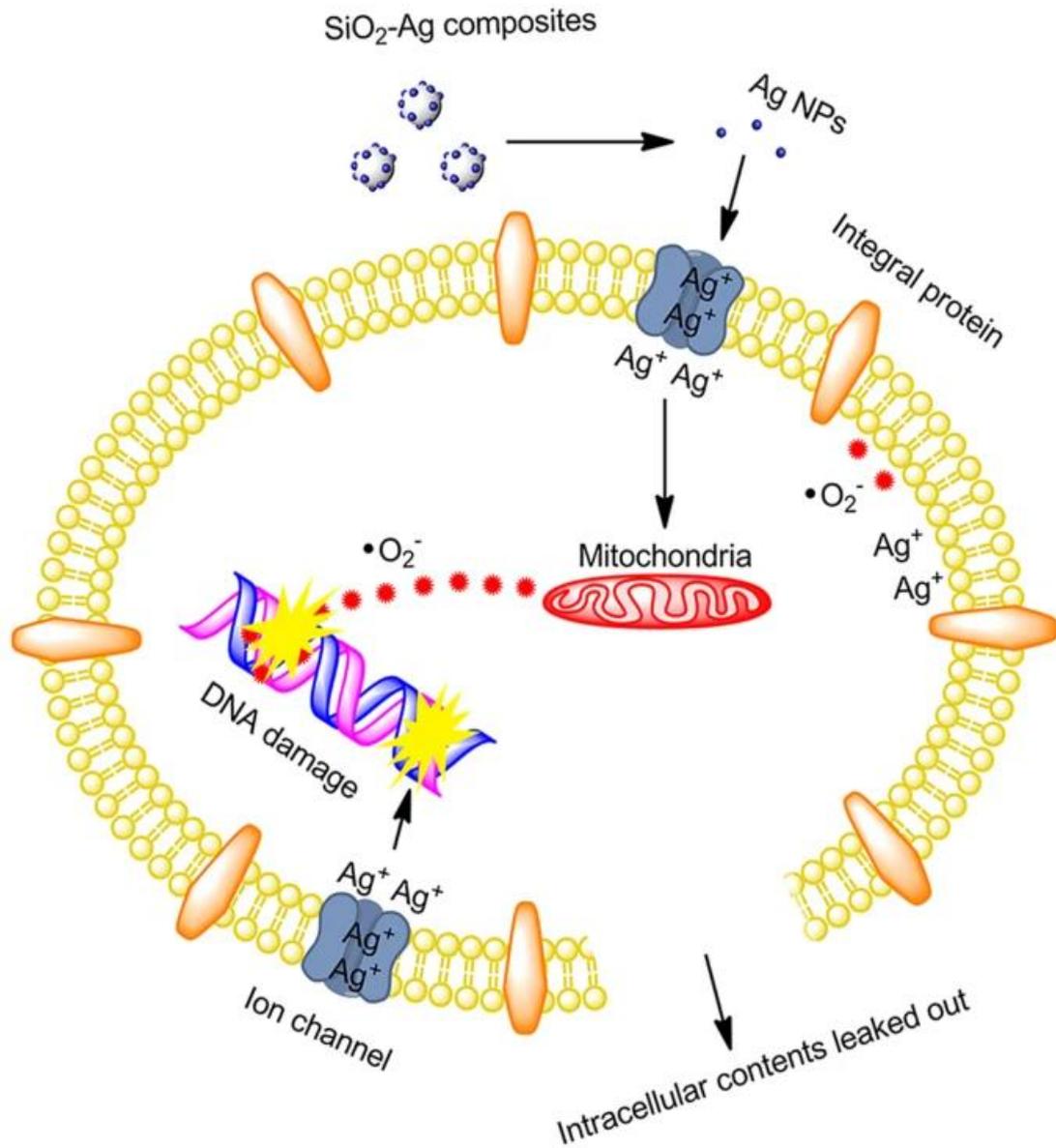
4-1 التقنية النانوية: Nanotechnology

اشتقت كلمة نانو من Nanos اليونانية التي تعني " القزم " والتي تشير للأشياء ذات الأحجام الصغيرة وأستعمل مصطلح Nanotechnology لأول مرة من قبل Taniguchi Norio في عام 1974 لوصف المواد التي تتراوح أبعادها بين 1-100 نانوميتر (Boholm, M., and Arvidsson, R.2016) وهي ليست جزيئات بسيطة تتكون من ثلاث طبقات، الطبقة السطحية (surface layer) والتي يمكن أن تكون فعالة وظيفياً مع مجاميع مختلفة من الجزيئات الصغيرة والأيونات الفلزية (metal ions) والمواد الخافضة للشد السطحي (Surfactant) والبوليمرات، الطبقة الغلاف (shell layer) وهي مادة مختلفة كيميائياً عن اللب (Core) في كل الجوانب و اللب (Core) وهو الجزء المركزي ويشير إلى الدقيقة النانوية نفسها (Khan, I., Saeed, K., 2019), وحظيت الدقائق النانوية بتطبيقات واسعة ولاسيما في مجال الطب الحيوي وأجهزة الاستشعار وكمضادات لأحياء المجهرية وكمحفزات وفي الالكترونيات والالياف الضوئية والزراعة ووضع العلامات الحيوية (labeling-Bio) فضلا عن المجالات الأخرى والتي يمكن تلخيصها في الشكل (6-1) (Kavitha, K. S. et al.,2016).



الشكل (6-1) استعمالات الدقائق النانوية (Kavitha, K. S. et al, 2013)

إذ تعمل الدقائق النانوية على تثبيت الاحياء المجهرية بطرائق مختلفة كما إن آلية عمل هذه الدقائق تختلف حسب أنواعها, و تمتلك هذه الدقائق حجما أقل من 100 نانوميتر مما ينعكس على زيادة مساحتها السطحية نسبة إلى حجمها وبالتالي تسمح بزيادة ارتباطها مع جدار الخلية مما يزيد من كفاءتها التثبيطية (Christensen, L at et., 2011) و تمتلك العديد من السلالات البكتيرية القابلية على الالتصاق, بأي أسطح طبيعي أو صناعي وتكوين الغشاء الحيوي (biofilm) على السطوح, وهناك العديد من العوامل المسؤولة عن الالتصاق تشتمل على المواد الشبيهة باللعبال للزج والتأثرات الالكتروستاتيكية (Electrostatic) interactions وأواصر (dipole-dipole) والأواصر الهيدروجينية والتأثرات الكارهة للماء (hydrophobic interactions), وقوى فاندر فال (Vander Waals) لهذا فإن المواد النانوية تعمل كعوامل مضادة الاحياء المجهرية عبر التقليل كل من التصاق البكتريا, وتكوين الغشاء الحيوي كما موضح في الشكل (7-1) (Parandhaman, T. et al 2015).



الشكل (7-1) الية تأثير المركبات النانوية على الاحياء المجهرية

الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل

Materials & Methods

2-المواد وطرائق العمل

1-1-2 الأجهزة والأدوات المستعملة والشركات المصنعة لها

ت	اسم الجهاز	الصنع /المنشأ
1	جهاز الأشعة تحت الحمراء (FT-IR)	Bruker Tensor 27
2	جهاز قياس الاس الهيدروجيني PH meter	WTW (model 720)
3	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Model EBA-720
4	جهاز الحرق Muffle furnace	Carbolite /1100 C
5	جهاز طيف حيود الأشعة السينية XRD	(Philips PW 1730/10) X-ray Diffractometer
6	المجهر الإلكتروني النافذ TEM	EM 208S, PHILIPS, NEDERLAND
7	جهاز مجهر القوة الذرية AFM	NT-MDT/NTEGRA arm
8	المجهر الإلكتروني الماسح SEM -EDX	FESEM MIRA III (TESCAN)
9	جهاز امتصاص امتزاز النتروجين BET	BEL BELSORP MINI II
10	جهاز التحليل الحراري TGA/DTA	TA Instruments SDT-Q600 Simultaneous TGA / DSC
11	ميزان Balance	BL 210 S, Sartorius
12	فرن Oven	Model un 110 plus
13	جهاز المازج المغناطيسي الحراري Hot plate magnetic stirrer	LMS1003, Labtech, Techco, LTD
14	حاضنة (Incubator)	Binder-Germany
15	ميزان حساس (Sensitive Balance)	Denver – Germany
16	هود بايولوجي (Laminar flow cabinet)	Jeio - Tech – Korea
17	مصباح بنزن (Bunsen burner)	Jen way – Germany
18	مؤسدة (Autoclave)	Labtech – Korea
19	ثلاجة (Refrigerator)	LG – Korea
20	المجهر الضوئي (Light microscope)	Motic – Germany
21	جهاز الفايترك Vitek-2 Compact System	Biomeriux (USA)
22	ناقوس التحضين اللاهوائي Anaerobic jar	BD- USA
23	Micropipette (10-1000ul)	Dragon Lab- China
24	أنابيب إيبندروف Eppendorf tubes	A taco- China

2-1-2 المواد الكيميائية والأوساط الزرعية المستعملة والشركات المصنعة لها:

شركة المصنعة/المنشأ	أسم المادة	ت
SDFCL -Mumbai	هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)	1
CDH, India	نترات الفضة (AgNO ₃)	3
CDH, India	الجلوكوز Glucose	4
CDH, India	بوروهيدريد الصوديوم NaBH ₄	5
Himedia – India	وسط Mitis salivarius Agar	6
BDH- England	باستراسين Bacitracin	7
Thomas Baker- India	Dimethyl sulfoxide (DMSO)	8
Himedia – India	وسط (Blood agar base)	9
Himedia – India	وسط Brain – Heart infusion broth	10
Himedia – India	وسط Mueller- Hinton Agar	11
Oxide- England	سكروز Sucrose	12
Himedia – India	Potassium tellurite	13
Sigma-USA	Mannitol	14

2-1-3 العدد (Kits):

الشركة المصنعة	نوع الاستعمال	اسم عدة التشخيص	ت
Biomeriux France	لتشخيص البكتريا	VITEK-2 GP card	1
Biomeriux France	اختبار الحساسية	VITEK-2 AST card	2

طرائق العمل:

اعتمدت طرق التعقيم المستخدمة تم التعقيم في الدراسة وفقاً لما جاء به (Raju, G. K. and 1993) و (Cooney, C. L., 1993) وكما يلي

1-التعقيم بالمؤسدة The Sterilization by autoclaving:

تم تعقيم بهذه الطريقة الوسط الزراعي الاكار عند درجة حرارة 121 درجة مئوية لـ (15) دقيقة تحت P/In^2 15.

2-التعقيم بالحرارة الجافة The Sterilization by dry heat:

تم تعقيم بهذه الطريقة الأواني الزجاجية بالفرن عند درجة حرارة 180 درجة مئوية لساعتين.

3-التعقيم بالمرشح The Sterilization by Millipore filter:

تم تعقيم المحاليل التي تتلف بالحرارة مثل محلول Bacitracin ومحلول Sucrose ومحلول potassium tellurite solution.

4-تحضير الأوساط الزرعية Preparation of culture media:

تم تحضير واعداد الأوساط الزرعية على وفق تعليمات الشركة المصنعة، وتم تحضيرها بإذابتها في الماء مغلي لإذابة كل المكونات تماماً، وتم تعقيمها بجهاز (Autoclave) عند درجة حرارة 121 درجة مئوية لـ (15) دقيقة تحت P/In^2 15 تم حفظ الوسط الزراعي في الثلاجة لـ (24) ساعة.

1-2-2 طرائق تحضير المحاليل:**1-محلول الباسيتراسين: (200 i.u/Liter) Bacitracin antibiotic solution**

حضر محلول الباسيتراسين بإذابة 0.52 غم من مسحوق bacitracin powder في القليل من الماء المقطر الخال من الأيونات ومن ثم أكمل الحجم إلى 100 مل ثم عقم بالترشيح. وحفظ في الثلاجة حتى استعماله وإعادة تحضيره كل أسبوعين (Yoo, S. Y. et al., 2005).

2- محلول السكروز: (200 i.u/Liter) Sucrose

حضر محلول السكروز، بإذابة 2 غم من السكروز في كمية قليلة من الماء المقطر، ومن ثم أكمل الحجم إلى 1000 مل ومن ثم عقم بالترشيح ميكروميتر وحفظ في الثلاجة.

3-محلول (1% potassium tellurite solution):

حضر هذا المحلول بإذابة 1 غم في القليل من الماء المقطر ومن ثم أكمل الحجم إلى 100 مل، ثم عقم بالترشيح وحفظ في الثلاجة حتى استعماله وإعادة تحضيره كل أسبوعين.

4-المانيتول Mannitol (10%)

حضر هذا المحلول بإذابة 10 غم من المانيتول في كمية قليلة من الماء المقطر وأكمل الحجم إلى 100 مل وعقم بالترشيح (Bailey, WR. *et al.*, 1986).

5- المحلول الملحي الفسيولوجي (Normal saline)

حضر بإذابة 0.85 غم من كلوريد الصوديوم في 50 مل ماء المقطر، وبعد إتمام عملية الإذابة أكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر أيضا وعقم بالترشيح.

6- محلول ثلاثي فينيل رباعي كلوريد: Triphenyl tetrazolium chloride**(TTC)**

حضر هذا المحلول على وفق تعليمات الشركة المصنعة بإذابة 4 غم من TTC في 100 مل من الماء المقطر في زجاجة داكنة وتعقيمها عن طريق المؤصدة.

2-2-2- تحضير الوسط الزراعي Preparation of Mitis Salivarius**Bacitracin Agar (MSBA)**

يتم تحضير هذا الوسط عن طريق إذابة 90 غم من Mitis Salivarius و150 غم من السكروز في 1 لتر من الماء المقطر مخلوط جيدا ثم يتم تعقيمه بالمؤصدة ويبرد ثم نضيف 1 مل من البكتراسين bacitracin Solution المحضر مسبقا (I. U /Liter 200) والمعقم بي Millipore و1 مل من محلول (1% potassium tellurite p T S) المحضر مسبقا، وتم تعقيمه بواسطة Millipore وتمزج المواد مع الاكار 0.09 غم / مل جيدا بعد ذلك تصب في الاطباق. تستعمل هذه الطريقة في عزل وتحديد لبكتريا *S. mutans* (Yoo S.Y. *et al.*, 2005).

2-2-3 تحضير وسط غراء الدم: (Medium Agar Blood)

تم تحضير وسط غراء الدم حسب تعليمات الشركة المصنعة، وبعد إكمال عملية التعقيم بالمؤصدة تم تبريد الوسط إلى (40-45) درجة مئوية ثم أضيف 5% من دم الإنسان الطازج ويستعمل هذا الوسط لغرض تحديد قدرة البكتريا المعزولة على تحليل الدم وتحديد نوع التحلل (Collee *et al.*, 2006).

2-2-4 تحضير وسط Hinton muller agar

تم تحضير وسط حسب تعليمات الشركة المصنعة، وبعد إكمال عملية التعقيم بالمؤصدة تم تبريد الوسط إلى (40-45) درجة مئوية ويستعمل هذا الوسط لغرض إجراء القدرة المركبات النانوية المحضرة على تثبيط البكتريا المعزولة (McFadden, 2000).

2-3- حفظ العزلات: Preservation of isolates

تم الحفاظ على عزلات البكتريا *S. mutans* على النحو التالي وحسب الطريقة المتبعة من قبل (Atlas *et al.*, 1995)

1- حفظ قصير الأمد (أسبوع إلى أسبوعين)

نمو البكتريا المعزولة بالطريقة الروتينية كل أسبوعين على الاكار المغذي والواح الاكار المحضر MSB agar عند درجة حرارة 37 ولـ (24) ساعة ثم تم تحفظها عنده درجة حرارة 4 درجة مئوية في الثلاجة.

2-حفظ متوسط الأمد (3-5 أشهر)

بعد نمو البكتريا المعزولة على الاكار عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لـ (24) ساعة ومحفوظة بدرجة 4 درجة مئوية في الثلاجة تزرع هذه العزلات في Brain heart infusion broth ليتم تنشيطها ثم يعاد زرعها على الاكار المغذي Nutrient agar.

3-حفظ طويل الأمد (أكثر من 5 أشهر)

تنمى البكتريا المعزولة في brain heart infusion broth بدرجة 37°C لمدة 24 ساعة ثم يتم إضافة 15% من الكليسيرين sterilized glycerol المعقم الى 85% من الوسط و تم تخزينه في 20°C-. في الفريز الثلاجة لغرض الحفظ لمدة 6-8 أشهر.

2-3-1 جمع العينات Sample collections:

جمعت 100 عينة تسوس من أشخاص يعانون من تسوس الأسنان والمراجعين لقسم الأسنان وتم تشخيصهم سريرياً بتسوس الأسنان من (كلا الجنسين) الذين تتراوح أعمارهم (15-64) سنة من المدة 1/1/2020 حتى 29/2/2021 وتم جمع عينات البكتريا من مركز صحي في حي العباس وبعض العيادات الخاصة, إذ تم حفر الاسنان المصابة بالتسوس واخذ المسحة منها بعد إجراء الحفر الثاني دون تعريض فم المريض للماء او الهواء اثناء الحفر لكونه يقوم بإتلاف البكتريا *S.mutans* لكونها لاهوائية وتم نقل العينات في الوسط الناقل Transport media وزرعت عينات البكتريا في الاكار MSB- agar plates المحضرة مسبقاً في غضون سبع ساعات وحضنت في ناقوس التحضين اللاهوائي candle jar بدرجة حرارة 37° لمدة 18-24 ساعة لكل عينة مريض (Hardie and Whiley ., 2006), وبعد إنتهاء مدة الحضان تم تشخيص العزلات البكتيرية النامية باستعمال الفحوصات المظهرية (Tests Morphology) والمجهريية (Tests Microscopic) كما

تم تأكيد تشخيص البكتريا المعزولة باستعمال نظام الفايترك (Vitek-2System Compact) لتحديد أنواع العزلات البكتيرية وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة (Karagöz et al., 2015).

2-3-2 عزل وتشخيص بكتريا المكورات العقدية: *Isolation of Streptococcus mutans*

تم عزل البكتريا بواسطة مسحات قطنية معقمة (sterile cotton swabs, Syed, S. A., 1972) ثم التخطيط بها فوق سطح الاكار الانتقائي المحضر (MSBA) (and Loesche, W. J., 1972) في غضون 7 ساعات، وحضنت بالحاضنة بدرجة حرارة 37⁰م و-(24) ساعة في ناقوس التحضين اللاهوائي (candle jar, Hardie and Whiley, 2006).

4-2 تشخيص البكتريا المعزولة: Identification of Bacterial Isolates

1-4-2 التشخيص المظهري والمجهري: Morphological and Microscopic Identification

تم الحصول على مزروع نقي للأجناس البكتيرية النامية في المزروع الأولى من خلال أخذ مستعمرة منفردة وإعادة زرعها على مجموعة من الأوساط الزرعية الانتقائية مثل (MSBA Blood Agar)، وإجراء التشخيص المبدئي لها بالاعتماد على الصفات المظهرية و المزرعية كما تم التعرف على شكل الخلايا البكتيرية باستعمال صبغة غرام، وذلك من خلال اخذ مسحة بكتيرية وتثبيتها على السلايد زجاجي وتصبغيه بصبغة غرام لغرض تحديد شكل الخلايا البكتيرية وتفاعلها مع الصبغة تحت المجهر الضوئي وتستعمل للتمييز بين البكتريا الموجبة والبكتريا السالبة لصبغة غرام (Collee, 2006, J.G.) إذ تم تحديد المستعمرات النامية للعزلات البكتريا *S. mutans* في البداية اعتماداً على الخصائص المورفولوجية إذ تشمل الخصائص المورفولوجية حجم المستعمرات ولونها وشكلها وحافتها وارتفاعها.

2-4-2 محلول صبغة غرام Solutions Stain Gram

جهزت محاليل صبغة غرام (Crystal violate, Safranin, Iodine, Alcohol) بحسب تعليمات الشركة المصنعة (India-media-Hi) وتم أستعماله للتمييز بين البكتيريا موجبة الجرام والبكتيريا سالبة الجرام ودراسة الخصائص المظهرية للبكتريا المعزولة.

3-4-2 التعرف السريع على بكتريا المكورات العقدية: Rapid identification of

S. mutans

تم تحديد بكتريا *S. mutans* عن باقي العزلات الأخرى على وفق الإجراء على النحو التالي، وتم طلاء العينة على mitis salivarius agar وتم حضنها لاهوائياً anaerobically في candle jar بدرجة حرارة 37 ثم تحضن هوائياً لمدة 18 ساعة في درجة حرارة الغرفة. ثم بعد ذلك رش الطبق بمحلول 10% mannitol solution وتم حضنها هوائياً لـ(3) ساعات عنده درجة حرارة 37 °C ثم تم رش الطبق بمحلول 4% من ثلاثي فينيل رباعي كلوريد Triphenyl tetrazolium chloride وحضنه هوائياً لساعة أخرى عند درجة 37° يشير تغير لون المستعمرة إلى اللون الوردي الداكن إلى وجود *S. mutans* بينما تظل مستعمرات العقدية الأخرى زرقاء اللون (Gold et al., 1975).

2- 4-4 اختبار تحلل الدم: Blood hemolysis test

يتم إجراء هذا الاختبار للكشف عن قابلية البكتريا على إنتاج إنزيم hemolysin وتحديد نوع انحلال الدم وتم فحص البكتريا عن إجراء تخطيط للبكتريا على طبق اكار الدم blood agar وحضنت عند درجة حرارة 37 م⁰ لمدة 24 ساعة في التحضين اللاهوائي (Collee et al., 1996)، انحلال الدم هو قدرة المستعمرات البكتيرية على احداث انحلال الدم عندما تنمو على طبق أكار تستخدم لتصنيف بعض الكائنات الحية الدقيقة. بشكل خاص في تصنيف أنواع البكتريا العقدية. المادة التي تسبب في انحلال الدم هي حالة دموية.

2-4-5 تشخيص البكتريا المعزولة باستعمال جهاز الفايترك Compact -2Vitek

Bacterial Identification Using Vitek-2 Compact System

يتم إجراء اختبار نظام الفايترك 2 Vitek في هذه الدراسة من أجل تشخيص عزلات البكتريا *S. mutans*, إذ تم تشخيص العزلات البكتيرية ببيوكيميائية على وفق تقرير نتائج نظام Vitek 2 الالي، وبحسب تعليمات الشركة المصنعة (Company: France Biomeriux) تم تحضير المعلق البكتيري وذلك بنقل كمية من المستعمرات البكتيرية المراد تشخيصها من مزرعة نقية تم تنقيتها مسبقاً بعمر (18-24) ساعة إلى 3 مل من محلول ملحي معقم (Saline Sterile) محلول كلوريد الصوديوم بتركيز (0.45%)، وتم ضبط العكورة باستعمال جهاز ضبط العكورة (Densi-Chek)، إذ يتم تشخيص البكتريا الموجبة لصبغة كرام بالكاسيت (ID-GP (identifier positive Gram وهي نظام مغلق تماماً لا يلزم اضافة أي كواشف آلية. تم وضع البطاقة على الكاسيت المصمم للاستعمال مع نظام Vitek - 2، ووضعها في الجهاز، وملؤه تلقائياً في غرفة مفرغة، ومحكمة الإغلاق، وحضنته

عند 35.5 درجة مئوية، ويخضع تلقائيًا للقياس اللوني (بقراءة جديدة) كل 15 دقيقة لمدة حضانة أقصاها 8 ساعات. تم تحليل البيانات باستعمال قاعدة بيانات Vitek - 2، والتي تسمح بتحديد الكائن الحي بشكل نشط ابتداءً من 180 دقيقة بعد بدء الحضانة (Karagöz et al., 2015).

2-4-6- اختبار حساسية المضادات: Antibiotic susceptibility test

تم إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية للزلات البكتيرية *S. mutans* بأستعمال طريقة الفايترك (Vitek2) تجاه عدد من المضادات الحيوية.

2-5- تحضير المركبات النانوية المشتقة من قشور الرز:

2-5-1-1 المعاملة الأولية لقشور الرز: Initial treatment of rice husks

جُمعت القشور من مجارش إنتاج الرز في محافظة النجف الأشرف، ومن ثم غسل القشور بالماء العادي والماء المقطر، وحفظت بدرجة حرارة الغرفة، و تم أخذ 30غم من قشور الرز المغسولة والمجففة ونقعت ب 750 مل حامض النتريك nitric acid تركيز 1.0 مولاري بدرجة حرارة الغرفة لـ 24 ساعة مع تحريك المزيج بواسطة محرك ميكانيكي أو مغناطيسي في وعاء بلاستيكي (الغسل بالحامض هو لإذابة الاكاسيد القاعدية مثل أكسيد المغنيسيوم والكالسيوم والصوديوم.... الخ الموجودة في القشور تاركا الجزء العضوي) (السليولوز والهيمى سليلوز واللكنين) والسليكا الحامضية في القشور بعد انتهاء عملية التحريك غسلت القشور المهضومة بكميات غزيرة بالماء المقطر حتى يتم التأكد من إن حموضة ماء الغسيل تقترب من الصفة المتعادلة تقريبا الاس الهيدروجيني يصبح (6-7) بعد ذلك جففت القشور المغسولة في الفرن oven لـ 24 ساعة بدرجة حرارة 110 مؤي (Attol, D. H., & (Adam, F., & Chua, J. H., 2004) (Mihsen, H. H ., 2020).

2-5-2- تحضير المادة الأولية السليكا النانوية RH-SiO₂ بطريقة الهضم بالقاعدة

NaOH

وزن 30 غم من قشور الرز المحضرة بالخطوة 1-6-2، ونقلها إلى بيكر زجاجي سعة 750مل، بعد ذلك أضيف لها 500 مل من 1.0 مولاري من هيدروكسيد الصوديوم وحرك المزيج لـ 24 ساعة (Adam, F. et al., 2011).

رشح الخليط المهضوم بالقاعدة بواسطة الضغط المخلخل للحصول على راشح بني غامق (سيليكات الصوديوم) والذي تم حفظه بعد ذلك في حاوية بلاستيكية، وتمت معادلة سيليكات الصوديوم المحضرة ببطء بأستعمال محلول 3.0 مولاري من HNO₃ حتى وصل الرقم الهيدروجيني إلى 8.0 درجة، بعد ذلك تم الحصول على هلام مصفر ترك في حاوية مغطاة ليومين للتعمير. بعد اكمال تعمير الهلام

سكب بأنابيب بلاستيكية وفصل بطريقة الطرد المركزي (Centrifuge Hettich) عند 4000 دورة في الدقيقة، تم غسل بكمية وفيرة من الماء المقطر. بعد اكمال عملية الفصل والغسل بالماء المقطر نقل الراسب إلى فرن الحرق بدرجة 400 مئوي لساعتين للتأكد من خلوه من المواد العضوية. بعدها غسل بالماء المقطر وجفف في فرن عند 110 مئوي لـ 24 ساعة حتى حصل على مسحوق ناعم ابيض عُم ب RH-SiO₂ بوزن تقريبا 3.0 غم، وحفظ الراسب المتكون في المجفف لاختبار فعاليته التثبيطية على البكتريا.

