

Received at: 2022-08-15 Accepted at: 2022-09-28 Available online: 2022-11-27

استخدام جسيمات أكسيد الزنك النانوميتريّة في تثبيط التلف الحيوي للأحجار الجيرية الأثرية

The Use of zinc oxide nanoparticles for the inhibition the biodeterioration of Archaeological lime stones

محمد كمال خلاف

أستاذ ترميم الآثار وعميد كلية الآثار / جامعة الفيوم (مصر)

Mohamed Kamal. Khallaf

Professor, Dean of the Faculty of Archeology,

Fayoum University.

mkk00@fayoum.edu.eg

سامح الطائر

كلية النانو تكنولوجيا جامعة القاهرة (مصر)

Sameh Al-Tayer

Faculty of Nanotechnology - Cairo University .

drsameheltayer@yahoo.com

احمد عادل عبد الحليم موسى

أخصائي ترميم آثار (مصر)

Ahmed Adel Abd Elhalem Mousa

archaeologist-restoration

ahmedarchaeology2010@gmail.com

عبير فؤاد الهجرسي

أستاذ مساعد التصوير الجداري والميكروبيولوجي ومدير مركز

بحوث وصيانة الآثار كلية الآثار / جامعة الفيوم (مصر)

Abeer Fouad Elhagrassy

Lecture in mural painting restoration

department ,Faculty of Archaeology, Fayoum

University.

afa01@fayoum.edu.eg

الملخص:

يناقش البحث دراسة لاستخدام جسيمات أكسيد الزنك النانوميتريّة في تثبيط التلف الحيوي للأحجار الجيرية الأثرية في معبد حيرشاف بأهناسيا، حيث تم عزل مسحات من الأسطح الأثرية خلال فصول السنة الأربعة وتم تعريفها مرفولوجيا إلى (Aspergillus niger , Aspergillus flavus , Rhizopus stolonifer , Alternaria alternata , Aspergillus nidulans and Rhizopus oryzae)، بالإضافة إلى بكتيريا من جنس (Bacillus cereus and Bacillus subtilis , Bacillus anthracis)، تم تحضير جسيمات أكسيد الزنك معمليا وفحص الجسيمات باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني النافذ للتأكد من حجم الحبيبات وأنها في الحجم النانوي والتي أظهرت أن حبيبات الزنك تتخذ الشكل الكروي مع متوسط قطر من (22.32 nm : 54.85 nm).

كما تم في هذا البحث دراسة تأثير النشاط الضد ميكروبي للأجناس الفطرية والبكتيرية المعزولة من الأسطح الأثرية وأظهرت الدراسة قدرة جسيمات أكسيد الزنك بتركيزين (٦١٥,٣٨ ppm) و (٧٦٩,٢٣ ppm)، على تثبيط نمو الكائنات الحية الدقيقة المعزولة، وتم أخذ مسحات من الأثر بعد تطبيق جسيمات أكسيد الزنك النانوي وزرعها من جديد في أطباق البتري وأكدت النتائج عدم قدرة أي من الكائنات الحية الدقيقة المعزولة على النمو من جديد، وتعد هذه الطريقة من الطرق الحديثة في المقاومة الحيوية وهي طريقة آمنة حتى الآن ولا تتفاعل كيميائيا مع الأثر.

الكلمات الدالة: النشاط الضد ميكروبي؛ جسيمات أكسيد الزنك النانوميتريّة؛ الفطريات؛ البكتيريا؛ الأحجار الأثرية.

Abstract:

The aim of this research is studying the effect of using Zinc Oxide nanoparticles to inhibit the bio-deterioration of the archaeological limestones and applied the nanoparticles on the Temple of

Hershaf, Ehanasia, Egypt. Swabs were isolated from the archaeological surfaces during the four seasons and morphologically identified to (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus stolonifera*, *Alternaria alterans* and *Rhizopus oryzae*), in addition of (*Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracis*) as genus of bacteria.

Zinc oxide particles were prepared in the laboratory and the particles were examined by Transmission Electron Microscope (TEM) to confirm the size of the particles which showed that the Zinc Oxide grains take hexagonal and spherical shapes with an average diameter of (22.32: 54.85 nm).

