

علم السمية النانوية كأساس لاستخدام التقنيات النانوية

Nanotoxicology as Foundation for Using Nanotechnologies

مقدمة

في عام ٢٠٠٤ قام العالم (Donaldson) وزملاؤه باقتراح فكرة جديدة في علم السموم وهي التي تعتمد على أن سلوك الجسيمات النانوية (Nanoparticles) يكون مختلف عن نظائرها أو مشابهاتها من الجسيمات كبيرة الحجم، وهذا ما يستلعي إنشاء فرع جديد من علم السموم وهو علم السمية النانوية (Nanotoxicology) (Donaldson et al., 2004 a & b). منذ ذلك الحين وقد تعددت اللقاءات العلمية والمؤتمرات بجميع أنحاء العالم حول ذلك الموضوع وهو الأمر الذي تزايد معه استخدام مصطلح السمية النانوية بشكل متزايد في الأبحاث والدراسات المنشورة في ذلك المجال. وفي الحقيقة، فإنه كما أشار العالم (Maynard, 2007) يجب الاعتراف بأن الطريق ما زال طويلاً في هذا المجال من حيث طبيعة المعلومات المطلوب الحصول عليها في ما يتعلق بسمية الجسيمات النانوية على الأنظمة البيولوجية المختلفة وما قد ينتج من تأثيرات قد لا يمكن معرفتها بالوقت الراهن.

أولاً: الخلفية التاريخية

Historical Background

منذ أوائل القرن الماضي استطاعت الدراسات العديدة إثبات خطورة استنشاق الجسيمات دقيقة الحجم العالقة بالهواء على هيئة غبار أو أدخنة وذلك على صحة الإنسان. بناءً على حقيقة تلك التأثيرات بخلافيتها التاريخية، فقد قام العالمان (Maynard and Baron, 2004) بنشرها من خلال اهتمامهم بتعرض الإنسان بالمجال الصناعي لهذه النوعية من الجسيمات. ولم يستمر الحال كثيراً على تلك التأثيرات وإنما بحلول نهاية أعوام الثمانينيات، قد بدأ الباحثون بجميع أنحاء العالم بدراسة تأثير حجم الجسيمات وعلاقتها بما تحدثه من أضرار صحية فيما يتعلق بالجسيمات التي تنطبق عليها القياسات النانوية (التي يتراوح مقياسها ما بين ١ - ١٠٠ نانومتر). ومن أشهر هذه الدراسات ما قام به دراسته العلماء (Oberdörster et al., 1995; Feron et al., 1990). حيثُ، استطاع علماء

آخرون في نفس الفترة الزمنية منذ بداية التسمينيات اكتشاف شكل جديد من عنصر الكربون وهو ما يُطلق عليه أنابيب الكربون النانوية (Carbon nanotubes) حيث تمكن بعض العلماء وصف هذه الحالة من الكربون بأن ذرات الكربون يتم ترتيبها في تراكيب تشابه الأنابيب على هيئة صفائح أو ألواح من الجرافيت تصل دقة أقطارها إلى أقل من ١ نانومتر وأطوالها تتجاوز عدة مئات من النانومترات (Tijime, 1991). حينذاك بدأت أبحاث أخرى تهتم بدراسة تأثير استنشاق هذه الجسيمات الكربونية وغيرها من الألياف ذات المقياس النانوي (Nanoscale fibers) (Lan et al., 2006). وفي الفترة نفسها الزمنية في منتصف التسعينيات، استطاع العديد من العلماء المتخصصون في علم الوبائيات من تفسير نتائج بعض الحوادث والتأثيرات الصحية السلبية وحالات الوفيات الناتجة والتي اتضح من بعدها أنها تعود إلى استنشاق العديد من الجسيمات الدقيقة وما أحدثته من تأثيرات ممرضة على أجهزة أوعية القلب (Cardiovascular systems) (Dockery et al., 1993; Seaton et al., 1995). منذ ذلك الحين وقد بدأ العديد من كبار العلماء في علم السموم بوضع خطط بحثية بشكل منتظم تتركز على دراسة العلاقة بين حجم الجسيمات المستنشقة، تركيبها واستجابة الرئة لها كأساس علمي يمكن من خلاله فهم كيفية إحداث الجسيمات النانوية لتأثيراتها السلبية على العديد من وظائف الجسم (Oberdörster et al., 1995; Lison et al., 1997; Fubini et al., 1998).

أ) سلوك المواد النانوية وعلاقتها بحجمها Behavior of Nanoparticles and the Relation With Their Size

بصفة عامة، لوحظ أن تقنية النانو تعتمد على استغلال خصائص الحجم المتخصص للجسيمات النانوية والتي من أهمها ما تختص به من تأثيرات كمية الطاقة التي تحملها هذه الجسيمات من جهة وبين ما تحدثه من تأثيرات على الأنظمة البيولوجية التي تعتمد على أحجام هذه الجسيمات من جهة أخرى. وفي الحقيقة، فإن ارتباط الفعل البيولوجي واعتماده على حجم الجسيمات النانوية تعتبر من الخصائص الفريدة التي تختص بها هذه الجسيمات دون غيرها من المواد؛ نظراً للدقة المتناهية التي من أجلها أطلق عليها مصطلح (نانو) ومن ثم تكون لهذه الجسيمات خصائص ميكانيكية وفيزيائية مختلفة عن غيرها من الجسيمات الكبيرة حتى ولو كانت من نفس المادة. بناءً على هذه الحقائق، فقد أثبتت الدراسات الحديثة أن الجسيمات النانوية قد أظهرت سلوكاً بيولوجياً من نوع فريد يقتصر عليها فقط دون غيرها من جسيمات المادة التي تزداد عنها في الحجم. ومن أوضح الأمثلة الدالة على ذلك، هو مقدرة الجسيمات النانوية على العبور والنفاذ خلال العديد من الحواجز البيولوجية التي تكون غير نافذة ولا تسمح بعبور الجسيمات كبيرة الحجم. ومن الأدلة الواضحة على ذلك هو ما أشارت إليه الدراسات التي قام بها العديد من العلماء (Oberdörster et al. 2004; Elder et al., 2006) والتي اتضح من خلالها إمكانية تحرك الجسيمات النانوية من خلال أعصاب الشم لتصل إلى المخ في الفوارض. من خلال نتائج هذه الدراسات وغيرها يتضح مدى إمكانية الجسيمات النانوية من أن تتداخل مع العديد من الوظائف البيولوجية في جسم الكائنات الحية.

إضافة لما سبق ، فقد قام علماء آخرون بإجراء دراسات تعتمد على استخدام برامج كمبيوتر متخصصة للتنبؤ بتأثير جزيئات الكربون 6٠ (C₆₀) (وهي ما يُطلق عليها جسيمات الفوليرينات) من حيث إحداثها للضرر على الحمض النووي (DNA) إذا تعرضت الخلايا لهذه الجزيئات (Zhao et al., 2005). أيضاً ، فقد افترض العالم (Lynch et al., 2006) أن ادمصاص البروتينات على الجسيمات النانوية قد يؤدي إلى إحداث تغيير في شكل هذه البروتينات بالقدر الذي ينتج عنه أن الأحماض الأمينية التي يجب أن تكون مخفية (مختبئة) في الحالة الطبيعية ، فإنها بعد ادمصاص البروتينات على الجسيمات النانوية ، تصبح هذه الأحماض الأمينية ظاهرة ومن ثم يعتبرها الجسم من المواد الغريبة ومن ثم ينتج عن ذلك استجابة للجهاز المناعي من جهة أخرى ، فقد أشار العالمان (Monteiro-Riviero and Inman 2006) إلى أن التفاعلات التي قد تحدث بين الجسيمات النانوية قد ينتج عنها عملية إرباك واختلاط في تفسير النتائج المتحصل عليها من تأثير المواد الكربونية النانوية على الجلد.

من نتائج هذه الدراسات وغيرها الكثير يتضح أن هناك تزايد كبير في الأدلة التي تشير إلى وجود علاقة واضحة تربط بين حجم المواد النانوية وبين نشاطها البيولوجي بالقدر الذي ينبغي معه تخصيص فرع من علم السموم يطلق عليه فرع السمية النانوية (Nanotoxicology). بناءً على ذلك ، فإنه تبعاً لهذه الخاصية الفريدة لتلك الجسيمات من حيث سلوكها ونشاطها ، كان يجب إيجاد أدوات جديدة مستحدثة يمكن من خلالها فهم وإدراك بل والتنبؤ بكيفية حدوث التفاعل بين الجسيمات النانوية التي يتم تقييمها هندسياً وبين الإنسان وما يحيط به من أنظمة بيئية. إضافة لما سبق ، فإنه يجب أن تتضح الصورة بأن هناك العديد من العوامل التي تؤثر على طبيعة التفاعل بين الجسيمات النانوية وبين الأهداف البيولوجية. ومن أهم هذه العوامل تلك المتعلقة بشكل الجسيم وهو الذي يحدد سلوك الجسيم بداخل النظام البيولوجي ، أيضاً ، طبيعة التركيب الكيميائي للجسيم وطبيعة انتظام جزيئاته المكونة له وغير ذلك من عوامل يجب أخذها في الاعتبار ليس فقط قبل تحضير الجسيمات النانوية وإنما أيضاً للتفكير في كيفية اختبار تأثيرها أثناء وبعد إدخالها للنظام البيولوجي المختبر سواء أكان ذلك النظام مزرعة خلوية أم أحد النماذج الحيوانية المستخدمة. ونظراً لأهمية تلك الجزئية ، فقد استطاع العالم (Oberdörster et al., 2005 a & b) من تحديد ١٧ عامل يجب أخذهم في الاعتبار عند تقييم سمية أي جسيم من الجسيمات النانوية. تلك العوامل تتمثل في حجم توزيع الجسيم ، شكل الجسيم ، مساحة السطح للجسيم ، التركيب ، كيمياء سطح الجسيم ، مدى تلوث سطح الجسيم ، العلاقة بين شحنة الجسيم ومدى وجوده في معلق ، العلاقة بين شحنة الجسيم ومدى وجوده على هيئة مسحوق ، التركيب البللوري له ، التركيب الطبيعي والكيميائي للجسيم ، حالة التجمع للجسيم ، مسامية الجسيم ، طريقة إنتاج الجسيم ، طريقة التحضير المتبعة ، مدى تجانس الجسيمات ، الفترة السابقة لتخزينه وتركيزه. جميع هذه العوامل تبين أنها هي التي تحدد مدى استجابة النظام البيولوجي للجسيم النانوي المختبر.

ونظراً لأهمية تلك الجزئية، فقد اتضح أنه عند اختبار سمية الجسيمات النانوية باتباع التقنيات التقليدية المعتمدة على العلاقة بين الجرعة والاستجابة واعتماداً على التركيب الكيميائي للجسيم النانوي المختبر وبين تركيز كتلته، فقد اتضح أن هناك انحرافاً كبيراً وجوهرياً في طبيعة النتائج المتحصل عليها. بناءً على ذلك، فقد كان ولا بد من اتباع نظم اختبارية جديدة ومتخصصة قادرة على كشف التغيرات البيولوجية التي تحدثها الجسيمات النانوية.

ب) تحديات علم السمية النانوية *Challenges of Nanotoxicology*

في البداية يجب التنويه إلى أن مجال البحث في السمية النانوية يتطلب من الباحثين والعلماء التعامل مع مواد لها سلوك غير طبيعي وغير تقليدي كما يتطلب ذلك المجال إجراء المزيد من التعاون مع الخبراء المتخصصين في مجالات غير مألوفة. وفي الحقيقة، فإن التحديات التي تواجه عمليات البحث والدراسة في مجال السمية النانوية، اتضح أنها تحديات ذات معنوية وذات درجة كبيرة من الجدية إلا أن تلك التحديات من الممكن اتخاذها كمحفزات ومنشطات للباحثين من أجل دفعهم للبحث عن تقنيات حديثة وتحقيق المزيد من التقدم للمساعدة على فهم سلوك الجسيمات النانوية بداخل البيئة البيولوجية. وعلى الرغم من شدة الاحتياج لحدوث تقدم ملموس في ذلك المجال إلا أنه في الوقت نفسه يجب أن تكون هناك إدارة وحسن تصرف بل والتحكم في عملية ظهور مواد نانوية جديدة قد يتم هندستها وتكوينها وتصنيعها والتي من المتوقع أن تقوم بغزو الأسواق.

وفي ذلك المجال، فإنه في أحد الأوراق البحثية التي قام بها العالم (Maynard et al., 2006) والتي تم نشرها في الدورية العلمية الدولية (Nature) اتضح من خلالها أن هناك ١٤ عالم قد أوضحوا عن آرائهم في موضوع التقنيات النانوية والتي قد قاموا بتشبيهها بالشبح وقالوا أن من الممكن أن يكون ضاراً سواء أكان ذلك الشبح حقيقي أم من وحي الخيال وهذا ما قد يهدد بإبطاء عملية التطور في التقنية النانوية حتى يمكن الوصول إلى مرحلة الاستقرار والاستقلال وإمكانية الوصول إلى معلومات رسمية موثقة تشير إلى طبيعة المخاطرة وكيفية تجنبها إن وجدت. ومن خلال نفس الورقة البحثية، فقد تمت الإشارة إلى خمسة تحديات كبيرة تكون بمثابة العوائق الكبيرة أمام عملية التطور في مجال التقنيات النانوية. من ضمن هذه التحديات تلك المتعلقة بضرورة إيجاد استراتيجية اختبارية جديدة يمكن من خلالها الكشف عن ما تحدثه الجسيمات النانوية من تأثيرات سامة بل والتنبؤ بتلك التأثيرات. أيضاً، هناك تحديات تتعلق بعملية رصد واستكشاف عملية التعرض لهذه المواد وكذلك معرفة وتقييم دورة حياة الجسيمات النانوية وغير ذلك من تحديات اتضح أنه يجب التغلب عليها أو إيجاد حلول لها حتى يمكن الوثوق بتلك التقنيات وتوجيهها في مسارها السليم الذي يعود على الإنسان وبيئته بالنفع.

ثانياً: تراكيب ومكونات أنابيب الكربون النانوية ودورها في دراسات السمية

Structures and Compositions of Carbon Nanotubes and their Implications in the Toxicological Studies

أشار العالم (Alexander, 2007) بأنه منذ نهايات الثمانينيات كانت هناك كميات ضخمة من الأموال علاوة على ما تم بذله من جهود في مجال البحث والتطوير لأنابيب الكربون النانوية (Carbon nanotubes, CNT) ومن ثم فقد تم الإعلان عنها كمواد جديدة لها خصائص فريدة وعليه لها العديد من التطبيقات التي تنفرد بها بالعديد من المجالات. علاوة على ذلك، فإنه منذ عام 1991م كان عدد الدراسات البحثية والأبحاث التي تم نشرها في مجال أنابيب الكربون النانوية قد تزايد بشكل سريع وكبير بالقدر الذي وصل عدد هذه الأبحاث حتى شهر سبتمبر عام 2006 إلى 21,236 بحث بمعدل نشر وصل إلى 100 بحث/أسبوع وهذا ما يمكن التحقق منه من خلال الشبكة الدولية للمعلومات بالموقع (ISI web of knowledge, Thomson scientific 2007). ونظراً لذلك، فقد تزايدت معدلات إنتاج أنابيب الكربون النانوية على مستوى العالم لتصل إلى 100 طن في عام 2004 بل وتزايد أكثر لتصل إلى ما يقرب من 294 طن في عام 2005 (Scientific, 2005). ومن خلال تلك الإحصائيات، فقد اتضح أن الأسواق الشرقية والآسيوية تعتبر من أوائل الأماكن التي يتم فيها إجراء الدراسات المتخصصة وأيضاً عمليات إنتاج أنابيب الكربون النانوية وهذا ما أدى إلى توقع أن تكون كوريا بالتحديد من أكبر الدول في العالم في إنتاج أنابيب الكربون النانوية في عام 2010.

من جهة أخرى، فإنه مع هذه المستويات الكبيرة والجديدة من الاستثمار، فليس من الغريب بمكان أن تنشأ العديد من التساؤلات الخاصة باحتمالية نشوء وتزايد سمية هذه المنتجات النانوية وذلك كما أشار إليه العالم (Donaldson et al., 2006). بناءً على ذلك، فقد كان وما زال من الأمور المهمة إجراء دراسات مسبقة لتقييم التأثيرات السامة الناتجة من تعرض الإنسان لهذه المنتجات النانوية سواء أثناء التصنيع أو الاستهلاك أو حتى التعرض لتفانياتها. وعلى أية حال، فإن أنابيب الكربون النانوية أصبحت الآن في مجال الاستخدام بالعديد من المجالات مثل استخدامها كمواد ثانوية بملأها الفراغ (مواد حشوية Fillers) للألواح البلاستيكية بهدف تشتيت الشحنة أثناء عملية الرش لدهان السيارات وكذلك أثناء صناعة السيارات الحديثة. أيضاً، فإن أنابيب الكربون النانوية تستخدم في صناعة الأقطاب المستخدمة في بطاريات الليثيوم وصناعة مضارب التنس وإطارات الدراجات.

بناءً على ذلك، فقد أصبح هناك جدال واسع بين المتخصصين في مجال علم السموم من حيث هل يجب اعتبار هذه المنتجات على كونها مجرد ألياف أم يجب اعتبارها على كونها جسيمات نانوية؟ في الحقيقة، ذلك الجدال اتضح أنه من الأهمية بمكان نظراً لكثرة واتساع مجالات استخدام هذه المنتجات والتعرض لها.