2-5-3 تحضير جسيمات السليكا النانوية المتحورة مع أيونات الفضة الاحادية RH-



وزن 2 غم من المادة RH-SiO₂ المحضرة بالخطوة 2-6-2 وأضيف إليها 500 مل من 1.0 مولاري من هيدروكسيد الصوديوم، وحرك المزيج لنصف ساعة بعدها أضيف 0.6 غم (10%) من نترات الفضة AgNO₃ المحضر حديثاً والمذابة في 20 مل من 3.0 مولاري حامض النتريك nitric acid، بعد ذلك سحح المزيج مع حامض النتريك 3.0 مولاري حتى وصل الرقم الهيدروجيني للمحلول إلى 6.0 تقريباً. ترك المحلول الناتج المحتوي على الهلام الأسود جانبا لـ 48 ساعة للتعمير. بعد اكمال تعميم الهلام سكب بأنابيب بلاستيكية وفصل بطريقة الطرد المركزي (Centrifuge Hettich) عند 4000 دورة في الدقيقة بعد ذلك غسل بكمية وفيرة من الماء المقطر، وأخيراً جفف في فرن التجفيف عند 110 درجة مئوية لـ 24 ساعة وبرّد، وحصل على مادة صلبة سوداء عُمّت ب RH-SiO₂Ag⁺ بوزن تقريبا 1.5 غم، وحفظ الراسب المتكون في المجفف لاختبار فعاليته التثبيطية على البكتريا (Adam, F. et al., 2008).

2-5-4 تحضير جسيمات السليكا النانوية المتحورة مع ذرات الفضة بأستعمال



Preparation of modified silica nanoparticles with silver atoms

using glucose

وزن 1 غم من المادة RH-SiO₂Ag⁺ المحضرة بالخطوة 2-7-3، وأضيف لها 100 مل من الماء الأيوني البارد بعد ذلك أضيف لها زيادة من الكلوكوز (0.55 غم، 3.0 ملي مول) للاختزال أيونات الفضة المتحورة مع السليكا إلى ذرات الفضة النانوية. تم التحريك في حمام ثلجي لمدة ساعتين تقريباً، بعدها حصل على راسب تم غسله بالماء المقطر لمرات عدة جفف في فرن التجفيف عند 110 درجة مئوية لمدة 24 ساعة وبرّد ونحصل على مادة صلبة رصاصية اللون عُمّت ب RH-

$\text{SiO}_2\text{Ag}^0_{\text{G}}$ بوزن تقريبا 1.2 غم وحفظ الراسب المتكون لاختبار فعاليته التثبيطية على البكتريا (He, D. *et al.*, 2013).

2-5-5- تحضير جسيمات السليكا النانوية المتحورة مع ذرات الفضة بأستعمال بوروهيدريد الصوديوم $\text{RH-SiO}_2\text{Ag}^0_{\text{s}}$:

Preparation of modified silica nanoparticles with silver atoms using borohydride

وزن 1 غم من المادة $\text{RH-SiO}_2\text{Ag}^+$ المحضرة بالخطوة 3-6-3 وأضيف لها 100 مل من الماء الأيوني البارد بعد ذلك أضيف لها زيادة من بوروهيدريد الصوديوم (0.12 غم, 3.0 ملي مول) للاختزال أيونات الفضة المتحورة مع السليكا إلى ذرات الفضة النانوية , تم التحريك في حمام ثلجي لمدة ساعتين تقريبا , بعدها حصل على راسب رصاصي فاتح اللون تم غسله بالماء المقطر لمرات عدة جفف في فرن التجفيف عند 110 درجة مئوية لمدة 24 ساعة وبرّد وحصل على مادة صلبة رصاصية اللون علّمت بـ $\text{RH-SiO}_2\text{Ag}^0_{\text{s}}$ بوزن تقريبا 1.1 غم , و حفظ الراسب المتكون لاختبار فعاليته التثبيطية على البكتريا (He, D. *et al.*, 2013).

2-6 طريقة تقدير الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية ضد البكتريا *S. mutans*

اشتملت هذه الدراسة على اختبار فعالية تثبيط المركبات النانوية (RH-SiO_2 , $\text{RH-SiO}_2\text{Ag}^0_{\text{G}}$, $\text{RH-SiO}_2\text{Ag}^0_{\text{s}}$, $\text{RH-SiO}_2\text{Ag}^+$) ضد العزلات المتحصل عليها من البكتريا *S. mutans* بحسب الآتي.

1- سحب 30 مايكرو ليتر من العالق البكتيري وأضيف إلى الاطباق حاوية على وسط muller Hinton agar للبكتريا *S. mutans* الصلب، تم نشره جيدا على سطح الطبق بواسطة السواب القطني وتركت الاطباق لربع ساعة.

2- خففت المواد المركبات النانوية (RH-SiO_2 , $\text{RH-SiO}_2\text{Ag}^0_{\text{G}}$, $\text{RH-SiO}_2\text{Ag}^+$, RH-SiO_2) باستعمال المذيب DMSO للحصول على التراكيز تضاعفيه متدرجة تتراوح من (10-1280) مايكرو غرام /مل.

3- غمر الأقراص المصنوعة من أوراق الترشيح بواسطة ثاقبة الفيني ذو قطر 5 ملم بالتراكيز المحضرة للمركبات النانوية.

4- وضع الأقراص المغمورة على الاكار المزروع به البكتريا بمسافات متساوية بين قرص واخر.

5- حضنت لـ 24 ساعة بدرجة 37⁰م.

6- تم قياس اقطار التثبيط نمو البكتريا (ملم) باستعمال المسطرة بعد اكتمال الحضانة.

2-6-1 اختبار السمية للمركبات النانوية:

تعتبر سمية انحلال الدم Hematological toxicity للمواد النانوية المصنعة خطرة جدا على الانسان (Suwalsky *et al.* 2010), إذ تم في هذا الاختبار فحص السمية للمركبات النانوية (RH-SiO₂ Ag⁰_s و RH-SiO₂ Ag⁰_G, RH-SiO₂ Ag⁺, RH-SiO₂) على اشخاص أصحاء (Taniyama *et al.*, 2003) وذلك لأثبات انتقائية وسلامة المواد النانوية المصنعة للتطبيقات المستقبلية, إذ تم جمع عينات الدم في انابيب مختبرية تحتوي على مضاد التخثر (EDTA), إذ تم خلط 30 مايكرو ليتر من محلول جسيمات الفضة النانوية بتركيز ملغرام /مل (640 ل RH-SiO₂, وتركيز 640 للمركب RH-SiO₂Ag⁺, وتركيز 640 للمركب RH-SiO₂ Ag⁰_G وتركيز 640 للمركب RH-SiO₂ Ag⁰_s) مع 0.2 مل من دم اشخاص أصحاء يتم خلطها برفق لمدة 5 دقائق, وحضنت لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة (Malagoli D.,2007), ثم إضافة 20 مل من المحلول الملحي الفسلجي العادي لمنع اي انحلال دموي ثم إجراء الطرد المركزي بجهاز centrifuge عند 3000 دورة لـ 10 دقائق و ثم تحديد امتصاص المادة بجهاز السيكتروميتر بطول موجي 540 نرمرم لقرائها بالرمز AT.

تم أخذ 30 مايكوليتر من مادة DMSO وإضافته إلى المحلول الملحي والدم بالنسبة نفسها المستعملة كعنصر تحكم إيجابي، وايضا تم قياسه بجهاز السيكتروميتر بطول موجي 540 نانومتر ونرمرم لقرائها بالرمز AN, ويتم تحديد نسبة انحلال الدم بنسبة 100% عن طريق تخفيف الدم المستعمل مع حجم أكبر 100 ضعف من الماء المقطر بدلا من المحلول الملحي العادي تم قياسه بجهاز السيكتروميتر بطول موجي 540 ونرمرم لقرائها بالرمز (As) ونطبق المعادلة الآتية.

$$\text{Hemolysis}\% = \frac{(AT-AN)}{(As-AN)} * 100\%$$

إذ يمثل كل من

AT (Absorbance of sample) : مركب نانوي ودم ومحلل ملحي

AN (Absorbance of negative control) : مركب نانوي و DMSO ومحلل ملحي

As (Absorbance of positive control) : دم وماء مقطر

2-6-2 التحليل الاحصائي (Statistical Analysis)

جمعت البيانات وتم تلخيصها وتحليلها وتقديمها باستعمال الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية SPSS (Statistical Package for Social Science) الإصدار 16 تحت مستوى احتمال $P \leq 0.05$ و Excel Office Microsoft 2007، وتم التعبير عن المتغيرات الكمية المتغيرات النوعية (الفئوية) كعدد ونسبة مئوية، في حين تم التعبير عن المتغيرات (الرقمية) الموزعة بشكل طبيعي للتوزيع الطبيعي باستعمال اختبار Smirnov-Kolmogorov، ومن ثم تم التعبير عن المتغيرات الرقمية الموزعة بشكل طبيعي على أنها متوسط (مؤشر لالتجاه المركزي) والانحراف المعياري (مؤشر التشتت) بالإضافة إلى النطاق.

الفصل الثالث

النتائج ومناقشتها

**Results and
dissection**

3- النتائج ومناقشتها: Results and discussion

1-3 الجانب البكتريولوجي: Bacteriologica Aspectl

1-1-3 العزل والتشخيص: Isolation and diagnosis

بعد زرع العينات المتحصل عليها من الفم على وسطي Mitis Salivarius Agar تم الحصول على 55 عزلة بعد تشخيصها منها 45 بكتيرية *S. mutans* المشخصة وباقي العينات لم تعطي نمو للبكتريا ، وتتفق نتيجة الدراسة الحالية مع نتيجة الدراسات التي أجراها (Flayyih *et al.*, 2016) الذي درس تسوس الأسنان والعقيدات الفموية المعزولة، و توصلت دراسة أخرى أجراها (Abd Al-Zahra and Saleh ., 2018) إلى إن *S. mutans* في الإناث (71%) وفي الذكور (39.29%) إذ تتطابق نتيجة الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات المختلفة التي ذكرت إن الإناث أكثر إصابة من الذكور إذ كانت نسبة إصابة الإناث 72% اما نسبة إصابة الذكور 28% (Flayyih *et al.*, 2016) . إن عوامل خطر التسوس الإناث تشمل تركيبة مختلفة من اللعاب ومعدل التدفق والعتادات الغذائية والتقلبات الهرمونية والاختلافات الجينية (Ferraro and Vieira., 2010) وتتعارض هذه النتائج مع دراسة (Xigheer and Sahib.,2018) التي وجدت إن الذكور أكثر إصابة من الإناث، و اتفقت نتيجة الدراسة الحالية مع الدراسات الأخرى التي أجراها (Wu *et al.*,2019) ، وظهرت النتائج إن المرضى الذين لا يستخدمون معجون الأسنان كانوا أكثر عرضة للإصابة بتسوس الأسنان من قبل *S.mutans* لكلا الجنسين إذ تتفق النتائج الحالية مع ما وضعه (Peros *et al.*,2012) بإن التركيز العالي للفلورايد fluoride معجون الأسنان ينتج تقليل عدد بكتريا *Streptococci mutans* في اللعاب ، وتم تثبيط العقيدات الطافرة بتغيرات في درجة الحموضة اللعابية والقدرة العازلة .قد يساعد استعمال معجون الأسنان في كعامل مساعد في تنظيف الأسنان بالفرشاة أو استعمال غسول الفم في تحسين فعالية ممارسات النظافة الفم تم اكتشافها حوالي (41.2%) من المرضى فرق النسب في الدراسة الحالية والدراسات السابقة ، وقد يكون هذا بسبب اختلاف في طريقة أخذ العينة ونوع العينة والوسائط النقل ، و تم وضع عينات الفم في الوسط الناقل transport media وتم تخطيطها على وسط شبه انتقائي Mitis Salivarius agar medium (MSA) إذ يعزز هذا الوسط نمو بكتريا *S. mutans* .

1-1-3- الخصائص المظهرية: Morphological characteristics

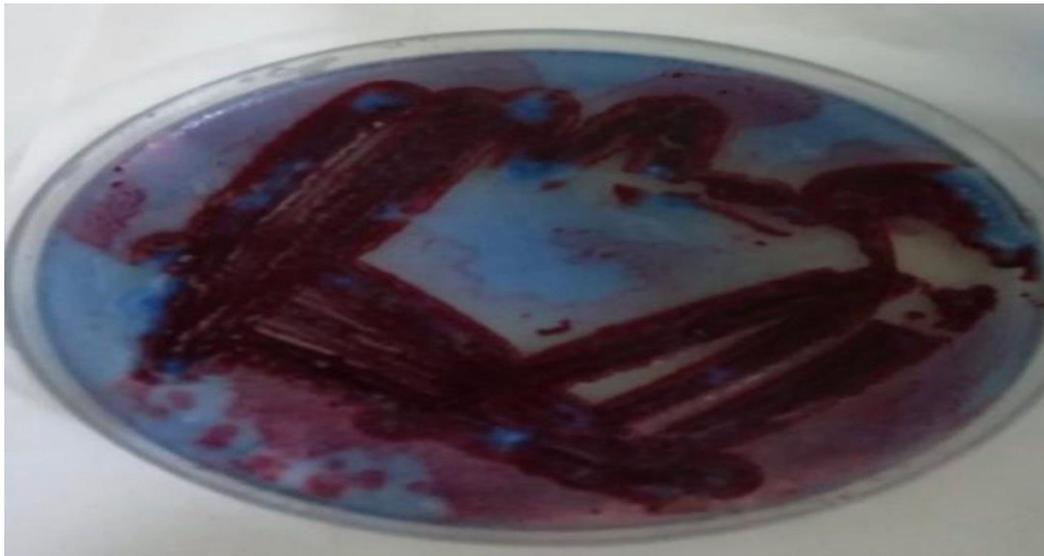
تم التعرف على *S. mutans* من خلال فحص التوصيف المظهري للمستعمرات النامية لبكتريا *S. mutans* على وسط الاستزراع، تم زرع عينات التسوس على اكار MSB agar وقد أظهرت النتائج نمو مستعمرات زرقاء اللون، وصغيرة، ومرتفعة، بقطر 1mm من مستعمرات *S. mutans* على صفيحة اكار MSB agar كما موضح في الشكل (1-3).



الشكل (1-3) شكل مستعمرات بكتريا *S. mutans* على اكار MSB agar

3-1-3 التعرف السريع على *Streptococcus. mutans*

تم إجراء التعرف السريع على *S. mutans* بأستعمال الطرائق الموثقة من خلال احتضان مستعمرات *S. mutans* بمحلول triphenyl tetrazolium chloride, وظهرت النتائج نمو مستعمرات اللون وردي داكن على اكار MS agar كما موضح في الشكل (2-3)



الشكل (2-3) المستعمرات الوردية لبكتريا *S. mutans*

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات التي أجراها (AL-Jumaily *et al.*, 2014) فقد أفاد إنه يمكن تمييز *S. mutans* عن العقيدات الفموية الأخرى بأستعمال تصبيغ الخلايا بي triphenyl tetrazolium chloride وتغيير اللون إلى اللون الوردي الداكن.

4-1-3 اختبار تحلل الدم: Blood hemolysis test

أعطت كل عزلات *S. mutans* تحلل اكار الدم hemolysin on blood agar لاختبار تحلل الدم Blood hemolysis test كما في الشكل (3-5)



الشكل (3-3) اختبار اكار الدم لبكتريا *S. mutans*

وتتفق نتائج الصفات المظهرية للعزلات *S. mutans* في هذه الدراسة مع تلك الخصائص المظهرية للعزلات *S. mutans* التي وصفها (Flayyih *et al.*, 2016) لكنّها اختلفت أيضا مع الدراسات التي أجراها (EL-Sherbiny and Flayyih., 2014) تحلل دموي من نوع الفا alpha-hemolysin على اكار الدم blood agar لاختبار انحلال الدم.

3-1-5 الاختبار البايوكيميائي للعزلات البكتيرية (نظام الفايتهك Vitek 2 System test):

تم تشخيص العزلات البكتيرية بايوكيميائياً على وفق تقرير نتائج نظام Vitek 2 الآلي. وبحسب تعليمات الشركة المصنعة (BioMerieux Company France) فقد تم التشخيص النهائي للأنواع البكتيرية المعزولة بأستعمال بطاقات (GN و ID-GP) التي تحتوي على 64 فحصا متخصصا لتشخيص البكتيريا فقد كانت احتمالية التشخيص للعزلات المشخصة من (89% - 93%) كما موضح في الملحق 2، إذ تم أستعمال الاختبارات البايوكيميائية لاختبار Vitek 2 test في هذه الدراسة. للاختبار وجود بكتريا *S. mutans* لدى المرضى الذين تم تشخيصهم سريريا بتسوس الأسنان، وتم أستعمال كتات بطاقة تعريف

VITEK2 Gram-Positive الموجبة لغرام في المختبر السريري بالشكل الروتيني، وأظهر إن أكثر من 90% من العزلات تم تحديدها بشكل صحيح على مستوى النوع من دون إجراء أية اختبارات إضافية أخرى لذلك، وتوفر كئات بطاقة التعريف VITEK2 Gram-Positive نتائج موثوقة لتحديد Gram-Positive cocci في ظل الأوضاع المختبرية الروتينية (Funke. G, and Funke-Kissling.P.,2005) فقد أظهرت دراسة (Ligozzi ., 2002) إن VITEK 2 system يعرف كنظام سهل الأستعمال يوفر سرعة (h15-4) ووسائل دقيقة لتحديد حساسية المضادات الميكروبات.

6-1-3 اختبار الحساسية للمضادات الحيوية: Antibiotic susceptibility test

تم إجراء حساسية عزلات *S. mutans* isolates بأستعمال نظام الفايترك (Vitek2) لتحديد حساسية عزلات بكتريا *S. mutans* isolates تجاه عدد من المضادات الحيوية وقيست حساسية العزلات البكتيرية للمضادات بأستعمال التركيز المثبط الأدنى للمضاد (Minimum inhibitory concentration, MIC) اشتملت Oxacillin و Cefotaxime و Benzylpenicillin و Gentamicin و Levofloxacin و Moxifloxacin و Erythromycin و Cefipime و Ceftazidime و Clindamycin و Linezolid و Vancomycin و Tetracycline و Tigecycline و Nitrofurantoin و Rifampicin و Trimethoprim/ Sulfamethoxazole كما بينت النتائج في الجدول (3-3) إن البكتريا *S. mutans*1 وكانت مقاومة للمضادات بنسبة 60% في حين كانت هذه العزلة *S. mutans*3 مقاومة للمضادات بنسبة 75% , بينما بلغت نسبة مقاومة العزلة البكتيرية *S. mutans*4 70% للمضادات, وأما العزلة البكتيرية *S. mutans*7 بلغت مقاومتها للمضادات 95% ومن جانب اخر فقد كانت العزلة البكتيرية *S. mutans*9 مقاومة للمضادات بنسبة 75%. أوضحت النتائج المبينة في الجدول (3-3) إن جميع عزلات البكتريا *S. mutans* كانت مقاومة بنسبة 100% للمضادات Ampicillin و Oxacillin و Benzylpenicillin و Cefotaxime و Linezolid و Rifampicin و Trimethoprim/ Sulfamethoxazole.

وتتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما توصلت إليه الدراسات السابقة لتحديد مدى انتشار البكتريا *S. mutans* (AJ Al-Kaaby,., 2016) وإن الاختلاف في مقاومة بكتريا *S. mutans* للمضادات يعود إلى احتواء البكتريا على جينات المقاومة للمضادات وحسب سلالاتها (Saleh and Abdel Rahman. ,2017) كما موضح في الجدول (1-3).

الجدول (1-3) يوضح فحص الحساسية لبكتريا *S. mutans* للعزلات (Sm4, Sm3, Sm1)
(Sm9,Sm7)

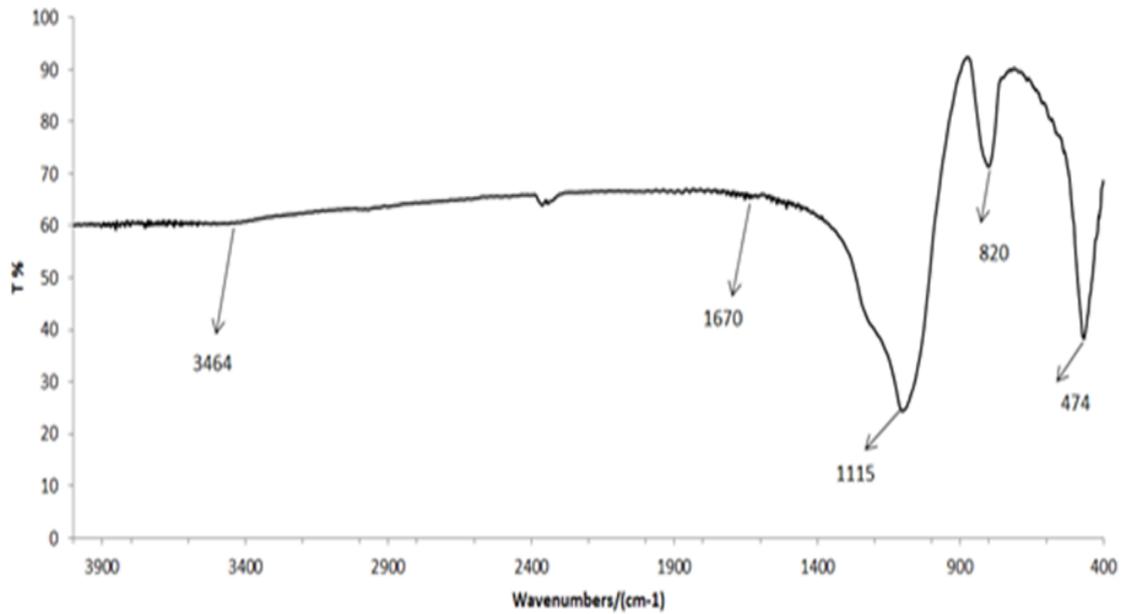
رمز العزلة					المضاد الحيوي	ت
S.m9	S.m7	S.m4	S.m3	S.m1		
R	R	R	R	R	Ampicillin	1
S	I	S	R	R	Gentamicin	2
S	R	S	S	S	Levofloxacin	3
S	R	S	R	R	Moxifloxacin	4
S	R	S	R	R	Erythromycin	5
R	R	R	S	R	Clindamycin	6
R	R	R	R	R	Linezolid	7
R	R	R	S	S	Vancomycin	8
S	R	R	R	S	Tetracycline	9
R	R	R	R	R	Oxacillin	10
R	R	R	R	R	Cefotaxime	11
R	R	R	R	R	Benzylopenicillin	12
R	R	R	R	R	Cefipime	13
R	R	R	R	R	Ceftazidime	14
R	R	S	S	S	Tigecycline	15
R	R	R	R	S	Nitrofurantoin	16
R	R	R	R	R	Rifampicin	17
R	R	R	R	R	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	18

2-3 تشخيص مركبات السيليكا النانوية المحضرة:

1-2-3 طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR):

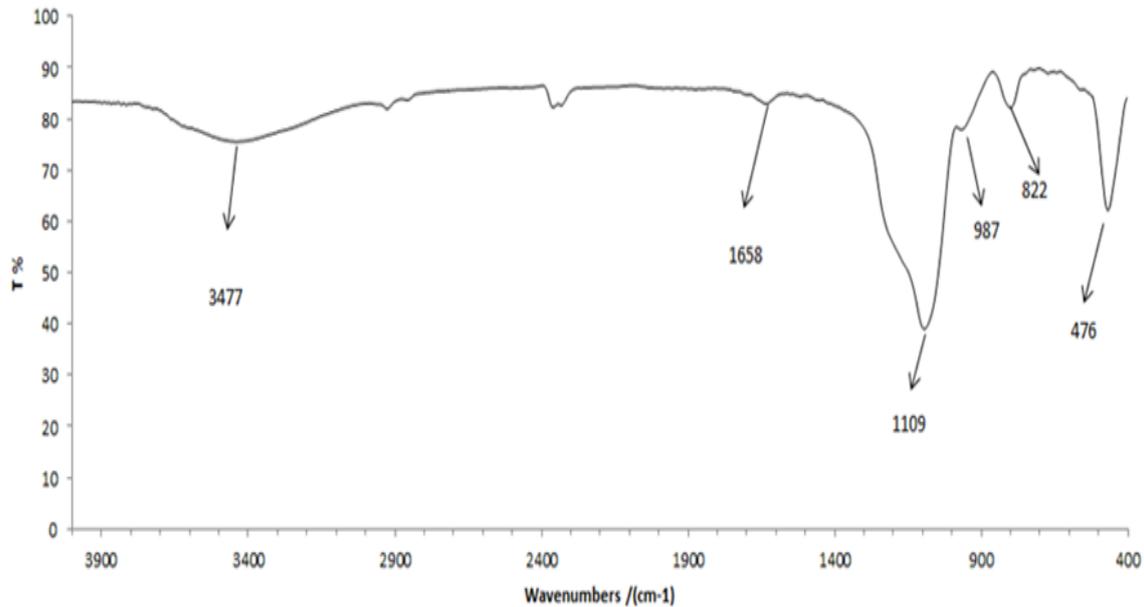
تعد تقنية الأشعة ما تحت الحمراء FTIR من أهم التقنيات المتاحة للباحثين في مجال الكيمياء والفيزياء وعلوم الحياة. وهي أحد تقنيات التحليل الطيفي التي تكون ضمن الأشعة الكهرومغناطيسية والتي تضم مناطق عديدة من العالية الطاقة مثل الأشعة السينية أو كما مرورا بالمتوسطة الطاقة مثل الأشعة المرئية وانتهاء بالأشعة الكهرومغناطيسية الواطئة الطاقة مثل الأشعة ما تحت الحمراء أو الأشعة المايكروويف أو الراديوية (Bai, Y et al.,2018). طريقة التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء هي الأكثر فعالية لتحديد

أنواع الأواصر والمجاميع الوظيفية في هيكل المركب الكيميائي. المبدأ الأساسي في هذه الطريقة هي إن فوتونات الأشعة تحت الحمراء تمتصها الروابط بين الذرات، مما يتسبب في تغيير طاقة اهتزاز الجزيئات. فإذا كان تردد ثنائي القطب لرابطة غير متناظرة هو نفس تردد الإشعاع الكهرومغناطيسي، فإن الطاقة ستندفق إلى الرابطة، مما يتسبب في تغيير في سعة الاهتزاز الجزيئي. نظرًا لأن كل نوع من أنواع الارتباط له تردد طبيعي فريد من الاهتزاز، ولأن اثنين من نفس النوع من الروابط في مركبين مختلفين في محيط مختلف إلى حد ما، فلا يوجد جزيئين من نفس التركيب لهما نفس نمط امتصاص الأشعة تحت الحمراء أو الطيف. على الرغم من إن بعض الترددات الممتصة في المثالين قد تكون متشابهة، إلا إن أطياف الأشعة تحت الحمراء (أنماط الامتصاص) لجزيئين متميزين لا يمكن أبدًا أن تكون متطابقة. نتيجة لذلك، يمكن استعمال طيف الأشعة تحت الحمراء لتحديد الجزيئات بنفس الطريقة التي يمكن بها استعمال بصمة الإصبع لتحديد هوية الأشخاص (Silverstein, R. K., and Bassler, G. C., 1962). يمكنك تحديد ما إذا كانت مادتان متشابهتان في الواقع من خلال مقارنة أطياف الأشعة تحت الحمراء الخاصة بهما. في معظم الحالات، سيكون المركبان متشابهين إذا تطابق أطياف الأشعة تحت الحمراء الخاصة بهما من الذروة إلى الذروة (الامتصاص إلى الامتصاص). يمكن أيضًا استعمال طيف الأشعة تحت الحمراء لاشتقاق معلومات تركيبية حول الجزيء. كل نوع من أنواع امتصاص الأواصر مثل (C-H، N-H، O-H، C-X، C=O، C-O، C-C، Si-O، Si-OH، الخ) لها أنواع من ترددات الامتصاص الاهتزازية في طيف الأشعة تحت الحمراء. (Scholkmann, F., et al., 2014). يوضح الشكل (3-4) طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب النانوي RH-SiO₂ إذ أظهر حزمة ضعيفة في المدى 3400-3500 سم⁻¹ تعود إلى مجاميع السيلانول Silanol (Si-OH) وإلى التردد الامتصاصي للماء الممتص على سطح السليكا (Adam F. et al., 2009) لوحظ إن هناك حزمة امتصاص عند 1670 سم⁻¹ ناتجة عن الامتصاص الانحنائي للماء المتمز فيزيائيا وكيميائيا على سطح السليكا التي لا يمكن ازالته بالكامل عن طريق التسخين النموذج (Attol and Mihsen., 2020) أظهر طيف FT-IR الخاص بـ RH-SiO₂ أيضا مجموعة من حزم الامتصاص عند 1115 و 820 و 474 سم⁻¹، والتي يمكن ايعازها إلى اهتزاز مجموعة السيلوكسان Siloxane (Si-O-Si) في هيكل السليكا (Capaccioni, F. et al., 2015).