Hence, the antimicrobial activity of fungal and bacterial species isolated from archaeological surfaces was studied. The study showed the ability of Zinc Oxide particles (with concentrations 615.38 (ppm) and (769.23ppm) to inhibit the growth rate of the isolated microorganisms. After two months from applying Zinc oxide nanoparticles on the replica, swabs were taken and implanted again in Petri dishes, and the results confirmed that none of the isolated microorganisms was able to grow again.

This method is considered as one of the modern methods of biological treatments, and it is a safe method for the conservators and the visitors and does not chemically interact with archaeological stones.

Keywords: Antimicrobial activity- Nano Zinc oxide- Fungi- Bacteria- Archaeological stone.

١. المقدمة:

يُعد التلف الحيوي واحداً من أهم عوامل التلف المؤثرة على التراث الثقافي ومشكلة كبيرة دائماً ما تواجه المرممين حول العالم^١، و تختلف مظاهر التلف الحيوي للآثار غير العضوية بصفة عامة والأحجار الجيرية في المنشآت الأثرية والتماثيل الحجرية باختلاف الكائن الحي الدقيق الذي ينمو على السطح الأثري^٢. يختلف تأثير الكائنات الحية الدقيقة على الأحجار الجيرية والمباني الأثرية من كائن حي دقيق إلى آخر، فالبكتيريا على سبيل المثال يكون تأثيرها على الآثار كيميائياً بينما تؤثر الفطريات على الآثار فيزيائياً وكيميائياً وجمالياً^٣، و تكمن مظاهر التلف الحيوي غير المباشرة أيضاً في قدرتها على التسريع من عمليات التلف الأخرى والتسريع من عملها مما ينتج عنه تدمير للتركيب الفيزيائي Physical Structure والتكوين المعدني Mineral Compositio والتحلل الكيميائي Chemical Decomposition للأحجار الجيرية الأثرية^٤.

¹ BRANYSOVA, T., DEMNEROVA, K., DUROVIC, M., STIBOROVA, H.: « Microbial biodeterioration of cultural heritage and identification of the active agents over the last two decade», *Journal of Cultural Heritage* 55, 2022, 245-260

² LIU, X., QIAN, Y., WANG, Y., WU, F., WANG, W., GU, J.: « Innovative approaches for the processes involved in microbial biodeterioration of cultural heritage materials», *Current Opinion in Biotechnology* 75, 2022, 102716

³ CLAIR, L. ST & SEAWARD, M. (EDS): «Biodeterioration of Rock Surfaces», *kluwer Academic Publishers* 3. Limestone Stabilization Studies at a Maya Site in Belize, IN 46007, 2004, 24:25.

⁴ PYZIK, A, CIUCHCINSKI, K, DZIURZYNSKI, M., DZIEWIT, L.; « The Bad and the Good -Microorganisms in Cultural Heritage Environments-An Update on Biodeterioration and Biotreatment Approaches», *Materials* 14, 2021; 177

تعددت أساليب تعامل المرممين مع التلف الحيوي على مدار السنوات بدءاً من محاولة العلاج إلى التفكير في الصيانة الوقائية للأثر خوفاً من إصابتها بالتلف الحيوي، و بدأت هذه المحاولات من استخدام الطرق التقليدية في التنظيف، السيطرة على الظروف البيئية المحيطة وجعلها غير ملائمة للنمو الميكروبي، كما انتهج بعض المرممين مبدأ استخدام المبيدات الكيميائية على الرغم من كونها دائماً ما تُستخدم في المقاومة الحشرية وليست الميكروبية.^٥ وخلال العقد السابق توجهت الأنظار عالمياً إلى استخدام المعالجة الحيوية باستخدام الكائنات الحية الدقيقة التي تهاجم بعضها البعض ومن ثم من الممكن استخدام مضاداتها الحيوية أو إنزيماتها أو الكائن الحي ذاته ، وهي تعد من الطرق الحديثة والأمنة التي انتشر استخدامها عالمياً.^٦