وفي لحظة سريعة عن تركيب أنابيب الكربون النانوية، فإنها تبدو غير معقدة حيث تأخذ الشكل الأنبوبي الناتج من تجميع لعدد من ذرات الكربون (الشكل ٢.١ و ٢.٢). وعلى الرغم من ذلك، فقد اتضح أن هناك تبايناً

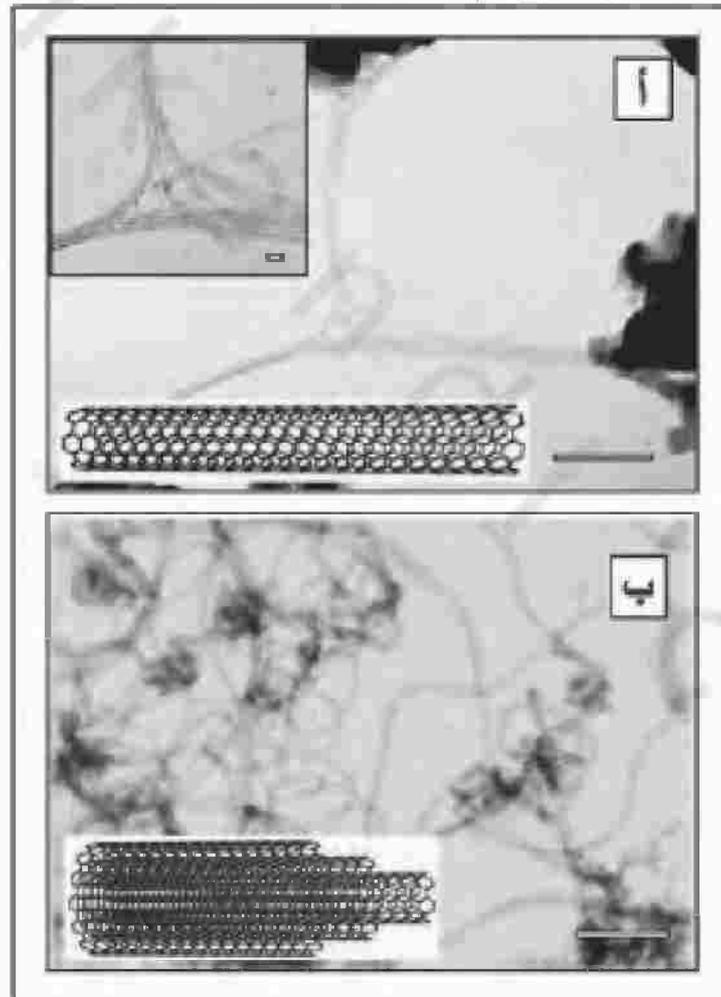
كبيراً وضخماً في الخصائص الطبيعية والكيميائية لهذه التراكيب النانوية للكربون من واقع ما تم فحصه ودراسته من عينات. بمعنى آخر، فهناك بعض الدلائل التي تشير إلى أن هذا التباين والاختلاف في الخصائص الطبيعية والكيميائية هو السبب من وراء التباوت الكبير الموجود في نتائج الدراسات التي تم إجراؤها في مجالسمية هذه المواد. بمعنى آخر، اتضح أن أنابيب الكربون النانوية يتم صنعها بواسطة العديد من الشركات وبطرق مختلفة ومن ثم، فهي تحتوي على كميات مختلفة من الشوائب الناتجة عن الوسائل التصنيعية المتبعة والتي تبين أنها وسائل عديدة وهو الأمر الذي يتبعه عدم التجانس بقدر كبير فيما بين العينات المأخوذة للدراسة. بناءً على تلك المشاهدات، فقد كان من الأمور الحتمية أن يتم في البداية دراسة خصائص الأنابيب النانوية في ذاتها ومن داخلها بمعنى أنه يجب معرفة خصائص أنبوبة الكربون النانوية القياسية (النموذجية) ومن بعد ذلك يمكن فهم خصائص ما يتم تصنيعه وإنتاجه ومطابقة خصائصه وعليه يمكن إجراء مقارنة حقيقية فيما بين الحالتين (النموذجية) والفعلية.

أ) التركيب الفعلي لأنبوبة الكربون النانوية Intrinsic Structure of Carbon nanotube

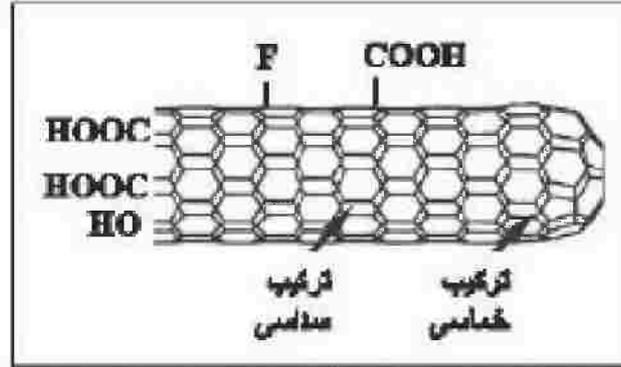
توجد أنواع عديدة من أنابيب الكربون النانوية ولكن أبسط هذه الأنواع تلك المكونة من جدار واحد ولذلك يُطلق عليها (Single-walled CNT (SWCNT) وهي عبارة عن صفحة أو لوح منفرد من الجرافيت ملفوف ومتجمع يعطي شكلاً اسطوانياً غير ملحوم وذلك كما وصفه العالم (Dai, 2002 a & b) أما إذا كانت عدد الألواح أو الصفائح الجرافيتية الملفوفة والمتجمعة معاً استطاعت أن تكون أنابيب متحلدة المركز، فإن الناتج سيكون عبارة عن أنابيب كربون نانوية متعددة الجدران (Multi-walled CNT (MWCNT) (انظر الشكل رقم ٢،١). وقد أمكن قياس المسافة بين الإسطوانات المكونة في الأنابيب متعددة الجدران واتضح أنها قريبة من مقياس ألواح الجرافيت نفسها والتي تقدر بحوالي (٠.٣٤ نانومتر). وحدثياً، فقد أمكن إنتاج أنابيب كربون نانوية ذات جدارين (مزدوجة الجدران) (Double-walled CNT (DWCNT) واتضح أنها ذات أهمية كبيرة؛ بسبب ما تقدمه من مميزات تتلخص في أن الجدار الخارجي هو الذي يرجع إليه الناحية الوظيفية من حيث الاتحاد مع غيره من الأنابيب أما الجدار الداخلي فيكون سليم. وفيما يتعلق بالأطراف النهائية للأنابيب، فهي إما أن تكون بدون سدادة أو تنتهي بسدادة عبارة عن قشرة منحنية من الجرافيت. وعلى العكس من ذلك التركيب، فإن الألياف الكربونية تكون عبارة عن شرائط من الألواح الجرافيتية التي تتواجد على هيئة طبقات تعطي في النهاية الشكل العام لليفة. وبالعودة إلى طبيعة تركيب الأنبوبة الكربونية النانوية، فهي مكونة بدورها من جزئيات وذرات من الكربون تأخذ الشكل سداسي الأضلاع ومن ثم فإن هذه الأشكال ذوات الأضلاع المستمدة تؤدي إلى إنتاج العديد من الأشكال ذات التراكيب المختلفة.

إضافة إلى ما سبق، فقد اتضح أن أنابيب الكربون النانوية تميل إلى أن تتكثرت أو تتجمع بهدف تعظيم أو ازدياد معدلات تلامسها مع غيرها من طبقات الجرافيت وهذا بدوره ما ينتج عنه نشوء حزمة أو رزمة تساهم في إعطاء صفة عدم الذوبانية لهذه الأنابيب النانوية. بناءً على ذلك، فقد اتضح أن هذه الأنابيب النانوية شديدة المقاومة للهجوم الكيميائي من أي مركب آخر وقد لوحظ أنه يمكن أن تتعرض للاحتراق ولكن بداية من درجة

حرارة تبلغ ٥٠٠ درجة مئوية (Zhang et al., 2002). وبالعودة إلى أنواع الأنابيب النانوية، فقد اتضح أن الأنابيب النانوية أحادية الجدار تكون أضعف الأنواع وذلك بسبب أن الجرافيت المكون للجدار يكون شديد الانحناء ومن ثم يكون مشدود بصورة قوية كما وصفه العالم (Lin et al., 2003). أيضاً، فقد لوحظ أن نهايات الأنابيب عندما تكون متتية بوجود غطاء أو سداة، فإن هذه النهاية تكون شديدة الانحناء ومن ثم تكون نطف ضعف يمكن مهاجمتها كيميائياً بنفس درجة الأنابيب النانوية التي لا تحتوي على أية نهايات. علاوة على ما سبق، فإنه بموازاة الحلقات الجرافيتية سلسلة الأضلاع، فإن السدادات الموجودة في نهايات التراكيب الأنبوبية قد تحتوي على حلقات خماسية أو سداسية الأضلاع والتي تعتبر أي منهما (خماسية أو سداسية) من النقاط النشطة كيميائياً كما أشار إلى ذلك العلمان (Ajayan and Ebbesen, 1997) (انظر الشكل رقم ٢،٢).



الشكل رقم (٣،١). صورة من الميكروسكوب الإلكتروني الماسح (TEM) لأنابيب الكربون النانوية أحادية الجدار (أ)، و أنابيب كربون نانوية عديدة الجدران (ب). وفي الصورة يضح تكبير حجم من هذه الأنابيب (تقلاً عن Montebro-Silveiro and Tran, 2007).



الشكل رقم (٢،٢). رسم تعطي يوضح الشكل العام لتركيب انبوبة الكربون النانوية ويصح النهاية الطرفية وبعض العيوب مثل التركيب الخماسية وكذلك أيضا لبعض المتعاضد الكيميائية العنلة (تقلاً من Naitiro-Riviere and Tran, 2007).

وأثناء عمليات التصنيع ، قد تكون هناك عيوب أو خلل في طبيعة أطراف الحلقات سدسة الأضلاع بالجدار المكون للأنبوبة النانوية وهذا ما يؤدي إلى نشوء نقاط حرجة وأكثر قابلية للتفاعلات الكيميائية. وقد أشار العالمان (Radovic and Bockrath, 2005) إلى أن مثل هذه العيوب التصنيعية يمكن تبيتها وعلاجها من خلال تفاعلات امتصاص للأكسجين. من أجل ذلك، فقد أمكن التوصل إلى وسيلة هامة للتعرف على الكمية النسبية من الكربون غير الجرافيتي (Nongraphitic carbon) إلى الكربون الجرافيتي (Graphitic carbon) في الأنابيب النانوية من خلال استخدام جهاز (Raman spectroscopy) والذي من خلاله يوضح أن الحزمة من النوع (G) تدل على نسبة الكربون الجرافيتي بينما الحزمة (D) تدل على نسبة الكربون غير الجرافيتي وهو الذي يعتبر بمثابة شوائب أو ناتج عن عيوب في عملية تصنيع الأنابيب النانوية.

ب) أنابيب الكربون النانوية من الفاحية التطبيقية The Practical Side of Carbon Nanotubes

إن عملية تخليق أنابيب الكربون النانوية التصح أنها من العمليات الحرجة والتي تتميز بصعوبة من حيث ضرورة الحصول على تركيب متجانسة والإقلال بقدر المستطاع من النواتج الثانوية والشوائب وما يترتب على ذلك من احتمالية إحداثها لتأثيرات سامة. وبالنسبة لبعض مواصفات ما يتم إنتاجه من أنابيب نانوية. فإن قطر الأنبوبة الواحدة يعتمد على طبيعة عملية التخليق ولكن بصفة عامة يتراوح العرض ما بين ٠.٧ - ٣ نانومتر، وذلك بالنسبة للأنابيب أحادية الجدار (Jorio et al., 2001) بينما يتراوح العرض ما بين ١٠ - ١٠٠ نانومتر في الأنابيب متعددة الجدران (Hou et al., 2003). وفيما يتعلق بأطوال هذه الأنابيب النانوية، فهي تتراوح ما بين عدة نانومترات قليلة إلى عشرات من النانومترات ولكن لوحظ أن هذه الأنابيب يمكن أن تتجمع وتعمل على تكوين حزم تكون في النهاية ذات أبعاد أكبر من حيث الطول أو العرض.

إضافة إلى ما سبق، فإن أنابيب الكربون النانوية التصح أن مساحة سطحها كبيرة جداً وذلك تبعاً للتركيب والأبعاد بالغلة الدقة التي سبق ذكرها ومدى القابلية لتكوين حزم. وعلى أية حال، فإن مساحة السطح يمكن أن يتم قياسها باستخدام أجهزة قياس يُطلق عليها (Adsorption isotherm instruments, (BET isotherm)). ومن هذه الأجهزة

اتضح أن القيم النظرية لمساحة سطح أنابيب الكربون النانوية أحادية الجدران غير المترابطة تصل إلى ١٣٠٠ م^٢/جرام، بينما مساحة السطح للأنابيب النانوية متعددة الجدران تصل إلى ما بين ١٠٠ - ٨٠٠ م^٢/جرام وذلك تبعاً لما تم تقديره بواسطة العالم (Peigney et al., 2001). ونظراً إلى وجود احتمالية تكوين حزم تجمع بين الأنابيب النانوية منفردة الجدران، فإن ذلك لوحظ أنه يعمل على تقليل مساحة السطح الإجمالي لها (للحزمة المتكونة) لتكون في حدود (٣٠٠ م^٢/جرام) (Ye et al., 1999).

وفيما يتعلق بطرق تخليق أنابيب الكربون النانوية، فهناك ثلاث طرق، التفريغ القوسي (Arc-discharge)، البتر أو الإستصصال باستخدام الليزر (Laser ablation) والترسيب الكيميائي للبخار [Chemical vapor deposition (CVD)] وهي من أشهر الطرق في تخليق أنابيب الكربون النانوية (Popov, 2004). وعموماً، فإن عملية التخليق للأنابيب النانوية من خلال استغلال أجزاء من الكربون التي يعاد تجميعها لتكوين الأنابيب تعتبر من الطرق المتبعة ولكن في وجود محفزات معدنية ودرجات حرارة شديدة الارتفاع (٥٠٠ - ١٢٠٠ م) وفي هذه الطريقة (طريقة التكوين) للأنابيب يلاحظ ضرورة وجود ثلاثة مكونات رئيسية، المكون الأول وهو مصدر الكربون والذي من الممكن أن يكون ميثان، ميثانول، أسيتلين، بنزين أو أول أكسيد الكربون. المكون الثاني وهو عبارة عن المدعم الحفاز (Catalyst support) وهو من الممكن أن يكون سطح مستوى مثل ثاني أكسيد السيليكون (SiO₂) والذي يستخدم بهدف الاصطفاف الرأسي.

أيضاً، يتم استخدام مسحوق من جسيمات ناعمة مثل أكسيد الماغنيسيوم، معدن الطمي (Zeolite) أو الألومينات (Aluminates) أو السيليكات. وقد لا يتم استخدام أي مدعم حفاز في حالة ما إذا كان المعدن الحفاز يتم تكوينه على هيئة أيروسول (Nikolnev et al., 1999). أما المكون الثالث فهو عبارة عن المعدن الحفاز (Metal catalyst) وعادة ما يتم استخدام المعادن القابلة للتحويل في صورتها مثل الحديد، والكوبلت، والنيكل، والموليبدنم، وقد يتم استخدام خلاط أو سائل بينهم. وفي الحقيقة، فإن تحديد نوع المعدن وشكله يعتمد على نوعية الطريقة التي سيتم اتباعها في عملية التخليق وأيضاً على نوع المدعم الحفاز المستخدم (Rao und Govindaraj, 2002). إضافة إلى المكونات السابقة، فقد يتم استخدام مواد مضافة مثل أحد الغازات الحاملة الحاملة مثل غاز الأرجون أو مادة مختزلة مثل غاز الهيدروجين أو مثيرات للإنتاج مثل بخار الماء.

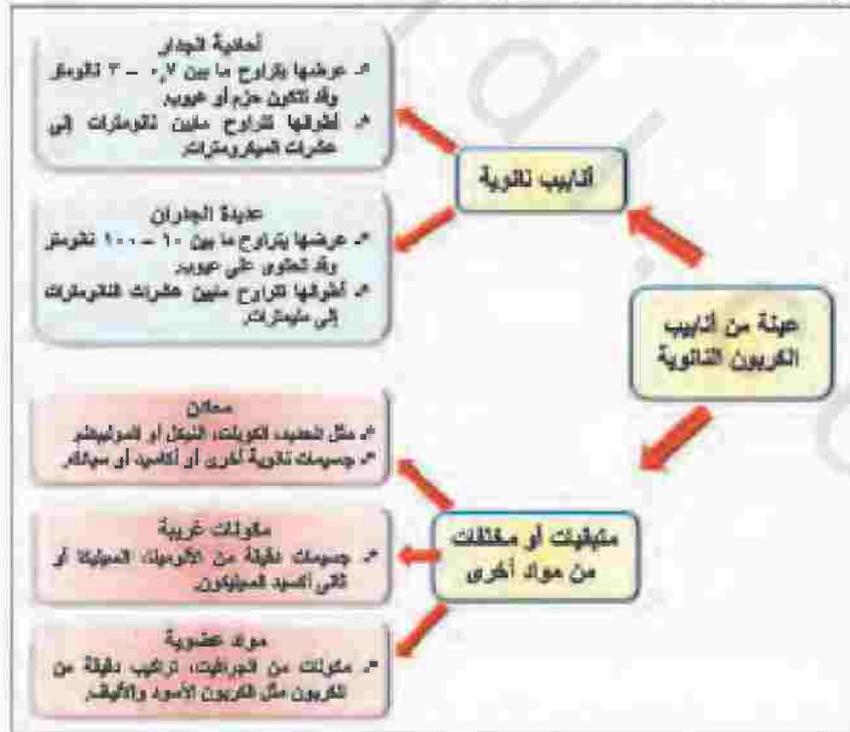
وفيما يتعلق بطبيعة وجود الكربون، فيتم تكوينه من خلال المصدر المستخدم المحتوي على الكربون خاصة عند وجود العامل الحفاز والذي يحفز عملية الانحلال وتكوين جزيئات من الكربون التي تتحد معاً لإنتاج أنابيب الكربون النانوية. وبالنسبة لطبيعة المنتج النهائي من الأنابيب النانوية، فقد اتضح أنها قد تحتوي على كمية من الشوائب لا يمكن اعتبارها من الأنابيب النانوية وذلك كما هو موضح في (الشكل رقم ٢،٣). ولعرفة تفاصيل أبعاد الأنابيب النانوية المتكونة ومدى احتوائها على متبقيات من مكونات غير نانوية، فيمكن استخدام الميكروسكوب الإلكتروني المسح

[Scanning Electron microscopy (SEM) أو الميكروسكوب الإلكتروني النفاذ (Transmission Electron microscopy (TEM)]. وعموماً، فقد أشارت الخبرات أن استخدام الميكروسكوب الإلكتروني من الوسائل التي تستهلك وقتاً كما أنها تقوم بفحص كمية ضئيلة من العينات التي يتم إنتاجها. أما عن طبيعة المحتوى الكربوني الكلي فيمكن قياسه بواسطة جهاز يطلق عليه [Thermogravimetric analysis (TGA)] وهو من الأجهزة القادرة على التمييز بين أنابيب الكربون النانوية وبين الأنواع الأخرى من الكربون والتي قد تتعرض للاحتراق عند درجات حرارة مختلفة.

ج) عمليات المعالجة بعد الإنتاج Postproduction Processing

١- التقيية Purification

بصورة مختصرة، أشارت خبرات عمليات تصنيع الجسيمات النانوية خاصة أنابيب الكربون النانوية إلى أنه تبعاً لنوع التقنية المتبعة لما يتم إنتاجه قد يتم إجراء عمليات تنقية بواسطة طرق كيميائية وأخرى فيزيائية والتي تتطلب قدر كبير من الطاقة. ومن أولى الخطوات العملية للتنقية هو اختبار قدرة ما تم إنتاجه من أنابيب كربون نانوية من حيث مقاومتها للظروف القاسية والتي من خلالها يمكن التخلص من الشوائب التي لا تتحمل هذه الظروف والتي تتحول آنذاك إلى قطع، وتشتت وتتغير صورتها (يتم أكسبتها). ومن ثم يتم إزالتها من خلال الترشيح أو الغسيل أو الطرد المركزي. ومن ضمن هذه المعاملات تلك التي تشتمل على استخدام الحرارة المرتفعة في وجود مواد مؤكسدة أو أحماض وذلك لفترات زمنية أحياناً تكون طويلة.



الشكل رقم (٤,٣). رسم تخطيطي يوضح المكونات التي من الممكن وجودها في عينة من عيّنات أنابيب الكربون النانوية (تقريباً من Montoro-Riviere and Tran, 2007).