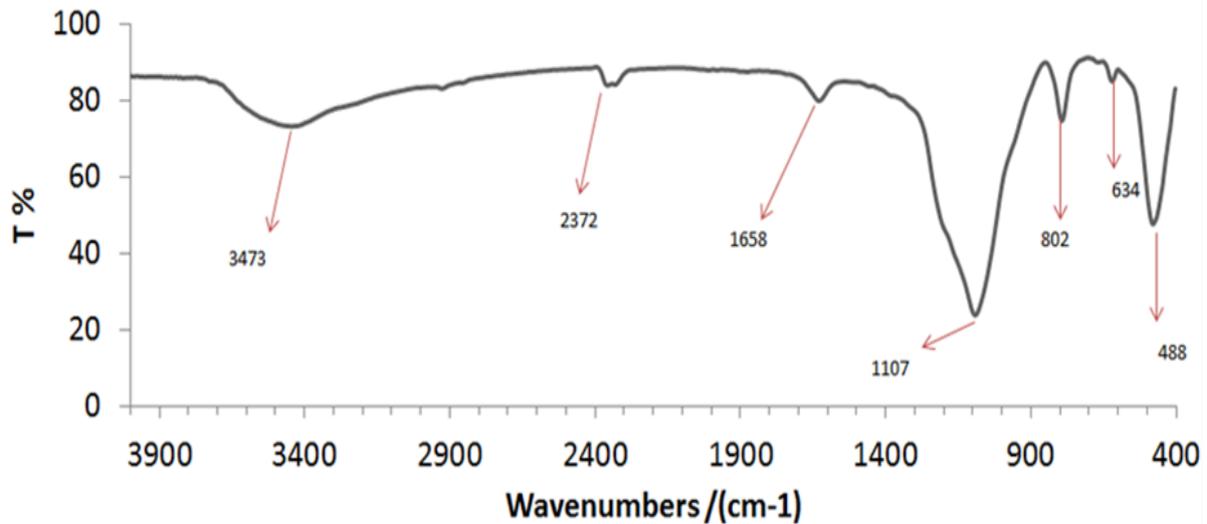
الشكل (4-3) طيف FT-IR للمركب RH-SiO₂

يوضح الشكل (5-3) طيف الأشعة ما تحت الحمراء للمركب النانوي RH-SiO₂-Ag⁺ يظهر في المدى حزمة عريضة في المدى 3600-3800 سم⁻¹ تعود إلى مجاميع السيلانول (Si-OH) وإلى التردد الامتصاصي للماء الممتص على سطح السيليكا، (Al-Hasani *et al.*, 2017) (Socrates, 2004) لوحظ إن هناك حزمة امتصاص قليلة الشدة عند 1658 سم⁻¹ ناتجة عن الامتصاص الانحنائي للماء الممتز فيزيائياً وكيميائياً على سطح السيليكا. كما اظهر طيف FT-IR أيضاً مجموعة من حزم الامتصاص عند 1109 و 822 و 476 سم⁻¹ والتي يمكن ايعازها إلى اهتزاز مجموعة السيلوكسان (Si-O-Si) في هيكل السليكا (Ghattas.,2006). من دراسة طيف FT-IR الخاص بالمركب RH-SiO₂-Ag⁺ ومقارنته بطيف المركب RH-SiO₂ لوحظ وجود حزمة ضعيفة عند 987 سم⁻¹ قد تعود إلى الاصرة Ag-O بعد دمج أيونات الفضة إلى سطح السيليكا الغروية (Adam F. *et al.*,2008).



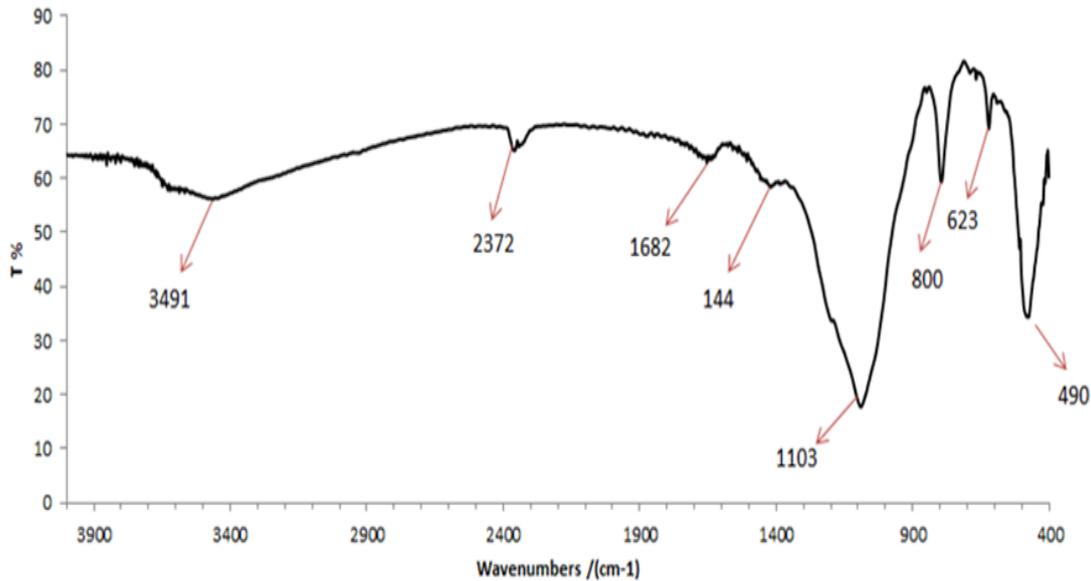
الشكل (3- 5) طيف FT-IR للمركب النانوي $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$

يبين الشكل (3-6) طيف FT-IR للمركب النانوي $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0$ إذ اظهر حزمة عريضة وضعيفة في المدى 2400 إلى 3600 سم⁻¹ تعود إلى مجاميع السيلانول (Si-OH) وإلى التردد الامتصاصي للماء الممتص على سطح السيليكا (Socrates., 2004)، وكذلك لوحظ إن هناك حزمة امتصاص عند 1658 سم⁻¹ ناتجة عن الامتصاص الانحنائي للماء الممتز فيزيائيا وكيميائيا على سطح السيليكا. كما اظهر طيف FT-IR الخاص بالمركب النانوي $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0$ أيضا مجموعة من حزم الامتصاص عند 1107 و 802 و 488 سم⁻¹ والتي يمكن ايعازها إلى اهتزاز مجموعة السيلوكسان (Si-O-Si) في هيكل السيليكا (Ghattas., 2006). ومن الجدير بالملاحظة إنه عند إضافة الكلوكون كعامل مختزل اظهر تغيرا تدريجيا في لون $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0$ من الرصاصي الفاتح إلى البني الغامق، نتيجة انتقال الالكترونات من الكلوكون إلى أيونات الفضة الأحادية مما يؤدي إلى اختزالها وتكوين جسيمات الفضة النانوية AgNPs على سطح جسيمات السيليكا الغروية ومما يدعم ذلك أيضا إنه في طيف المركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0$ لوحظ اختفاء قمة الامتصاص عند 987 سم⁻¹ التي ظهرت في المركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$ و الناتجة من وجود الاصرة بين أيون الأوكسيد وأيون الفضة (He. et al., 2013).



الشكل (6-3) طيف FT-IR للمركب النانوي RH-SiO₂-Ag⁰G

طيف FT-IR للمركب RH-SiO₂-Ag⁰S الشكل (7-3) اظهر حزمة عريضة ضعيفة الشدة في المدى 3400 إلى 3700 سم⁻¹ تعود إلى مجاميع السيلانول (Silanol (Si-OH) وإلى التردد الامتصاصي للماء الممتص على سطح السيليكا (Abdel-Mohsen, *et al.*, 2012) وكذلك لوحظ إن هناك حزمة امتصاص عند 1682 سم⁻¹ ناتجة عن الامتصاص الانحنائي للماء الممتز فيزيائيا وكيميائيا على سطح السيليكا والتي لا يمكن ازالته بالكامل عن طريق التسخين لكن شدته تقل وهي نموذجية توجد في جميع عينات السيليكا (Adam *et al.*, 2006). كما اظهر طيف FT-IR الخاص بالمركب النانوي RH-SiO₂-Ag⁰S أيضا مجموعة من حزم الامتصاص عند 1103 و 800 و 490 سم⁻¹ والتي يمكن ايعازها إلى اهتزاز مجموعة السيلوكسان (Si-O-Si) Siloxane المتماثلة وغير متماثلة في هيكل السيليكا المحورة. وعند إضافة العامل المختزل بورموهيدريد الصوديوم كعامل مختزل اظهر تغيرا تدريجيا في لون RH-SiO₂-Ag⁰S من الرصاصي الفاتح إلى البني الفاتح , نتيجة انتقال الالكترونات من العامل المختزل إلى أيونات الفضة الأحادية مما يؤدي إلى اختزالها وتكوين جسيمات الفضة النانوية AgNPs على سطح جسيمات السيليكا الغروية ومما يدعم ذلك أيضا إنه في المركب RH-SiO₂-Ag⁰S لوحظ اختفاء قمة الامتصاص عند 987 سم⁻¹ التي ظهرت في المركب RH-SiO₂-Ag⁺ والناتجة من وجود الاصرة بين أيون الأوكسيد وأيون الفضة (Ramalingam, R.J. *et al.*, 2020).



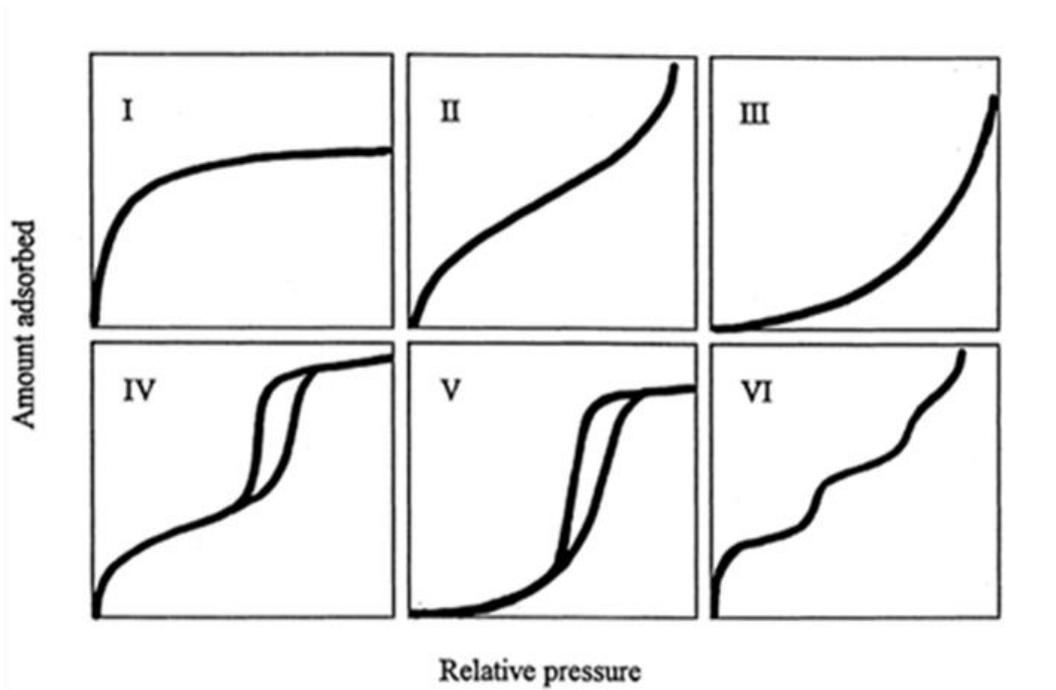
الشكل (7-3) طيف FT-IR للمركب النانوي RH-SiO₂-Ag⁰s

2-2-3 تحليل امتزاز / ازالة امتزاز النيتروجين N2-adsorption/desorption

:analysis

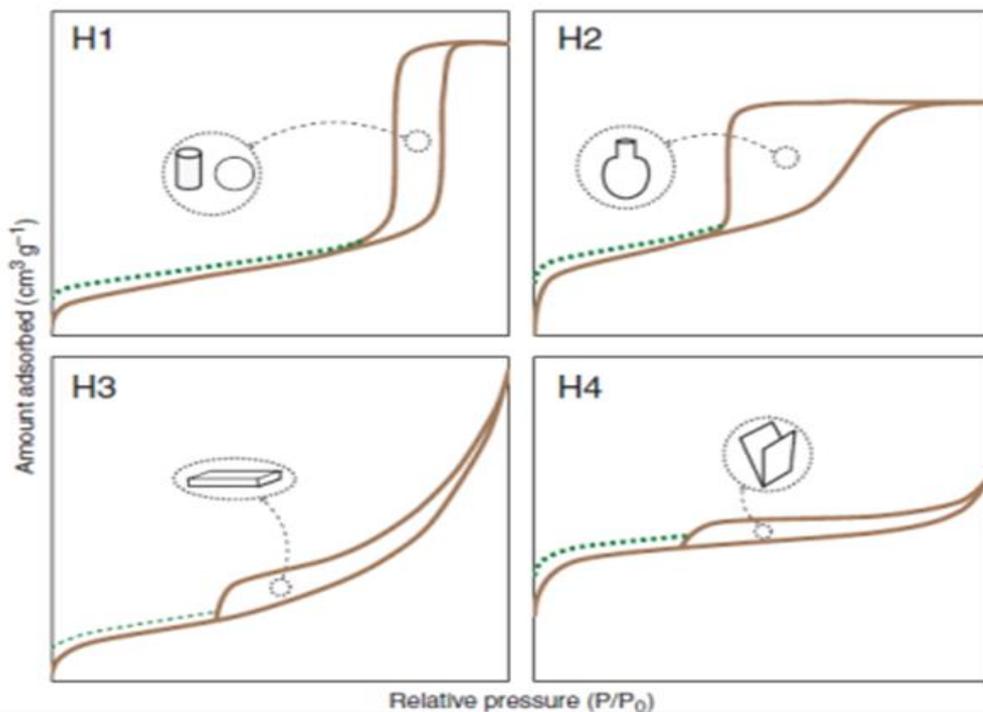
يعتبر امتزاز الغازات على المواد الصلبة المسامية طريقة أساسية يتم من خلالها تحديد شكل المواد المسامية. يمكن استنتاج أو حساب أهم المعلمات المورفولوجية من تحليلات العلاقة بين الحجم الممتز والضغط النسبي لغاز ممتز فيزيائياً. تعتمد هذه الحسابات والتقديرية على النماذج المستخدمة لتمثيل المسام والمعادلات المستخدمة لربط الضغط النسبي بحالة الغاز الممتص (Dias, A., and Ciminelli, V., 2000).

لذلك، أصبحت تقنية امتصاص الغاز Brunauer-Emmett-Teller (BET) هي التقنية الأكثر استعمالاً لتحديد مساحة سطح المواد المسامية بدقة عالية؛ تم حساب مساحة السطح المحددة للمركبات المحضرة بأستعمال نموذج BET تم الحصول على قطر المسام وتوزيع حجم المسام للمواد من ايزوثيرمات الامتزاز، بأستعمال طريقة (Usgodaarachchi *et al.*, 2021). Barrett-Joyner-Halenda (BJH). على الرغم من تسجيل عشرات الآلاف من ايزوثيرمات الامتزاز، إلا أنه يمكن تجميع غالبية هذه ايزوثيرمات في ست فئات (Thommes., 2010) كما هو موضح في الشكل (8-3).



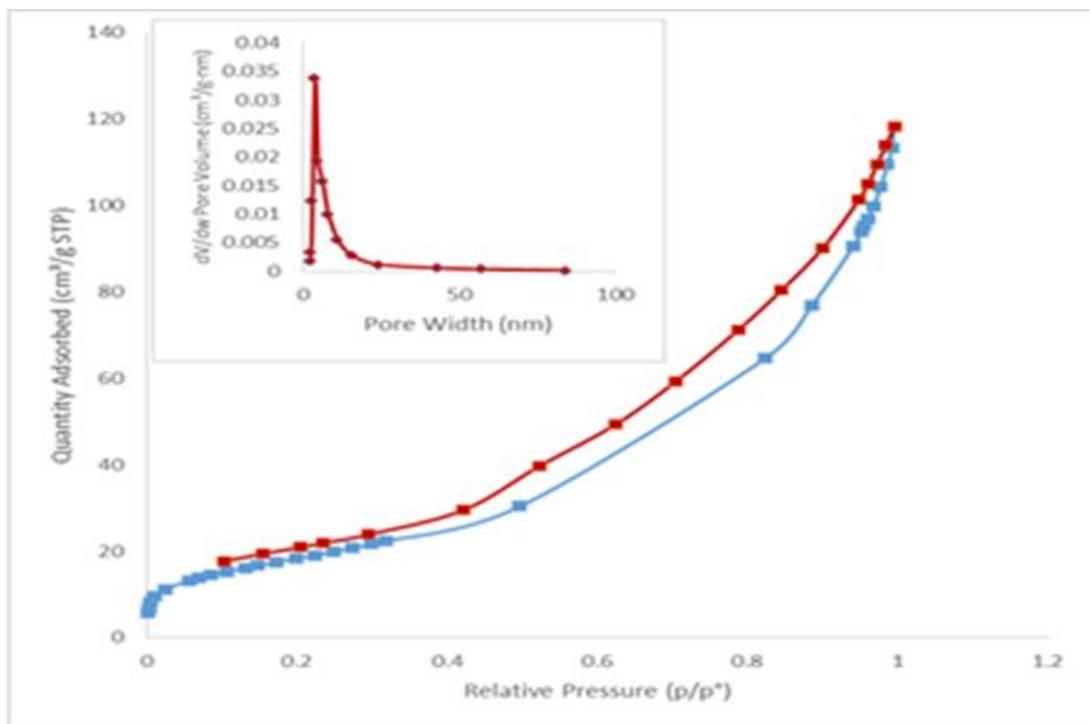
شكل (8-3) أنواع ايزوثيرمات الامتزاز حسب تصنيف منظمة IUPAC

أعطت المنظمة العالمية للكيمياء الصرفة والتطبيقية IUPAC في الشكل ادناه تصنيفاً تجريبياً لحلقات الهسترة (التخلفية) التي يكون فيها شكل حلقات التخلفية اربعة أنواع (H1,H2,H3,H4) (Sotomayor *et al.*,2018) كما موضح في شكل (9-3).



شكل (9-3) حلقات الهسترة في ايزوثيرمات الامتزاز

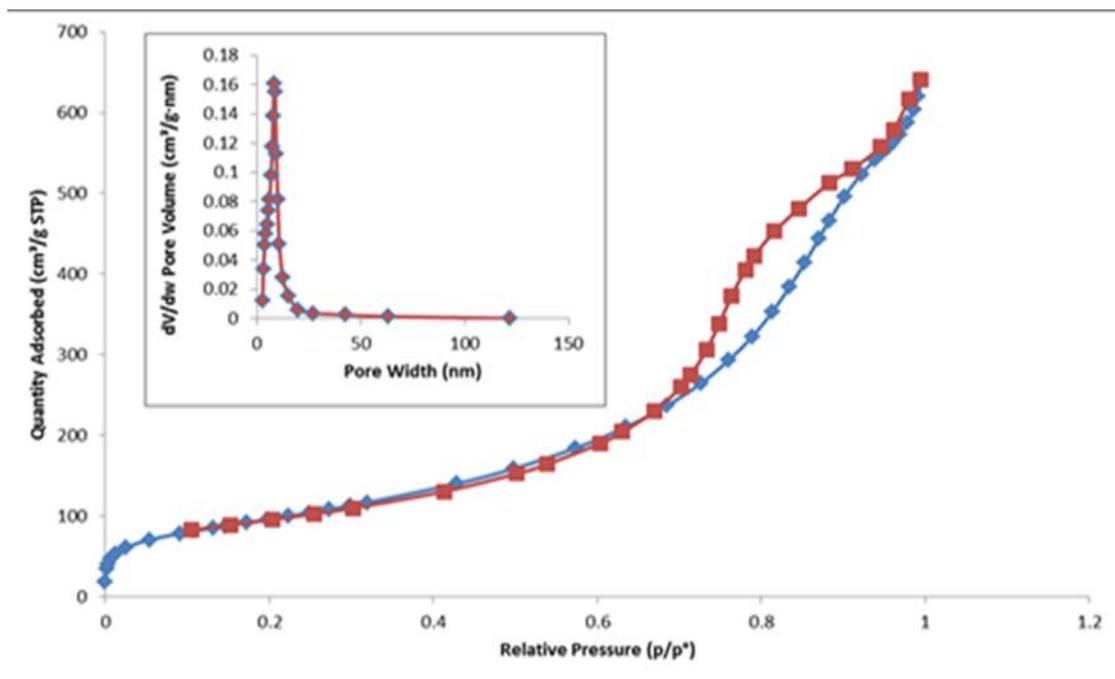
يوضح الشكل (10-3) ايزوثيرم الامتزاز للمادة النانوية الأولية RH-SiO₂. يظهر توزيع حجم المسام في الشكل الداخلي. حلقة الهسترة (التخلفية) لوحظت ضمن النطاق $0.35 < P / P_0 < 1$ ، وهذا عادة ما يرتبط بالتكثيف الشعري في التركيب الهيكلي للمواد المتوسطة المسام Mesopores Structures وفقاً لتصنيف الرابع type IV اما نوع الحلقة التخلفية كانت من النوع الثالث H3. أظهر تحليل BET إن مساحة السطح المحددة لـ RH-SiO₂ كانت 65.95 م² جم⁻¹ يمكن إن يكون الانخفاض في مساحة سطح للمادة RH-SiO₂ بسبب وجود بقايا من الجزء العضوي لقشرة الرز أو بقايا من المواد القاعدية التي هضمت العينة والتي تلوث سطح العينة وتؤدي إلى تقليص المواقع السطحية لسطح السيليكا.. يظهر توزيع المسام في الشكل الداخلي من الشكل (10-3) إذ اظهر RH-SiO₂ عرض مسام حاد يتراوح من 2 إلى 43 نانومتر وهو ضمن المواد المتوسطة المسام Mesoporous. متوسط حجم المسام لـ RH-SiO₂ الحجم يبلغ 0.199 سم³ جم⁻¹ بينما متوسط قطر المسام Pore Size كان 7.046 نانومتر والتي تقع ضمن نطاق المواد المتوسطة المسام Mesopores materials. وحسب تقنية تحليل امتزاز/ ازالة امتزاز النيتروجين وجد إن متوسط حجم الجسيمات Average Particle Size للمادة RH-SiO₂ كان 87.73 نانومتر.



شكل (10-3) امتزاز/ ازالة امتزاز النيتروجين والشكل الداخلي (توزيع المسام) للمادة RH-SiO₂

اما الشكل (11-3) يوضح ايزوثيرم الامتزاز للمادة النانوية RH-SiO₂-Ag⁺ التي حضرت بعد إضافة نترات الفضة إلى المادة RH-SiO₂. حلقة الهسترة (التخلفية) لوحظت ضمن النطاق $0.6 < P/P_0 < 1$ وهذا

عادة ما يرتبط بالتكثيف الشعري في التركيب الهيكلي للمواد المتوسطة المسام Mesopores Structures وفقاً لتصنيف IUPAC (Bardestani *et al.*, 2019) ايزوثيرم الامتزاز الموضح في الشكل (3-11) هو من النوع الرابع type IV اما نوع الحلقة التخلفية كانت الأول H1. أظهر تحليل BET إن مساحة السطح المحددة ل $RH-SiO_2-Ag^+$ م² جم⁻¹ 344.96 بينما متوسط قطر المسام 9.23 نانومتر. يظهر توزيع حجم المسام في الشكل الداخلي من الشكل (3-11) إذ اظهر عرض مسام يتراوح من 3 إلى 50 نانومتر وهو ضمن المواد متوسطة المسام Mesoporous.