شهد العالم الأكاديمي في العقد الماضي طفرة في استخدام المواد النانوميتريّة في مختلف المجالات الصناعية^٧، الطبية، الدوائية^٨، وفي مجال دراسات صيانة الآثار وأصبح كثيراً ما يستخدم في تثبيط الحيوي في الشرق الأوسط وفي مصر، فقد انتشر استخدام جسيمات الفضة النانوميتريّة والتي تساعد على تثبيط الفطريات والبكتيريا السالبة والموجبة لجرام^٩، وقد أكدت الدراسات أن فعالية جسيمات الفضة النانوميتريّة تتوقف على حجم الجسيمات وأنواع الميكروبات^{١٠}

ولم تكن جسيمات الفضة النانوميتريّة وحدها التي تم استخدامها في تثبيط الحيوي ، حيث تم استخدام جسيمات أكسيد التيتانيوم النانوميتريّة والتي أثبت تقييم النشاط المضاد للميكروبات الفعالية المتفوقة ضد البكتيريا

^٥ الهجرسي، عبير "دراسة لعلاج تأثير التلف الميكروبيولوجي على الصور الجدارية المنفذة بأسلوب التمير تطبيقاً على نماذج مختارة"، رسالة ماجستير، قسم الترميم، كلية الآثار / جامعة القاهرة ، ٢٠١٠م، ٥٣.

^٦ ELHAGRASSY, A.F. & HAKEEM, A.: «Comparative Study of Biological Cleaning and Laser Techniques for Conservation of Weathered Stone in Failaka Island, Kuwait», *Scientific Culture* 4, 2018, 43-50.

^٧ DEVALAPALLY, H, CHAKILAM, A, AMIJL, MM.« Role of Nanotechnology in Pharmaceutical Product Development» *Journal of Pharmaceutical Sciences* 96, 2007, 2547-2565

^٨ SONG, G, CHENG, L, CHAO, Y, YANG, K, LIU, Z; «Emerging Nanotechnology and Advanced Materials for Cancer Radiation Therapy», *Advanced materials* 29, 2017, 1700996

^٩ BELLISSIMA, F., BONINI, M., GIORGI, R., BAGLIONI, P., BARRESI, G., MASTROMEI, G., PERITO, B.: «Antibacterial activity of silver nanoparticles grafted on stone surface Chemistry in a sustainable society», *Environ Sci Pollut Res*, 2013, DOI 10.1007/s11356-013-2215-7

^{١٠} GUTAROWSKA, B. SKORA, J. ZDUNIAK, K. REMBISZ, D.: «Analysis of the sensitivity of microorganisms contaminating museums and archives to silver nanoparticles», *International Biodeterioration & Biodegradation* 68, 2012, 7:17

موجبة الجرام مقارنة بالبكتيريا سالبة الجرام والخميرة (أقل قيم MIC 8 و ٣٢ و ٣٢ على التوالي).^{١١} إلا أن من عيوب استخدام أكسيد التيتانيوم هي السمية عند استخدام الجرعات ذات التركيزات العالية.^{١٢}

أما في هذه الدراسة فقد تم استخدام جسيمات أكسيد الزنك النانوميتريّة والتي لها القدرة على تثبيط نمو البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام بالإضافة إلى البكتيريا المقاومة لدرجات الحرارة المرتفعة^{١٣}، وقد استخدمت جسيمات أكسيد الزنك في تعقيم وتنظيف لوحة من التصوير الزيتي وأثبتت الدراسة أن استخدام جزيئات الزنك النانوية في مقاومة فطري (*Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger*) قد أظهرت نتائج فعالة في تثبيط الفطرين ومن ناحية أخرى قام أكسيد الزنك بتعزيز قوة التحمل، وتخفيض نسبة تراكم الأوساخ على اللوحة، وذكرت الدراسة أن عملية التنظيف بواسطة أكسيد الزنك النانوي سهلة جداً بالمقارنة بعمليات التنظيف الأخرى.^{١٤}

وأكدت دراسة سابقة ل (Faria et al, 2014), عن نشاط أكسيد الزنك النانوي ضد بكتيري مع بكتيريا (*E. coli*, *S. aureus*) أن ZnO النانوي أحال دون نمو (*S. aureus*) بعد ٢٤ ساعة في تركيزات من ١٠:٥ ملم، كما أنه ثبت نمو *E. coli* بنسبة ٧٩% بعد ٢٤ ساعة.^{١٥}