وفي الحقيقة، فإن أنابيب الكربون النانوية اتضح أنها غير معصومة من الإفلات من هذه الظروف القاسية بشكل كامل حيث قد يتعرض بعضها إلى حدوث الضرر أو إلى أكسدة. وعموماً، فمن أكثر نقاط الضعف في هذه الأنابيب تلك المحتوية على الخنازات شديدة خاصة أنابيب الكربون النانوية أحادية الجدار (SWCNT). علاوة على ذلك، فإن التصنيع والمعالجة قد تسبب في إحداث بعض العيوب مثل فقدان ذرات كربون وبمجاميع فعالة أخرى مثل مجاميع الكربوكسيل. بناءً على تلك الحقائق والعيوب، فإن ذلك قد يؤدي إلى وجود نقاط ضعف كيميائية كافية لحدوث انقسام في الأنابيب النانوية المتكونة. وفي الحقيقة، فقد تكون الأنابيب النانوية القصيرة المتكونة نتيجة تلك الانقسامات من المنتجات المطلوبة أحياناً، وعلى هذا الأساس فإن المنتج النهائي من الجسيمات النانوية يجب أن يتضمن نسبة متفاوتة من المكونات.

٢- التفعيل والاشتقاق Functionalization and derivatization

من ضمن التواحي التطبيقية الجذابة التي تتميز بها أنابيب الكربون النانوية هو إمكانية اعتبارها واستخدامها كمواد بنائية يمكن استخدامها بنجاح في مجالات كثيرة من تفاعلات الكيمياء التخليقية. ومن ضمن هذه التفاعلات تلك المعتمدة على اشتغال أنابيب الكربون النانوية لتخليق مجاميع كيميائية بهدف تحسين خصائصها ومن ثم تداولها وهذا في الحقيقة من المواضيع الخارجة عن اهتمام ذلك الكتاب ولكن يمكن للقارئ والمهتم بهذه الجزئية الرجوع إلى بعض المقالات المتخصصة في تلك الجزئية مثل ما نشره العلماء (Klump et al., 2006, Tasis et al., 2006). ومن الناحية العلمية، فإن الاشتقاق يوجد منه نوعان، نوع فيزيائي (غير تساهمي Non covalent) ونوع كيميائي (تساهمي Covalent أو أيوني Ionic) وبالنسبة لعمليات الاشتقاق الفيزيائي فيشمل استخدام المواد ذات النشاط السطحي (Surfactants)، بهدف إجراء عملية تثبيت للأنابيب النانوية. وبالنسبة لعمليات الاشتقاق الكيميائي، فهي تختلف عن الاشتقاق الفيزيائي في طبيعة الروابط حيث تكون الروابط التي تتكون نتيجة استخدام المواد ذات النشاط السطحي من نوع الروابط غير التساهمية والتي يتج عنها قوى الترابط التي يُطلق عليها قوى فاندرفالز (Van der Waals forces).

ومن الناحية العملية، فقد لوحظ أن استخدام المواد ذات النشاط السطحي له العديد من الفوائد التي تزيد من استخدام أنابيب الكربون النانوية؛ بسبب ما تحدثه من تثبيت لهذه الأنابيب في العديد من الأوساط مثل المذيبات العضوية سواء كانت قطبية أو غير قطبية وذلك كما أشار إليه العالم (Bahr et al., 2001). ومن ضمن المواد النشطة سطحياً المستخدمة هي [Sodium dodecyl sulfate (SOS)]، أو مادة أخرى تعتبر الأفضل وهي [Sodium dodecyl Sulfate (SDBs)] (Islam et al., 2003). وفي الحقيقة، فإن هذه المواد ذات النشاط السطحي اتضح أن لها تأثيرات سامة ومن ثم فهي تساهم بشكل مباشر في سمية أنابيب الكربون النانوية. وقد قام بعض العلماء الآخرين

باستخدام مواد نشطة سطحياً التابعة للبوليمرات مثل مادة بولي إيثيلين جليكول (Poly ethylene glycol) (Jin et al., 2000). وقد استطاع بعض العلماء باستخدام مواد نشطة سطحياً تنتمي إلى مجموعة البوليمرات الحيوية (Biopolymers) وذلك مثل بعض المواد المشابهة للحمض النووي (DNA) الذي له قدرة الالتفاف حول الأنوية النانوية (Zheng et al., 2003).

وبصفة عامة، فإن تشتيت الأنابيب النانوية بداخل المواد ذات النشاط السطحي عادة ما يتم بمساعدة الموجات فوق الصوتية (Ultrasonication) إلا أنه قد لوحظ أن الاستخدام المكثف لهذه الموجات قد يؤدي إلى الإضرار بالأنابيب النانوية وذلك كما أشار إليه العالم (Shelimov et al., 1998). من جهة أخرى، فإنه من الممكن أن يتم ملء الفراغ الذي قد يتواجد بداخل الأنابيب النانوية بمواد أخرى مثل المعادن (Sloun et al., 1998)، كربون ٦٠ (Monthioux, 2002) وأيضاً قد يتم ملؤها بالعديد من البروتينات (Davis et al., 1998). وعموماً، فقد تم توضيح أن المواد المستخلصة من الأنابيب النانوية من الداخل يتم حمايتها بواسطة قشرة الأنوية.

علاوة على ما سبق، فقد اتضح أن دراسة طبيعة التفاعلات بين أنابيب الكربون النانوية وبين الجزيئات الحيوية أصبحت من الأمور التي جذبت اهتمام العديد من العلماء خاصة من حيث استخدام هذه الأنابيب في توصيل العقاقير إلى أماكن فعلها وأيضاً كأجهزة استشعار بيولوجية (Klump et al., 2006). وقد كانت نتيجة الإهتمام بالبحث في تلك الجزئية هو اكتشاف أن البروتينات ترتبط بشكل غير تساهمي وبشكل قوي بأنابيب الكربون النانوية علاوة على أنه تبعاً لرونة هذه البروتينات، فإن ذلك يتيح لها أن تلتصق حول سطح هذه الأنابيب. أيضاً، فقد لوحظ أن هناك قابلية شديدة للأنابيب النانوية؛ لأن تخرق وتنفذ من خلال الأغشية الخلوية وذلك من خلال بعض الميكانيكيات التي أثارت جدل كبير بين العلماء حيث كانت من خلال ميكانيكية الابتلاع الخلوي الذي يتوسطه الإدخال على سطح الخلايا (Kam et al., 2004) (Kam and Dai, 2005) أو من خلال الانتشار المباشر (Pantaro et al., 2004).

ومن الناحية الكيميائية، فقد اتضح أن هناك العديد من المجاميع الكيميائية استطاعت أن ترتبط بنجاح بأنابيب الكربون النانوية وذلك مثل مجاميع الهالوجينات إلى البوليمرات (Tasis et al., 2006). بناءً على أهمية تلك الجزئية، فقد قامت العديد من الشركات بإنتاج وبيع أنابيب كربون نانوية مفعلة (تحتوي على مجاميع كيميائية فعالة) مثل تلك المحتوية على مجاميع فلورين (CNT-F) أو تلك التي تم أكسدها جزئياً بواسطة مجاميع الكربوكسيل (CNT-COOH). بناءً على ذلك، فقد يكون ذلك التفعيل الكيميائي (من خلال ارتباط الأنابيب النانوية بمجاميع كيميائية أخرى) يغير من صفات الأنابيب كما يتبعه تغيير في طبيعة التأثيرات السامة التي تحدثها الأنابيب النانوية (Sayes et al., 2006 a). وفي هذا المجال، فقد قام العديد من العلماء بتفعيل الأنابيب النانوية من خلال إلصاقها بمجاميع فعالة أخرى مثل

الفلوريسين (Fluorescein) الذي يزيد من قدرة الأنايب النانوية على الدخول إلى الخلايا (Pantartotto et al., 2004)، إصااق الأنايب بمجموعة كربوكسيل مما يمكّنها من تعليمها إشعاعياً بواسطة اليود المشع (125) مما يتيح للباحثين تتبع توزيع الأنايب النانوية بعد ذلك بداخل أجسام فئران التجارب (Wang et al., 2004).

ثالثاً: تأثير الخصائص الفيزيائية الكيميائية للمواد النانوية على سميتها

Effect of Physico-Chemical Characteristics of Nanomaterials on their Toxicity

أصبح من الحقائق الثابتة التي تم التوصل إليها أن المواد النانوية تُظهر خصائص وسلوك بشكل مختلف إذا ما قورنت بالمواد الكبيرة من نفس المادة التي لديها نفس التركيب الكيميائي. بمعنى آخر، أن جزيئات المادة عندما تكون في حالتها النانوية تُبدي سلوكاً ولديها خصائص تختلف فيها عن جزيئات نفس المادة عندما تكون في حالتها العادية (غير النانوية). ومن أهم العوامل التي تؤثر في تلك الخصائص وتحدد بناءً عليها سلوكيات هذه المواد النانوية هي حجم الجزيئات، شكلها وحالة أسطح جزيئاتها وذلك كما أشار إليه العالم (Wautelet et al., 2003). بناءً على تلك الحقائق، فإن الطبيعة الفيزيائية والكيميائية للمواد النانوية اتضح أنها من الأمور الهامة جداً في دراسات التأثيرات السامة والسمية البيئية حيث إن الاهتمام بهذه الخصائص وأخطرها في الاعتبار يترتب عليه الوصول إلى عملية تقييم سليمة ودقيقة مما يؤدي إلى إجراء عملية تقييم سبيل وطرق التعرض لهذه المواد وما قد تحدثه من تأثيرات سامة وغير ذلك من مخاطر.

وفي الحقيقة، فما زال هناك نقص واضح في البيانات والمعلومات المتاحة عن التأثيرات السامة للمواد النانوية على البيئة وعلى الكائنات الحية وذلك كما أشار إليه العالم (Dreher, 2004). بناءً على ذلك، فقد أشار الكثير من العلماء بضرورة إجراء المزيد من الدراسات المتخصصة في بحث تأثير المواد النانوية المختلفة مثل أنابيب الكربون النانوية و جسيمات الفوليرينات (Fullerenes)، وأكاسيد المعادن (ثنائي أكسيد التيتانيوم، وأكسيد الحديد)، والسليكا، وغيرهم على الأنظمة البيولوجية المختلفة. وعموماً، فإنه لدراسة تأثير مثل هذه المواد فكان لابد أولاً من التعرف على خصائصها الفيزيائية والكيميائية حتى يمكن إجراء الربط بين تلك الخصائص وبين ما تحدثه من تأثيرات.

وفي هذا الخصوص، فقد أظهرت المواد النانوية خصائص وصفات مميزة نشأت منها أنواع من التحديات والصعوبات بسبب تنوع هذه المواد واختلافها بالمقارنة بنفس المواد عندما تتواجد على صورتها التقليدية. ومن ضمن هذه الصفات والخصائص، وحجم الجزيء (الجسيم)، وشكله الخارجي، وذويانه في الماء، وتركيبه الكيميائي ومكوناته الكيميائية وكيفية تغليفه من الخارج ونسبة السطح للحجم (Surface/Volume ratio)، درجة الشبات الكيميائي، درجة ميله للتجمع وغير ذلك من أمور قد يكون لها تأثيرات في غاية الأهمية من حيث استجابة النظام البيولوجي المختبر. بناءً على أهمية تلك الجزئية، فإنه من ضمن التحديات التي تواجه العلماء في ذلك المجال، هو عدم وجود تقنية واحدة يمكن الاعتماد عليها في الحصول على المعلومات الكافية التي يُعتمد عليها في عملية تقييم الخطر للمواد النانوية. إضافة إلى ما سبق، فهناك العديد من العوامل المتعلقة بطبيعة المواد النانوية مثل طريقة تخزينها

وطريقة تخليقها، نسبة تفاوتها، المواد الحفازة التي استخدمت في تخليقها وغير ذلك من أمور اتضح أنها تؤثر بدرجة معنوية في طبيعة نتائج التأثيرات السامة التي تحدثها هذه المواد وذلك كما أشار إليه العالم (Hurt et al., 2006). ومن أوضح الأمثلة على أهمية ما سبق، هو ما حدث مع الفوليرينات حيث أشارت الدراسات الحديثة إلى أن هناك اختلافات معنوية موجودة بين الفوليرين التقليدي الذي يتميز بكارهيته وعدم ذوبانه في الماء وبين درجة ثبات محلوله المائي الذي تم تحضيره بواسطة بعض المذيبات في تفریق جزئياته. والسبب في إمكانية الحصول على محلول مائي للفوليرين اتضح أنه بسبب احتوائه على متبقبات من بعض المذيبات العضوية وهو الأمر الذي جعل من جزيئات الفوليرين القابلة للتجمع ومن ثم حدوث تغيير الخصائص الفيزيائية له وما تبع ذلك من تغيير في سلوكه البيولوجي (Brant et al., 2005 a & b).

أيضاً، في حالة المعادن وأكاسيدها التي تستخدم في تخليق المواد النانوية في أطوارها السائلة، فإن كل من حجم وشكل الجسيمات النانوية، لوحظ أنه يتم التحكم فيه من خلال إضافة مثببات عضوية مثل الكبريت، الفوسفاتات (Phosphanes)، الفوسفينات (Phosphines)، الأمينات (Amines)، الكربوكسيلات (Carboxylates)، البوليمرات (Polymers) علاوة على بعض المواد ذات النشاط السطحي. تلك المواد في مجملها اتضح أنها في بعض الحالات تعمل على تكوين روابط كيميائية مع الجسيمات النانوية. بناءً على ذلك، فإن مثل هذه الجزيئات قد تؤثر على الاستجابة الخلوية تجاه الجسيمات النانوية ومدى انتشارها في أنسجة وأعضاء الكائنات الحية ومن ثم استجابة هذه الكائنات لتلك المواد (Masals and Seshadri, 2004، Brayner et al., 2006).

أ) أهم الخصائص المؤثرة على سمية المواد النانوية

The Most Important Characteristics affects the Toxicity of Nanomaterials

أشارت الدراسات المتخصصة إلى ضرورة إجراء قياسات اللازمة للمواد النانوية قبل إجراء اختبارات تأثيراتها البيولوجية. وفيما يلي أهم الخصائص التي يجب قياسها والاهتمام بتقديرها قبل إجراء الاختبارات الخاصة بسلوكها البيولوجي.

١- الحجم Size

من الطبيعي أن حجم جسيمات المواد النانوية من الأمور المهمة التي يجب قياسها؛ وذلك بسبب أن حجم الجسيم يلعب دوراً هاماً في معدلات تناول ودخول وتفاعلات هذا الجسيم النانوي مع الأنسجة البيولوجية (Nel et al., 2006). فمن الأمور المعروفة والتي تم التأكد منها هو أن النشاط البيولوجي للمواد النانوية يزداد كلما انخفض حجم الجسيم النانوي؛ وذلك بسبب دقة وصغر الجسيم النانوي الذي يتيح له فرصة الوصول إلى الأماكن من الأنسجة التي لم تكن متاحة من قبل لجسيمات نفس المادة عندما تتواجد في حالتها الكبيرة (Donaldson et al., 2004). وفي حقيقة الأمر، فإنه من الأمور الخطأ التي تحدث هو أن اختبارات تأثير

المواد النانوية تتم على مادة محددة ولا تتم في حالة المواد النانوية التي يتم تجميعها أو أثناء تخليقها أو تخزينها أو تداولها.

٢- مساحة السطح Surface area

تعتبر مساحة سطح الجسيمات النانوية من القياسات الهامة وذات العلاقة بالتأثيرات البيولوجية والسامة. وعموماً، فمن الأمور الهامة التي تم التأكد منها هو أنه بانخفاض حجم الجسيم النانوي، فإن ذلك يتبعه تزايد في نسبة السطح إلى الحجم (Surface/Volume ratio) ومن ثم نسبة أكبر من الذرات تتواجد على السطح بدرجة أكبر من وجودها بالتجويف الشعري الداخلي للجسيم. بمعنى آخر، فإنه بزيادة مساحة سطح تحدث زيادة في عدد المجاميع الفعالة لكل وحدة كتلة وهذا ما يتبعه تزايد في القدرة التفاعلية للمادة. ومن أوضح الأمثلة على ذلك هو الذهب، والمعروف أنه من المعادن شديدة الثبات ضد الأكسدة ولكن لوحظ أنه إذا تم عمل جسيمات نانوية منه، فإنه يتعرض للاحتراق بشكل تلقائي. بمعنى آخر، فإنه كلما صغرت الجسيمات، فإن ذلك يعني وجود عدد أكبر لكل وحدة كتلة وهو ما يترتب عليه زيادة احتمالية حدوث تفاعلات بيولوجية (Warheit, 2004). ومن الأمثلة التي توضح ما سبق، هو أنه أثناء إجراء تجارب تأثير استنشاق كل من ثاني أكسيد التيتانيوم (TiO_2) وكبريتات الباريوم ($BaSO_4$) على الفئران، فقد اتضح أن المادة الأولى قد أحدثت التهابات شديدة بالرئة بصورة أكبر من المادة الثانية بينما عندما تم حساب التأثيرات الحادثة وأنسابها لمساحة السطح للجسيمات التي تم استنشاقها، فقد تبين أن التأثيرات كانت متساوية (Tran et al., 2000).

٣- الشكل Shape

بصفة عامة، اتضح أن الجسيمات النانوية يمكن وجودها على هيئة أشكال وتراكيب عديدة ومتنوعة مثل الأشكال الكروية، والحلزونية، والهرمية، والأنبوبية إلى غير ذلك من أشكال سبق الإشارة إليها بالفصل السابق (الشكل رقم ١.٤). وفي الحقيقة، فإن شكل الجسيم اتضح أنه من الممكن أن يكون له تأثيران أساسيان: أحدهما في طبيعة المحلول وتحت شكل الأيروسول وذلك من حيث تنوع طبيعة توزيع هذه الأشكال في كل من الوسط الغازي والوسط السائل. أما التأثير الآخر، فهو يتعلق بأن شكل الجسيم يؤثر على طبيعة حركيات ترسيبه أو ادمصاصه في الوسط البيولوجي. وقد أمكن التأكد من ذلك من خلال ما تم إيضاحه من دراسات أثبتت أن ميكانيكيات إغلاق القنوات الأيونية بالجدران الخلوية تعتمد على شكل الجسيمات النانوية المختبرة (Park et al., 2003). وفي هذا الشأن، فقد اتضح أن أنابيب الكربون النانوية أحادية الجدار لوحظ أنها أكثر تأثيراً سماً من أنابيب الكربون النانوية متعددة الجدران والتي لها نفس الطول (Jin et al., 2005). أيضاً، فقد اتضح أن طول الجسيم النانوي للأنبوبية الكربونية، سمكه وعدم ذوبانه في الماء قد يجعله يحدث تأثيرات تشابه التأثيرات الناتجة من استنشاق ألياف الأسبستوس وذلك

على الرغم من الاختلاف الكبير في التركيب الكيميائي (Seaton and Donaldson, 2005). ونظراً لأهمية تلك الجزئية وصعوبة إجرائها، فما زال هناك نقص واضح في الدراسات المتخصصة التي توضح العلاقة بين التركيب الكيميائي واختلافات الأشكال فيما بين الجسيمات النانوية.