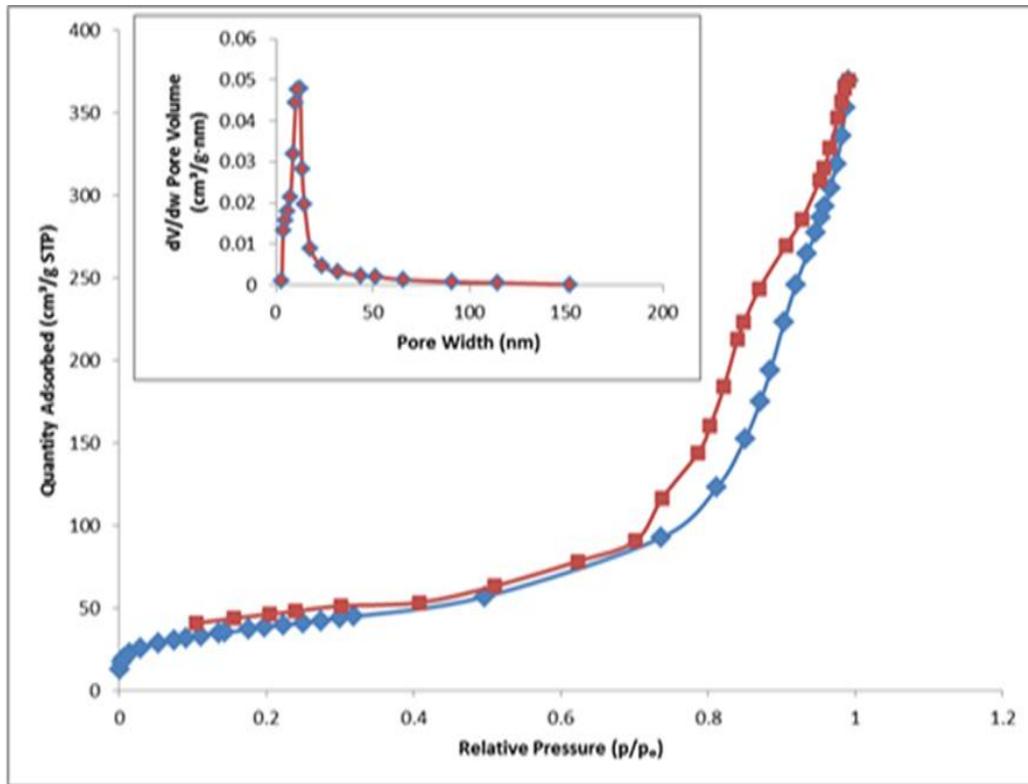


الشكل (3-11) امتزاز/ازالة امتزاز النيتروجين وتوزيع حجم المسام (الشكل الداخلي) للمادة



ايزوثيرم الامتزاز للمادة النانوية $RH-SiO_2-Ag^0_G$ لوحظ في الشكل (3-12). حلقة الهسترة (التخلفية) لوحظت ضمن النطاق $0.7 > P / P_o < 1$ وهذا عادة ما يرتبط بالتكثيف الشعري في التركيب الهيكلي للمواد المتوسطة المسام Mesopores Structures وفقاً لتصنيف IUPAC (Sotomayor *et al.*, 2018). ايزوثيرم الامتزاز الموضح في الشكل (3-12) هو من النوع الرابع type IV اما نوع الحلقة التخلفية كانت من النوع الأول H1. يظهر توزيع حجم المسام في الشكل الداخلي من الشكل (3-12) إذ اظهر عرض مسام حاد يتراوح من 4 إلى 50 نانومتر وهو ضمن المواد متوسطة المسام

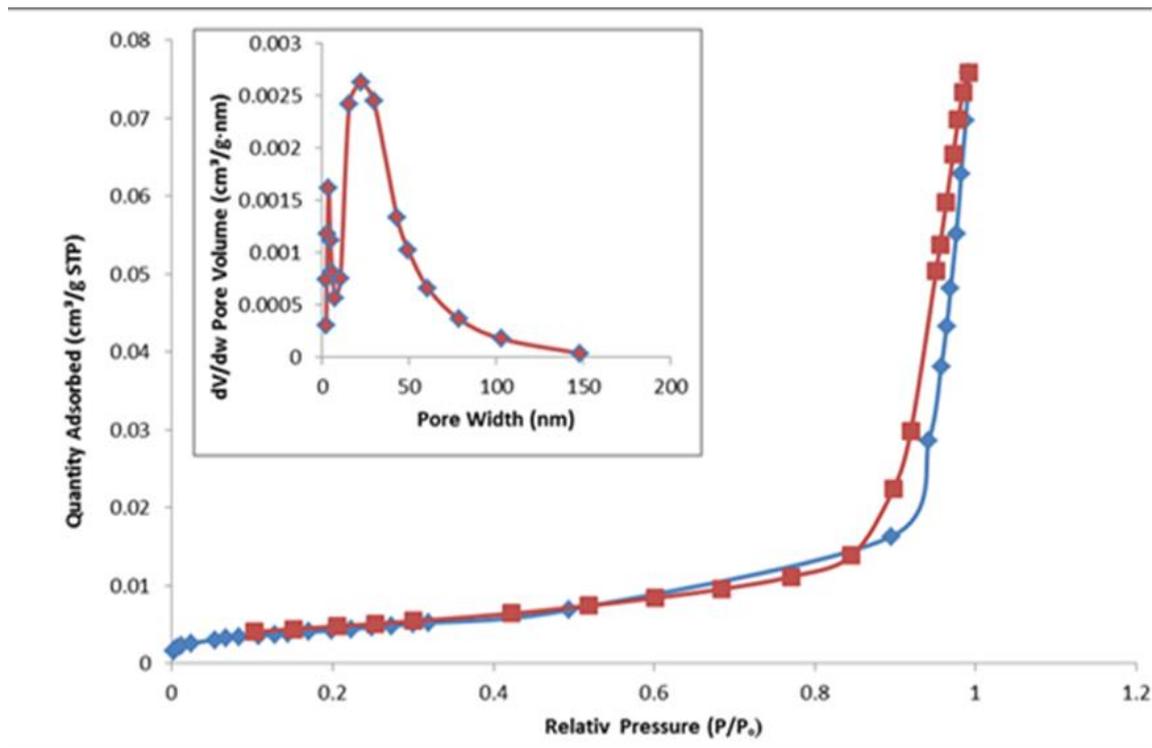
Mesoporous, أظهر تحليل BET إن مساحة السطح المحددة للمادة النانوية RH-SiO₂-Ag⁰G تبلغ 132.8910 م² جم⁻¹ بينما متوسط حجم المسام كإن 0.43 سم³ جم⁻¹ ومتوسط قطر المسام 12.77 نانومتر.



الشكل (12-3) امتزاز/ازالة امتزاز النيتروجين وتوزيع حجم المسام الشكل(داخلي) للمادة



الشكل (13-3) يوضح ايزوثيرم الامتزاز للمادة النانوية RH-SiO₂-Ag⁰s يظهر توزيع حجم المسام في الشكل الداخلي. حلقة الهسترة(التخلفية) لوحظت ضمن النطاق $0.7 < P / P_0 < 1$ ، وهذا عادة ما يرتبط بالتكثيف الشعري في التركيب الهيكلي للمواد المتوسطة المسام Mesopores Structures وفقاً لتصنيف IUPAC (Capaccioni, F. et al., 2015). ايزوثيرم الامتزاز الموضح في الشكل (13-3) هو من النوع الرابع type IV اما نوع الحلقة التخلفية كانت من النوع الثالث H3. أظهر تحليل BET إن مساحة السطح المحددة ل RH-SiO₂-Ag⁰s م² جم⁻¹ 15.42 وبتوسط حجم مسام 0.0515 سم³ جم⁻¹ بينما متوسط قطر المسام 12.85 نانومتر. يظهر توزيع حجم المسام في الشكل الداخلي من الشكل (133) إذ أظهر عرض مسام حاد يتراوح من 7 إلى 150 نانومتر وهو ضمن المواد المتوسطة المسام Mesoporous وكبيرة المسام Macroporous.



الشكل (13-3) امتزاز/ازالة امتزاز النيتروجين وتوزيع حجم المسام الشكل (الداخلي) للمادة



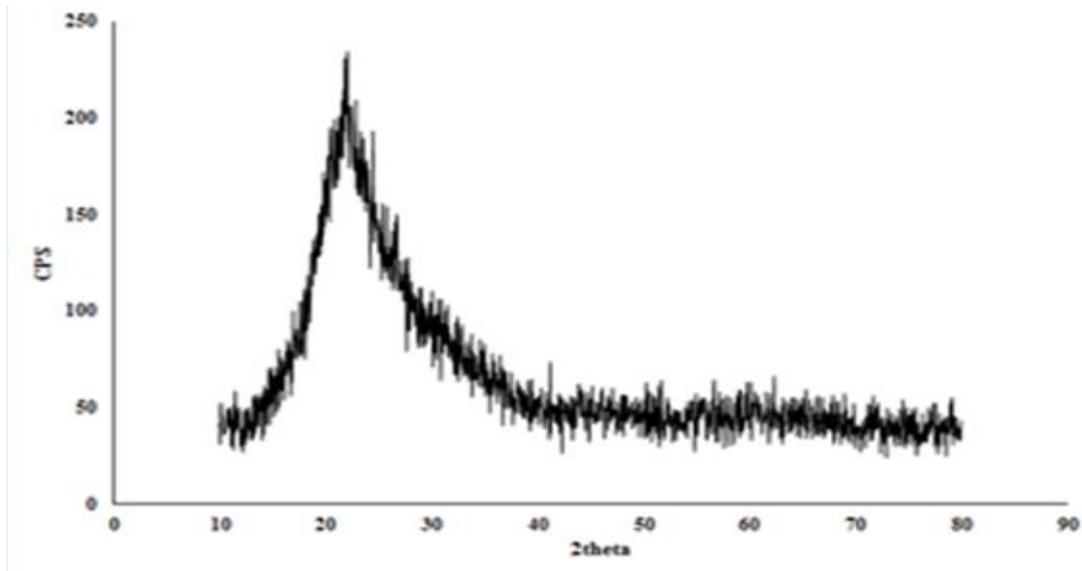
3-2-3 حيود الأشعة السينية (XRD)

حيود الأشعة السينية هو واحد من الأركان الأساس لتشخيص المواد في القرن العشرين. لقد تم أستعماله على نطاق واسع لتشخيص المواد الصلبة النانوية المسامية (Tadano and Giri.,2012). والأشعة السينية هي اشعاعات كهرومغناطيسية ذات طول موجي قصير نسبياً وطاقة عالية جداً، وفي تطبيقات الحيود تستعمل فقط الأشعة السينية ذات الاطوال الموجية القصيرة (الأشعة السينية القاسية) في مجال بضعة أنغسترومات إلى 0.1 أنغستروم (1 إلكترون فولت إلى 120 إلكترون فولت). فالأشعة السينية القوية يمكنها اختراق المواد عميقاً وتزويدنا بمعلومات عن بنية المادة (Kunnath and, Maduraipandian, 2021). وتتأثر الأشعة السينية بالدرجة الأولى مع الإلكترونات في الذرة، فعندما تصطدم الفوتونات في الأشعة السينية بالإلكترونات تحيد بعض الفوتونات الحزمة الساقطة عن اتجاهها الأصلي. إذا لم يتغير طول موجة الأشعة السينية الساقطة (أي إن فوتونات الأشعة السينية لم تفقد أي طاقة) تسمى العملية بالتبعثر المرن أو تبعثر ثومسون، إذ يتحول زخم الحركة فقط في عملية التبعثر، وهذه هي الأشعة السينية التي نقيسها في تجارب الحيود والتي تقدم لنا معلومات عن توزيع الإلكترونات في المواد.

ومن جهة أخرى، وفي عملية التبعثر غير المرن أو تبعثر كومبتون تنقل الأشعة السينية بعض طاقتها إلى الإلكترونات فيكون للأشعة السينية المحادة طول موجة مختلف عن طول موجة الأشعة السينية الساقطة (Kunnath, , and Maduraipandian.,2021)، ويمكن لتقنية XRD إن تستنتج طبيعة العينة التي تم فحصها؛ سواء أكان تركيبها غير متبلور أم بلوري؛ وكذلك يمكن استنتاج المعلومات التركيبية من معرفة كثافة وزاوية التشتت. على سبيل المثال، في المواد المسامية، يمكن تقدير مجموع قطر المسام وسماكة جدار المسام على أساس التباعد d المحسوب من معادلة براغ Bragg.

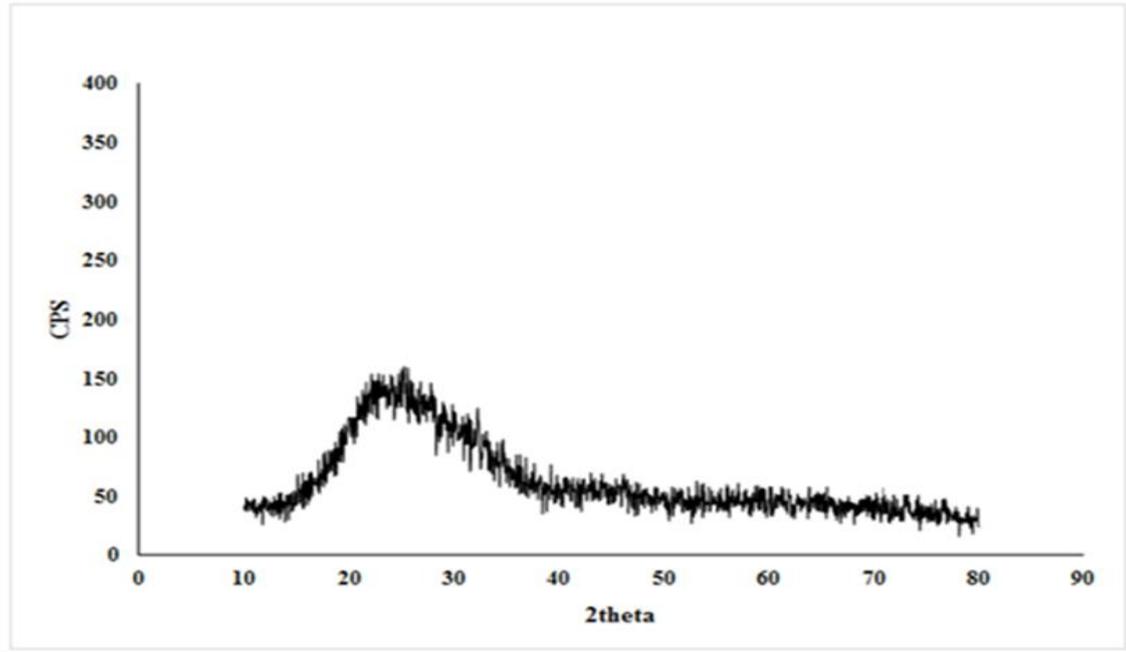
$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

إذ أن n عدد صحيح، λ الطول الموجي، d هو الفصل بين المستويات θ وهي زاوية بين الشعاع الساقط ومستوى الطبقة البلورية. وقانون براغ هو من أهم القوانين المستعملة في فهم معطيات حيود الأشعة السينية (Adam et al.,2006)(Abdel-Mohsen , et al., 2012). يوضح الشكل (3-14) طيف XRD للمادة RH-SiO₂. لم يظهر طيف XRD أي أنماط حيود حادة وقوية، وهذا مؤشر على إن العينة غير متبلورة، بل اظهر نطاق حيود واسع وعريض بزاوية 2θ عند 22 درجة وهذا مؤشر على إن العينة غير متبلورة كما ورد في الأدبيات، وهذه النتيجة تتفق مع ما حصل عليه الكثير من الباحثين في مجال السيليكا المعدلة (Adam and Andas.,2010) (Adam et al.,2006,2010,2011).



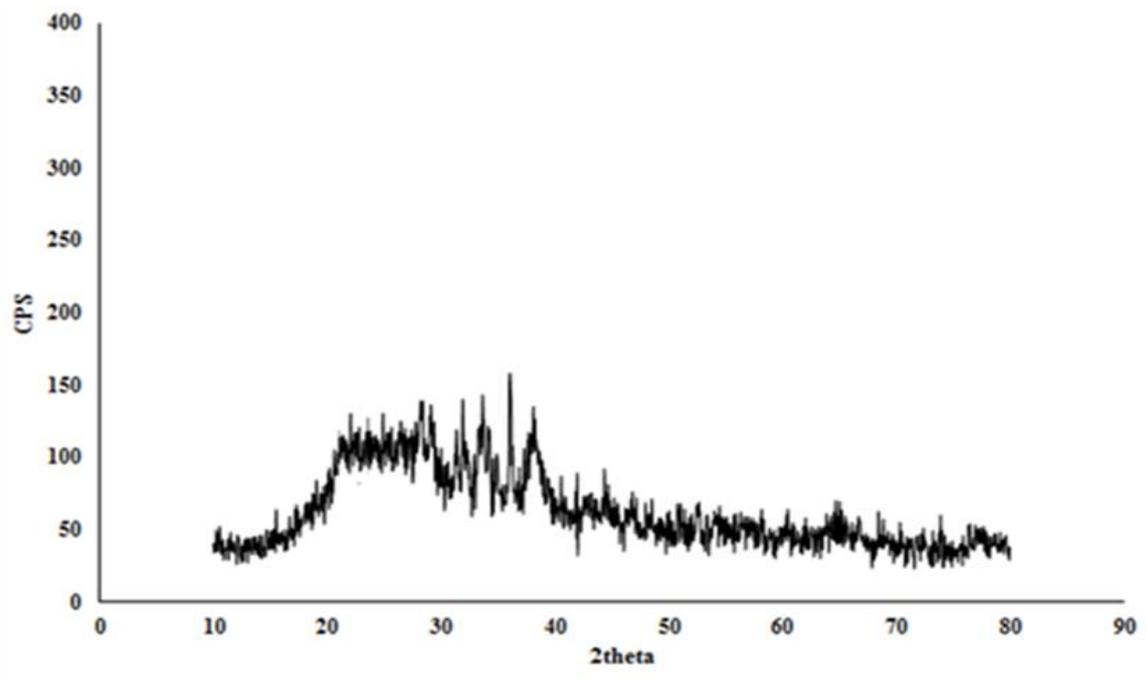
الشكل (3-14) طيف XRD للمركب RH-SiO₂

بعد إضافة أيونات الفضة إلى السيليكا النانوية RH-SiO₂ والحصول على سيليكا المعدلة RH-SiO₂-Ag⁺ لم يلحظ تغير واضح في طيف XRD من إذ عدم التبلور، أي لم يظهر أي أنماط حيود حادة وقوية بل اظهر نطاق حيود واسع وعريض بزاوية 2θ عند 22 درجة الشكل (3-15) وهذا مؤشر على إن العينة غير متبلورة أيضاً، وهوما كإن نموذجياً للسيليكا غير المتبلورة.

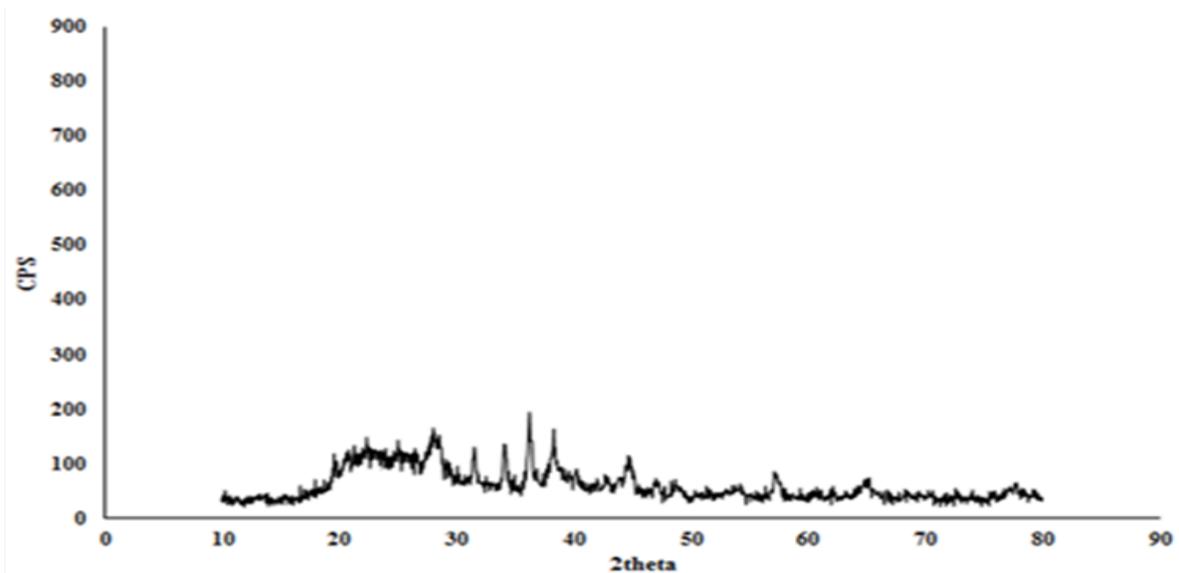


الشكل (3-15) طيف XRD للمادة RH-SiO₂-Ag⁺

عند إضافة الكلوكوز على مادة RH-SiO₂-Ag⁺ كعامل مختزل والحصول على مادة RH-SiO₂-Ag⁰ لوحظ ظهور بعض أنماط الحيود الحادة والقوية والضعيفة، وهذا مؤشر على إن بعض أجزاء العينة تبلور بسبب وجود جسيمات الفضة النانوية AgNPs كما موضح في الشكل (3-16)، فضلاً عن نطاق الحيود الواسع والعريض بزاوية 2θ عند 22 درجة الخاصة بالسيليكا غير المتبلورة (Adam *et al.*, 2008).

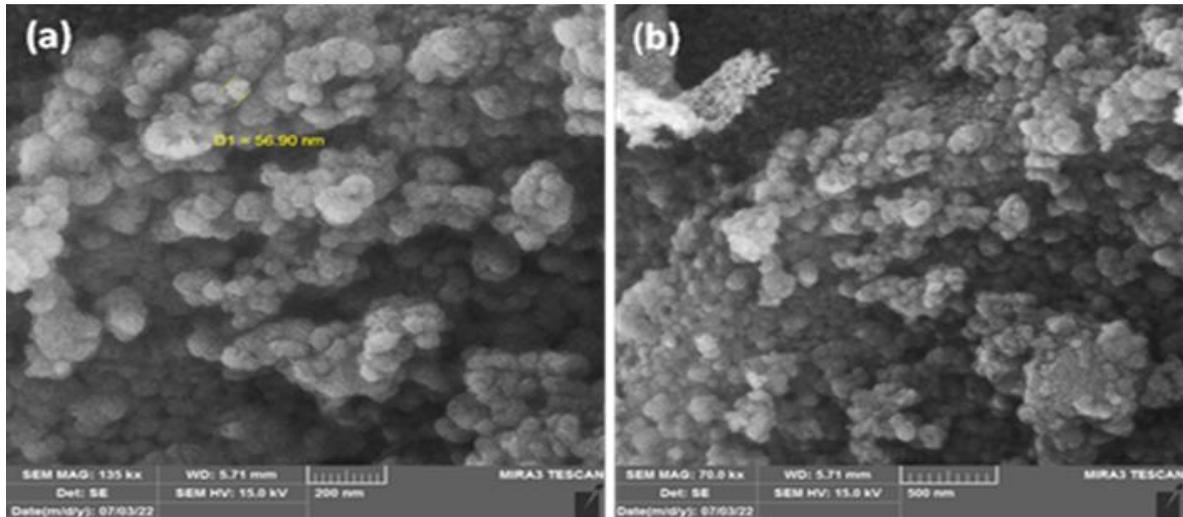
الشكل (16-3) طيف XRD للمادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{G}$

اما في حالة إضافة بورموهيدريد الصوديوم إلى المادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$ كعامل مختزل والحصول على المادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{S}$ فقد لوحظ ظهور أنماط حيود حادة وضعيفة عند، 27.9 , 31.4 و 34.1 و 36.2 و 44.4 و 57.1 و 64.2 , وهذا مؤشر على إن بعض أجزاء العينة تبلور بسبب وجود جسيمات الفضة النانوية AgNPs كما موضح في الشكل (17-3) وهذه نتيجة تتفق بشكل كبير مع ما نشر في الادبيات (Adam *et al.*,2008).

الشكل (3-17) طيف XRD للمادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{S}$

4-2-3 المجهر الإلكتروني الماسح - الأشعة السينية المشتتة للطاقة (SEM / EDX)

المجهر الإلكتروني الماسح SEM يعطي صورة مجهرية للعينة من خلال تركيز حزمة من الإلكترونات على سطح هذه العينة، وهذا النوع من المجهر يعطي معلومات حول تكوين العينة وتضاريسها من تفاعل الإلكترونات مع ذرات العينة، وهذا التفاعل يعطي إشارات تحتوي على معلومات حول السطح، وتعطي هذه التقنية دقة تبلغ حوالي 1 نانومتر، فالمجهر الإلكتروني الماسح قادر على الحصول على صور ثلاثية الأبعاد لأسطح مجموعة واسعة جداً من المواد المسامية وغير المسامية، مطيافية تشتت الطاقة بالأشعة السينية والتي يرمز لها EDS أو EDX وذلك من (Energy-dispersive X-ray Spectroscopy) هي تقنية تحليلية تستعمل من أجل تحليل العناصر لمعرفة الخصائص الكيميائية للعينات، وهي واحدة من أنواع مطيافية الأشعة السينية. وتكون جهاز SEM نفسه ما عدا الاختلاف في المكشاف (Abdel-Mohsen et al., 2012) والشكل (3-18) صور SEM للسيليكا النانوية RH-SiO₂ من خلال تلك الصورة لوحظ إن السيليكا الخالية من أيونات الفضة كانت كروية غير منتظمة الشكل يبلغ متوسط طول المسام المقدر وفقاً لبرنامج MacBiophotonics ImageJ لخمس جسيمات بحوالي 60 نانومتر.



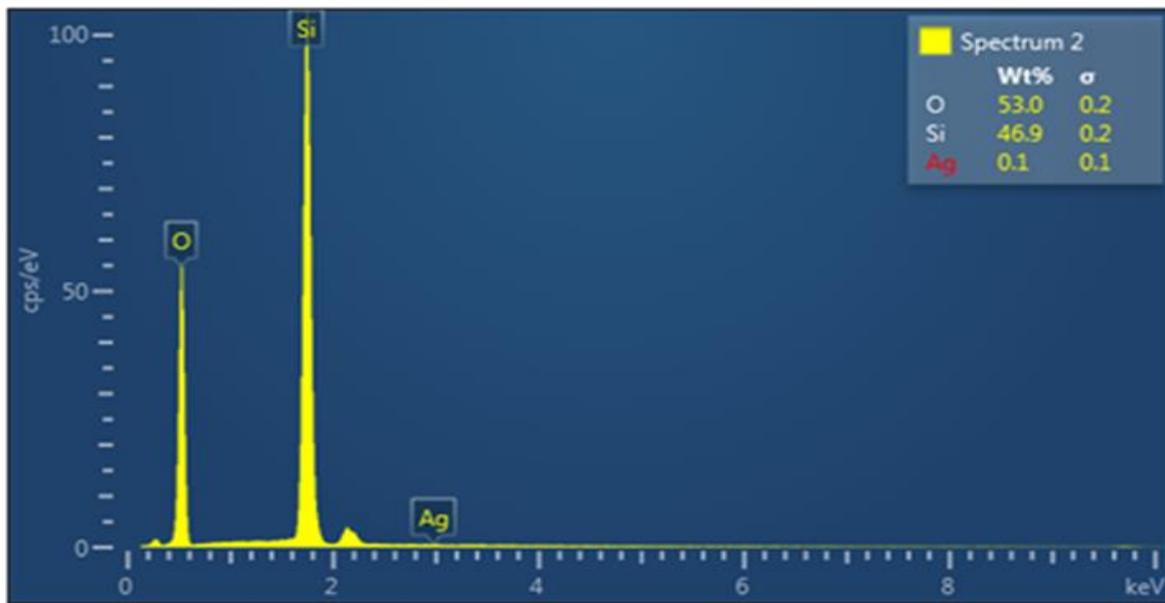
الشكل (3-18) الصور المجهرية SEM للمادة RH-SiO₂ (a) عند التكبير 200 نانومتر و (b) عند التكبير 500 نانومتر.