وبتقييم فعالية جزيئات أكسيد الزنك النانوية المضادة للجراثيم ضد كل من الفطريات والبكتيريا سالبة (*P. aeruginosa* and *E. coli*) وموجبة الجرام (*B. subtilis* and *Staph. aureus*) ، وجد أن لها إمكانيات كبيرة لاستخدامها في مقاومة التلف الحيوي، كما أن نشاطها المضاد للبكتيريا جيد مقارنة بنشاطها المضاد للفطريات .^{١٦}

وترجع قدرة الجسيمات النانوميتريّة على مقاومة التلف الحيوي للمقتنيات الأثرية والمواقع التراثية إلى قدرة الجسيمات النانوميتريّة متناهية الصغر على زيادة المساحة المتاحة للتفاعل، مما يعزز تأثيرها كمبيد للجراثيم عن

¹¹ SABOURI, Z., AKBARI, A., HOSSEINI, H., KHATAMI, M., DARROUDI, M. « Green-based bio-synthesis of nickel oxide nanoparticles in Arabic gum and examination of their cytotoxicity, photocatalytic and antibacterial effects», *Green Chemistry Letters and Reviews* 14, 2021, 404-414

¹² HAMED, M., BAKR, B., SHAHIN, Y., ELWAKIL, B., ABU-SERIE, M., ALJOHANI, F., BEKHIT, A. «Novel Synthesis of Titanium Oxide Nanoparticles: Biological Activity and Acute Toxicity Study», *Bioinorganic Chemistry and Applications* 2021 | Article ID 8171786, IN 8, <https://doi.org/10.1155/2021/8171786>.

¹³ HOSSAIN, F., PERALES-PEREZ, O., HWANG, S., ROMÁN, F.: «Antimicrobial nanomaterials as water disinfectant: Applications, limitations and future perspectives», *Science of the Total Environment* 466-467, 2014, 1047-1059.

¹⁴ EL-FEKY, O., HASSAN, E., FADEL, S., HASSAN, M.: «Use of ZnO nanoparticles for protecting oil paintings on paper support against dirt, fungal attack, and UV aging», *Journal of Cultural Heritage* 15, 2014, 165-172.

¹⁵ FARIA, A, F. MORAES, A. ALVES, O.: «Toxicity of Nanomaterials to Microorganisms: Mechanisms, Methods, and New Perspectives», *Chapter 17, Nanomedicine and Nanotoxicology*, 2014, 363-405.

¹⁶ MAHENDRA C, MURALI M, MANASA G, PONNAMMA P, ABHILASH MR, LAKSHMEESHA TR, SATISH A, AMRUTHESH KN, SUDARSHANA MS: Antibacterial and antimitotic potential of bio-fabricated zinc oxide nanoparticles of *Cochlospermum religiosum* (L.) , *Microb Pathog.* 110, 2017, 620-629.

الجزيئات الكبيرة الحجم، وبالتالي فإنها تُضفي السمية الخلوية إلى الكائنات الحية الدقيقة^{١٧}، فالجسيمات النانوية يمكن أن تتسبب في عمليات التسمم الخلوى بسبب خصائصها الفريدة عبر آليات متعددة والتي تشمل اختلال سلامة جدار الخلية، وتلف الحمض النووي^{١٨}

وفي هذا البحث تم استخدام جسيمات أكسيد الزنك في تثبيط التلف الحيوي لموقع حريشاف بأهناسيا.

١. مواد وطرق الدراسة:

تم تحضير جسيمات أكسيد الزنك في معامل كلية النانو تكنولوجيا بجامعة القاهرة- فرع الشيخ زايد، وإجراء كافة القياسات بنفس المعامل التابعة للكلية.