٤- التركيب الكيميائي Chemical composition

من الأمور الطبيعية والمتوقعة أن يكون للتركيب الكيميائي للجسيم النانوي وما يحمله من عناصر تأثير على طبيعة الجسيمات النانوية بداخل الأنظمة البيولوجية. وفي هذا الصدد، فإن المواد النانوية اتضح أنه يمكن أن تحتوي على مدى واسع من التراكيب الكيميائية المختلفة. بمعنى آخر، فقد تتركب هذه المواد من مواد غير عضوية بالكامل مثل (حديد، نيكل، زنك، تيتانيوم، ذهب، فضة، بالاديوم، إيريديوم أو بلاتينيوم) وأيضاً من أكاسيد المعادن مثل أكسيد التيتانيوم، أكسيد الزنك، السيليكا وأكسيد الحديد وغيرهم. أيضاً، فقد تتركب المواد النانوية كيميائياً من مواد عضوية بالكامل مثل جسيمات الفوليرين، وأنايب الكربون النانوية، والبوليمرات النانوية، والجزئيات الحيوية (Biomolecules). علاوة على ذلك فهناك بعض المواد النانوية التي تحتوي في تركيبها على هجين (خليط من المواد) حيث يتكون الجزء الداخلي من مادة ما بينما الجزء الخارجي من مادة أخرى وذلك كما هو الحال في البللورات النانوية المعروفة باسم النقاط الكمية [Quantum dots (QD)] التي يتم استخدامها كأشباه موصلات حيث تتكون من بعض المعادن أو العناصر في محتواها الداخلي البللوري، بينما الجزء الخارجي (القشرة) مكون من مادة غير عضوية تقوم بتغطيته وتثبيت المحتوى الداخلي وهذا ما يفيد بدرجة كبيرة في العديد من الاستخدامات في المجال الطبي والإلكتروني. وفي هذا الصدد، فقد اتضح أن هناك بعض العيوب التي تواجه بعض الجسيمات النانوية المحتوية على خليط من المواد في المجال الطبي. وقد تبين أن السبب من وراء ذلك يكون راجعاً إلى تعرضها لتفاعلات تحلل مثل تفاعلات أكسدة للقشرة الخارجية ومن ثم يظهر الجزء الداخلي الذي ربما يحتوي على عناصر مثل الكاديوم، والزنك، والسيلينيوم، والأنديموم وهي من العناصر التي يمكن أن تحدث تأثيرات سامة سواءً على هيئة جسيمات نانوية أو بعد انحلالها من الجزء الداخلي ورجوعها إلى حالتها العنصرية وذلك كما أشار إليه العالم (Hardman, 2006).

إضافة إلى ما سبق، فإن مستوى النقاوة الكيميائية يعتبر من القياسات الكيميائية الهامة التي يجب أن تؤخذ في الاعتبار؛ وذلك نظراً لما تم ملاحظته بأن بعض المواد النانوية مثل أنابيب الكربون النانوية والجسيمات النانوية المعدنية قد تحتوي على شوائب معدنية مثل الحديد، النيكل، الكوبلت وهذا بالطبع قد يؤثر على الاستجابة البيولوجية من خلال سلوك تلك الجسيمات بأنسجة الكائن المختبر وذلك كما أوضحه العديد من العلماء (Maynard et al., 2004, Pulskamp et al., 2007). أيضاً، فقد اتضح أن لدرجة نقاوة أنابيب الكربون النانوية دور واضح في إظهار التأثيرات السامة خلويًا (Bianco et al., 2007).

٥- التركيب الشعري Lattice structure

توجد العديد من المواد النانوية والتي لديها نفس المكونات الكيميائية ومع ذلك لديها تركيب شعري مختلف ومن ثم تظهر خصائص فيزيائية وكيميائية مختلفة. ومن أوضح الأمثلة على ذلك هو الكوارتز المصنوع من ذرات السيليكون والأكسجين بنفس النسبة (١ سيليكون : ٢ أكسجين) ومع ذلك، فإن الناتج أثناء عملية التصنيع يترب عليه أن تكون عملية ترتيب السيليكون إلى الأكسجين قد تختلف بشكل يتج عنه تراكيب شعرية مختلفة وذلك بسبب اختلاف طريقة التخليق وما يحيط بها من درجة الحرارة (Zuin et al., 2007).

٦- كيمياء السطح Surface chemistry

أشارت التجارب البحثية العديدة إلى أن الجسيمات النانوية قد أظهرت ميلاً كبيراً للتجمع. وفي الحقيقة، فإن هذا هو السلوك النموذجي الذي تظهره الجسيمات فائقة الدقة؛ بسبب زيادة نسبة السطح إلى الحجم والذي يتزايد معه ظاهرة الانجذاب بين الجسيمات بفعل قوى فاندرفالز وقوى لندن علاوة على التفاعلات الألكتروستاتيكية وذلك كما أوضحه العالم (Werth et al., 2003). بناءً على تلك الملاحظات، فقد تم الأخذ في الاعتبار عند إجراء التصميم الهندسي للجسيمات النانوية خاصة التي سيتم استخدامها في المجال الطبي، فإنه يجب أن تكون هذه الجسيمات ذات درجة ثبات عالية من خلال تغطيتها (احتوائها على غطاء) مما يضمن لها عدم قابليتها للتجمع وتكوين تكتلات. بناءً على ذلك، فإن أسطح الجسيمات النانوية عادة ما يتم تغطيتها أو طلائها بجزيئات عضوية تحتوي على مجاميع فعالة محبة للماء مثل السلفوهيدريل (-SH)، والسيانيد (-CN)، والهيدروكسيل (-OH)، والكربوكسيل (-COOH) وغيرها والتي يمكن أن ترتبط تساهمياً مع ذرات أسطح الجسيمات النانوية (Dutta and Hofmann, 2004). وقد لوحظ أن وجود هذه المجاميع الفعالة على أسطح الجسيمات النانوية يحولها من حالة عدم الثبات إلى جسيمات نانوية عالية الثبات في المذيب المرغوب والذي عادة ما يكون الماء وذلك اعتماداً على نوع التطبيق المطلوب اتباعه.

وللتأكيد على أهمية تلك الجزئية، فقد أشارت بعض الدراسات إلى أن استجابة التسمم الخلوي لأنابيب الكربون النانوية في الخلايا المزروعة قد أظهرت أنها مرتبطة ومعتمدة على المجاميع الفعالة الموجودة على أسطح الجسيمات النانوية المختبرة (Sayes et al., 2004, Sayes et al., 2006 a). أيضاً، فقد أوضحت الدراسة التي قام بها العالم (Borm et al., 2006 a & b) بأن التغيرات الحادثة على سطح الكوارتز تؤدي إلى حدوث تسمم خلوي والتهابات وتليف بالأنسجة كما أن التأثير يمتد إلى حدوث إضرار بالحمض النووي DNA بالخلايا المعاملة وذلك كما أوضحه العلماء (Knaspen et al., 2002, Schins et al., 2002). بناءً على ذلك، فقد كانت من التوصيات الهامة التي نادى بها العالم (Yin et al., 2005) تلك التي تتعلق بضرورة معرفة الطبيعة الكيميائية والأسطح للمواد النانوية قبل بداية اختبار تأثيرها البيولوجي.

٧- شحنة السطح Surface charge

أشارت الدراسات التي قام بها العالم (Eastman, 2005) بأن الجسيمات النانوية عندما يتم تفرقةا وتشتيتها بالبيئة السائلة فإنها قد تحمل شحنة كهربائية على سطحها. وهذه الشحنة تعتمد على طبيعة الجسم وعلى البيئة المحيطة. أيضاً، فقد لوحظ أن كل من حجم الجسم وشحنة سطحه من أكثر العوامل التي تؤثر على خاصية تشتيت وتفریق المواد النانوية. علاوة على ذلك، فإن كل من حجم وشحنة الجسم النانوي قد يؤثران على طبيعة امتصاص الأيونات والملوثات والجزئيات الحيوية و هذا مما يؤثر بالتبعية على استجابة الخلايا التي يتم تعريضها للجسيمات النانوية المختبرة (Powers et al., 2006). وفي دراسة أخرى قام بها العالم (Shins et al., 2006) اتضح أن شحنة السطح تؤثر على الاستجابة البيولوجية تجاه الجسيمات النانوية المختبرة والتي من ضمنها الالتهام الخلوي (Phagocytosis)، التهاب (inflammation) والتسمم الوراثي (Genotoxicity). إضافة إلى ذلك، فقد اتضح أن ليس فقط شحنة السطح وإنما نوع المادة الطلائية الخارجية التي تحيط بالجسيم النانوي تبين أنه من العوامل المؤثرة بدرجة معنوية في ميكانيكية دخول الجسيمات للخلايا والأعضاء إن كانت من خلال الانتشار (diffusion) أو غيره من آليات الدخول للخلايا مما يؤثر في مستوى السمية الخلوية (Hoet et al., 2004).

أيضاً، فقد اتضح أن شحنة سطح الجسم النانوي يؤدي إلى حدوث تغيرات في سلامة وطبيعة تركيب الحاجز الدموي المخي (Blood Brain Barrier) في فتران التجارب بعد تعريضها للمواد الشمعية المستحلبة حيث يتم تحضير الجسيمات النانوية من مواد مستحلبة دقيقة تعمل على إنتاج مستحلبات زيتية في الماء بعد تدفقتها وذلك في وجود بعض المواد ذات النشاط السطحي (Surfactants) (Lockman et al., 2004). من جهة أخرى، فقد أفادت دراسات عديدة بأن خفض شحنة السطح للجسيمات النانوية يؤدي إلى تقليل سميتها كما هو الحال عند إجراء عملية توصيل لبعض العقاقير (Drug delivery) وذلك طبقاً لما أشار إليه العديد من العلماء (Malik et al., 2000; Quintana et al., 2004).

٨- حالة التجمع Aggregation state

كما سبق الإشارة إليه سالفاً، فإن الجسيمات النانوية يمكنها أن تعمل على تكوين تجمعات سواء نتيجة وجودها في محاليل أو مساحيق أو حتى في وسط غازي؛ وذلك تبعاً لأحجامها وتركيبها الكيماوي وشحنة أسطحها وكذلك مكوناتها. أيضاً، فإن حالة التجمع قد تتج من ظروف التخزين والتداول أو حتى من طريقة التخليق وذلك كما أشار إليه العديد من العلماء (Cheng et al., 1998; Rinzler et al., 1998). وفي هذا الصدد فقد اتضح أن حالة التجمع للجسيمات النانوية تؤثر على درجة ثباتها أثناء إجراء التجارب المتعلقة بدراسة تأثيراتها السامة حيث قد اتضح أن هناك ما يشير إلى أن مستوى التجمع من الجسيمات النانوية قد يؤدي إلى حدوث التهابات وإجهاد تأكسدي

(Oxidative stress) بعد تعريض الحيوانات التجريبية لهذه الجسيمات النانوية المتجمعة (Duffin et al., 2002; Wilson et al., 2007; Wick et al., 2007). بناءً على ذلك، فإنه من الأمور التي يجب أخذها في الاعتبار تلك المتعلقة بمعرفة مدى ميل الجسيمات النانوية للتجمع قبل اختبار سميتها على النظام البيولوجي.

ب) خصائص وصفات المواد النانوية بعد إنتاجها

Characteristics and Properties of the Produced Nanomaterials

من الناحية العملية، لوحظ أن خصائص المواد النانوية حديثة التحضير أو حتى التي يتم إحضارها من الشركات المصنعة لها عادة ما تكون هي المواد التي تخضع لإجراء الدراسات المتعلقة بالتأثيرات السامة التي تحدثها هذه المواد بهدف الحصول على المعلومات المتعلقة بسلوكها البيولوجي. وفي الحقيقة، فهناك العديد من طرق تحليل المواد النانوية لمعرفة خصائصها وصفاتها سواءً أكانت تلك الطرق ميكروسكوبية أو طبيعية أو كروماتوجرافية أو حتى تقنية نووية. وعموماً، فإن اختيار أكثر التقنيات المناسبة ليس بالأمر السهل بسبب أن إختيار التقنية يعتمد على نوع المادة النانوية المراد اختبارها وعلى طبيعة الاختبار نفسه وعلى طبيعة وجودة المعلومات المراد الحصول عليها. علاوة على ما سبق، فقد لوحظ أن غالبية الدراسات البحثية المتخصصة في مجال علم السموم والتي يتم إجراؤها بالوقت الراهن، غالباً لا تأخذ في اعتبارها خصائص وصفات المواد النانوية المختبرة.

ومن الوجهة الفعلية أو الواقعية، فهناك من التقنيات المتاحة التي يتم توظيفها في هذا المجال ومع ذلك فإنه في بعض الأحيان يقوم الباحثون بمناقشة ما يتحصلون عليه من نتائج اعتماداً على ما لديهم من معلومات قد حصلوا عليها من الشركة المصنعة للمواد النانوية والتي تتركز فقط في نسبة نقاوة المادة ومتوسط حجم الجسيم. وعموماً، فإن هذه النوعية من المعلومات غالباً ما تكون غير كافية ولذلك، فإنه لتجنب الكثير من العقبات فيجب اللجوء إلى اتباع أكثر من تقنية للحصول على قدر وفير من المعلومات الخاصة بالمواد النانوية وبشكل دقيق ومن ثم يمكن تجنب سوء التفسير لما يتم الحصول عليه من نتائج التأثيرات السامة التي أحدثتها الجسيمات المختبرة.

وعموماً، فإنه نظراً لعدم وجود خصائص قياسية للمواد النانوية، فإنه من الأمور المقترحة بشدة هو إجراء مجموعة من الاختبارات المستقلة يمكن من خلالها الحصول على صفات المواد النانوية المختبرة. أيضاً، فإنه على الباحث في هذا المجال أن يأخذ في اعتباره أن معظم المواد النانوية تُظهر تباين كبير في خصائصها وذلك نظراً للكميات المحدودة التي يتم إنتاجها ولذلك فإنه يجب أن يكون الإنتاج بمعدل كبير حتى يمكن الإحتفاظ بكمية من المواد النانوية المختبرة من أجل إجراء اختبارات تأكيدية وغيرها من الاختبارات اللاحقة التي تخصص بفحص المواد النانوية بعد فترات زمنية من التخزين وإعادة إجراء الاختبارات التي يتم إجراؤها من قبل لمعرفة مدى التباين بين دفعة إنتاجية وغيرها. وعموماً، فإنه من خلال الجدول رقم (١، ٢) يوضح أن هناك قائمة تضم أكثر التقنيات المتبعة في تحديد خصائص المواد النانوية. وتجدر الإشارة هنا إلى أنه قد تم تقسيم تلك التقنيات تبعاً لما يتم احتياجه من معلومات عن الخصائص الفيزيائية والكيميائية التي يراد

الحصول عليها عن المواد النانوية المختبرة التي يتم إنتاجها أو التي قامت الشركة المصنعة بإحضارها أو عن المواد النانوية المراد إجراء تجارب تأثيراتها السامة سواء قبل أو بعد إعطائها على الأنظمة البيولوجية المختبرة سواء كانت داخل جسم الكائن الحي (*in vivo*) أم خارجه (*in vitro*).

١- تقدير حجم وشكل وحالة تجمع المواد النانوية Determination of size, shape and aggregation state

عادة ما يتم تقدير كل من حجم وشكل المواد النانوية باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني والذي يمكن الحصول من خلاله على معلومات وبيانات وصفية وشبه كمية يمكن استخدامها في دراسات بحث الشكل الظاهري (شكل، حجم وحالة تجمع) جسيمات المواد النانوية وذلك كما أشار إليه العديد من العلماء (Wang et al., 2000; Chen et al., 2004; Soto et al., 2005; Belin and Epron, 2005; Sun et al., 2006 a & b). وبالنسبة لمجال البحث باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني، فإن هذه التقنية لها أكثر من نوع، فمنها الميكروسكوب الإلكتروني الماسح [Scanning Electron Microscopy (SEM)] وله درجة إيضاح وتكبير للعينة التي تصل مداها إلى أقل من ٥ نانومتر ومن خلاله يمكن الوصول إلى مستوى تكبير يصل إلى ١٠٠٠٠٠ ضعف. وكما هو معروف، فإن تقنية هذه النوعية من الميكروسكوب الإلكتروني متخصصة في إظهار أشكال العينات من الجهة الخارجية فقط ومن هنا نشأت التسمية بأنه ماسح (Scanning).

وعلى العكس مما سبق، فهناك تقنية أخرى يطلق عليها الميكروسكوب الإلكتروني النفاذ [Transmission Electron Microscopy (TEM)] وله القدرة على إظهار التراكيب الداخلية للعينات مجال الفحص كما أن له قدرة الكشف وإظهار عينات يصل مدى أبعادها ما بين ٠.٥ - ٣ نانومتر ولذلك، فقد اتضح أنه يمثل التقنية المفضلة لبحث ودراسة المواد النانوية وذلك كما أوصى به العالم (Andrievsky et al., 1999). بناءً على ذلك، فقد ظهرت تقنية أخرى أكثر تقدماً في هذا المجال والتي يمكنها إظهار جسيمات تصل أبعادها إلى أقل من ١ نانومتر ويُطلق عليها الميكروسكوب الإلكتروني النفاذ عالي الإيضاح [High Resolution Transmission Electron Microscopy (HRTEM)] وذلك كما أشار إليه العالم (Ramallo-Lopez, 2007).

ومن الناحية التطبيقية، فإن فحص العينات ذات القياسات النانوية بالميكروسكوب الإلكتروني يجب أن يكون تحت تفريغ وأن تكون العينات المفحوصة في حالة صلبة إلا أنه قد أمكن إدخال تعديلات باستخدام العديد من الأدوات المساعدة التي يمكن من خلالها إجراء الدراسات بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح على العينات السائلة. وعلى الرغم من ذلك، فإن للميكروسكوب الإلكتروني الماسح اتضح أنه من التقنيات التي تستهلك وقتاً وجهداً وإدخال بعض المعاملات على العينات (مثل معاملتها بطبقة من الذهب) وهذا بالطبع ما قد يؤثر على درجة الوضوح النهائية للعينة الفعلية (قبل تغطيتها بالذهب).

المصدر رقم (٢٠١) ، قائمة بالتقنيات الموصى بها في العراق على خصائص وصفات الخصومات الثانوية (قطلا عن 2007, Al-Jabbar et al., 2007).

المطابق	الطبية الموصى بها										
	SCM	TEM	SPM (APRISTM)	ATER-MS	DIC, CLSM, FLM	DMA, CPC	SYPS, DEPI	EP, DC	DLS	XRD	AES
مجموع التوزيع	**	**	**						**		
مساحة الطح	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	+		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
توزيع	**	**	**								
توزيعات التوزيع	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	+						
توزيع				<input type="checkbox"/>							
توزيع الطح											*
توزيع الطح	**	**	**								
مجموع التوزيع	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>							
التوزيع	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>							

المصدر: كل ما هو مذكور في القائمة المضمرة. -+ هي إمكانية التطبيق على المورد الثانوية في جميع الحالات التي هي جيدة مثل ما هو الموصى به. -+ هي زيادة التوزيع التي هي جيدة مثل ما هو الموصى به. -+ هي زيادة التوزيع التي هي جيدة مثل ما هو الموصى به. -+ هي زيادة التوزيع التي هي جيدة مثل ما هو الموصى به.