الشكل (3-19) يوضح الطيف الذي تم الحصول عليه من تحليل EDX. إذ أظهر هذا الطيف وجود العناصر الرئيسية في العينة ولاسيما السليكون والأوكسجين كما مشير إليه في جدول (3-2) ويمكن عدّه دليلاً مسانداً

للدلائل الأخرى في إثبات نجاح عملية تحضير العينة، وقد يكون وجود عنصر الفضة في الطيف بسبب شوائب العينة المفحوصة أو نتيجة تلوث خلية العينة بملوثات العينات الأخرى الحاوية على الفضة.

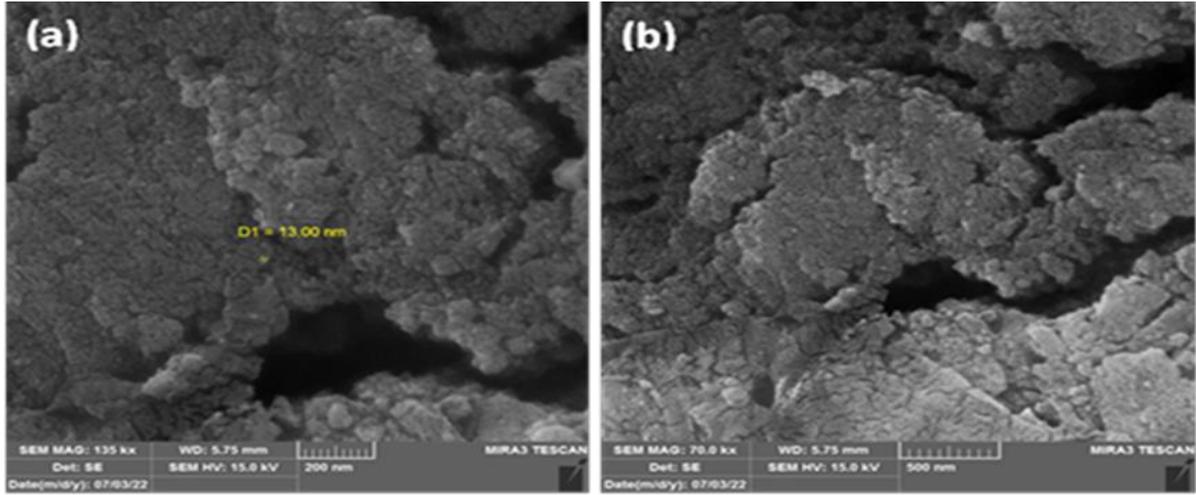
الجدول (2-3) نتائج تحليل EDX للمادة RH-SiO₂

Element	Wt.%	Atomic %
O	53.01	66.48
Si	46.88	33.50
Ag	0.11	0.02
Total:	100.00	100.00



الشكل (19-3) طيف EDX ل RH-SiO₂

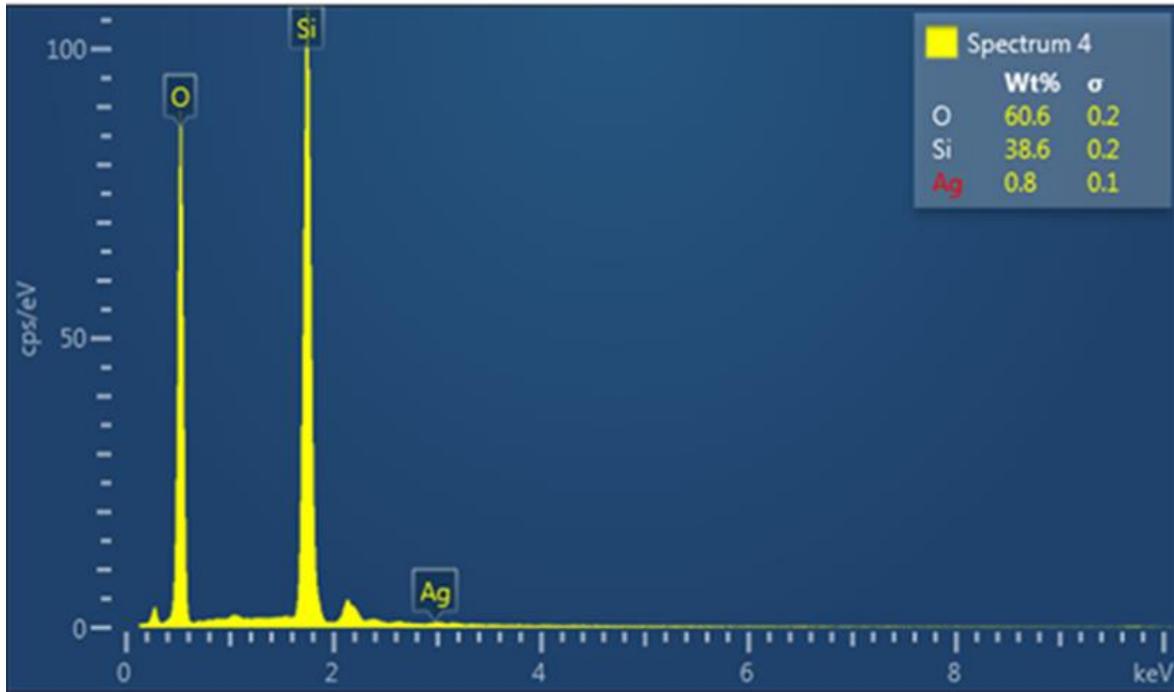
صور SEM لجسيمات السيليكا المطعمة بأيونات الفضة الأحادية للمادة RH-SiO₂-Ag⁺ الشكل (20-3) تبدو كأن لها أشكال شبه كروية غير منتظمة. يبلغ طول قطر المسام 13 نانوميتر. طيف التشتت الطاقة بالأشعة السينية EDX والشكل (3-21) اثبت وجود العناصر الأساس في العينة (السيليكون والأكسجين) فضلاً عن وجود أيون عنصر الفضة جدول (3-3)، وهذا يمكن عدّه دليلاً مسانداً للدلائل الأخرى في إثبات نجاح عملية تحضير العينة.



الشكل (20-3) الصورة المجهرية SEM للمادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$ عند التكبير 200 نانوميتر و (b) عند التكبير 500 نانوميتر

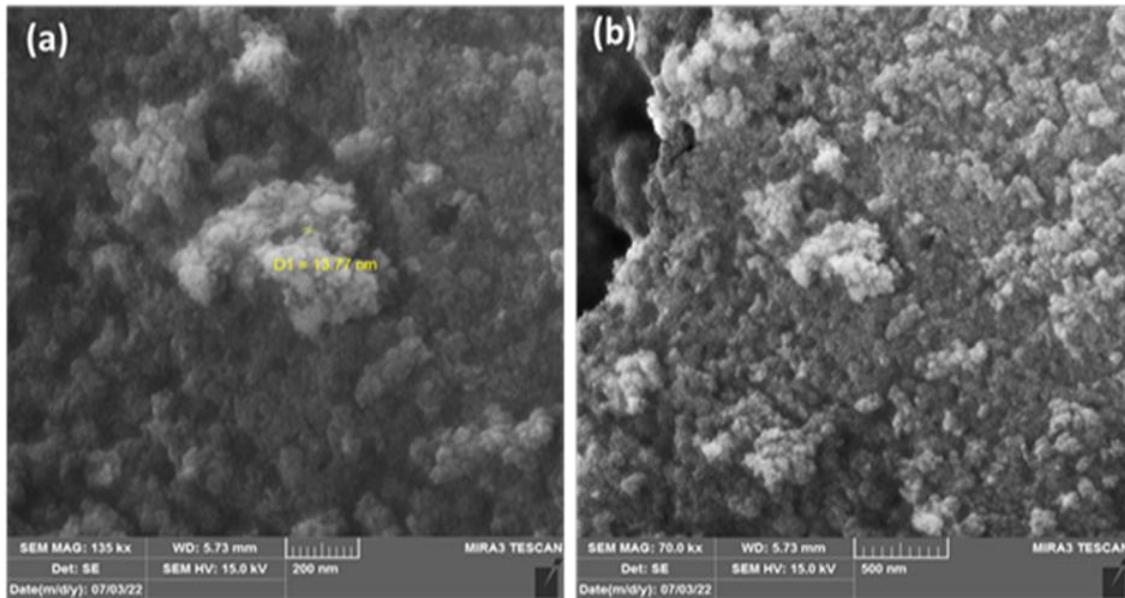
الجدول (3-3) نتائج تحليل EDX للمادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$

Element	Wt. %	Atomic %
O	60.61	73.28
Si	38.59	26.58
Ag	0.80	0.14
Total:	100.00	100.00



الشكل (21-3) طيف EDX للمادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$

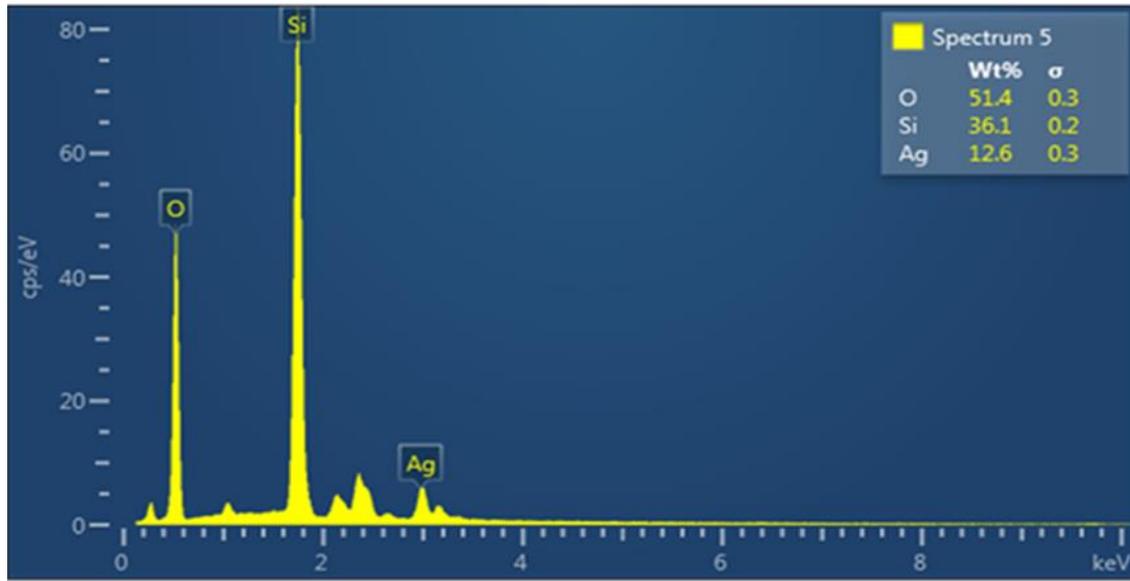
عند إضافة العامل المختزل الكلوكوز إلى عالق المركب $RH-SiO_2-Ag^+$ يؤدي إلى اختزال كل أيونات الفضة العالقة في السيليكا الغروية، وتحويلها إلى جسيمات الفضة النانوية $AgNPs$ على سطح السيليكا وبين جسيمات السيليكا في كل مصفوفة ويمكن تتبع ذلك من خلال مقارنة صورة SEM للمركب النانوي $RH-SiO_2-Ag^0_G$ الشكل (22-3) مع المركب النانوي $RH-SiO_2-Ag^+$ ، وتبدو إن جسيمات السيليكا المطعمة بذرات الفضة النانوية المتناثرة في كل أنحاء مصفوفة السيليكا تتكثرت بتجمعات غير منتظمة الشكل بمتوسط طول قطر للجسيمات 14 نانومتر، ومما يدعم أيضاً وجود عنصر الفضة بكثافة عالية بين جسيمات السيليكا هي تقنية تشتت الأشعة السينية EDX الشكل (23-3)، إذ يشير هذا الطيف وجود العناصر نفسها الرئيسية الموجودة في العينات السابقة وهي: الأوكسجين والسيليكون، فضلاً عن عنصر الفضة النانوي والتي توضح نسبها في الجدول (3-4) وهو يمثل دليلاً مسانداً للدلائل الأخرى في إثبات نجاح عملية تحضير هذه العينة.



الشكل (22-3) الصورة المجهرية SEM للمادة $RH-SiO_2-Ag^0_G$ (a) عند التكبير 200 نانوميتر و (b) عند التكبير 500 نانوميتر.

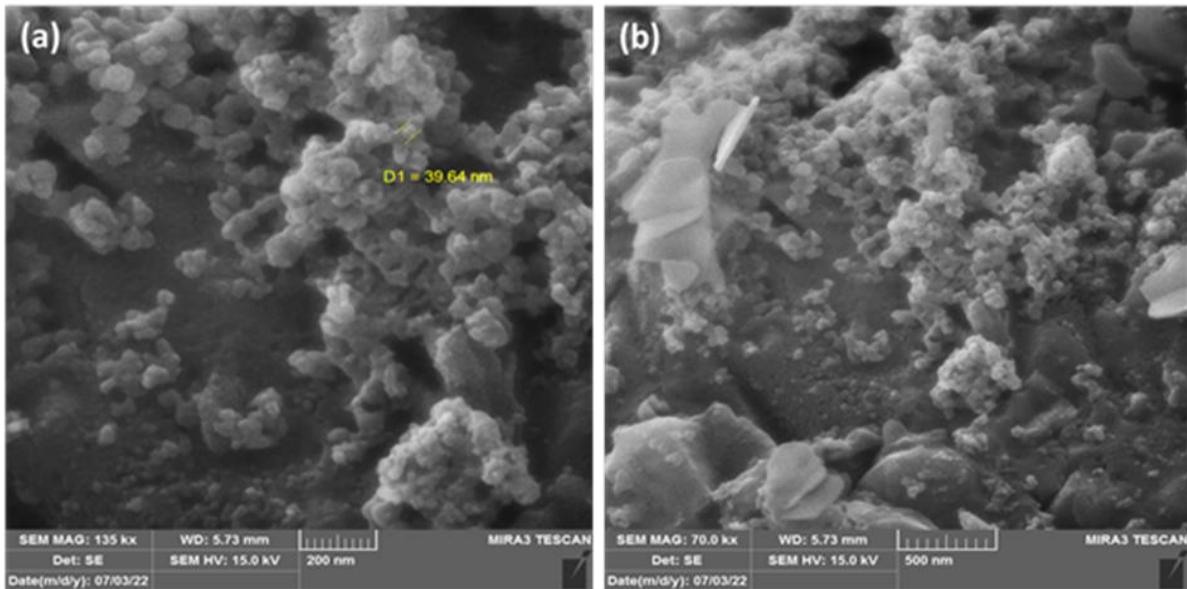
جدول (3-4) نتائج تحليل EDX للمادة $RH-SiO_2-Ag^0_G$

Element	Wt. %	Atomic %
O	51.35	69.62
Si	36.05	27.84
Ag	12.60	2.53
Total:	100.00	100.00



الشكل (23-3) طيف EDX الخاص ب RH-SiO₂-Ag⁰_G

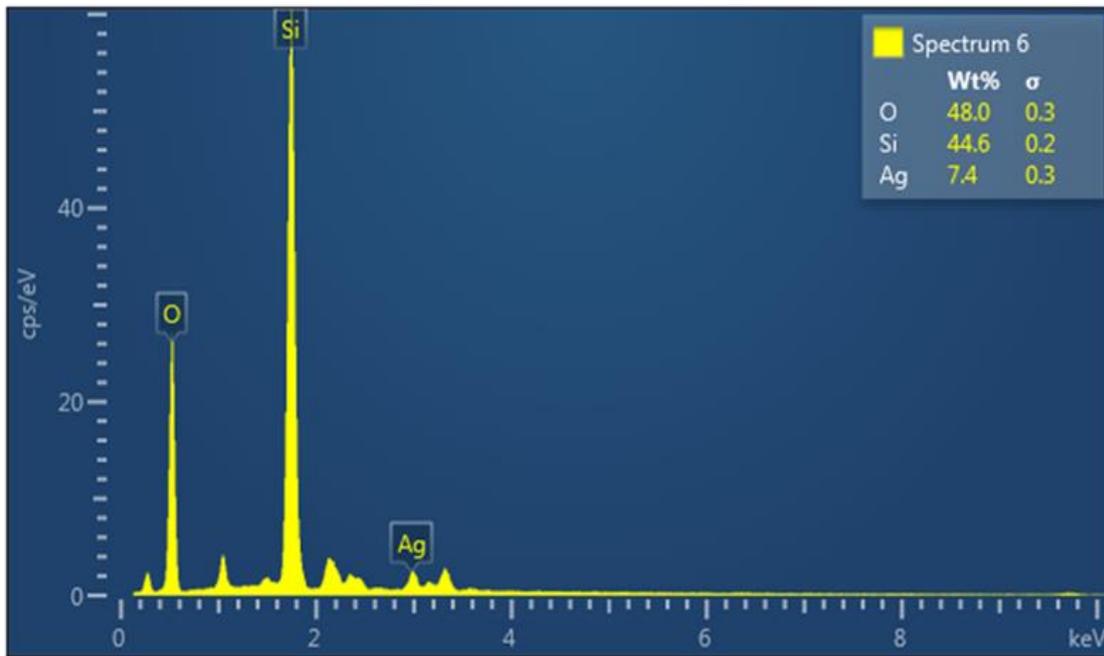
الشكل (24-3) يوضح الصور المجهرية لمتراكب السيليكا مع جسيمات الفضة النانوية للمركب RH-SiO₂-Ag⁰_S في حالة أستعمال العامل المختزل بورموهيدريد الصوديوم، ويبدو إن هذا العامل المختزل قد أثر في عملية اختزال لأيونات الفضة بشكل سريع مما أدى إلى تغير في شكل الجسيمات، و يجعلها أكثر انتظاماً بمتوسط طول قطره 40 نانومتر كما موضحة في الشكل (24-3)، والشكل (25-3) يوضح طيف تحليل EDX، إذ يشير إلى ظهور العناصر نفسها في العينات السابقة ولكن بنسب مختلفة الجدول (5-3)



الشكل (24-3) الصورة المجهرية SEM للمادة RH-SiO₂-Ag⁰_S (a) عند التكبير 200 نانومتر (b) عند التكبير 500 نانومتر.

جدول (5-3) نتائج تحليل EDX لـ $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{s}$

Element	Wt.%	Atomic%
O	48.00	64.43
Si	44.58	34.09
Ag	7.42	1.48
Total:	100.00	100.00

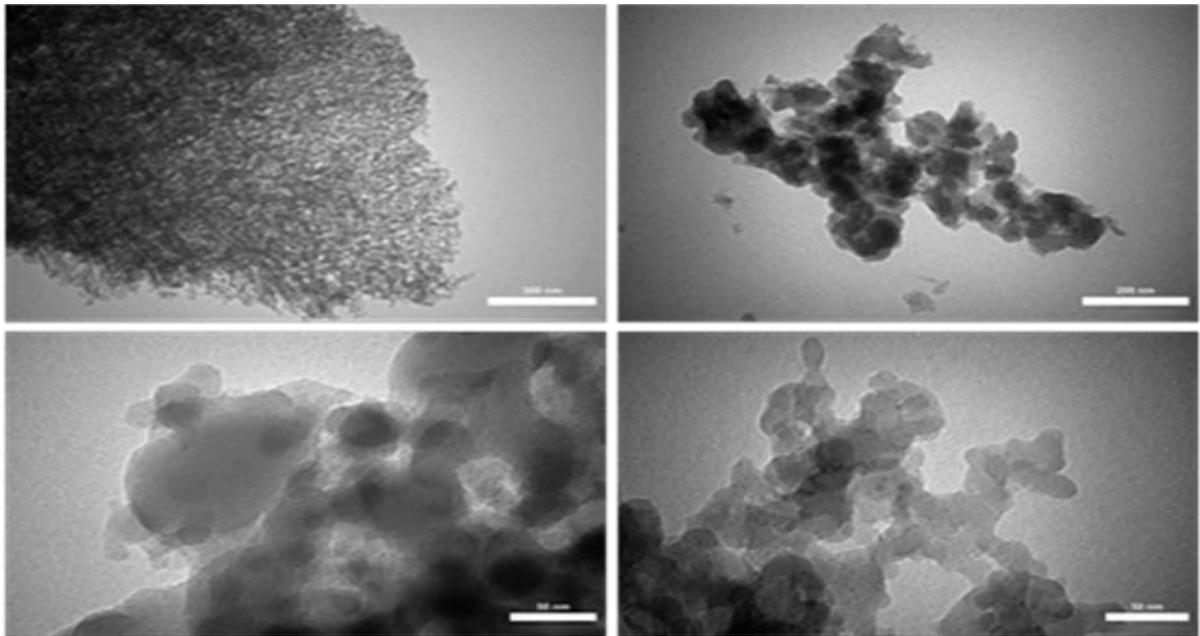
الشكل (25-3) طيف EDX الخاص بـ $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{s}$

5-2-3 المجهر الإلكتروني النافذ (TEM) Transmission Electron Microscopy

Microscopy

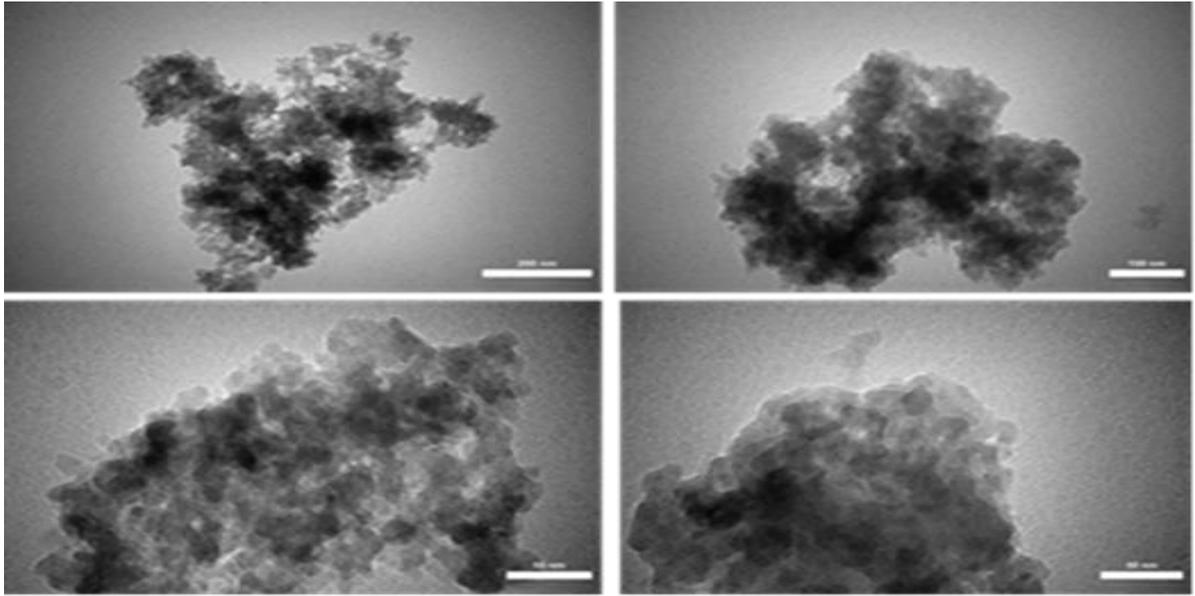
يستخدم TEM بشكل أساسي لتصوير العينات الرقيقة للغاية. يتكون من مدفع إلكتروني سريع وعدسة مكثفة تتحكم في كمية الإشعاع التي تصيب العينة توضع العينة بين العدسة المكثفة والعدسة الشيئية. وتساهم العدسة الموضوعية وعدسات جهاز العرض في تكوين الصورة وتركيزها وتضخيمها على شاشة العرض وكذلك الكاميرا المستخدمة لتسجيل الصورة. نظام التفريغ ضروري في الجهاز لإزالة جزيئات الهواء من عمود المجهر (Dai, H *et al.*, 1996). المجهر الإلكتروني النافذ هو طريقة تحليلية رئيسية في العلوم الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية. لذلك نجد تطبيقاته في أبحاث السرطان وعلم الفيروسات وعلوم المواد بالإضافة إلى التلوث وتكنولوجيا النانو وأبحاث أشباه الموصلات، وفي مجالات أخرى مثل علم

الحفريات وعلم الحفريات (Abdel-Mohsen *et al.*, 2012) تم تشخيص المركبات المحضرة من قشور الرز بتقنية TEM للتعرف على توزيع المسام في كل مركب وكذلك تقدير اقطار المسامات في تلك المركبات، فمن خلال دراسة صورة TEM للمركب RH-SiO₂ بتكبيرات مختلفة الشكل (3-26) نستنتج إن جسيمات السيليكا كانت بالفعل جسيمات نانوية بمعدل اقطار 50 نانومتر هذا يعطي انطبعا بأن المادة من نوع المتوسطة المسام وهذه النتيجة تتفق نوعا ما مع تلك التي تم الحصول عليها من تحليل SEM. وعلى الرغم من حدوث تجمعات بين الجسيمات النانوية كما في الصورة ذات التكبير 300 نانومتر إلا أنه يمكن ملاحظة إن الجسيمات النانوية والمسام موزعة بشكل عشوائي يميل إلى الانتظام كما في صورة التكبير 200 نانومتر.