الخصائص التناسلية لمخاطرها واضرارها

Parameter	التكثيف الموصى بها										
	TCAs DSC	NPS	ETIB	ES	MAIR	TV- VIA	PIRTP	MI	ICP, MS,AS	HPLC, GPC	ESR
حجم التوراج							**			•	
مساحة السطح الشكل					**	•	■	•	**	■	•
الذكريات الكيمائية			•	•	**	■	■	•	•	■	•
التأثير	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
كيمياء السطح	•	**	•	•	**	**	■	•	•	•	•
صحة السطح					**	**	■	•		■	•
حالة التجميع					**	**	■	•		■	•
التكوين البللوري	•		•	•	•	•	•	•		•	•
المسامية							**				•

كبريتا ما بين كل مخصر ونفس الترسح التي تامة المخصرات: •• هي إمكانية التطبيق على المواد القوية التي يتم استكمالها على حدة مثل بالنسب المتوازنة.
 ••: حالة التطبيق على المواد القوية التي يتم استكمالها على حدة كبريتا. •: تامة لمجموعة مخصص المواد القوية بعد استكمالها بالمواد المتوازنة.

أما تقنية الميكروسكوب الإلكتروني النفاذ، فيمكن من خلالها تقدير مستوى أحجام المواد النانوية وأعدادها ولكن فقط لأجزاء قليلة من العينة وبدرجة غير عالية من الدقة الإحصائية (Tilaki et al., 2002). علاوة على ذلك، فمن مميزات الميكروسكوب الإلكتروني النفاذ هو إعطاء معلومات عن الحالة البلورية للجسيمات النانوية وأشكالها وأيضاً، طبيعة سطحها ومستوى ترتيب الذرات عليها ومدى العيوب الموجودة على هذه الأسطح خاصة إذا تم تطبيق تقنية قياس طاقة الطيف المشتت [Energy Dispersive Spectrometry (EDS)] الملحق بالميكروسكوب. أيضاً، اتضح أنه يمكن الحصول على معلومات تتعلق بالمكونات الكيميائية الموجودة بأسطح العينة.

إضافة إلى ما سبق، فهناك تقنيات ميكروسكوبية أخرى يمكن استخدامها لتقدير كل من حجم وشكل وحالة تجمع الجسيمات النانوية وذلك مثل ميكروسكوب ذو المسح [Scanning probe Microscopy (SPM)] والذي يشمل في تركيبه على التكبير الميكروسكوبي باستخدام القوة الذرية [Atomic Force Microscopy (AFM)] وكذلك على التكبير الميكروسكوبي الأنثوبي المسح [Scanning Tunneling Microscopy (STM)] وهما يعتمدان على استخدام مجس مسح (Scanning probe) الذي يتحرك بهدف الكشف عن الجسيمات النانوية التي ترسبت ومن ثم يستطيع الإحساس بمدى التغير الحادث على أسطح الجسيمات النانوية التي يتم التقاطها على قرص دوار وعليه يمكن تسجيل هذه التغيرات علاوة على إمكانية الحصول على معلومات تتعلق بطبيعة التركيب الذري والكثافة الإلكترونية للجسيمات النانوية وذلك كما أشار إليه العلماء (Terrones et al., 2004; Gu et al., 2005). وقد لوحظ أنه باستخدام التقنيات الأخيرة فإنه يمكن الحصول على معلومات تفيد في معرفة الجسيمات النانوية من حيث أبعادها الثلاثية وتوزيع أحجامها سواء في البيئات الصلبة أم السائلة بينما تقنية الميكروسكوب الإلكتروني المسح أو النفاذ، فيعتمد في قياساته للجسيمات النانوية على بُعدين فقط (Islam et al., 2003; Paredes and Burghard, 2004).

علاوة على ما سبق من تقنيات، فقد قام العديد من العلماء باستغلال الفوتونات في عملية تحليل الطيف ومن هنا نشأت تسمية هذه الطريقة باسم التحليل الطيفي بالفوتونات [Photon Correlation Spectroscopy (PCS)] وتعتمد فكرتها على إحداث تشتيت أو تفريق أو بعثرة للضوء بشكل ديناميكي [dynamic light scattering (DLS)] وذلك في قياس حجم الجسيم النانوي للمادة النانوية المتواجدة بشكل منتشر في بيئة سائلة. وفي الحقيقة، فإن هذه التقنية تعتبر من التقنيات التي تتميز بعدم إضرارها أو تكسيرها للجسيمات النانوية وذلك كما أشار إليه العديد من العلماء (Deguchi et al., 2001; Jilaventakasa and Kelly, 2002; Lee et al., 2005). بناءً على تلك التقنية وما تقدمه من مميزات تتعلق بتشتيت الضوء (غالباً ما يكون الليزر)، فيمكن الحصول على معلومات دقيقة تتعلق بتوزيع الجسيمات النانوية وحجمها ومستوى تجمعها. أيضاً، فإنه نظراً لما تقدمه خاصية تشتيت الضوء من مميزات عديدة، فقد نشأت فكرة تقنيات أخرى يمكن استخدامها معاً أو على صورة مفردة (كل تقنية بشكل مستقل). ومن ضمن

هذه التقنيات تلك التي يُطلق عليها نشيت أشعة إكس بزواوية صغيرة [Small Angle X-ray Scattering (SAXS)]، تقنية إخراف أشعة إكس بزواوية كبيرة [Wide Angle X-ray diffraction (WAXD)] وتقنية المسح النيوتروني بزواوية صغيرة [Small Angle Neutron Scanning (SANS)]. وفي الحقيقة، فإن الأساس الذي يربط بين هذه التقنيات هو استغلال ظاهرة النشيت سواءً كان ذلك النشيت للضوء أم للأشعة أو للنيوترونات ولكن الاختلاف بين تلك التقنيات يتركز على طبيعة ميكانيكية التفاعل بين الطاقة المنبعثة من الضوء أو الأشعة أو النيوترونات وبين العينة وما تشمله من صفات تركيبية تشمل الحجم، الشكل، التركيب الداخلي وكذلك التداخلات البينية بين الجسيمات النانوية وهذا ما قام بالتأكد عليه العلمان (Chu and Liu, 2000).

ومع بداية القرن الحالي، فقد أمكن إدخال تعديلات جوهرية على نظرية الفصل الكروماتوجرافي لتشأ مجموعة تقنيات يُطلق عليها تقنيات التجزيء للمجال المنساب [Field Flow Fractionation (FFF)]. وفي الحقيقة، فقد اتضح أن هذه التقنيات تتميز بقدراتها الفائقة في إظهار المعلومات المتعلقة بالجسيمات النانوية سواءً من الناحية التحليلية، أم التقديرية أم حتى التحضيرية. فعلى سبيل المثال، اتضح أن لتقنية التجزيء الكروماتوجرافي القدرة على فصل الجسيمات النانوية التي تتراوح قياساتها وأحجامها ما بين أقل من 1 نانومتر وحتى ميكرومترات وذلك بغض النظر عن مكوناتها الكيميائية وإنما اعتماداً على القدرة الحركية للجسيمات التي يتم التحكم فيها من خلال قوة كهربية، حرارية، الجذابية أو انسيابية وذلك اعتماداً على فكرة وطبيعة تصميم الجهاز المستخدم (Giddings, 2000).

وحدثاً، فقد اتضح أنه باتحاد تقنية تجزئة المجال المنساب (FFF) مع الكاشفات الخاصة بتحليل طيف الفوتونات (PCS detector)، فيمكن الحصول على معلومات ذات قيمة كبيرة تتعلق بحجم الجسيمات النانوية وتوزيعها سواءً أكانت في حالة منفردة أم في مخاليط كما يمكن إعادة الحصول على تلك الجسيمات مرة أخرى بعد حقنها (إدخالها في الجهاز) لإجراء المزيد من الدراسات المتعلقة بخصائصها الفيزيائية-الكيميائية وذلك كما قام به العديد من العلماء (Jungmann et al., 2001; Tagmatarchis et al., 2005; Cho et al., 2006). وبطريقة مشابهة، فقد أمكن استغلال تقنية تحليل الطيف سواءً أكان مرتباً أم فوق بنفسجياً بهدف الحصول على معلومات شديدة الدقة مثل طبيعة توزيع الأحجام ومستويات التجمع لبعض الأنواع الخاصة من الجسيمات النانوية مثل الذهب وذلك كما أشار إليه العالم (Amendola et al., 2005).

٢- مساحة السطح والمسامية Surface and porosity

أفادت آراء الكثير من العلماء بأن قياسات المسامية للجسيمات والمواد النانوية لها القدر الكبير من الأهمية وذلك نظراً لما تقدمه من معلومات تتعلق بمساحة السطح المتخصصة (specific surface area) لهذه الجسيمات، طبيعة وجود ثقب عليها، توزيعها، متوسط أحجامها وشكلها وهي في مجملها من المعلومات التي تساعد وتدل على

إحتمالية حدوث تفاعلات كيميائية حيوية بين هذه المواد أو الجسيمات النانوية وبين البروتينات والإنزيمات أثناء عملية تقديم أو إدخال هذه المواد النانوية بالنظام البيولوجي المختبر سواء أكان حيوان تجربي أم خلايا مزروعة أم غير ذلك من أنظمة بيولوجية. وبالعودة لمصطلح مساحة السطح المتخصص (specific surface area)، فيقصد بها إجمالي مساحة السطح لكل وحدة كتلة. أما عن مسامية المواد النانوية، فيمكن معرفتها بسهولة من خلال اتباع طريقة [Brunauer-Emmet-Teller (BET)]. وفي هذه الطريق، فإن تقدير المسامية يتم من خلال قياس مدى الامتصاص للمواد النانوية الجافة أو الصلبة لغاز حامل (عادة ما يكون النيتروجين) عند درجة حرارة متساوية وذلك كما قام به العالم (Allan, 1997). أيضاً، استطاع العالم (Yang et al., 2002) من تقدير كل من المسامية ومساحة السطح للأنابيب النانوية الكربونية من خلال إجراء تفاعل أكسدة قوي بعد معاملتها بأحد الأحماض.

٣- الثبات الكيميائي وشحنة سطح الجسيمات النانوية أثناء وجودها في محلول

Chemical stability and surface charge in solution

من الأمور المهمة التي يجب التحقق منها تلك المتعلقة بصفات المواد النانوية من حيث قابليتها للتجمع وانتشارها وشحنة أسطحها وهي الصفات التي لوحظ أنها تتغير بالجسيمات النانوية عندما يتم تحضيرها في محلول سائل. فعلى سبيل المثال، قد يكون المستهدف من ذلك هو تقدير التأثيرات السامة للمواد النانوية بداخل الجسم الحي (*in vivo*) (حيث يتم إعطاء جرعاتها من خلال حقن بالجلد أو إدخالها بالقصبات الهوائية) أو أن يتم إجراء دراسات عليها خارج الجسم الحي (*in vitro*) (مثل إختبار امتصاص الخلايا لها) أو أن يتم تحضيرها على هيئة فيروسول بهدف إجراء دراسة تأثير إستنشاقها. بناءً على ذلك، فقد لوحظ أن هناك دراسات قليلة تتعلق بمعرفة درجة ثبات مستوى انتشار الجسيمات النانوية أثناء وجودها في محلول سائل. ومن هذه الدراسات ما أشار إلى أن انتشار هذه الجسيمات سواءً بالماء أو المذيبات العضوية، فإنها تميل إلى حدوث التجمع والتكتل ومن ثم تنخفض معدلات انتشارها بمرور الزمن. لذلك، فقد اتضح أن حالة التجمع أو التكتل وحركات هذه الظاهرة تعتمد على عدة عوامل مثل نوع الجسيم النانوي، وتركيزه، ونوع المادة العنصرية عليه، ونوع المذيب الموجود فيه هذا الجسيم النانوي، ودرجة الحرارة، ودرجة الحموضة، وتركيز الأملاح في المحلول السائل، ودرجة تركيز الأيونات، ووجود مواد ذات نشاط سطحي، ووجود أو غياب مواد ناشرة إلى غير ذلك من عوامل تتحكم في مستوى تكتل أو تجمع الجسيمات النانوية.

وعموماً، فقد لوحظ أن العديد من الجسيمات النانوية المنتشرة والمتاحة تجارياً، فإنها تتواجد في نظام مذبذب غالباً ما يكون الماء ومن ثم، فإن الجسيمات لوحظ أنها قد تكون بحالة منفردة وأيضاً توجد على هيئة تكتلات ولكن بنسب متفاوتة. وقد اتضح أن مستوى انتشار الجسيمات النانوية في محلول ما من الممكن أن يظل ثابتاً لعدة شهور بينما في حالات أخرى قد يستمر لدقائق قليلة وغالباً لا تقوم الشركة المصنعة بإتاحة المعلومات عن قيمة الوقت اللازم لإحداث التجمع وهو ما يعرف بقيمة وقت الحياة للجسيم النانوي (Time Life Value) كما لا تقوم معظم

الشركات بإعطاء معلومات عن الظروف المثلى للتخزين واحتياطات أو محاذير التداول. لذلك، فإنه قبل إجراء أية دراسات متعلقة بالتأثيرات السامة للجسيمات النانوية، يجب الإلمام بجميع هذه المعلومات وبحيها جيداً قبل البدء في دراسة سمية المواد النانوية. ومن أمثلة الدراسات المتعلقة بمعدلات انتشار وتجمع الجسيمات النانوية تلك التي قام بها العالم (Pochard et al., 2003).

٤ - المكون الكيميائي، النقاوة والتركيب البلوري Chemical composition, purity and crystal structure

إن معرفة مكونات التركيب الكيميائي للمواد النانوية اتضح أنه من الأمور المهمة التي يجب معرفة كافة التفاصيل عنها. ومن أجل تحقيق ذلك، فهناك مجموعة من التقنيات التي يمكن إتباعها خاصة تقنية التحليل الطيفي التي يمكن من خلالها معرفة كافة التفاصيل المتعلقة بالتركيب الكيميائي. وفي الحقيقة، فإن التحليل الطيفي يشمل على مجموعة من التقنيات والتي من ضمنها ما يعرف باسم الحث البلازمي المزوج [Induction Coupled Plasma (ICP)]، تقنية انحراف أشعة [X-Ray diffraction (XRD)]، تقنية الرنين المغناطيسي النووي [Nuclear Magnetic Resonance (NMR)]، تقنية الشعاع الفلوريسينسي والضوء المرئي وفوق البنفسجي [UV-Vis and Fluorescence] وجميعها من التقنيات واسعة الانتشار والتي يتم استخدامها بهدف قياس ومعرفة طبيعة التركيب الذري والتعرف على مكونات المواد النانوية في صورتها النقية. أيضاً، فيمكن من خلال تلك التقنيات إجراء التمييز والفرقة بين المحتوى الكربوني بالمواد النانوية سواء أكانت عضوية أم غير عضوية.

وبصفة عامة، فإن تقنية الحث البلازمي المزوج [Induction Coupled Plasma (ICP)] تعتبر من أنسب التقنيات؛ وذلك بسبب اعتمادها على إجراء التنقيت الذاتي والتلقائي للمواد النانوية مما يحولها إلى أيونات الأحادية ومن ثم مكوناتها الذرية العنصرية وما يرافق ذلك من اختيار وحساسية للضوء المنبعث الذي يتم قياس طيفه من خلال جهاز [Optical Emission Spectrophotometry (OES)] وجهاز قياس الطيف الكتلة [Mass-Spectrometry (MS)] والذي يمكن من خلاله تحديد المكونات الكيميائية بشكل وصفي وكمي سواءً للمكونات الأساسية للمواد النانوية أم للشوائب التي تحتويها هذه المواد. ومن أجل الوصول إلى ذلك المستوى من المعلومات، فإنه يجب أولاً تحويل العينة إلى صورتها المعدنية (إجراء تمعدن كامل للعينة Complete mineralization of the sample) وهي من الخطوات التي تتطلب جهداً ووقتاً كما أنها مكلفة إقتصادياً علاوة على أنها لا تصلح مع المواد النانوية شديدة الثبات سواءً أكانت عضوية أم غير عضوية. ونظراً لبعض العيوب التي تواجه تلك التقنية، فقد أمكن التوصل إلى تقنية أخرى حديثة وأصبحت متاحة تجارياً وتتمكن من إجراء تحليل للمكونات الكيميائية للجسيمات النانوية المتواجدة في حالة إيروسول. تلك التقنية يُطلق عليها اسم قياس طيف كتلة الإيروسول أثناء طيرانه [The Aerosol Time of Flight-Mass Spectrometry (ATOF-MS)] وهي من التقنيات التي اتبعها العالم (DeCarlo et al., 2006).

من جهة أخرى ، فقد قام بعض الباحثين باستخدام تقنية الكروماتوجرافي السائل عالي الأداء المتصل بالكاشف الفلوريسينسي [High Performance Liquid Chromatography Coupled with Fluorescence Detection (HPLC-FL)] وذلك بهدف تقدير متبقيات المركبات الهيدروكربونية الأروماتية عديدة الحلقات [Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)] الموجودة بجسيمات الكربون النانوية (Borm et al., 2005). وفيما يتعلق بتطبيق تقنية [X-Ray diffraction (XRD)] فقد تم استخدامها في معرفة التركيب الذري لأسطح المواد النانوية ولدراسة التركيب البللوري ، الكشف عن العيوب الموجودة بالتركييب الشعريه وكذلك في التعرف على طبيعة توزيع الشحنات على المواد النانوية مجال الدراسة وهذا ما قام به العديد من العلماء (Ahmod and Dutta, 2003; Pong et al., 2006; He and Gu 2006).

علاوة على ذلك ، فقد تم استخدام تقنيات أخرى مثل تقنية الرنين الإلكتروني شبه المغناطيسي [Electron Paramagnetic Resonance (EPR)] وكذلك تقنية الرنين الإلكتروني الدوار [Electron Spin Resonance (ESR)] وهما من التقنيات متعددة الاستخدامات والتي لاتعمل على تكسير المواد النانوية المختيرة كما أنها تعمل على إعطاء كمية كبيرة من البيانات الوصفية والكمية التي يستفاد منها في الحصول على معلومات ذات قيمة كبيرة متعلقة بتركيب المواد النانوية مثل العيوب الموجودة في الشكل البللوري ، خاصية المغناطيسية لها ، تقدير كمية العناصر شبه المغناطيسية التي تحتويها وكذلك يمكن الكشف عن وجود الشقوق الحرة. لذلك ، فقد أمكن استغلال هذ التقنيات في تحديد صفات وخصائص العديد من المواد النانوية المعدنية مثل الرصاص ، النيكل ، الخنيد ، أكسيد الزنك وثاني أكسيد التيتانيوم وذلك طبقاً لما قام به بعض العلماء (Hori et al., 2001; Hsieh et al., 2002; Konovalova et al., 2004; Jayakumar et al., 2007).

أيضاً أمكن استغلال بعض الأجهزة مثل جهاز تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء [Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)] وكذلك جهاز تحليل طيف رامان [Raman Spectroscopy (RS)] وذلك من أجل الحصول على معلومات وصفية تتعلق بالتركييب العضوية من خلال تحليل معدلات طاقات إهتزازات الروابط الكيميائية للتركييب التي تحتويها المواد النانوية. ومن أشهر الدراسات التي قامت باستخدام جهاز (FTIR) في وصف وتحليل المواد النانوية مثل الفوليرين وأنانيب الكربون النانوية تلك التي قام بها العلماء (Liang et al., 2005; Jiang et al., 2005). كذلك قد أمكن استخدام نفس التقنية في دراسة صفات الجسيمات النانوية المعدنية وكذلك المحتوية على أكاسيد المعادن مثل الذهب وأكسيد الزنك (Ghulo et al., 2006; Jiang et al., 2007). ليس هذا فحسب وإنما تم استخدام التقنية المعتمدة على تحليل طيف رامان [Raman Spectroscopy (RS)] نظراً لما تعطيه هذه التقنية من معلومات تفيد في دراسة التغيرات الشكلية وتغيرات الحجم والإجهاد الذي يطرأ على التركيب الشعري وطبيعة التنظيم التركيبي لأنابيب الكربون النانوية وذلك طبقاً لما أشار إليه العالم (Delhaes et al., 2006). وفيما يتعلق بطبيعة استخدام تقنية الرنين المغناطيسي النووي [Nuclear Magnetic Resonance (NMR)] ، فهي من التقنيات المعقدة ولكن لها العديد من المميزات من حيث ما تقدمه

من معلومات تتعلق بصفات السطح والتركييب الكيميائي للمواد النانوية حيث إن تلك التقنية القدرة على إيضاح التركييب الإلكتروني للجسيم النانوي وما يحيط به من بيئة إلكترونية تحتويها العناصر وكذلك الوضع الذري للتركييب الكيميائي للجسيم النانوي. وللأسف، فقد اتضح أن هذه التقنية لا تصلح في دراسة بعض أنواع المواد النانوية التي تحتوي على بعض العناصر التي لا تظهر أي إشارة ولكن مقابل ذلك العيب، فإن هذه التقنية تصلح لدراسة المواد النانوية العضوية وغيرالعضوية سواء أكانت في حالتها الصلبة أم المنتشرة في أحد المذيبات. بناءً على ذلك، فإن استخدام تلك التقنية في مجال دراسة المواد النانوية أصبح في تزايد مستمر وذلك طبقاً لما أشار إليه العديد من العلماء (Zelskiowicz et al., 2003; Garcia-Fuentes et al., 2004; Mayor, 2005).

ومن ضمن التقنيات الأخرى المثبتة في دراسة المواد النانوية تلك المعروفة باسم الميكروسكوب الإلكتروني الثاقب [Auger Electron Spectroscopy (AES)] وهي من التقنيات التي لها القدرة على تحليل المكونات العنصرية الموجودة على أسطح الجسيمات النانوية (Vdovenkova et al., 2000). كذلك، فقد أمكن استخدام قياس كثافة الطيف اللوني سواء أكان مرئياً أو فوق بنفسجياً أم فلوريسينياً حيث اتضح أن هذه التقنية تقدم معلومات قيمة عن الخاصية الضوئية للجسيمات النانوية وذلك طبقاً لما أشار إليه العالم (Zhang et al., 2006).

5- كيمياء سطح الجسيم النانوي وتلوثه Surface chemistry of nanoparticle and contamination

تشير الخبرات التي تم اكتسابها إلى أن تطبيق تقنية تحليل طيف الفوتونات لأشعة [X-ray Photon Spectroscopy (XPS)] تكون من أكثر التقنيات المناسبة لبحث طبيعة العناصر المكونة لأسطح المواد النانوية. ولذلك، فهي ما زالت التقنية الأكثر استخداماً واتباعاً في دراسات تحليل أسطح المواد والجسيمات النانوية. وعموماً، فإن هذه التقنية يعيها أنها تعطي بيانات ومعلومات وصفية فقط على الرغم من أنها تعطي معلومات عن العناصر الكيميائية الموجودة على سطح الجسيمات النانوية وعن البيئة الكيميائية المحيطة مثل نوعية الطلاء المحيط بالجسيمات وطبيعة التغطية الخارجية وحالة الارتباط بين هذه الجسيمات وأيضاً وضع الأكسدة وغير ذلك من معلومات قد تمت الإشارة إليها في المقالة التي نشرها العالم (Lojowski et al., 2006). ومن الناحية العملية، فإن هذه التقنية اتضح أنها تتطلب ظروف تفرغ أثناء العمل والتطبيق بهدف الحفاظ على سطح الجسيمات النانوية خالياً من التلوث. بناءً على ذلك، فإن هذه التقنية لا يمكن تطبيقها مع العينات السائلة وإنما يتركز استخدامها على دراسة أسطح الجسيمات النانوية المعدنية مثل تلك المكونة من الألومنيوم، والنيكل، وكذلك الذهب علاوة على إمكانية تطبيقها في دراسة أنابيب الكربون النانوية (Phung et al., 2003; Gabriel et al., 2006).

إضافة لما سبق، فقد اتضح مع الوقت وتبادل الخبرات أن هناك تقنيات أخرى يمكن تطبيقها واتباعها في دراسة المواد النانوية مثل تقنية القياس الماسح للسرعات الحرارية [Differential Scanning Calorimetry (DSC)] والتي

يمكنها ان تعطي معلومات وصفية وكمية عن طبيعة التغيرات الفيزيائية والكيميائية التي تشملها التفاعلات الماصة للحرارة والأخرى التي تنبعث منها الحرارة. وبالنسبة لتقنية قياس وتحليل الإنجذاب الحراري [Thermogravimetry Analysis (TGA)]، فيمكن من خلالها الحصول على معلومات تتعلق بوجود الملوثات المتطايرة أو المواد القابلة للتغير التي قد تحتويها المواد النانوية وعلاقة ذلك بوزن العينات وعلاقتها بالحرارة (Williams et al., 2006; Inaba et al., 2006). وفيما يتعلق بمستوى ودرجة طلاء وتغطية المواد النانوية بالمجاميع الفعالة مثل الكربونيل، والفينولات، واللاكثونات، والكربوكسيل، فيمكن قياس ذلك بطريقة كمية من خلال تفاعل معايرة بويم (Boehm's titration) وذلك كما قام بإجرائها العالم (Toles et al., 1999) بينما محتوى الدكستران عند سطح الجسيمات النانوية يمكن قياسه من خلال تفاعل الهدم الإنزيمي للجسيمات النانوية بواسطة إنزيم (endodextranase) وذلك كما قام باتباعه العالم (Lemarchand et al., 2005). وفي بعض الأحوال يمكن اللجوء إلى استخدام جهاز الرنين الإلكتروني الدوار [Electron Spin Resonance (ESR)] في تحديد صفات السطح الممغنط للجسيم النانوي وذلك كما قام باتباعه العالم (Köseoglu, 2006). وبالنسبة لتلوث أسطح المواد النانوية، فقد اتضح أنه من المواضيع التي نادراً ما تمت دراستها أثناء تحديد صفات هذه المواد. فعلى سبيل المثال، وجود ثاني أكسيد الكربون كأحد الشوائب المتواجدة على أسطح جسيمات أكسيد الزنك والتي قد أمكن الكشف عنه ودراسة باستخدام جهاز تحليل الطيف الماص للأشعة تحت الحمراء وذلك طبقاً لما قام به العالم (Hining et al., 2005). وهكذا اتضح أن مجال دراسة أسطح الجسيمات النانوية سواء أكانت متفردة أم متعددة الجدران مازال في احتياج الزيد من الدراسات والتقنيات الحديثة القادرة على إعطاء معلومات كمية عن سُمك طبقة الأغطية المحيطة بالجسيمات النانوية ومستويات تغطيتها وغير ذلك من معلومات في غاية الأهمية تفيد بدرجة كبيرة أثناء عملية تقييم التأثيرات السامة للمواد النانوية على أي نظام بيولوجي يتم اختياره لإجراء مثل هذه الدراسات.

ج) وصف خصائص المواد النانوية المعطاه للنظام البيولوجي

Characterization of Administered Nanomaterials to the Biological system

إن وصف خصائص المادة أو المواد النانوية المقرر إعطاؤها لأي نظام بيولوجي لاختبار تأثيراتها السامة اتضح أنه من الأمور الأساسية للتأكد من طبيعة التفاعلات التي قد تحدثها هذه المواد بداخل النظام البيولوجي المختبر أثناء التجربة؛ وذلك طبقاً لما أشار إليه العالم (Oberdörster et al., 2005 a & b). بناءً على ذلك، فإنه لكي يتم إجراء تقدير دقيق وسليم للجرعة المختيرة من المواد النانوية التي قد تسبب في إحداث استجابة فسيولوجية سواءً بداخل جسم الكائن الحي (*in vivo*) أو خارجه (*in vitro*)، فإنه يجب تحديد الخصائص الفيزيائية- الكيميائية لهذه المواد وذلك من أجل معرفة أنسب طرق التعريض التي يتم اتباعها بشكل سليم بما يتناسب مع طبيعة وخصائص هذه المواد النانوية. وعموماً، فهناك العديد من طرق تعريض وإعطاء المواد النانوية للنظام البيولوجي. ومن هذه الطرق،

النفاذية من خلال الجلد (dermal penetration)، الحقن بداخل الجلد (Intradermal Injection)، تركيب (إدخال) أنبوبة بداخل القصبة الهوائية (intratracheal instillation)، استنشاق للإيروسول (Inhalation of aerosol)، الامتصاص أو التناول الخلوي (Cells uptake) وغير ذلك من طرق تعريض يمكن اتباعها عند إجراء دراسة تتعلق بتأثير المواد النانوية على النظام البيولوجي.

وفي الحقيقة، فإن هذه الجزئية لها القدر الكبير من الأهمية من حيث ما يجب أن يؤخذ في الاعتبار؛ نظراً لما يمكن وجوده من عوامل تؤثر على طبيعة الإعطاء والتعرض أثناء تقديم الجرعة المختبرة. ومن ضمن هذه العوامل حدوث تجمع للجسيمات النانوية في البيئة المائية (Parodos and Burghard 2004)، وجود جسيمات نانوية غير قابلة للذوبان مثل جسيمات الفوليرين (Beck, 1998). وقد يقوم بعض الباحثين بتعمد عدم حدوث تجمع للجسيمات النانوية التي تكون من طبيعتها الانتشار وذلك من خلال تغيير درجة الحموضة أو من خلال إضافة مواد ذات نشاط سطحي وهذا من الأمور التي قد تؤدي إلى حدوث تغير في كيمياء السطح للمواد النانوية المختبرة وذلك بالطبع مما يؤثر على تفاعلها مع الخلايا ومن ثم تأثيراتها البيولوجية وهذا طبقاً لما أشار إليه العالم (Monteiron-Riviere et al., 2005 a & b). وعلى أية حال، فإنه يجب التنويه إلى أن معظم الظروف التجريبية الموجودة في الأبحاث المنشورة، للأسف اتضح أنها لا تحاكي (لا تشابه) مع ظروف التعرض الحقيقية (Zuin et al., 2007).

وكما سبق التنويه إليه سلفاً، فإن الاستجابة الفسيولوجية بالنظام البيولوجي المختبر تجاه المواد النانوية تعتمد على الخصائص الفيزيائية - الكيميائية لهذه المواد ولكن اتضح أنها تعتمد على ظروف تعريض هذه المواد للنظام البيولوجي المختبر. فعلى سبيل المثال، اختيار البيئة الغذائية المناسبة للخلايا المزروعة خارج الجسم الحي (in vitro) واختيار أسلوب التوزيع المناسب للمواد النانوية المختبرة (مثل اختيار وسيلة التدوير أو استخدام الموجات فوق الصوتية) أو أن يتم إضافة مواد مثبته أو أملاح اتضح أنها كلها من الأمور التي من الممكن أن تؤثر بشكل معنوي على طبيعة تأثير المواد النانوية على النظام البيولوجي المختبر. وعموماً، فإن أهمية تحديد ظروف التعرض المناسبة وفهم العلاقة بين الخصائص الفيزيائية - الكيميائية وبين طريقة التعرض وتأثير ذلك على الاستجابة، كلها من الأمور التي تساعد في الحصول على علاقة سليمة تربط بين الجرعة والتعرض. وللأسف، فهناك القليل من الدراسات التي أخذت في اعتبارها هذه العوامل. بمعنى آخر، يجب إجراء تصميم تجريبي يتناسب مع طبيعة المواد النانوية المختبرة وما لديها من صفات وخصائص ومع النظام البيولوجي المختبر وما يتلاءم معه من ظروف تعريض، وهذا ما تم التنويه إليه في بعض ما تم إجراؤه من دراسات قام بها العديد من العلماء (Bermudez et al., 2004; Lam et al., 2004; Warheit et al., 2004).

د) وصف خصائص المادة النانوية في البيئة السائلة Characterization of Nanomaterial in Liquid Media

من خلال ما تم نشره من دراسات لوحظ أنه لا توجد طرق قياسية يمكن من خلالها عمل تشخيص وانتشار للمواد النانوية أثناء إجراء تجارب اختبارات تأثيراتها السامة على النظم البيولوجية سواءً خارج الجسم الحي (*in vitro*) أو بداخله (*in vivo*) وذلك في الحقيقة تبين أنه راجع إلى التنوع والتباين الكبير بين المواد النانوية وكذلك بين البروتوكولات المتاحة التي يجب اتباعها. بناءً على ذلك، فيجب أن يتم تحديد وصف لخصائص المواد النانوية أثناء وجودها في بيئة الاختبار على الأقل من حيث طبيعة توزيع الجسيمات، حجم الجسيمات، تركيز الجسيمات (تركيز الجسيمات لكل وحدة حجم)، شحنة السطح، درجة ثبات تعلقها (معلقاتها في السائل) في المحلول المطلوب إعطاؤه للنظام البيولوجي المختبر. علاوة على ذلك، فإن جميع المواد النانوية يجب أن تخضع لظروف قياسية من حيث تخزينها أو تطبيقها مع وجود طرق إشرافية صريحة لتوضيح كيفية التعامل مع هذه المواد وتداولها. أما عن الوضع الحالي، فإنه بكل أسف، تبين أن المواد النانوية يتم إعطاؤها للنظام البيولوجي من خلال طرق وصفية. فعلى سبيل المثال، توجد العديد من الدراسات التي تفيد بأن المواد النانوية المختبرة قد تم تكوين محلول معلق منها في بيئة سائلة تتناسب مع النظام البيولوجي والذي قد يكون بيئة غذائية للخلايا المزروعة أو محلول فسيولوجي سبق تعقيمه أو في الماء.

علاوة على ذلك، فإن المحلول المعلق الناتج غالباً ما يتم معالجته أو تعريضه لموجات صوتية أو عمليات قلب قبل أن يتم تحضينه مع الخلايا أو قبل إعطائه للحيوانات أو الخلايا المختبرة وذلك بهدف منع تجمع أو التكتل للمواد النانوية (Rothen-Rutishauser et al., 2006; Brunner et al., 2006). وفي تلك الجزئية، فإن عملية تعريض المحلول المعلق للموجات الصوتية أو للقلب (والتي غالباً ما تكون بدون تفسير لاتباعها) فإنها تؤدي إلى الحصول على درجة من التشييت للجسيمات النانوية تختلف تبعاً للظروف التجريبية المحيطة مثل وقت وسرعة القلب أو مقدار الطاقة التي تم توظيفها في توليد الموجات الصوتية وغير ذلك من ظروف قد أشار إليها العالمان (Paredes and Burghard 2004).

وفي حقيقة الأمر، فإنه في حالات قليلة جداً قد يتم ذكر ووصف لحالة التجمع أو التكتل للجسيمات النانوية المختبرة ودرجة ثباتها مع مرور الوقت أثناء تعلقها في المحلول قبل أن يتم اختبار تأثيراتها السامة. لذلك، فإنه غالباً لا يتم اتباع أو عمل وصف تفصيلي لطريقة التشييت المتبعة وقد لا يتم ذكرها على الإطلاق ومن ثم، فإن ذلك يؤدي إلى أن التجربة لا يمكن تكرار النتائج المتحصل عليها مرة أخرى وعليه تفتقد لصفة التكرارية (Reproducibility). ومن أشهر الأمثلة التطبيقية التي توضح ما سبق، ما حدث مع الجسيمات النانوية للفوليرين والذي أحياناً قد يتم إذابته في الطولوين (Andrievsky et al., 2002). أيضاً، فقد تتم الإذابة في مذيب تتراهيدروفيوران

[Tetrahydrofuran (THF)] (Deguchi et al., 2001). وفي أحيان أخرى تتم الإذابة في أية مذيبات عضوية أخرى ومن بعد ذلك يتم نقله إلى الماء بطريقة الإستخلاص من الطبقة العضوية باستخدام الماء بهدف الحصول على جزيئات من الكربون 60 الذائب في الماء (Water soluble C₆₀).

بناءً على ذلك، لوحظ أن الكربون 60 الذائب في البيئة المائية أنه ذو تأثير سام على الخلايا المزروعة وذلك كما أشارت إليه عدة دراسات (Sayes et al., 2004 & 2005)، بينما في دراسات أخرى تمت الإشارة إلى أن الكربون 60 عندما يتم تحضير محلوله بطريقة مختلفة فإن الناتج لا يكون ذو أية تأثيرات سامة (Gharbi et al., 2005; Mori et al., 2006). من هذه الدراسات تتضح أهمية طريقة تحضير محلول المواد النانوية المراد إختبارها وأن تكون طريقة موثقة ومعتمدة حيث إن أية تعديلات بها أثناء التحضير ستؤدي في النهاية إلى إظهار نتائج سمية غير مرتبطة بالواقع وذلك كما أشار إليه بعض العلماء (Andrievsky et al., 2005). ولإظهار وتوضيح أهمية ما سبق، فقد لاحظ العالم (Casey et al., 2007) بأن سمية أنابيب الكربون النانوية أحادية الجدار على الخلايا المزروعة خارج الجسم الحي تتأثر بتوزيع وتشتيت هذه الأنابيب النانوية في بيئة الخلايا قبل تعريضها للخلايا حيث قد يتج عنه حدوث تفاعلات بين الأنابيب النانوية وبين مكونات البيئة وهو الأمر الذي يؤدي إلى التأثير على حيوية الخلايا بطريقة لم يتم توضيحها أو تفسيرها.