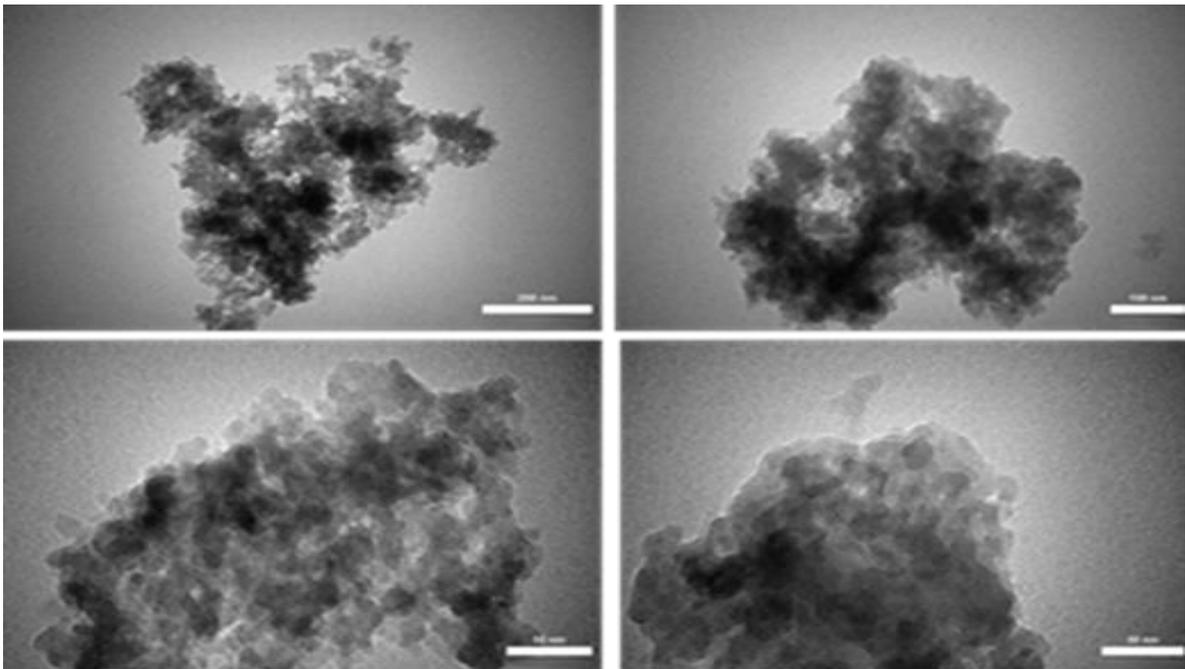
الشكل (3-26) الصور المجهرية بتقنية TEM للمركب RH-SiO₂ بتكبيرات مختلفة

عند إضافة أيونات الفضة في تركيب السيليكا المعدلة RH-SiO₂ والحصول على المركب RH-SiO₂-Ag⁺ النانوي لوحظ الانتشار الكثيف لتلك الأيونات في مصفوفة السيليكا بشكل بقع سوداء كما موضح في الشكل (3-27) وبالأخص في الصور ذات التكبيرات 50 و100 نانومتر، فمن خلال تلك الصور بالإمكان تقدير اقطار بعض الجسيمات إذ لوحظ إن معدل اقطار سبع جسيمات مقاسة كإن يساوي 13 نانومتر وهذا يوضح بأن المركب ذات طبيعة متوسطة المسام وهذه نتيجة متطابقة للنتائج التي تم الحصول عليها من تحليل SEM.



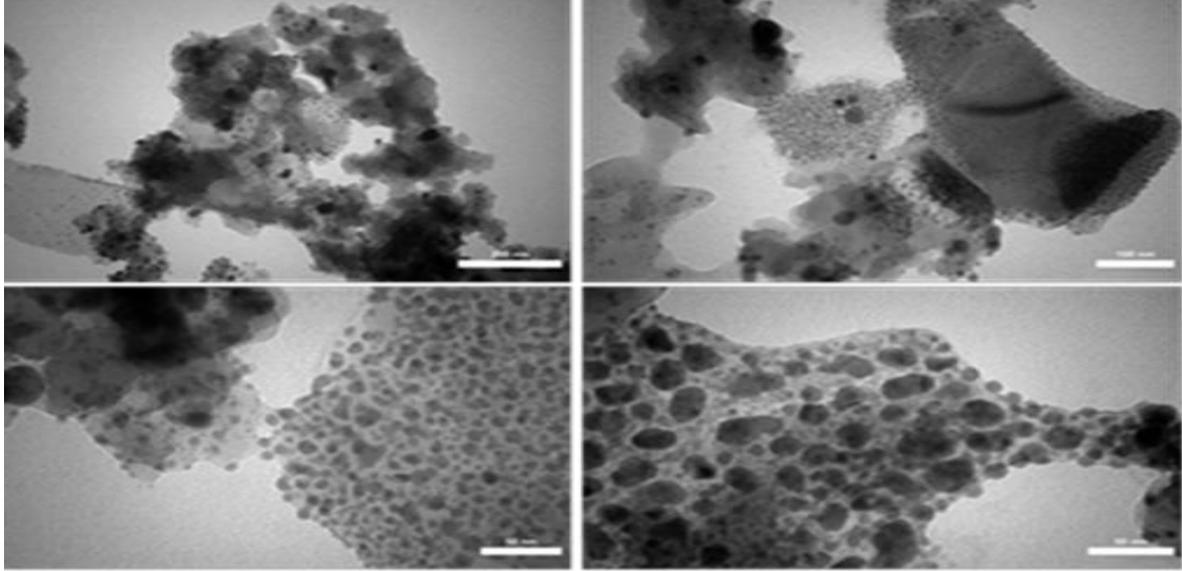
الشكل (27-3) الصور المجهرية بتقنية TEM للمركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$ بتكبيرات مختلفة

الشكل (28-3) يوضح الصور المجهرية TEM للمركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{G}$ والذي تم الحصول عليه من اختزال المركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$ بواسطة المركب الحياتي الكلوكوز. فمن خلال تلك الصورة وتكبيرات مختلفة لوحظ إن انتشار جسيمات الفضة النانوية المختزلة AgNPs في مصفوفة السيليكا بشكل واضح جدا على شكل بقع كروية سوداء غامقة. يبلغ معدل اقطار تلك الجسيمات ب13.4 نانوميتر اما اقطار المسامات الغير مشغولة بجسيمات الفضة فكانت 14 نانوميتر، وهذا يدل على إن المادة من نوع متوسط المسام وهذا يوافق مع نتائج تحليل SEM.



الشكل (28-3) الصور المجهرية بتقنية TEM للمركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{G}$ بتكبيرات مختلفة

في حالة أستعمال بورموهيدريد الصوديوم كعامل مختزل للمركب $RH-SiO_2-Ag^+$ والحصول على المادة $RH-SiO_2-Ag^0s$ لوحظ إن جسيمات الفضة النانوية $AgNPs$ ذات الاشكال الكروية والبيضوية السوداء الغامقة موزعة بشكل أكثر انتظاما الشكل (3-29) مما في المركب $RH-SiO_2-Ag^0G$ وبمعدل اقطار 17 نانوميتر.

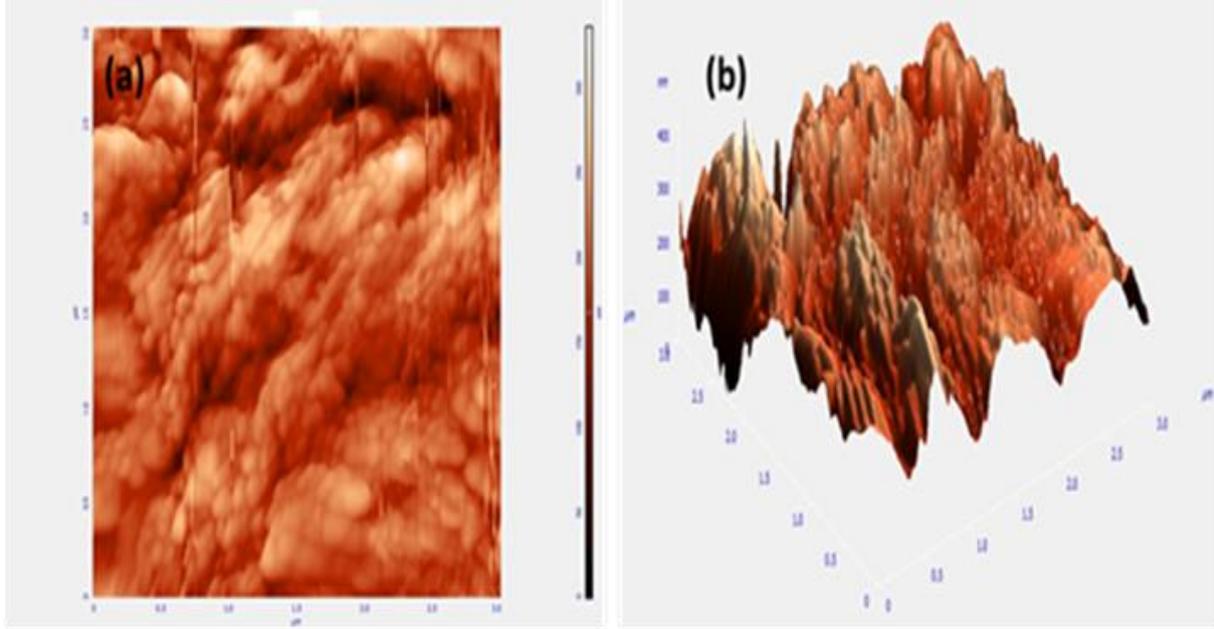


الشكل (3-29) الصور المجهرية بتقنية TEM للمركب $RH-SiO_2-Ag^0s$ بتكبيرات مختلفة

3-2-6 مجهر القوة الذرية (AFM)

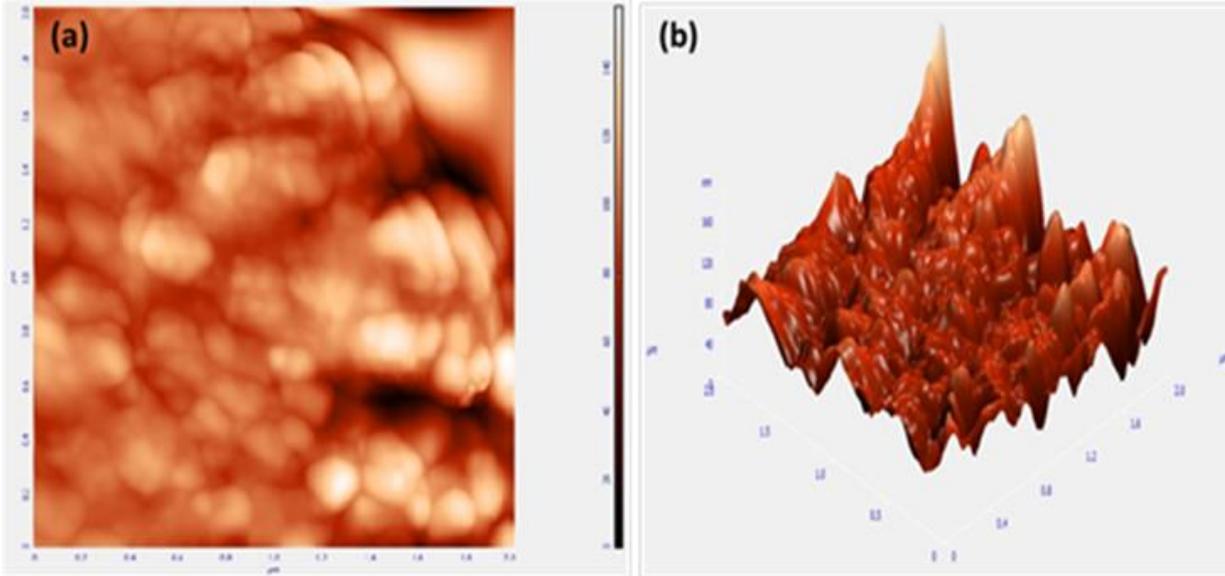
تم اختراع مجهر القوة الذرية (AFM) Atomic force microscope من قبل العلماء C. G. Binnig and , C. F. Quate, Ch. Gerber في عام 1986 وهو جهاز يستعمل في مجال تقنية النانو لمعرفة تضاريس السطوح ذات الأبعاد النانوية والميكرونية ورسماها، ويُسمى جهاز مجهر القوة الذرية أحيانا بمجهر القوة الـ Scanning force microscope (SFM) (Boholm and Arvidsson, 2016). ميكروسكوب القوة الذرية أو ميكروسكوب القوة الماسحة Scanning Force Microscopy (SFM) هو ميكروسكوب ذو قدرة تحليلية عالية له القدرة على تحليل تصل إلى اجزاء من النانومتر، إذ إنه يفوق حد تكبير الميكروسكوبيات الضوئية بأكثر من 1000 مرة وهذا الميكروسكوب أكثر تطورا من الميكروسكوب النفقي الماسح Scanning Tunneling Microscope (STM). ويعتبر هذا الميكروسكوب الأكثر شهرة كأداة تكبير وقياس وتحريك على المستوى النانوي (Al-Abbasy, D. 2019) يوضح الشكل (3-30) صور مجهر القوة الذرية (AFM) ذات البعدين والثلاثة ابعاد للمركب النانوي $RH-SiO_2$. من خلال هذه التقنية تم تقدير معامل متوسط الخشونة (Ra) إذ كان 39.46 نانومتر كذلك تم حساب خشونة الجذر التربيعي (Rrms) وكانت 51.053 نانومتر وايضا تم تقدير الارتفاع لعشر نقاط SZ (والذي يمثل متوسط القيمة لارتفاع أعلى خمس قمم ومتوسط عمق خمسة أودية الأعمق ضمن

طول العينة) بقيمة 214.12 نانومتر, و تبدو بنية الحبيبات لـ RH-SiO₂ في الصورة ثنائية الابعاد كأشكال كروية متراسة، وأما الصورة ثلاثية الابعاد توضح عددًا كبيرًا من القمم المرتفعة على سطح جزيئات السيليكا، مما يسبب خشونة لسطح السيليكا (Zhong, *et al.*, 1993).



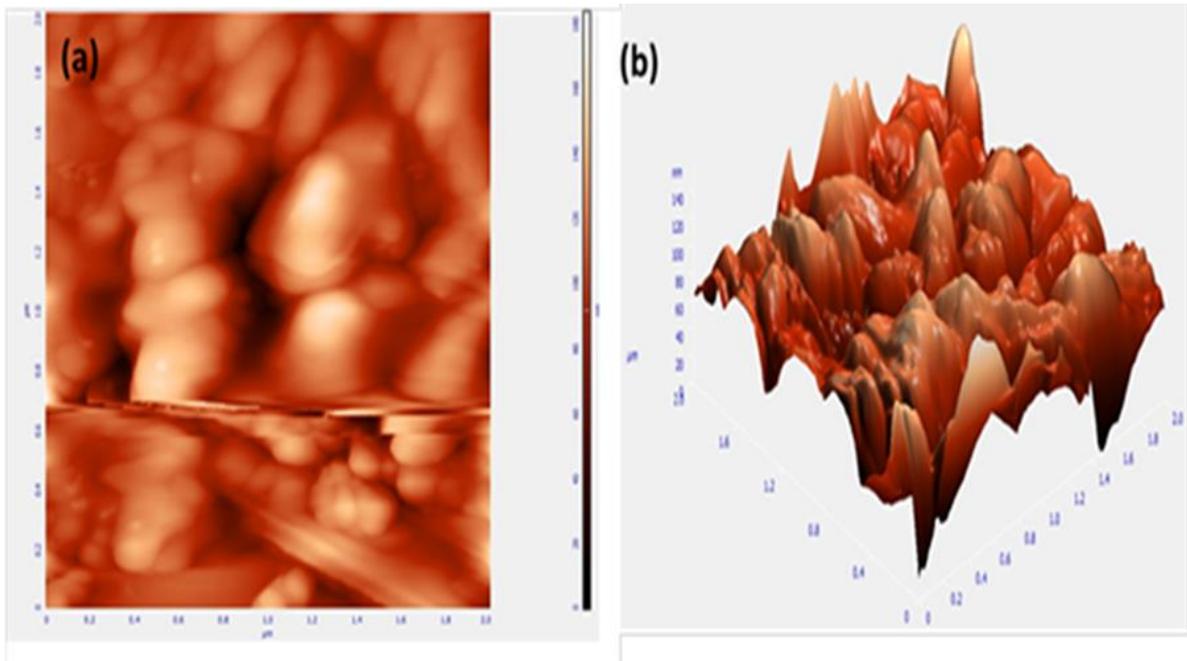
الشكل (30-3) صور مجهرية AFM ثنائية الأبعاد a وثلاثية الأبعاد b للمركب RH-SiO₂

وأظهرت صور مجهر القوة الذرية (AFM) ذات البعدين والثلاث أبعاد للمركب النانوي-RH-SiO₂ الشكل (31-3) أشكال الجسيمات النانوية بتجمعات شبه كروية متراسة كما إن الصورة ثلاثية الأبعاد توضح عددًا كبيراً من القمم المرتفعة على سطح جزيئات السيليكا المتحورة، مما يسبب خشونة لسطح السيليكا (Da Silva *et al.*, 2020) من خلال هذه التقنية تم تقدير معامل متوسط الخشونة (Ra) إذ كان 13.83 نانومتر وهو اقل بكثير من متوسط خشونة المركب RH-SiO₂ , كذلك تم حساب خشونة الجذر التربيعي (Rrms) والارتفاع لعشرة نقاط SZ وكانت 17.19 نانومتر و 95.81 نانومتر على التوالي , وهما أيضا اقل قيمة عن مما حسب للمركب RH-SiO₂.



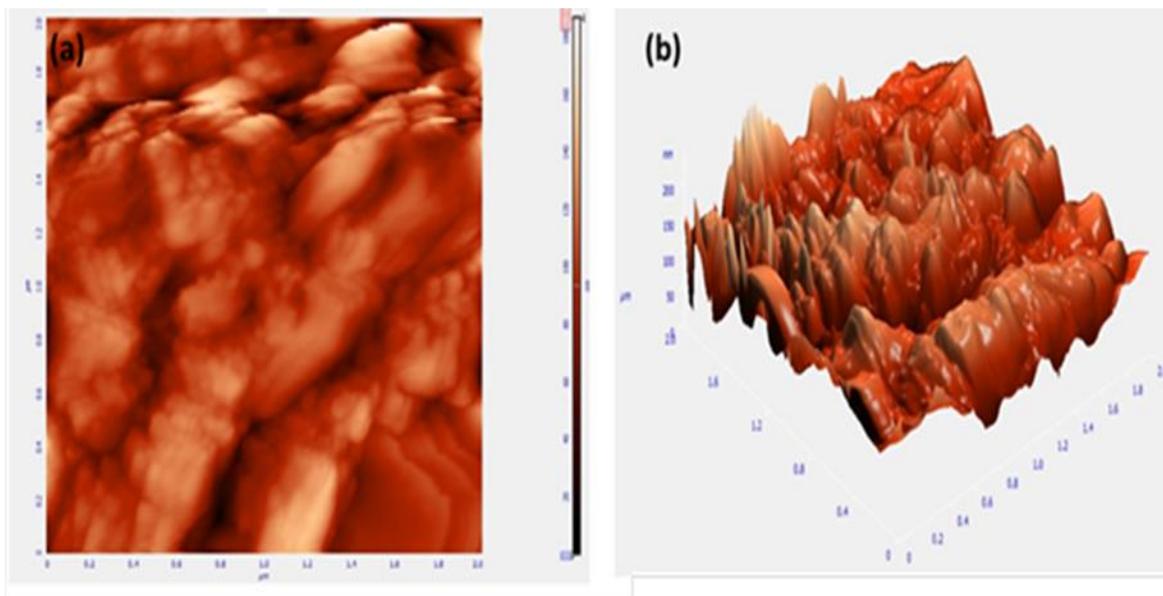
الشكل (31-3) صور مجهرية AFM ثنائية الأبعاد a وثلاثية الأبعاد b للمركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$

الشكل (32-3) يوضح صور مجهر القوة الذرية (AFM) ذات البعدين والثلاثة ابعاد للمركب النانوي $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{G}$ من خلال هذه التقنية تم تقدير معامل متوسط الخشونة (Ra) إذ كان 16.24 نانومتر، كذلك تم حساب خشونة الجذر التربيعي (Rrms), وكانت 20.52 نانومتر وأيضا الارتفاع لعشرة نقاط SZ بقيمة 79.81 نانوميتر, و تبدو بنية الحبيبات للمركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{G}$ في الصورة ثنائية الابعاد كأشكال شبه كروية متراسة غير منتظمة، وأما الصورة ثلاثية الأبعاد توضح عدداً كبيراً من القمم المرتفعة على سطح جزيئات السيليكا المتحورة، مما يسبب خشونة لسطح السيليكا (Visakh ,P.M *et al.*, 2016).



الشكل (32-3) صور مجهرية AFM ثنائية الأبعاد a وثلاثية الأبعاد b للمركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{G}$

أوضحت صور مجهر القوة الذرية (AFM) ذات البعدين والثلاث ابعاد للمركب النانوي $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{s}$ الشكل (33-3) إن بنية المركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{s}$ في الصورة ثنائية الأبعاد تبدو كتجمعات شبه كروية مترابطة غير منتظمة، أما الصورة ثلاثية الأبعاد توضح عددا كبيرا من القمم المرتفعة على سطح السيليكا المطعمة بجسيمات الفضة النانوية AgNPs ، من خلال هذه التقنية تم تقدير معامل متوسط الخشونة (Ra) إذ كان 35.12 نانومتر كذلك تم حساب خشونة الجذر التربيعي (Rrms) وكانت 44.43 نانومترا، وأيضا الارتفاع لعشرة نقاط (SZ) والذي يمثل متوسط قيمة الارتفاع اعلى خمس قمم ومتوسط عمق خمس أودية الاعمق ضمن طول العينة بقيمة (134.15) نانومترا.



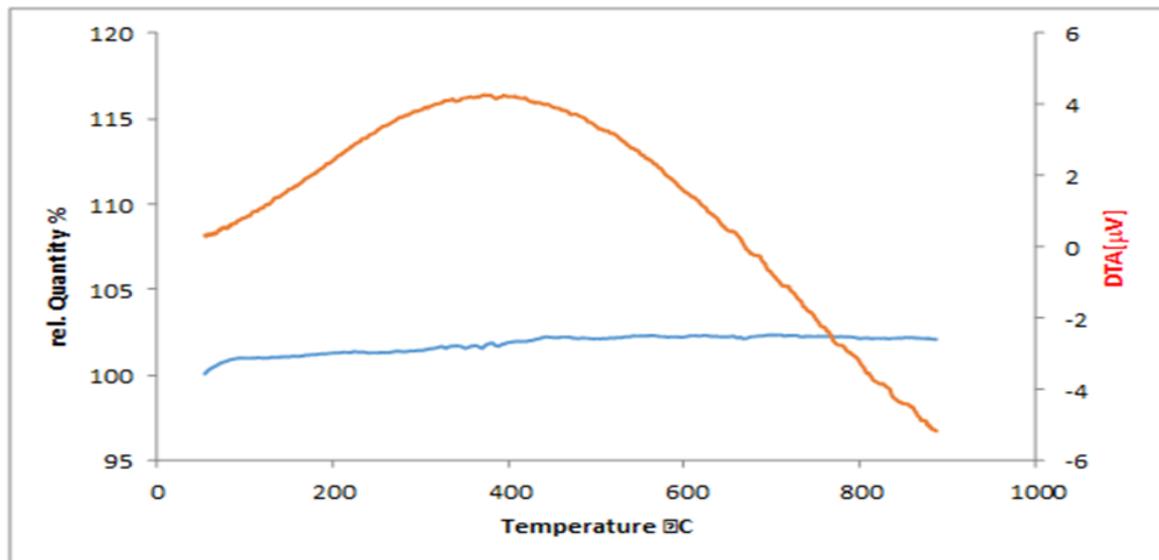
الشكل (33-3) صور مجهرية AFM ثنائية الأبعاد a وثلاثية الأبعاد b للمركب $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0\text{s}$

7-2-3 التحليل الحراري: Thermogravimetric analysis

(TGA)/Differential thermal a

تقنية التحليل الحراري الوزني TGA يتم من خلالها أستعمال التغيرات في الكتلة لاكتشاف وقياس العمليات الكيميائية أو الفيزيائية التي تحدث في سياق تسخين العينة، وبشكل عام توفر تقنيات التحليل الحراري معلومات مثالية تتعلق بتغيرات خصائص العيانية Macroscopic property مع درجة الحرارة (Coats and Redfern, 1963). التحليل الحراري الوزني TGA، يقيس التغير في وزن العينة كدالة لدرجة الحرارة. تستعمل هذه التقنية لتحديد محتوى الرطوبة الماء (الماء الممتز فيزيائيا وكيميائيا)، ومستوى المكونات العضوية واللاعضوية، واستقرار المجموعات العضوية، ونقطة التحلل، وما إلى ذلك. ويمكن أستعمال منحنى مشتق لفقدان الوزن (DTA) للإشارة إلى النقطة التي يكون عندها فقدان الوزن أكثر وضوحا (Abdel-Mohsen, et al, 2012). تم أستعمال التحليل الحراري الوزني (TGA) لمعرفة

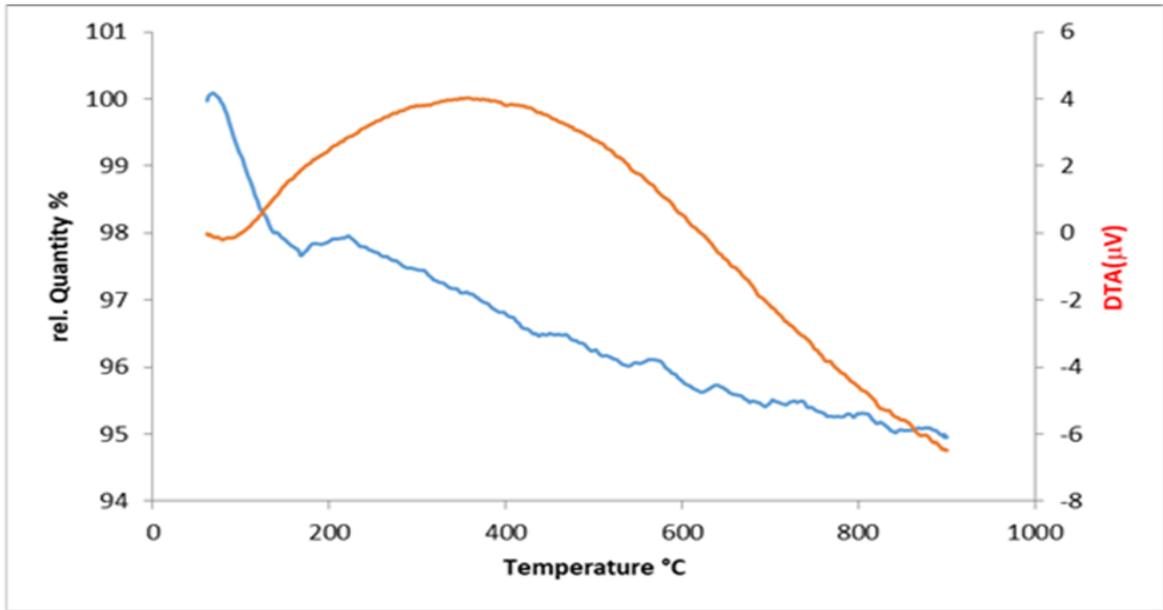
وتحديد الاستقرار الحراري للعينات المحضرة من مواد السيليكا النانوية ، يمثل الشكل (3-34) منحنيات قياس التحليل الوزني الحراري TGA/DTA للمادة RH-SiO₂ , ومن خلال المنحني يتبين وجود مرحلتان من فقدان الكتلة وأولهما تحلل بمنحني ضعيف ناتج عن فقدان الماء الممتز فيزيائيا وكيميائيا على سطح السيليكا المتحورة والذي يقع ضمن المدى الحراري من 50-200 مئوي والثاني مرتبط بتفكك تركيب المادة متوسطة المسام نتيجة إلى تحول مجاميع السيلانول Si-OH إلى سيلوكسان Si-O-Si (Al-Hasani *et al.*,2017) (Niculescu and Raboaca.,2021).