أيضاً، هناك أنواع من الموجات الصوتية التي يتم استخدامها والتي تؤدي إلى حدوث تغيرات في طبيعة المكونات الكيميائية للجسيمات النانوية ومن ثم تستخدم في تخليق هذه الجسيمات (Suslick et al., 1999). لذلك، فقد تم التأكد من أن هناك العديد من العوامل التي تؤثر في نواتج عملية تحضير محاليل المواد النانوية باستخدام الموجات الصوتية وذلك مثل طبيعة إجراء استخدام الموجات الصوتية، وقت المعاملة، التردد المستخدم، الطاقة الموجهة في توليد هذه الموجات، نوع تلك الموجات والفترة الزمنية بين إجراء التشتيت وبين إعطاء العينة للنظام البيولوجي المختبر وهي في مجملها من العوامل التي يجب أن تؤخذ في الاعتبار قبل إجراء التجارب البيولوجية.

هـ) وصف خصائص المادة النانوية في حالة الإيروسول *Characterization of Nanomaterial in Aerosol*

توجد العديد من دراسات السمية التي تعتمد في تصميمها على إجراء عمليات استنشاق الكائنات الحية المختبرة للإيروسول المحتوي على جسيمات نانوية وذلك مثل ما قام به العديد من العلماء مثل (Kreyling et al., 2002; Kapp et al., 2004). واعتماداً على نوعية التجربة، فإن شكل الإيروسول المحتوي على الجسيمات النانوية يمكن الحصول عليه إما على هيئة سائل معلق مائي وإما على هيئة مساحيق وذلك مثل ما قام باستخدامه بعض العلماء (Sharma et al., 2004; Grassian et al., 2007). وفي الحقيقة، فإن طبيعة توزيع الجسيمات النانوية في مستحضرات الإيروسولات تعتبر من النقاط شديدة الأهمية سواءً على المستوى البحثي والتجريبي أو على المستوى التطبيقي خاصة بالمجال الطبي. والسبب من وراء تلك الأهمية تعود إلى أن ما يتم استنشاقه من جسيمات نانوية قد

يتم ترسيبه في أي منطقة من المناطق الثلاثة من الجهاز التنفسي والتي تشمل منطقة الأنف البلعومي (Nasopharyngeal)، منطقة تشعبات القصبة الهوائية (Tracheobronchial) ومنطقة الخويصلات الهوائية (Alveolar regions). وعموماً، فإن تفضيل ترسيب الجسيمات النانوية لأي من هذه المناطق يعتمد على أحجام الجسيمات ومن ثم قابليتها لحدوث أي تكتل أو تجمع لها مما قد يؤدي إلى حدوث تغير في مكان الترسب وذلك تبعاً لما أشار إليه العالم (Oberdorster et al., 2005 a & b). بنفس الطريقة، فإن طبيعة توزيع الجسيمات طبقاً لكل من أحجامها، شكلها، كثافتها وطبيعة مكوناتها أثناء تواجدها في الحالة الإيروسولية المتولدة اتضح أنها من العوامل المؤثرة على مكان ترسيب الجسيمات النانوية أثناء استنشاقها سواءً على المستوى البيئي التجريبي أو من الناحية التطبيقية وكلاهما يتأثر بهذه العوامل التي تؤثر بدورها في معدل دخول هذه الجسيمات إلى الجهاز الدوري (Kreyfing et al., 2006).

وفي هذا المجال، فقد أمكن ابتكار وتطوير العديد من التقنيات التي تساهم في الحصول على المعلومات المهمة المتعلقة بالجسيمات النانوية في الإيروسولات. ومن ضمن تلك التقنيات تلك التي يُطلق عليها عداد تكتف الجسيم (Condensation Particle Counter (CPC)) ويتم استخدامه في تقدير تركيز عدد الجسيمات (Pui et al., 2000; Dick et al., 2000). ومن الناحية العملية، فإن فكرة عمل هذه التقنية تعتمد على حقيقة حدوث تزايد الجسيمات النانوية في الجو البخاري المشبع ومن ثم تصبح أعدادها كبيرة إلى المستوى الذي يمكن معه قياسها من خلال عداد ضوئي. وقد اتضح أن هذه التقنية لها القدرة على كشف الجسيمات النانوية التي تتراوح أحجامها من 3 وحتى 1000 نانومتر (Fissan, 2002).

إضافة إلى التقنية السالفة، فقد تم التوصل إلى تقنيات أخرى مثل تقنية مسح حركة الجسيم وحجمه (Scanning Mobility Particle Sizers (SMPS))، تقنية الإسطدام الكهربائي ذو الضغط المنخفض (Electrical Low Pressure Impactors (ELPI)) وهما من التقنيات التي أشار إلى إمكانية تطبيقها العالم (Luther, 2004). من جهة أخرى، فإنه أثناء وبعد فترة منتصف العقد الأول من القرن الحالي ظهرت تقنيات أخرى لها القدرة على قياس أحجام الجسيمات النانوية بالمستحضرات الإيروسولية إلا أن كل تقنية كان لها من المميزات وأيضاً من العيوب مما يجعلها تقنية لا يمكن الوثوق بها بالقدر الذي يجعلها من التقنيات القياسية. ومن ضمن هذه التقنيات (Differential Mobility Analyzer (DMA))، (Low pressure DMA (LPDMA))، (Time of Flight Mobility (TOFM)) و (Dynamic Light Scattering (DLS)) وغيرهم من التقنيات التي تم استخدامها في إجراء العديد من الدراسات. وعلى أية حال، فما زالت هناك حاجة شديدة إلى وجود تقنية قياسية يمكن الاعتماد عليها في معرفة أحجام الجسيمات النانوية في البيئات والأوساط المختلفة وتحت الظروف المختلفة والأخذ في الاعتبار قياسات ما ينطلق من قطرات إيروسولية وما تحمله هذه القطرات من شحنات ومن ثم حركة تلك القطرات وما تحمله من جسيمات نانوية. أيضاً، فقد أمكن التوصل إلى تقنية يُطلق عليها المرسب الإلكتروستاتيكي (Electrostatic Precipitator (ESP)) والتي تبين أن لها القدرة على قياس حجم، شكل، تركيب، مكونات وحالة تجمع الجسيمات النانوية بعد ترسيبها على أحد الأسطح أو المرشحات الخاصة وذلك كما أوضحه العالمان (Fissan, 2002; Luther, 2004).

وصف خصائص المادة النانوية بعد إعطائها Characterization of Nanomaterial After Administration

إن وصف خصائص المواد النانوية بعد إعطائها ودخولها وأثناء وجودها في الوسط البيولوجي المختبر يعتبر من أهم الأمور التي يجب معرفتها في مجال البحث ودراسة سمية المواد النانوية. وقد اتضح أن الوصف الدقيق لهذه المواد يعتبر من الأساسيات التي يجب اتباعها حتى يمكن الوصول إلى تقييم سليم يعبر عن التفاعلات التي قد تحدث بين المواد النانوية وبين الأنسجة البيولوجية وعليه الوصول إلى مرحلة التفسير المنطقي السليم للتأثيرات البيولوجية ومن ثم معرفة ميكانيكية إحداث الفعل السام. ومن حيث الأساس العلمي، فغالباً ما يمكن تطبيق جميع التقنيات سالفة الذكر لوصف المواد النانوية بعد إعطائها للنظام البيولوجي المختبر إلا أن الفرق يكمن في أن تركيز هذه المواد في الوسط البيولوجي يكون منخفض كما أن التركيب المعقد للمادة البيولوجية تجعل من مهمة وصف المادة النانوية من الأمور الأكثر أهمية سواءً على المستوى الوصفي (وجودها وتوزيعها) أو على المستوى الكمي (التركيز الفعلي بالأنسجة المتخصصة أو حتى بالمكونات الخلوية).

وحالياً، فقد اتضح أن عملية تقدير الجرعات الداخلية من المواد النانوية بعد إعطائها ومن ثم مآلها أو مصيرها النهائي عادة ما تكون من الإجراءات الصعبة؛ بسبب محدودية الطرق المتاحة التي تتمكن من معرفة تلك المعلومات وذلك كما أشار إليه العالم (Oberdörster et al., 2005 a & b). وبصفة عامة، فهناك بعض الطرق التحليلية المتاحة والتي يمكنها الكشف وتحديد لكمية المادة النانوية بالوسط البيولوجي ولكن لا توجد إجراءات كافية يمكنها تقييم ما حدث من تغيرات في الخصائص الطبيعية والكيميائية للمادة النانوية نتيجة تفاعلها مع المادة البيولوجية وهذا بالتحديد ما أشار إليه بعض العلماء (Powers et al., 2006; Bhattacharya et al., 2006). علاوة على ذلك، فقد اتضح أن هناك عدد قليل من الدراسات التي تم إجراؤها في مجال تحديد وتعريف مآل المادة النانوية التي تم إعطاؤها وتجربتها بهدف التعرف على نتائجها الأيضية بالجهاز الدوري (الدم) أو تراكمها أو إخراجها عن طريق الكلى أو توزيعها بين أنسجة وأعضاء الجسم أو تقدير معدلات تنقيتها من الجسم أو نصف عمرها البيولوجي بتداخل الجسم وذلك طبقاً لما أشار إليه العلماء (Singh et al., 2006a; Wallace et al., 2007).

ن الخصائص الوصفية للمواد النانوية بالأوساط البيولوجية بين خلوية

Characterization of Nanomaterial in Biological Matrices

إن امتصاص الخلايا للجسيمات النانوية قد أمكن الكشف عنه باستخدام عدة طرق منها الميكروسكوب الفلوريسينسي [Fluorescence Microscopy (FLM)]، الميكروسكوب الإلكتروني المسح [Scanning Electron Microscopy (SEM)]، الميكروسكوب الإلكتروني النفاذ [Transmission Electron Microscopy (TEM)] و ميكروسكوب الليزر المسح ذو البؤر المتحدة [Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)] وذلك كما قام باستخدامها العديد من العلماء مثل (Davda and Labhastwar, 2002; Bielenska et al., 2002; Kirchner et al., 2005).

(Rothen-Rutishauser et al., 2006). من هذه التقنيات اتضح أنه يمكن الكشف عن وجود ومستوى توزيع الجسيمات النانوية ودرجة تكتلها أو تجمعها على المستوى الخلوي ولكن كان من الأمور المستحيلة هو التحقق ما إذا كان التكتل أو التجمع للجسيمات النانوية قد حدث قبل أو بعد امتصاص الخلايا لهذه الجسيمات وذلك طبقاً لما أشار إليه العالم (Powers et al., 2006).

وعموماً، فإن التقنيات سالفة الذكر تبين أنه يعيها الوقت الطويل والمجهود الكبير المبذول في إجراءات تحضير العينات وتثبيتها وإزالة الرطوبة منها وصيغها وعمل قطاعات لها وغير ذلك من خطوات طويلة، لذلك، فقد لجأ العديد من الباحثين إلى استخدام تقنية أخرى أكثر حداثة ويُطلق عليها الميكروسكوب الأيوني النافذ الماسح [Scanning Transmission Ion Microscopy (STIM)] والذي أمكن إثبات أنه من الأدوات المهمة التي يمكن استخدامها في العينات البيولوجية بدون تثبيت (Unfixed) وبدون صبغ (Unstained) ومن ثم تصبح هذه التقنية كأداة تشخيصية في دراسة طبيعة التركيب الخلوي والنسيجي وما قد يطرأ عليه من تغيرات سواءً على مستوى الدراسات داخل جسم الكائن الحي (*in vivo*) أو خارجه (*in vitro*) (Menzel et al., 2004).

إضافة لما سبق، فقد يلجأ بعض الباحثين إلى استخدام واتباع التقنيات المعتمدة على قياسات المواد النانوية ذات النشاط الإشعاعي بهدف التحقق من إمتصاص وتوزيع المادة النانوية التي تحتوي على كربون مشع [^{14}C] وذلك بشكل كمي وهذا ما قام به العديد من العلماء (Singh et al., 2006 a & b; Guison and Wong, 2006) إلا أن من أهم عيوب هذه التقنية هي أنها مكلفة إقتصادياً بدرجة كبيرة علاوة على ما يعيها من احتمالية انسياب وتحرير الذرات المشعة بعيداً عن الجسيمات النانوية التي كانت معلمة بها.

ح) وصف خصائص المادة النانوية غير العضوية بالأوساط البيولوجية الين خلوية

Characterization of Inorganic Nanomaterial in Biological Matrices

إن عملية تحليل العناصر قد لاقت نجاحاً كبيراً في مجال التقنيات النانوية ؛ وذلك نظراً لما تقدمه من معلومات وصفية وكمية تتعلق بتقدير المواد النانوية غير العضوية بالوسط البيولوجي. علاوة على ذلك، فقد اتضح أن عملية تحليل العناصر تتميز بتخصصها وحساسيتها التي يصل مداها إلى جزء في التريليون (ppt). ومن أشهر الأجهزة المستخدمة في الكشف والتقدير عن العناصر المعدنية خاصة الثقيل منها هو جهاز تحليل طيف الإمتصاص الذري [Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)]. أيضاً، يمكن استخدام جهاز الحث المزدوج للبلازما المعتمد على تحليل طيف الضوء المنبعث [Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES)] كذلك قد نجح استخدام جهاز الحث المزدوج للبلازما المعتمد على قياس تحليل الكتلة [Inductively Coupled Plasma- Mass Spectroscopy (ICP-MS)]. وعموماً، فإن اختيار الجهاز اتضح أنه يعتمد على نوع العنصر وتركيزه ونوع المادة البيولوجية الموجود بها (Kückelhaus et al., 2005).

من جهة أخرى، فيجب التنويه إلى أن هذه التقنيات لا يمكن استخدامها في الكشف عن المواد النانوية العضوية أو حتى في الكشف عن العناصر الخفيفة مثل الأكسجين، والنيتروجين، والكبريت أو حتى في الكشف عن العناصر الموجودة بشكل طبيعي بالأنسجة البيولوجية مثل الحديد أو الزنك. بناءً على ذلك، فمن أجل تقدير العناصر الثقيلة التي تحتويها المواد النانوية والتي تتواجد بالنسج البيولوجي، فيجب أولاً إجراء عمليات هضم لهذه المواد وذلك كما قام بإجرائه العالم (Takenaka et al., 2001).

ط) وصف خصائص المادة النانوية العضوية بالأوساط البيولوجية البين خلوية

Characterization of Organic Nanomaterial in Biological Matrices

إن عملية تقدير المواد النانوية العضوية بالوسط البيولوجي من المحتمل أن تكون من أهم ما تتطلبه الدراسات البحثية في مجال سمية المواد النانوية. وفي الحقيقة، فإن صعوبة تلك النوعية من الدراسات تكمن في تشابه مكونات المواد النانوية العضوية مع مكونات الجزيئات البيولوجية الطبيعية إلا أن الاختلاف يرجع إلى أن حجم المواد النانوية قد يكون أكبر نسبياً. ونظراً لتلك الحقيقة، فمن الصعوبة بمكان تطبيق التقنيات التقليدية التي يمكنها الكشف عن المكونات العضوية بالأنسجة الحيوية حيث لا يمكن التفريق أو التمييز بين مكونات المادة البيولوجية وبين مكونات المواد النانوية. بناءً على ذلك، فقد يتم اللجوء إلى استخدام أنظمة الفصل التي لها القدرة على فصل المواد النانوية عن الوسط البيولوجي. وفي تلك الجزئية، فإن أنظمة الفصل متنوعة مثل كروماتوجرافيا التخلل من خلال الجيل [Gel Permeation Chromatography (GPC)] أو كروماتوجرافيا السائل عالي الأداء [High Performance Liquid Chromatography (HPLC)] أو الفصل الكهربائي الشعري [Capillary Electrophoresis (CE)] وأيضاً تقنية يُطلق عليها [Flow Field Flow Fractionation (FFF)] والتي تعتبر من أكثر التقنيات الواعدة في الكشف والتمييز بين المواد النانوية العضوية وبين المكونات العضوية التي يشملها النظام البيولوجي وذلك على الرغم من قلة الدراسات التي قامت باتباع تلك التقنية (Chen and Selegue, 2002; Andersson et al., 2005). وهكذا ما زال ذلك المجال في احتياج إلى المزيد من التقنيات المتخصصة التي يمكنها الفصل والتمييز بين مكونات الجسيمات النانوية وبين مكونات البيئية البيولوجية التي تحيط بهذه الجسيمات بداخل النظام الحيوي سواءً أكان ذلك بداخل جسم الكائن الحي (*in vivo*) أم خارجه (*in vitro*) من خلال خلايا أم أنسجة قد سبق زراعتها.

رابعاً: الخصائص الفيزيائية الكيميائية للجسيمات النانوية التي تحدد احتمالية سُميتها

Physico-Chemical Characteristics of Nanoparticles that Determine Potential Toxicity

عند بداية العمل البحثي في مجال دراسات سمية الجسيمات النانوية كان هناك دائماً تساؤل بين العاملين في هذا التخصص وهو: هل التأثيرات السامة للجسيمات النانوية راجعاً إلى حجمها الدقيق أم إلى زيادة مساحة سطحها أم نتيجة لتفاعلها مع الجزيئات الحيوية بأنسجة وخلايا الكائن الحي؟. بناءً على ذلك التساؤل، فقد أفادت

دراسات عديدة إلى أن هناك علاقة بين سلوك الجسيمات النانوية وبين صفاتها الطبيعية والكيميائية وبين تأثيراتها البيولوجية. وهذه النوعية من الدراسات اتضح أنها تساعد في الحصول على النوعية من المعلومات التي تؤدي إلى تحديد الطرق الآمنة لتصنيع وإنتاج جسيمات نانوية يمكن استخدامها في مجال الطب الحيوي. بناءً على تلك الحقائق، فقد اتضح أن الجسيمات النانوية يمكن اعتبارها مثل السيف ذو الحدين من حيث تأثيراتها على صحة الإنسان، بمعنى أنه من أحد الجوانب يمكن للجسيمات النانوية أن تشكل خطراً حقيقياً على الإنسان، بينما من الجانب الآخر من المحتمل أن تكون في غاية النفع والإفادة للبشرية إذا ما أحسن استغلالها في عملية توصيل العقاقير إلى الخلايا والأنسجة المستهدفة أو استخدامها كوسيلة تشخيصية وعلاجية بأقل قدر ممكن من التأثيرات الجانبية.

أ) الخصائص الفيزيائية الكيميائية المحددة لسمية الجسيم النانوي

إن ماتم إجراء من دراسات متخصصة في مجال السمية قد أمكن التوصل من خلالها إلى أن الصفات الطبيعية الكيميائية المحددة لسمية الجسيم العادي (غير النانوي) هي:

- إن شكل الجسيم يمكن أن يحدد تأثيره السام. فعلى سبيل المثال أمكن إثبات أن الجسيمات الليفية تكون أكثر تأثيراً من حيث سميتها عن الجسيمات ذات الأبعاد المتساوية. أيضاً، تبين أن الجسيمات البللورية ذات الإنكسارات الشوكية تكون أكثر ضرراً من الجسيمات المستديرة ذات الحواف الناعمة.
- إن المكونات الكيميائية وعلاقتها بنشاط أسطح الجسيمات تحدد تأثيراتها السامة. فقد اتضح أن هناك من الجسيمات التي تتواجد على أسطحها مكونات كيميائية تعمل على توليد شقوق حرة (Free Radicals) تسبب تفاعلات أكسدة فورية للليبيدات (Lipid Peroxidation) الموجودة بخلايا وأنسجة الكائن الحي، أو أن تتواجد مواد معدنية تنساب منها أيونات قد يتم امتصاصها بقوة على البروتينات والمواد المضادة للأكسدة بالجسم بالدرجة التي تؤثر على طريقة عملها في حماية الجسم.
- الوقت اللازم لبقاء الجسيمات في جسم الكائن الحي والذي يُعبر عنه عادة باسم الثبات الحيوي (Biopersistence) عادة ما يرتبط بطبيعة الصفات الكيميائية للجسيم مثل ذوبانه، امتصاصه ومن ثم استجابة الخلايا والأنسجة لهذا الجسيم.

بناءً على تلك المعلومات، فإن السؤال الذي يفرض نفسه هو: إلى أي مدى وفي أي اتجاه يمكن للمعلومات السابقة أن تغير حينما يصبح حجم الجسيم في مجال القياسات النانوية ؟. في حقيقة الأمر، اتضح أنه على الرغم من كثرة الدراسات التي تم إجراؤها في مجال سمية الجسيمات النانوية، فإن المعلومات المتاحة ما زالت غير كافية للوصول إلى إستنتاج أو اتجاه واضح يمكن الحكم من خلاله على مدى التأثيرات السامة للجسيمات النانوية. فعلى سبيل المثال وليس الحصر يوجد تضاد وتضارب في نتائج دراسات السمية التي تم إجراؤها على

الجسيمات النانوية للتيتانيوم متساوية الأبعاد والأقطاب (Warheit et al., 2006; Sayes et al., 2006 b) أو على جسيمات الكوارتز النانوية (Warheit et al., 2007) حيث أشرت هذه الدراسات إلى أن هناك العديد من العوامل غير الأحجام النانوية هي التي تؤثر على سمية الجسيمات النانوية وذلك مثل طريقة تحضيرها، وشكلها البلوري، ومصدر مكوناتها الخام إلى غير ذلك من عوامل مهمة.

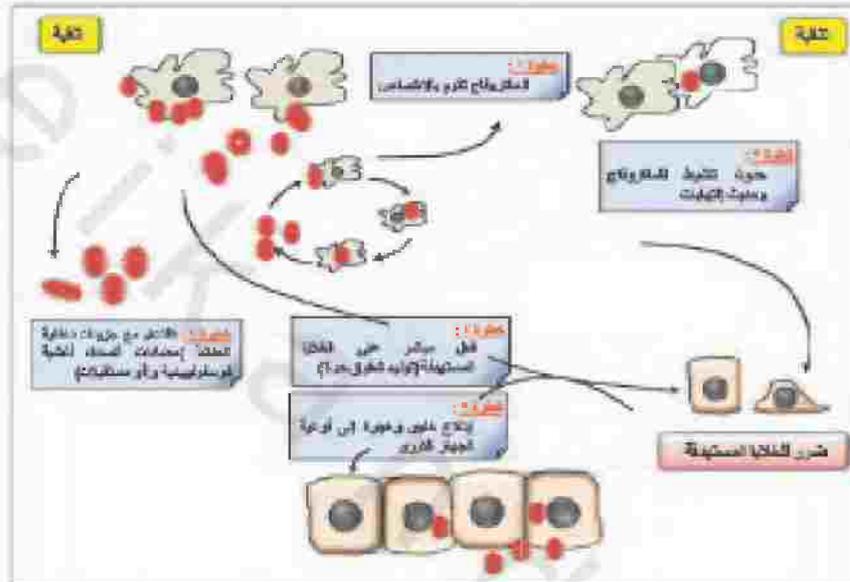
(ب) ما هي الخصائص الطبيعية والكيميائية المحددة لسمية كل من الجسيمات النانوية والميكرونية؟ بصورة شديدة الاختصار يمكن ذكر أهم الصفات الطبيعية والكيميائية التي تجعل من الجسيمات النانوية تأثير مختلف عن مثيلتها الأكبر حجماً كالآتي:

- الحجم النانوي.
 - الزيادة الكبيرة في مساحة أسطح الجسيمات النانوية وعلاقة ذلك بسطح التعرض لكل وحدة كتلة.
 - ارتفاع نسبة السطح إلى الحجم الذري ومن ثم زيادة القدرة التفاعلية للسطح.
 - ارتفاع القدرة التفاعلية على المستوى النانوي.
 - ارتباط طبيعة التركيب الكيميائي بالحجم النانوي.
 - وجود قوى ترابط شديدة بين مكونات الجسيمات النانوية.
- وفيما يلي سيتم استعراض مبسط عن كل صفة من الصفات سالفة الذكر والتبويب عن تأثيرها وعلاقتها بما قد تحدثه الجسيمات النانوية من تأثيرات سامة على النظام البيولوجي.

١- الحجم النانوي

إن حركة الجسيمات النانوية بحجم الكائن الحي والممالك المختلفة لدخول هذه الجسيمات؛ نتيجة لصغر أحجامها قد ساعدت العديد من العلماء على دراستها وبحثها بل ونشر مقالات مرجعية حولها بشكل متكامل وذلك مثل ما أشار إليه العالم (Nel et al., 2006). وعلى الرغم من ذلك؛ فإنه لا بد من التركيز على نقطتين في غاية الأهمية بالنسبة لطبيعة الميكانيكيات الجزئية للتفاعلات التي تحدثها الجسيمات المستنشقة، هاتان النقطتان هما: حجم الجسيم النانوي مقارنة بالمستقبلات الموجودة على الغشاء الخلوي والامتصاص البطني للجسيمات النانوية مقارنة بالجسيمات الأكبر بواسطة الماكروفاجات الموجودة بالخويصلات الهوائية؛ وذلك تبعاً للملاحظات التي لاحظها العالم (Oberdörster et al., 1992). بناءً على ذلك، فقد استطاع العالم (Fubini et al., 2007) من التوصل إلى وصف ما يمكن حدوثه من تفاعلات بين الجسيمات النانوية المستنشقة وبين خلايا الخويصلات الهوائية معبراً عن ذلك في الشكل رقم (٢،٤) حيث يتضح أن معظم التأثيرات التي تحدثها الجسيمات الكبيرة تكون على هيئة التهابات بينما الجسيمات النانوية (الأصغر حجماً)، فإنه نظراً لقلّة امتصاصها بواسطة الماكروفاجات المستثولة عن عملية التنقية الرئوية (خطوة رقم ٢) وخفض الالتهابات (خطوة رقم ٣) فإنه بناءً على طول فترة بقاء هذه الجسيمات

النانوية الحرة في الفراغ الحويصلي قد يتج عنه تأثير مباشر للخلايا المستهدفة من خلال انطلاق الشقوق الحرة (خطوة رقم ٤) وحدث تفاعلات شديدة مع الجزيئات داخلية المنشأ مثل مضادات الأكسدة والفوسفوليبيدات والمستقبلات الموجودة على الأغشية الخلوية (خطوة رقم ١) وفي النهاية حدوث هجرة للجسيمات لتصل إلى الأوعية الدموية (خطوة رقم ٥).



الشكل رقم (٢، ٤). رسم تخطيطي يوضح ما يمكن توقعه وحدثه لخلايا الحيوانات نتيجة استنشاق الجسيمات النانوية (مقتلاً عن (Fabbri et al., 2017).

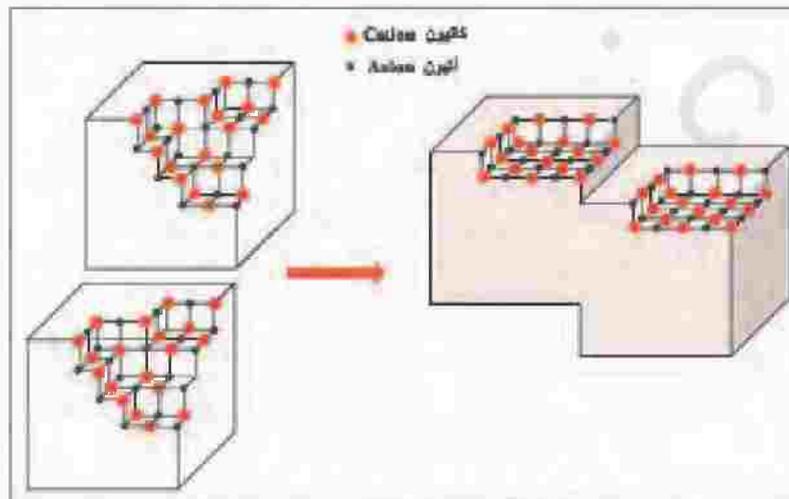
٢- الزيادة الكبيرة في مساحة السطح

إن زيادة مساحة السطح في الجسيمات النانوية مقارنة بالجسيمات الكبيرة يكون السبب الرئيسي فيها راجعاً إلى الصغر الشديد في حجم الجسيمات النانوية؛ وذلك تبعاً للنظرية المعروفة التي تنص على أنه كلما صغر الجسم إزدادت معه مساحة سطحه مقارنة بالجسيمات الكبيرة خاصة إذا تساوت الكتل لكل منهما. بناءً على تلك الحقيقة، فقد تبادر سؤال مهم وهو، ما هي أنسب طريقة يجب اتباعها للتعبير عن وحدة القياس في الجسيمات النانوية لاستخدامها في التعبير عن التأثيرات المعاكسة؟ وفي الحقيقة، فإن سبب ظهور ذلك التساؤل كان مصدره أن الوحدات المستخدمة في التعبير عن عمليات التعرض (سواءً تعرض الإنسان أو الحيوان) كانت معتمدة على استخدام وحدات الجرعات لبنية أساساً على وحدة الوزن وذلك حيث إنها من السهولة حسابها وحتى وإن كانت غير مناسبة مع الجسيمات الصلبة غير القابلة للذوبان. أيضاً، فإنه في حالة إجراء التجارب الخاصة باستنشاق الجسيمات، فإن هذه الجسيمات عادة ما تُحدث فعلها وتأثيرها البيولوجي من خلال مساحة سطحها الذي يصبح ملاصقاً مع السوائل الحيوية والتسيجية بالرة. بناءً على ذلك، فإن رأي العديد من العلماء يتركز على ضرورة

استخدام مساحة السطح للجسيمات النانوية وعددها وذلك كأساس لحساب الجرعة بدلاً من استخدام وحدة الوزن (Oberdörster et al., 2005 a & b; Moss, 2006; Moss and Wong, 2006).

علاوة على ما سبق، فقد اتضح أنه عندما تم حساب الجرعة للجسيمات النانوية و الجسيمات الكبيرة التي يتم إختبارها بناءً على مساحة سطحها، فقد كانت النتائج التحصل عليها تشير إلى تفسير شدة التأثيرات السامة التي تُحدثها الجسيمات النانوية مقارنة بالجسيمات الأخرى الكبيرة وهذا كان التفسير الذي يوضح العلاقة بين مساحة السطح للجسيم النانوي وبين شدة التأثير السام الذي يُحدثه ذلك الجسيم. من هنا نشأت التوصيات بضرورة حساب الجرعات المقدمة أو المختبرة من الجسيمات النانوية على أساس مساحة السطح وذلك سواءً على مستوى التجارب التي يتم إجراؤها على الحيوانات أو على الخلايا المزروعة (Monteiro-Riviere and Inman 2006).

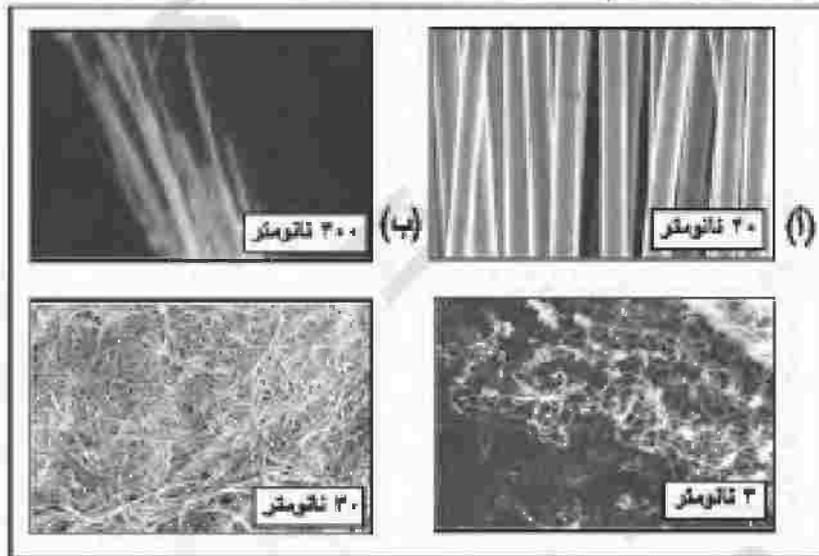
٣- ارتفاع نسبة مساحة السطح إلى الحجم اللري وما يتبع ذلك من زيادة القدرة التفاعلية لسطح الجسيم أشارت دراسات عديدة إلى أنه كلما صغر حجم الجسيم زادت معه مساحة سطحه وأيضاً زادت قدرته على حدوث تفاعلات مع مكونات البيئة المحيطة به. وقد تبين أن تزايد القدرة التفاعلية للجسيم النانوي تكون راجعة إلى وجود نقص أو خلل في طبيعة وضع الذرات أو الأيونات على أسطح الجسيمات النانوية وما يرافق ذلك من تكافؤات غير ملائمة أو وجود فراغات في الشكل الخارجي للجسيم النانوي خاصة عند الحواف والالتواءات (الشكل رقم ٢.٥). وعند تلك المناطق من الجسيمات النانوية اتضح أنها من الأماكن الضعيفة التي يسهل عندها حدوث انكسار للروابط التساهمية وما يتبع ذلك من إمكانية توليد للشقوق الحرة مثل أنواع الأكسجين النشط [Reactive Oxygen Species (ROS)] وذلك كما وصفه العديد من العلماء (Fenoglio et al., 2001; Fubini et al., 2001; Fubini and Hubbard, 2003).



الشكل رقم (٢.٥). زيادة القدرة التفاعلية لمساحة السطح وما يتبع عنه من عيوب في طبيعة وضع الذرات أو الأيونات وما يرافق ذلك من تكافؤات غير ملائمة أو وجود فراغات في الشكل الخارجي للجسيم النانوي خاصة عند الحواف والالتواءات (فقلاً عن Fubini et al., 2007).

٤- ارتباط طبيعة التركيب الكيميائي بالحجم النانوي

من الناحية العملية، توجد العديد من المنتجات النانوية التي ليس لها مثيل من الجسيمات الكبيرة حيث تتواجد فقط على هيئة جسيمات نانوية صغيرة الحجم. ومن أشهر الأمثلة على ذلك هي أنابيب الكربون النانوية سواء كانت أحادية أو عديدة الجدران. وقد اتضح أن هذه الأنابيب النانوية شديدة الثبات الحيوي؛ بسبب أنها مصنعة من شعيرات يصل طولها عدة ميكرومترات بينما تتراوح أقطارها ما بين ٦-٢٠ نانومتر. بناءً على ذلك، فقد يتم وضع هذه الجسيمات من الناحية التقييمية على أنها تابعة لقسم الألياف ومن ثم تكون ذات تأثيرات على صحة الإنسان تشابه تلك الناتجة من الأسبستوس (الشكل رقم ٢.٦). ومن حيث طبيعة مكوناتها الكيميائية، فهي معقدة؛ بسبب التنوع الشديد لمحتوياتها وكذلك وجود عدد كبير من الشوائب خاصة المعدنية والعضوية وبعض المواد المدعمة وذلك كما أشار إليه العالم (Donaldson et al., 2006).



الشكل رقم (٢.٦). صور بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح (SEM) لكل من (أ) أنابيب الكربون النانوية، (ب) ألياف الأسبستوس (تقلاً عن Fabral et al., 2007).

وعموماً، فإن غالبية هذه النوعية من الجسيمات تبين أنها تحتوي على المعادن مثل الحديد، والكوبلت، والنيكل، والمولبدنم على هيئة شوائب والتي غالباً ما يتم التخلص من معظمها من خلال عمليات التنقية. بناءً على ذلك، فقد قام العديد من العلماء بنشر مقالات مرجعية متخصصة في دراسات سمية هذه الجسيمات على الرئة في حيوانات التجارب (Lam et al., 2006; Muller et al., 2006).

٥- وجود قوى ترابط شديدة بين مكونات الجسيمات النانوية

أفادت نتائج الدراسات المتخصصة في مجال النفايات النانوية، بأنه كلما صغرت الجسيمات زادت شدة قوى الترابط بينها مما يدفعها إلى التكتل والتجمع. وفي الحقيقة، فإن هذه الظاهرة تبين أنها من الأهمية بمكان حيث أن

سلوك الجسيمات المتجمعة تكون ذات سلوك مختلف عن الجسيمات المنفردة. بمعنى آخر، فعندما تتجمع الجسيمات النانوية (بسبب قوى فان ديرفالز)، فإنها تتجه إلى أن تتكثرت (بسبب نشوء روابط كيميائية بين هذه الجسيمات) وهذا في النهاية ما يتسبب عنه أن هذه التكتلات سوف لا ينطبق عليها مواصفات الجسيمات النانوية. وعموماً، فمن أهم العوامل المؤثرة على حدوث هذه الظاهرة هي شحنات سطح الجسيمات، الكراهية (عدم الحب) للماء (Hydrophobicity) وإدمصاص الجزيئات الحيوية من الوسط المحيط.

بناءً على ما سبق، فقد اتضح أن هناك العديد من العوامل التي تؤثر على سمية الجسيمات النانوية. البعض من تلك العوامل اتضح أنه من غير الممكن التحكم فيها بينما البعض الآخر يمكن التحكم فيه. لذلك، فقد كانت من توجيهات بعض العلماء مثل (Fubini et al., 2007) بأن يكون هناك نموذج ثابت يتم اتباعه في إجراء الدراسات على سمية الجسيمات النانوية من خلال النقاط التالية:

- إذا كانت الجسيمات النانوية ذات أحجام مختلفة ولكن تم تحضيرها بنفس الأسلوب فإنه يجب دراسة تأثير القدرة التفاعلية ومن هنا يجب اختبار التأثير الحاد؛ نتيجة التعرض لنفس العدد من الجسيمات؛ وذلك لإظهار مدى فعل أو تأثير مساحة السطح.

- إذا كانت الجسيمات يتم تصنيعها بطرق مختلفة ولكن لها نفس الأبعاد (الطول والعرض أو القطر)، فيجب إجراء الدراسة على أساس تقييم تأثير طريقة التحضير أو التصنيع.

- الأخذ في الحسبان بأن الجسيمات التي يتم تحضيرها في أشكال مختلفة مثل الشكل العصوي أو الشعري، فيجب اختيار كل منها على حدى.

وهكذا يتضح أن الفعل أو التأثير السام الناتج من الجسيمات النانوية قد يكون راجعاً ليس فقط لأحجامها الصغيرة أو فائقة الدقة وإنما راجعاً إلى العديد من العوامل التي يجب أن تؤخذ في الاعتبار عند إجراء التصميم التجريبي على النظام البيولوجي مجال الإختبار سواء أكان ذلك النظام داخل الجسم الحي (*in vivo*) أم خارجه (*in vitro*).