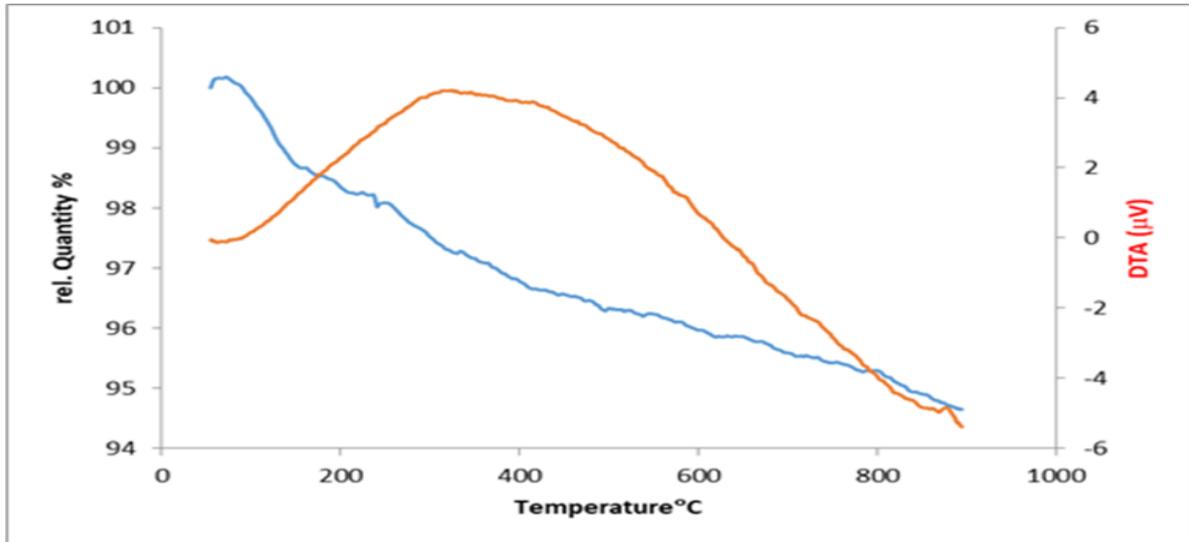
الشكل (3-34) منحنيات TGA DTA للمادة RH-SiO₂

الشكل (3-35) يوضح منحنيات قياس التحليل الوزني الحراري TGA/DTA للمادة RH-SiO₂-Ag⁺ وهو يشبه إلى حد ما منحني التحلي الحراري الوزني للمادة الأولية RH-SiO₂ , من خلال ملاحظة المنحني لوحظ إن فقدان الماء الممتز على سطح السيليكا المتحورة بأيونات الفضة يقع المدى 60-220 مئوي.

اما الجزء المتبقي من المنحني والذي يقع في المدى 200 إلى 800 مئوي يمكن نسبته إلى تفكك تركيب المادة متوسطة المسام وتحول مجاميع السيلانول Si-OH إلى سيلوكسان Si-O-Si وكذلك تكون أوكسيد الفضة Ag₂O ضمن تركيب مصفوفة السيليكا المتحورة (Niculescu and Raboaca.,2021).

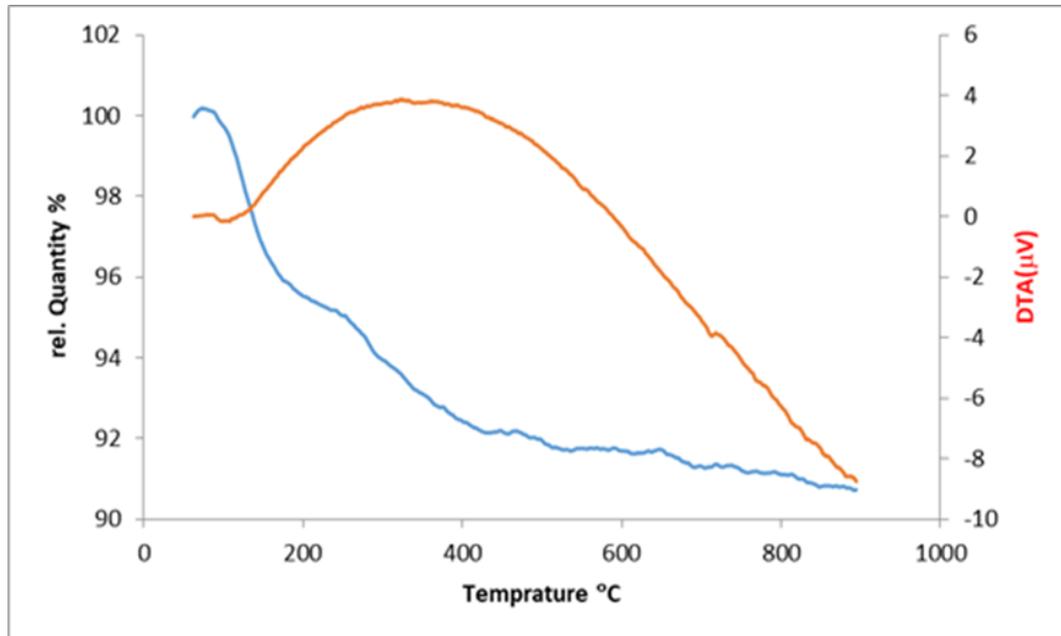
الشكل (35-3) منحنيات TGA DTA للمادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^+$

منحنيات قياس الوزن الحراري TGA/DTA للمادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0_{\text{G}}$ لوحظت في الشكل (36-3) والذي أوضح وجود مرحلتان من فقدان الكتلة، الأولى سببها عن فقدان الماء الممتز على سطح السيليكا والذي يقع ضمن المدى 70 إلى 225مئوي. والثاني يعتمد على تفكك تركيب المادة متوسطة المام وتحول اغلب مجاميع السيلانول Si-OH إلى سيلوكسان (Niculescu and Raboaca.,2021) وكذلك تحرر جسيمات الفضة بالنانوية ضمن مصفوفة السيليكا ووجودها بشكل ذرات أو أكاسيد الفضة.

الشكل (36-3) منحنيات TGA DTA للمادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0_{\text{G}}$

الشكل (37-3) يمثل منحنيات قياس التحليل الوزني الحراري TGA/DTA للمادة $\text{RH-SiO}_2\text{-Ag}^0_{\text{S}}$ والذي يكشف عن حدوث فقدان الكتلة للمادة بمراحل متعددة، أولها ناتج عن فقدان الماء الممتز على سطح

السيليكا والذي يقع ضمن المدى 70 إلى 237 مئوي. اما المراحل الأخرى تفسر تفكك الحاصل في مجاميع السيلانول وتحولها إلى مجاميع السيلوكسان في تركيب المادة $RH-SiO_2-Ag^0_s$ متوسطة المسام وتحرر جسيمات الفضة بالنانوية وتحول منها أكسيد الفضة نتيجة تفاعلات الأكسدة-الاختزال التي تحصل نتيجة الحرارة العالية (Niculescu and Raboaca.,2021) (Attol and Mihsen.,2020).



الشكل (37-3) منحنيات TGA DTA للمادة $RH-SiO_2-Ag^0_s$

3-3 الفعالية التثبيطية للمركبات النانوية المستخلصة من قشور الرز ضد العزلات بكتريا

Streptococcus. mutans

أظهرت النتائج الكشف عن النشاط التثبيطي للمركبات بالنانوية ضد عزلات البكتريا *S. mutans* قيد الدراسة وتم إجراء ذلك بأستعمال كل من المركبات النانوية ($RH-SiO_2$ و $RH-SiO_2-Ag^+$ و $RH-SiO_2-Ag^0_s$ و $SiO_2-Ag^0_G$) المحضرة من قشور الرز بتركيز تضاعفيه من 8 إلى 1,024 ميكروغرام /مل كانت عزلات بكتريا *S. mutans* أقل حساسية لهذه المركبات النانوية ممتثلة بأقل قطر تثبيط بتركيز 8 و 16 ميكروغرام /مل وأكثر مقاومة للمركبات لنانوية المحضرة عند التركيز 512 و 1,024 ميكروغرام /مل أوضحت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق ذات دلالة إحصائية في تثبيط بين تراكيز المركبات النانوية الجدول (3-6) كما أظهرت نتائج التحليل الاحصائي على وجود زيادة معنوية ($p \leq 0.05$) في تثبيط عزلات *S. mutans* التي تزداد مع زيادة تراكيز المواد النانوية المحضرة , يفسر هذا إن الجسيمات النانوية المحضرة تتميز بخصائص مثل وجود مجموعة السيلانول Silanol على

سطحها الخارجي والتي تتمكن من اطلاق أيونات الهيدروكسيل (OH) (Nayak and Datta, 2021) بحيث يمكن للبكتريا أن تتلاصق مع سطح السيليكا النانوية nano silica مما يؤدي إلى تسرب مكونات الخلايا ومن ثم موت الخلية .

إن نشاط المركبات النانوية ضد عزلات البكتريا *S. mutans* زادت مع زيادة تركيز المركبات (Tuli et al., 2020) (Sirelkhatim et al. 2015). وأوضحت الجداول إن أفضل المركبات النانوية المحضرة هو المركب $RH-SiO_2-Ag^0$ إذ اعطى اعلى قطر تثبيط في العينة البكتريا *S. mutans* رقم (7) إذ بلغ 21.75

1-3-3 الجدول (6-3) الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة من المركب النانوي (RH-SiO₂) ضد عزلات بكتريا *S. mutans* حيث تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات.

المعدل تثبيط العزلات	1,024	512	256	128	64	32	16	8	تركيز المركب النانوي µg /ml
قطر منطقة تثبيط النمو mm									رمز عزلات البكتريا
15.09	21.00	20.00	18.50	16.75	14.75	13.00	8.75	8.00	<i>S. mutans1</i>
15.21	21.00	20.00	18.75	17.00	15.25	13.25	9.00	7.50	<i>S. mutans3</i>
15.06	21.25	19.50	18.25	17.25	14.50	13.00	9.00	7.75	<i>S. mutans4</i>
15.34	21.00	20.00	18.75	17.00	15.25	13.25	9.25	8.25	<i>S. mutans7</i>
14.21	21.2	20.00	18.50	17.25	15.00	12.75	9.00	8.25	<i>S. mutans9</i>
0.407	1.152								L.S.D at 0.05
	26.3	24.87	23.18	21.31	18.68	16.31	11.25	9.93	معدل تثبيط التركيز
	0.515								L.S.D at 0.05

بين الجدول (6-3) الفعالية التثبيطية للمركب النانوي (RH-SiO₂) ضد عزلات بكتريا *S. mutans* وبين الجدول إن الفعالية التثبيطية تزداد بزيادة التراكيز وقد لوحظ اعلى قطر تثبيط بالتركيز mg/ml 1,024 إذ بلغ 21.25 واقل قطر تثبيط بلغ 7.50 أيضا بين الجدول إن العزلات اختلفت حساسيتها للمركب النانوي

(RH-SiO₂) وكانت العزلة *S. mutans*4 أعلى حساسية إذ بلغ قطر التثبيط 21.25 في التركيز 1,024 mg/ml بين العزلات والتراكيز كما وبين الجدول إن العزلة *S. mutans*3 كانت أكثر مقاومة للمركب النانوي (RH-SiO₂) بالتركيز 8 mg/ml اعطت أقل قطر تثبيط إذ بلغ 7.50

2-3-3 جدول (7-3) الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة للمركب النانوي RH-SiO₂-Ag⁺ ضد عزلات بكتريا *S. mutans* حيث تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات.

بين الجدول (7-3) الفعالية التثبيطية للمركب النانوي (RH-SiO₂-Ag⁺) ضد عزلات بكتريا *S. mutans* وبين الجدول إن الفعالية التثبيطية تزداد بزيادة التراكيز وقد لوحظ أعلى قطر تثبيط بالتركيز 1,024 mg/ml إذ بلغ 21.25 وأقل قطر تثبيط بلغ 5.25 أيضا بين الجدول إن العزلات اختلفت حساسيتها للمركب النانوي (RH-SiO₂-Ag⁺) وكانت العزلة *S. mutans*3 أعلى حساسية إذ بلغ قطر التثبيط 21.25 في التركيز 1,024 mg/ml بين العزلات والتراكيز كما وبين الجدول إن العزلة *S. mutans*4 كانت أكثر مقاومة للمركب النانوي (RH-SiO₂-Ag⁺) بالتركيز 8 mg/ml اعطت أقل قطر تثبيط إذ بلغ 5.25

معدل تثبيط العزلات	1,024	512	256	128	64	32	16	8	تركيز المركب النانوي mg/ml
	قطر منطقة تثبيط النمو mm								رمز عزلات البكتريا
18.844	27.50	25.25	24.25	22.50	18.75	16.00	13.50	7.75	<i>S. mutans</i> 1
18.781	25.25	24.50	22.75	21.00	19.25	17.00	13.25	9.75	<i>S. mutans</i> 3
18.594	26.00	24.25	23.00	21.50	19.00	16.00	12.25	6.75	<i>S. mutans</i> 4
19.094	26.25	25.50	22.75	22.00	18.50	16.50	11.00	7.75	<i>S. mutans</i> 7
18.406	25.75	24.75	23.00	20.75	19.75	16.00	11.25	9.50	<i>S. mutans</i> 9
0.393	2.110								L.S.D at 0.05
	32.56	31.06	28.93	26.93	23.81	20.37	15.31	10.37	معدل تثبيط التركيز
	0.497								L.S.D at 0.05

4-3-3 جدول (8-3) الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة للمركب النانوي $RH-SiO_2-Ag^0_G$ ضد عزلات بكتريا *S. mutans* حيث تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات.

المعدل تثبيط العزلات	1,024	512	256	128	64	32	16	8	تركيز المركب النانوي mg/ ml
	قطر منطقة تثبيط النمو mm								رمز عزلات البكتريا
16.37	21.25	20.00	19.00	18.25	17.25	14.75	11.50	9.00	<i>S. mutans1</i>
17.93	21.25	20.25	19.00	18.00	17.00	12.75	10.25	9.00	<i>S. mutans3</i>
16.37	20.75	20.50	19.50	18.50	17.00	14.00	11.25	9.50	<i>S. mutans4</i>
16.18	21.75	20.25	19.00	18.25	16.00	13.50	11.25	9.50	<i>S. mutans7</i>
15.18	21.00	19.75	19.00	18.25	17.50	15.00	11.00	9.50	<i>S. mutans9</i>
0.484	1.027								L.S.D at 0.05
	26.50	25.18	23.87	26.81	21.18	17.50	11.62	11.6	معدل تثبيط التركيز
	0.143								L.S.D at 0.05

بين الجدول (8-3) الفعالية التثبيطية للمركب النانوي ($RH-SiO_2-Ag^0_G$) ضد عزلات بكتريا *S. mutans* وبين الجدول إن الفعالية التثبيطية تزداد بزيادة التراكيز وقد لوحظ أعلى قطر تثبيط بالتركيز 1,024 mg/ml إذ بلغ 21.75 وأقل قطر تثبيط بلغ 9.00 أيضاً بين الجدول إن العزلات اختلفت حساسيتها للمركب النانوي ($RH-SiO_2-Ag^0_G$) وكانت العزلة *S. mutans7* أعلى حساسية إذ بلغ قطر التثبيط 21.75 في التركيز 1,024 mg/ml بين العزلات والتراكيز كما وبين الجدول إن العزلة *S. mutans1* و *S. mutans3* كانت أكثر مقاومة للمركب النانوي ($RH-SiO_2-Ag^0_G$) بالتركيز 8 mg/ml أعطت أقل قطر تثبيط إذ بلغ 9.00

5-3-3 الجدول (9-3) الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة للمركب النانوي $RH-SiO_2-Ag^0_s$

ضد عزلات بكتريا *S. mutans* حيث تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات.

بين الجدول (9-3) الفعالية التثبيطية للمركب النانوي ($RH-SiO_2-Ag^0_s$) ضد عزلات بكتريا *S. mutans* وبين الجدول إن الفعالية التثبيطية تزداد بزيادة التراكيز وقد لوحظ أعلى قطر تثبيط بالتركيز 1,024 mg/ml إذ بلغ 21.25 و أقل قطر تثبيط بلغ 5.75 أيضا بين الجدول إن العزلات اختلفت حساسيتها للمركب النانوي ($RH-SiO_2-Ag^0_G$) وكانت العزلة *S. mutans*9 أعلى حساسية إذ بلغ قطر التثبيط 21.75 في التركيز 1,024 mg/ml بين العزلات والتراكيز كما وبين الجدول إن العزلة *S. mutans*3 كانت أكثر مقاومة للمركب النانوي ($RH-SiO_2-Ag^0_s$) بالتركيز 8 mg/ml اعطت أقل قطر تثبيط إذ بلغ 5.75

تركيز المركب النانوي mg/ml	8	16	32	64	128	256	512	1,024	المعدل تثبيط العزلات
رمز العزلات البكتريا	قطر منطقة تثبيط النمو mm								
<i>S. mutans</i> 1	8.75	9.50	10.75	13.75	17.00	18.00	19.00	21.00	14.71
<i>S. mutans</i> 3	5.75	9.75	12.75	15.50	17.75	18.75	19.50	21.00	15.09
<i>S. mutans</i> 4	8.75	9.50	12.50	12.50	15.25	18.25	19.50	21.00	15.56
<i>S. mutans</i> 7	8.75	9.50	12.50	15.25	18.25	19.50	19.75	21.00	15.56
<i>S. mutans</i> 9	6.00	10.00	12.00	14.75	18.25	18.75	18.75	21.25	14.31
L.S.D at 0.05	1.164								0.412
معدل تثبيط التركيز	9.50	12.06	15.12	18.62	22.37	23.62	24.37	26.31	
L.S.D at 0.05	0.521								

3-4 اختبار السمية (انحلال الدم hemolytic activity) للمركبات النانوية المحضرة:

في هذا الاختبار تم إجراء فحص سمية المركبات النانوية المحضرة من نبات الرز (RH-SiO₂Ag⁰_s و RH-SiO₂Ag⁰_G, RH-SiO₂, RH-SiO₂Ag⁺) على أشخاص أصحاء وذلك جزاء انحلال الدم كما وصفه (Bouma., 2002). وتم تحديد نسبة انحلال الدم بنسبة 100 % عن طريق تخفيف الدم المستعمل مع حجم أكبر 100 ضعف من الماء المقطر بدلا من المحلول الملحي العادي تم القياس الامتصاص عند 540 نانومتر بأستعمال جهاز Spectrophotometer مقياس الطيف الضوئي وتم تقييم نسبة الانحلال الدم بالمعادلة.

$$\text{Hemolysis}\% = \frac{(A_T - A_N)}{(A_{100\%H} - A_N)} * 100\%$$

تتراوح نسبة انحلال الدم في السم الخام حوالي من 12.75 إلى 140.2 أعلى قيمة لنشاط انحلال الدم hemolytic activity (Lassen S., 2011). إذ تظهر السموم الخام والسموم المنقاة جزئياً أنشطة بيولوجية مختلفة منها النشاط الانحلالي hemolytic activity في كريات الدم الحمراء البشرية , ومن المعروف عموماً إن السموم الحالة للخلايا تعمل بإحدى الاليتين احدهما عبارة عن آلية إنزيمية , إذ ترتبط المكونات الحالة للخلايا بشكل تفضيلي بجليكوليبيدات الغشاء أو البروتين السكري (Radwan, F. et al., 2000) والآلية الثانية عبارة عن آلية قياس العناصر المتكافئة والتي تحتوي على ارتباط وادخال الجزيئات السم في غشاء البلازما بتكوين مسام عبر الغشاء مما يؤدي إلى التحلل التناضحي osmotic lysis . (Bhakdi and Jensen ,1988) , وأوضحت النتائج كشف تحليل السمية للمركبات النانوية المحضرة بعدم احتوائها على مكون سم انحلالي بارز (Veeruraj A. et al.,2008) إذ اعطى المركب النانوي RH-SiO₂ نسبة اقل من قيمة الحد الأدنى للنشاط الانحلالي hemolytic activity لسم الخام إذ بلغت 0.4% وبذلك فهو غير سام اما المركب النانوي RH-SiO₂Ag⁺ أعطى نتيجة 1.6% أيضاً أقل من الحد الأدنى للنشاط الانحلالي hemolytic activity وبذلك يعد غير سام , و أما المركب النانوي RH-SiO₂Ag⁰_G فهو ايضاً غير سام , إذ بلغت قيمة السمية 0.8% والمركب النانوي RH-SiO₂Ag⁰_s كذلك غير سام , فقد بلغت قيمة اختبار انحلال الدم 1.064% وهي قيمة أقل من الحد الأدنى للنشاط الانحلالي hemolytic activity للسموم الخام (Sasikal R. et al.,2013) كما موضح في الجدول (10-3).

الجدول (10-3) يوضح قيمة السمية للمركبات النانوية المحضرة

المركب النانوي	نسبة التحلل الدموي
RH-SiO₂	% 0.4
RH-SiO₂Ag⁺	% 1.6
RH-SiO₂Ag⁰G	% 0.8
RH-SiO₂Ag⁰s	%1.064

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions

&

Recommendations

1- الاستنتاجات: Conclusions

- 1- أظهرت النتائج أنّ المركبات النانوية المحضرة (RH-SiO₂Ag⁺, RH-SiO₂) , RH- , SiO₂Ag⁰G , RH-SiO₂Ag⁰s) قادرة على تثبيط نمو عزلة بكتريا *S. mutans* , المعزولة من فم الأشخاص المصابين سريريا مما يشير إلى إمكانية أستعمال هذه المركبات لعلاج تسوس الأسنان وغسول للفم
- 2- المركبات النانوية المحضرة غير سامة للإنسان نسبة للنتائج اختبار السمية (الاحلال الدموي).
- 3- احتواء نبات الرز على ما يقارب 95% من السيليكا.
- 4- اثبتت المركبات النانوية المحضرة قدرتها التثبيطية العالية ضد البكتريا *S. mutans* المعزولة من المرضى المصابين بتسوس الاسنان.
- 5- اظهر المركب النانوي RH-SiO₂Ag⁺ قدرة عالية في تثبيط البكتريا *S. mutans* المعزولة من المرضى المصابين بتسوس الاسنان من خلال قيمة L.S.D حيث بلغت 2.110 وهي اعلى قيمة بين المركبات النانوية المحضرة وبذلك يكون افضلها استخداما.

2- التوصيات Recommendations

- ١- من خلال التحري على نباتات أخرى يمكن استخلاص السيليكا منها، ودراسة فعاليتها التثبيطية على البكتريا أخرى ممرضة.
- ٢- دراسة كفاءة المركبات النانوية المحضرة من نبات الرز على بكتريا أخرى ممرضة.
- ٣- دراسة قابلية هذه المركبات على تكوين الأغشية الحيوية للبكتريا قيد الدراسة.
- ٤- إمكانية اعتماد المركبات النانوية المحضرة كبديل لمعالجة البكتريا عن العلاج بالمواد الكيميائية ذات التأثيرات الجانبية بعد تجريبيها على الحيوانات المخبرية.

المصادر

References

- **Abd al-zahra**, h. S., & saleh, m. B. (2018). Isolation and identification of *Streptococcus mutans* from dental caries patients at thi-qar province/iraq. Journal of thi-qar science, 6(4).
- **Abdel-Mohsen**, A. M., Hrdina, R., Burgert, L., Krylová, G., Abdel-Rahman, R. M., Krejčová, A., ... & Beneš, L. (2012). Green synthesis of hyaluronan fibers with silver nanoparticles. Carbohydrate polymers, 89(2), 411-422.
- **Adam, F., Ahmed**, A. E., & Min, S. L. (2008). Silver modified porous silica from rice husk and its catalytic potential. Journal of porous materials, 15, 433-444.
- **Adam, F.**, Andas, J., & Rahman, I. A. (2010). A study on the oxidation of phenol by heterogeneous iron silica catalyst. Chemical Engineering Journal, 165(2), 658-667.
- **Adam, F., Chew**, T. S., & Andas, J. (2011). A simple template-free sol-gel synthesis of spherical nanosilica from agricultural biomass. Journal of sol-gel science and technology, 59, 580-583.
- **Adam, F.**, & Chua, J. H. (2004). The adsorption of palmytic acid on rice husk ash chemically modified with Al (III) ion using the sol-gel technique. Journal of colloid and interface science, 280(1), 55-61.
- **Adam, f.**, osman, h., & hello, k. M. (2009). The immobilization of 3-(chloropropyl) triethoxysilane onto silica by a simple one-pot synthesis. Journal of colloid and interface science, 331(1), 143-147.
- **Al-abbasy**, d. H. A. (2019). Synthesis and characterization of organosilicon ligands and used it in removal of some divalent metal ions from their aqueous solutions. University of kerbala.
- **Al-Hasani**, T. J., Mihsen, H. H., Hello, K. M., & Adam, F. (2017). Catalytic esterification via silica immobilized p-phenylenediamine and dithiooxamide solid catalysts. Arabian Journal of Chemistry, 10, S1492-S1500.

- **Ali, M., Yameen, B.,** Cervera, J., Ramirez, P., Neumann, R., Ensinger, W., ... & Azzaroni, O. (2010). Layer-by-layer assembly of polyelectrolytes into ionic current rectifying solid-state nanopores: insights from theory and experiment. *Journal of the American Chemical Society*, 132(24), 8338-8348.
- **Al-jumaily, E., al-seubehawy, h. M., & al-toraihy, f. A.** (2014). Isolation and identification of *Streptococcus Mutans* (h5) produced glucosyltransferase and cell-associated glucosyltransferase isolated from dental caries. *Int j curr microbiol app sci*, 3(6), 850-864.
- **Al-Zubaidy, A. A., Sahib, H. B., & Hussein, Z. A.** (2016). The anti-angiogenic activity of Phoenix dactylifera seeds extracts. *IJPPS*, (2016), 8(1), 311-315.
- **AJ Al-Kaaby, W.** (2016). Phenotypic and molecular characterization of Streptococcus mutans bacteria isolated from the mouth and test their ability to form biofilms and their resistance to antibiotics. *journal of al-qadisiyah for pure science (quarterly)*, 16(2), 151-168.
- **Atlas, r. M., brown, a. E., & parks, l. C.** (1995). *Laboratory manual of experimental microbiology*. Mosby.
- **Attol, D. H., & Mihsen, H. H.** (2020). Synthesis of silica-salen derivative from rice husk ash and its use for extraction of divalent metal ions Co (II), Ni (II) and Cu (II). *Indonesian Journal of Chemistry*, 20(1), 16-28.
- **Baca, P., Junco, P., Arias-Moliz, M. T., Castillo, F., Rodríguez-Archilla, A., & Ferrer-Luque, C. M.** (2012). Antimicrobial substantivity over time of chlorhexidine and cetrimide. *Journal of endodontics*, 38(7), 927-930.
- **Back, C. R., Douglas, S. K., Emerson, J. E., Nobbs, A. H., & Jenkinson, H. F.** (2015). Streptococcus gordonii DL 1 adhesin SspB V-region mediates coaggregation via receptor polysaccharide of

- Actinomyces oris T14V. *Molecular Oral Microbiology*, 30(5), 411-424.
- **Bai, y.**, liu, h., ma, x., tai, x., wang, w., du, z., & wang, g. (2018). Synthesis, characterization and physicochemical properties of glycosyl-modified polysiloxane. *Journal of molecular liquids*, 266, 90-98.
 - **Bailey, WR**, Scott, EG, Finegold, SM, & Baron, EJ (1986). *Bailey and Scott's Diagnostic microbiology*. (No Title) .
 - **Banas, J. A., & Vickerman, M. M.** (2003). Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 14(2), 89-99.
 - **Bardestani, R.**, Patience, G. S., & Kaliaguine, S. (2019). Experimental methods in chemical engineering: specific surface area and pore size distribution measurements—BET, BJH, and DFT. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 97(11), 2781-2791.
 - **Bazargan, A.**, bazargan, M., & mckay, G. (2015). Optimization of rice husk pretreatment for energy production. *Renewable energy*, 77, 512-520.
 - **Berkowitz, r. J.** (2003). Causes, treatment and prevention of early childhood caries: a microbiologic perspective. *Journal-canadian dental association*, 69(5), 304-307.
 - **Bhakdi, s.**, & tranum-jensen, j. (1988). Damage to cell membranes by pore-forming bacterial cytolysins. *Cytotoxic mediators of inflammation and host defense*, 40, 1-43.
 - **Boholm, M., & Arvidsson, R.** (2016). A definition framework for the term's nanomaterial and nanoparticle. *NanoEthics*, 10, 25-40.
 - **Bowen, W. H.**, & Koo, H. J. C. R. (2011). Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries research*, 45(1), 69-86.

- **Bouma, J.** (2002). Land quality indicators of sustainable land management across scales. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 88(2), 129-136.
- **Burt, b. A.** (2005). Concepts of risk in dental public health. *Community dentistry and oral epidemiology*, 33(4), 240-247
- **Capaccioni, F.,** Coradini, A., Filacchione, G., Erard, S., Arnold, G., Drossart, P., ... & Semery, A. (2015). The organic-rich surface of comet 67P/Churyumov-Gerasimenko as seen by VIRTIS/Rosetta. *Science*, 347 (6220), aaa0628.
- **Caufield, P. W.,** Li, Y., & Bromage, T. G. (2012). Hypoplasia-associated severe early childhood caries—a proposed definition. *Journal of dental research*, 91(6), 544-550.
- **Cawson, RA,** & Odell, EW (2008). *Cawson's essentials of oral pathology and oral medicine e-book*. Elsevier Health Sciences.
- **Clarke, J. K.** (1924). On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *British journal of experimental pathology*, 5(3), 141.
- **Chandrasekhar, S. A. T. H. Y.,** satyanarayana, k. G., pramada, p. N., raghavan, p., & gupta, t. N. (2003). Review processing, properties and applications of reactive silica from rice husk—an overview. *Journal of materials science*, 38, 3159-3168.
- **Christensen, L.,** Vivekanandhan, S., Misra, M., & Kumar Mohanty, A. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Murraya koenigii* (curry leaf): an investigation on the effect of broth concentration in reduction mechanism and particle size. *Advanced Materials Letters*, 2 (6), 429-434.
- **Coats, A. W.,** & Redfern, J. P. (1963). Thermogravimetric analysis. A review. *Analyst*, 88(1053), 906-924.

- **Çolak, H.**, Dülgergil, Ç. T., Dalli, M., & Hamidi, M. M. (2013). Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 4(1), 29.
- **Colle, J.**, fraser, A., marmion, P., & simmans, A. (1996). *Mackiamacartnre practical medical microbiology 14 th ed churchill living stone new york*.
- **Collee, J. G.** (2006). In memoriam—Marler Thomas Parker (1912–2006). *Journal of Medical Microbiology*, 55(8), 971-973.
- **Da Silva, D. A. R. O.**, Zuge, L. C. B., & de Paula Scheer, A. (2020). Preparation and characterization of a novel green silica/PVA membrane for water desalination by pervaporation. *Separation and Purification Technology*, 247, 116852.
- **De Soet, JJ**, Nyvad, B., & Kilian, M. (2000). Strain-Related Acid Production by Oral Streptococci. *Caries research*, 34 (6), 486-490.
- **De souza, m. F.**, magalhães, w. L. E., & persegil, m. C. (2002). Silica derived from burned rice hulls. *Materials research*, 5, 467-474.
- **Della, V. P.**, kühn, i., & hotza, d. (2002). Rice husk ash as an alternate source for active silica production. *Materials letters*, 57(4), 818-821.
- **Devine, d. A.** (2003). Antimicrobial peptides in defence of the oral and respiratory tracts. *Molecular immunology*, 40(7), 431-443.
- **Dai, H.**, Hafner, J. H., Rinzler, A. G., Colbert, D. T., & Smalley, R. E. (1996). Nanotubes as nanoprobes in scanning probe microscopy. *Nature*, 384(6605), 147-150.
- **Dias, A.**, & Ciminelli, V. S. (2000). Analysis of nitrogen adsorption-desorption isotherms for the estimation of pore-network dimensions and structure of ferroelectric powders. *Ferroelectrics*, 241(1), 9-16.
- **Fernandes, I. J.**, calheiro, D., kieling, A. G., moraes, C. A., rocha, T. L., brehm, f. A., & modolo, R. C. (2016). Characterization of rice husk

- ash produced using different biomass combustion techniques for energy. *Fuel*, 165, 351-359.
- **Ferraro, M., & vieira, A. R.** (2010). Explaining gender differences in caries: A multifactorial approach to A multifactorial disease. *International journal of dentistry*, 2010.
 - **Flayyih, a. S., hassani, h. H., & wali, m. H.** (2016). Identification of *Streptococcus Mutans* from human dental plaque and dental caries using 16srna gene. *Iraqi journal of science*, 552-557.
 - **Francie, K. A., Jean-Pierre, K., Pierre, D., Victor, S., & Vladimir, P.** (2015). Stochastic models and numerical solutions for manufacturing/remanufacturing systems with applications to the printer cartridge industry. *Journal of Manufacturing Systems*, 37, 662-671.
 - **Funke, G., & funke-kissling, p.** (2005). Performance of the new vitek 2 gp card for identification of medically relevant gram-positive cocci in a routine clinical laboratory. *Journal of clinical microbiology*, 43(1), 84-88.
 - **Ghattas, m. S.** (2006). Sodium-hypophosphite as a novel reducing agent in the preparation and characterization of silver/silica gel catalysts. *Journal of molecular catalysis a: chemical*, 248(1-2), 175-180.
 - **Gold, O. G., Jordan, H. V., & Van Houte, J.** (1975). The prevalence of enterococci in the human mouth and their pathogenicity in animal models. *Archives of oral biology*, 20(7), 473-IN15.
 - **Hardie, j. M., & whiley, r. A.** (2006). The genus *streptococcus*--oral. *The prokaryotes*, 4, 76-107.
 - **He, D., Ikeda-Ohno, A., Boland, D. D., & Waite, T. D.** (2013). Synthesis and characterization of antibacterial silver nanoparticle-

- impregnated rice husks and rice husk ash. *Environmental science & technology*, 47(10), 5276-5284.
- **He, D.**, Bligh, M. W., & Waite, T. D. (2013). Effects of aggregate structure on the dissolution kinetics of citrate-stabilized silver nanoparticles. *Environmental science & technology*, 47(16), 9148-9156.
 - **Huh, A. J.**, & Kwon, Y. J. (2011). "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of controlled release*, 156(2), 128-145.
 - **Karagöz, A.**, Acar, S., & Korkoca, H. (2015). Characterization of *Klebsiella* isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and determination of antimicrobial resistance with VITEK 2 advanced expert system (AES). *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45(6), 1335–1344.
 - **Khan, I.**, saeed, k., & khan, i. (2019). Nanoparticles: properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.
 - **Kidd, E. A.** (2010). Clinical threshold for carious tissue removal. *Dental clinics*, 54(3), 541-549.
 - **Kidd, EA, & Fejerskov, O.** (2016). *Essentials of dental care*. Oxford University Press.
 - **Klaiber, P.**, Wen, J. H., DeLongis, A., & Sin, N. L. (2021). The ups and downs of daily life during COVID-19: Age differences in affect, stress, and positive events. *The Journals of Gerontology: Series B*, 76(2), e30-e37.
 - **Kolenbrander, PE**, Palmer Jr, RJ, Periasamy, S., & Jakubovics, NS (2010). Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance. *Nature Reviews Microbiology*, 8 (7), 471-480.

- **Krzyściak, W.**, Jurczak, A., Kościelniak, D., Bystrowska, B., & Skalniak, A. (2014). The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 33, 499-515.
- **Kunnath, MP**, & Maduraipandian, M. (2021). Optical X-Ray Diffraction Data Analysis Using the Williamson–Hall Plot Method in Estimation of Lattice Strain-Stress. In *Research Anthology on Synthesis, Characterization, and Applications of Nanomaterials* (pp. 566-578). IGI Global.
- **Lassen, S.**, helmholz, H., ruhnu, C., & prange, A. (2011). A novel proteinaceous cytotoxin from the northern scyphozoa *cyanea capillata* (l.) With structural homology to cubozoan haemolysins. *Toxicon*, 57(5), 721-729.
- **Leela, A.**, & vivekanandan, M. (2008). Tapping the unexploited plant resources for the synthesis of silver nanoparticles. *African journal of biotechnology*, 7(17).
- **Lemos, j. A.**, quivey jr, r. G., koo, h., & abbranches, j. (2013). *Streptococcus mutans*: a new gram-positive paradigm? *Microbiology*, 159(pt 3), 436.
- **Ligozzi, M.**, bernini, C., bonora, M. G., De fatima, M., zuliani, J., & fontana, R. (2002). Evaluation of the vitek 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medically relevant gram-positive cocci. *Journal of clinical microbiology*, 40(5), 1681-1686.
- **Imyim, A.**, & **Prapalimrungsi, E.** (2010). Humic acids removal from water by aminopropyl functionalized rice husk ash. *Journal of Hazardous Materials*, 184(1-3), 775-781.
- **McFadden, J.F.** (2000). biochemical tests for identification of medical bacteria. 1sted Williams and Wilkins Baltimore, USA. *Manual of clinical Microbiology*, ASM, Washington D.C, pp.222-237.

- **Malagoli, D.** (2007). A full-length protocol to test hemolytic activity of palytoxin on human erythrocytes. *Invertebrate Survival Journal*, 4(2), 92-94.
- **Manton, D. J.** (2018). Child dental caries—a global problem of inequality. *Clinical Medicine*, 1, 3-4.
- **Marsh, P. D.** (2004). Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries research*, 38(3), 204-211.
- **Mehta, P. K., & Pitt, N.** (1976). Energy and industrial materials from crop residues. [Heat recovery and production of silica ash from rice hulls and straw]. *Resour. Recovery Conserv. ;(Netherlands)*, 2(1).
- **Mukunthan, k. S., & balaji, s.** (2012). Cashew apple juice (*anacardium occidentale* l.) Speeds up the synthesis of silver nanoparticles. *International journal of green nanotechnology*, 4(2), 71-79.
- **Nayak, P. P., & Datta, A. K.** (2021). Synthesis of SiO₂-nanoparticles from rice husk ash and its comparison with commercial amorphous silica through material characterization. *Silicon*, 13(4), 1209-1214.
- **Niculescu, V. C., & Raboaca, M. S.** (2021). Efficient rice-husk-derived silica nanocatalysts for organic dye removal from water. *Catalysts*, 11(7), 815.
- **Nobbs, A. H., Lamont, R. J., & Jenkinson, H. F.** (2009). Streptococcus adherence and colonization. *Microbiology and molecular biology reviews*, 73(3), 407-450.
- **Ouwehand, A. C., Forssten, S., Hibberd, A. A., Lyra, A., & Stahl, B.** (2016). Probiotic approach to prevent antibiotic resistance. *Annals of Medicine*, 48(4), 246-255.
- **Parandhaman, T., Das, A., Ramalingam, B., Samanta, D., Sastry, T. P., Mandal, A. B., & Das, S. K.** (2015). Antimicrobial behavior of biosynthesized silica–silver nanocomposite for water disinfection: A

- mechanistic perspective. *Journal of Hazardous Materials*, 290, 117-126.
- **Periasamy, S., & Kolenbrander, P.E.** (2010). Central role of the early colonizer *Veillonella* sp. in establishing multispecies biofilm communities with initial, middle, and late colonizers of enamel.
 - **Peros, k., mestrovic, s., anic-milosevic, s., & slaj, m.** (2012). Antimicrobial effect of different brushing frequencies with fluoride toothpaste on *Streptococcus Mutans* and *Lactobacillus* species in children with fixed orthodontic appliances. *The Korean Journal of Orthodontics*, 42(5), 263-269.
 - **Pitts, N. B., zero, d. T., marsh, p. D., ekstrand, k., weintraub, j. A., ramos-gomez, f., ... & ismail, a.** (2017). Dental caries *nat rev dis primers* 3: 17030.
 - **Pitts, N. B., & Zero, D.** (2016). White paper on dental caries prevention and management. *FDI World Dental Federation*, 3-9.
 - **Pode, R.** (2016). Potential applications of rice husk ash waste from rice husk biomass power plant. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 53, 1468-1485.
 - **Radwan, F. F., Gershwin, L. A., & Burnett, J. W.** (2000). Toxinological studies on the nematocyst venom of *Chrysaora achlyos*. *Toxicon*, 38(11), 1581-1591.
 - **Ramalingam, RJ, Appaturi, JN, Pulingam, T., Al-Lohedan, HA, & Al-dhayan, DM** (2020). In-situ incorporation of ruthenium/copper nanoparticles in mesoporous silica derived from rice husk ash for catalytic acetylation of glycerol. *Renewable Energy*, 160, 564-574.
 - **Raju, G. K., & Cooney, C. L.** (1993). A task decomposition approach to using neural networks for the interpretation of bioprocess data. In *Artificial Intelligence in Real-Time Control 1992* (pp. 447-452). Pergamon.

- **Rudney, JD**, Xie, H., Rhodus, NL, Ondrey, FG, & Griffin, TJ (2010). A metaproteomic analysis of the human salivary microbiota by three-dimensional peptide fractionation and tandem mass spectrometry. *Molecular oral microbiology* , 25 (1), 38-49.
- **Swolana, D.**, Kępa, M., Idzik, D., Dziedzic, A., Kabała-Dzik, A., Wąsik, T. J., & Wojtyczka, R. D. (2020). The antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus epidermidis* strains with different biofilm-forming ability. *Nanomaterials*, 10(5), 1010.
- **Sasikala, R.**, & ravindran, v. S. (2013). Antimicrobial activity of scorpaenopsis venosa toxic extracts and its structural elucidation. *J. Chem. Pharm. Res*, 5, 254-259.
- **Scholkmann, F.**, Kleiser, S., Metz, A. J., Zimmermann, R., Pavia, J. M., Wolf, U., & Wolf, M. (2014). A review on continuous wave functional near-infrared spectroscopy and imaging instrumentation and methodology. *Neuroimage*, 85, 6-27.
- **Sharma, S. K., Ghosh, S., Geetha, A. R., Mandal, S., & Mandal, L.** (2019). Cell adhesion-mediated actomyosin assembly regulates the activity of cubitus interruptus for hematopoietic progenitor maintenance in *Drosophila*. *Genetics*, 212(4), 1279-1300.
- **Shi, J., Votruba, A. R., Farokhzad, O. C., & Langer, R.** (2010). Nanotechnology in drug delivery and tissue engineering: from discovery to applications. *Nano letters*, 10(9), 3223-3230.
- **Silverstein, R. M.**, & Bassler, G. C. (1962). Spectrometric identification of organic compounds. *Journal of Chemical Education*, 39(11), 546.
- **Sirelkhatim, A.**, Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., ... & Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide

- nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. Nano-micro letters, 7, 219-242.
- **Socrates, G.** (2004). Infrared and raman characteristic group frequencies: tables and charts. John wiley & sons.
 - **Sotomayor, F. J., Cychosz, K. A., & Thommes, M.** (2018). Characterization of micro/mesoporous materials by physisorption: concepts and case studies. *Acc. Mater. Surf. Res*, 3(2), 34-50.
 - **Smith, L. A., Tumilty, E., Page, L. F., Thomson, W. M., & Gibson, B.** (2018). Children's rights in their oral health care: How responsive are oral health professionals to children's rights. *The International Journal of Children's Rights*, 26(2), 354-378.
 - **Syed, S. A., & Loesche, W. J.** (1972). Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Applied microbiology*, 24(4), 638-644.
 - **Tadano, S., & Giri, B.** (2012). X-ray diffraction as a promising tool to characterize bone nanocomposites. *Science and technology of advanced materials*.
 - **Taniyama S, Arakawa O, Terada M, Nishio S, Takatani T, Mahmud Y et al.** *Ostreopsis sp., a possible origin of palytoxin (PTX) in parrotfish Scarus ovifrons. Toxicon* 42: 29-33, 2003.
 - **Thommes, m.** (2010). Physical adsorption characterization of nanoporous materials. *Chemie ingenieur technik*, 82(7), 1059-1073.
 - **Todkar, BS, Deorukhkar, OA, & Deshmukh, SM** (2016). Extraction of silica from rice husk. *Int J Eng Res Dev* , 12 (3), 69-74.
 - **Tuli, F. J., Hossain, A., Kibria, A. F., Tareq, A. R. M., Mamun, S. M. M. A., & Ullah, A. A.** (2020). Removal of methylene blue from water by low-cost activated carbon prepared from tea waste: a study of adsorption isotherm and kinetics. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 14, 100354.

- **Usgodaarachchi, L.,** Thambiliyagodage, C., Wijesekera, R., & Bakker, M. G. (2021). Synthesis of mesoporous silica nanoparticles derived from rice husk and surface-controlled amine functionalization for efficient adsorption of methylene blue from aqueous solution. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4, 100116.
- **Van Loveren, C.,** Buijs, J. F., & Ten Cate, J. M. (2000). The effect of triclosan toothpaste on enamel demineralization in a bacterial demineralization model. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 45(2), 153-158.
- **Veeruraj, A.,** ravichandran, S., & rameshkumar, G. (2008). Antibacterial activity of crab haemolymph on clinical pathogens. *Trends in applied sciences research*, 3(2), 174-181.
- **Vera, J.,** Siqueira Jr, J. F., Ricucci, D., Loghin, S., Fernández, N., Flores, B., & Cruz, A. G. (2012). One-versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *Journal of endodontics*, 38(8), 1040-1052.
- **Visakh, P. M.,** & Morlanes, M. J. M. (2016). *Nanomaterials and nanocomposites: zero-to three-dimensional materials and their composites.* John Wiley & Sons.
- **Wu, j., li, m.,** & huang, r. (2019). The effect of smoking on caries-related microorganisms. *Tobacco induced diseases*, 17.
- **Wu, K., Werner, AP, Koch, M., Choi, A., Narayanan, E., Stewart-Jones, GB, ... & Edwards, DK** (2021). Serum neutralizing activity elicited by mRNA-1273 vaccine. *New England Journal of Medicine* , 384 (15), 1468-1470.
- **Xigheer, M. H.,** & Sahib, A. A. (2018). Studying Some Factors Affecting in Gingivitis. *journal of kerbala university*, 16(1).
- **Yoo, S. Y., kim, p. S., hwan, H. K., lim, S. H., kim, k. W., choe, s. J., ... & kook, j. K.** (2005). Identification of non-*Mutans streptococci*

organisms in dental plaques recovering on mitis-salivarius bacitracin agar medium. *Journal of microbiology*, 43(2), 204-208.

- **Zhong, Q.**, Inniss, D., Kjoller, K., & Elings, V. B. (1993). Fractured polymer/silica fiber surface studied by tapping mode atomic force microscopy. *Surface Science Letters*, 290(1-2), L688-L692.
- **Zhou, c.**, liu, z., du, x., mitchell, d. R. G., mai, y. W., yan, y., & ringer, s. (2012). Hollow nitrogen-containing core/shell fibrous carbon nanomaterials as support to platinum nanocatalysts and their tem tomography study. *Nanoscale research letters*, 7, 1-11.
- **Zhuravlev, I. T.** (1993). Surface characterization of amorphous silica—a review of work from the former ussr. *Colloids and surfaces a: physicochemical and engineering aspects*, 74(1), 71-90.

الملحق (1) احتمالية تشخيص بكتريا *S. mutans* في جهاز الفايثك

Organism Quantity:

Selected Organism : Streptococcus mutans

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 3.85 hours	Status: Final
Selected Organism	93% Probability Streptococcus mutans Bionumber: 430011547773331	
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	AMY	-	4	PIPLC	-	5	dXYL	+	8	ADH1	+	9	BGAL	+	11	AGLU	-
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	+	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	+	26	PyrA	-	27	BGUR	-
28	AlaA	+	29	TyrA	-	30	dSOR	+	31	URE	-	32	POLYB	-	37	dGAL	+
38	dRIB	+	39	ILATk	+	42	LAC	+	44	NAG	+	45	dMAL	+	46	BACl	+
47	NOVO	+	50	NC6.5	+	52	dMAN	+	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-
57	dRAF	+	58	O129R	+	59	SAL	-	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	-
64	OPTO	+															

الملحق (2) اختبار الحساسية المضادات لعزلات بكتريا *S. mutans* في جهاز الفايثك

Organism Quantity:

Selected Organism : *Streptococcus mutans*

Source:

Collected:

Comments:	

Susceptibility Information	Analysis Time: 18.28 hours	Status: Final
----------------------------	----------------------------	---------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen			Teicoplanin		
Benzylpenicillin			Vancomycin	<= 0.5	S
Oxacillin	1	R	Tetracycline	2	S
Gentamicin	<= 0.5	S	Tigecycline	<= 0.12	S
Tobramycin			Fosfomycin		
Levofloxacin	2	*R	Nitrofurantoin	128*	R
Moxifloxacin	1	*R	Fusidic Acid		
Inducible Clindamycin Resistance			Mupirocin		
Erythromycin	>= 4	R	Rifampicin	1	S
Clindamycin	>= 8	R	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 0.12	S
Linezolid	2	S			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent with correction

Summary

This study included isolating and diagnosing the most important bacteria that cause dental caries, as the isolated bacteria were diagnosed by conventional methods. The aforementioned prepared nanocomposites against bacteria isolated in this study showed the following; From a total of 100 samples taken from the mouth of patients suffering from dental caries in the health center in Al-Abba's neighborhood in Karbala from the period 2-3/2022 to 3/6/2022, 45 isolates of *streptococcus mutans*. the nanocomposites extracted from rice husks were used as an antibacterial and yeast, and the nanocomposites were identified by a number of physical techniques, as the results of the FT-IR spectroscopy showed a shift in the frequencies of some chemical groups towards high and low frequencies. X-ray spectroscopy (XRD) also revealed the emergence of new levels of diffraction in the spectrum of nanocomposites, and it was clear from the results of the examination by atomic force microscopy (AFM) that the average dimensions of the diameters of the particles of nanocomposites were different, while the examination using scanning electron microscopy (SEM) revealed the appearance of irregular spherical and semi-spherical shapes. The nanocomposites prepared from rice husks were used as antibacterial, and the inhibitory activity of the nanocomposites was studied in this study against isolates of *streptococcus mutans*. isolated in this study as well, the results revealed the detection of the inhibitory activity of the nanocomposites against the isolates of *S. mutans* bacteria. This was done using each of the nanocomposites (RH-SiO₂, RH-SiO₂-Ag⁺, RH-SiO₂-Ag⁰_G, and RH-SiO₂-Ag⁰_s) prepared from rice husks at multiplying concentrations of 8 to 1024 mg/ml. The isolates of *S. mutans* bacteria were less sensitive to these nanocomposites, complying with the lowest diameter of inhibition at a concentration of 8 and 16 µg/ml and more resistant to nanocomposites

prepared at a concentration of 1024 $\mu\text{g/ml}$. This was done using each of the nanocomposites (RH-SiO₂, RH-SiO₂-Ag⁺, RH-SiO₂-Ag⁰_G and RH-SiO₂-Ag⁰_S) prepared from rice husks, As the results showed, the toxicity analysis of the prepared nanocomposites revealed that they did not contain a prominent hemolytic component, where the RH-SiO₂ nanocomposite gave a percentage lower than the minimum value of hemolytic activity. The hemolytic activity of the crude poison reached 0.4%, and thus it is non-toxic. As for the nanocomposite RH-SiO₂Ag⁺, it also gave a result of 1.6% less than the minimum level of hemolytic activity, and thus it is considered non-toxic as for the nanocomposite RH-SiO₂Ag⁰_G, it is also non-toxic, with a toxicity value of 0.8. The RH-SiO₂Ag⁰_S nanocomposite is also non-toxic, as the hemolysis test value was 1.064%, which is less than the minimum hemolytic activity for raw toxin



Ministry of Higher Education and Scientific Research
Karbala University
College of Science
Department of Life Science

**The effectiveness of RH-SiO₂-Ag⁺ nanoparticles derived from
RiseHuske plant in inhibiting Isolated *Streptococcus mutans*
from caries patients**

A thesis

Introduction to the College of Science, Council of the College of
Science, University of Karbala, and it is part of requirements for
obtaining a master's degree in life Science by the researcher

Huda Hussein Ali

Supervised by

Assist. Prof.Dr. Khaled Ali Hussein

second supervisor

Prof. Dr. Haider Hamid Mohsen

A.H 1444

A.D 2023