١، ٢ مواد الدراسة:

١.١.٢ تحضير جسيمات الزنك النانوميتريّة:

تم إعداد جزيئات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPS) في معامل كلية العلوم قسم الجولوجيا بجامعة القاهرة فتم وزن ٥ جرام من الزنك سلفات (Zinc sulfate) وهو مركب كيميائي له الصيغة $ZnSO_4$ ، ويكون على شكل مسحوق بلوري أبيض وإذابته مع ٢٠٠ مللى من الكحول والماء المقطر (١ : ١) ، مضافاً إليها ٢ جرام من البولى إيثيلين جلايكول مع التقليب (Stirrer)^{١٩}، ويلي ذلك وزن ٤٠ جرام من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) (Sodium Hydroxide) على ميزان (Drecisa 3100c) ثم إذابتها فى ٢٠٠ مللى ماء مقطر للحصول على ٥ مللى عيارى^{٢٠} وتم إضافتها الى المخلوط السابق نقطة بعد نقطة حتى نحصل على معلق أبيض^{٢١}، (صورة ١).

¹⁷ SUPRAJA, N. PRASAD, T. N. V. K. V., GIRIDHARA ,T. DAVID,E.:«Synthesis, characterization, and evaluation of the antimicrobial efficacy of Boswellia ovalifoliolata stem bark extract-mediated zinc oxide nanoparticles», *Appl Nanosci*, DOI 10.1007/s13204-015-0472-0,IN 102 ,2015.

¹⁸ LEE, J. MAHENDRA,S. AND ALVAREZ,P.J.J.: «Potential Environmental and Human Health Impacts of Nanomaterials Used in the Construction Industry, *Nanotechnology in Construction* 3, ISBN 978-3-642-00979-2. Springer Berlin Heidelberg, 2009, 1

¹⁹ HASSAN, M.L. & ALI, A.F. «Synthesis of nanostructured cadmium and zinc sulfides in aqueous solutions of hyper branched poly ethylene eimine», *Journal Crystal Growth* 310, 2008, 5252–5258

²⁰ JIANG. J, PI. J, CAI. J: «The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications», *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2018,IN 694, DOI.ORG/10.1155/2018/1062562

²¹ LAKSHMI V.J, SHARATH, R., CHANDRAPRABHA, MN., NEELUFAR E, H., A., PATRA, M.; «Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles» *J Biochem. Tech.* 3, 2012, 151 - 154.



(صورة ١) توضح ظهور اللون الأبيض للمعلق، مما يدل على تكون جسيمات الزنك النانوية
©تصوير الباحث

٢.١.٢. تحضير جسيمات الزنك بتركيزات مختلفة :

تم تجهيز محلول جزيئات أكسيد الزنك النانوية (ZnO Nps) المعدة مسبقاً بإضافة الكحول إليها ، كما تم عمل تركيزات مختلفة (538.46 ppm) ، (615.36 ppm) ، (692.31 ppm) ، (769.23 ppm) ، وتم وضع عينات الحجر الجيري التجريبية (مكعب ٢×٢×٢) في عدد ٤ دوارق زجاجية ٥٠ مم، ثم تم صب محلول جزيئات أكسيد الزنك النانوية (ZnO Nps) بالتركيزات السابق ذكرها في الدوارق ، وتُركت لمدة ٤٨ ساعة (صورة ٢).



(صورة ٢) توضح عينات الحجر الجيري التجريبية مغمورة في محلول جزيئات أكسيد الزنك النانوية *
©تصوير الباحث

٣, ١, ٢. ميديا لزراعة العزلات الميكروبية:

تم استخدام وسط غذائي مستخلص من الخميرة (Yeast Extract) لزراعة الفطريات والذي يتكون من:

- Yeast Extract 20g/l
- Agar 20g/l
- Scrose 30g/l

ولأجل الحصول على الفطر نقياً يتم تثبيط نمو البكتيريا بإضافة مادة الـ Rose Bengal حيث إن هذه المادة تؤثر على نمو البكتيريا ولا تضر بنمو الفطر، وتمت عملية الزراعة في داخل (Chamber Hood) معقم ومزود بلمبة أشعة فوق بنفسجية U.V، حيث يتم التعقيم من خلال طرد الهواء المزود بال Chamber Hood لمدة ١٥ دقيقة ثم التعقيم باستخدام (U.V) لمدة ١٠ دقائق على أن يراعى خلال هذه الفترة ألا توضع المسحات داخل دولاب التعقيم، حتى لا تموت الميكروبات متأثرة بـ U.V (صوره ٣).^{٢٢}

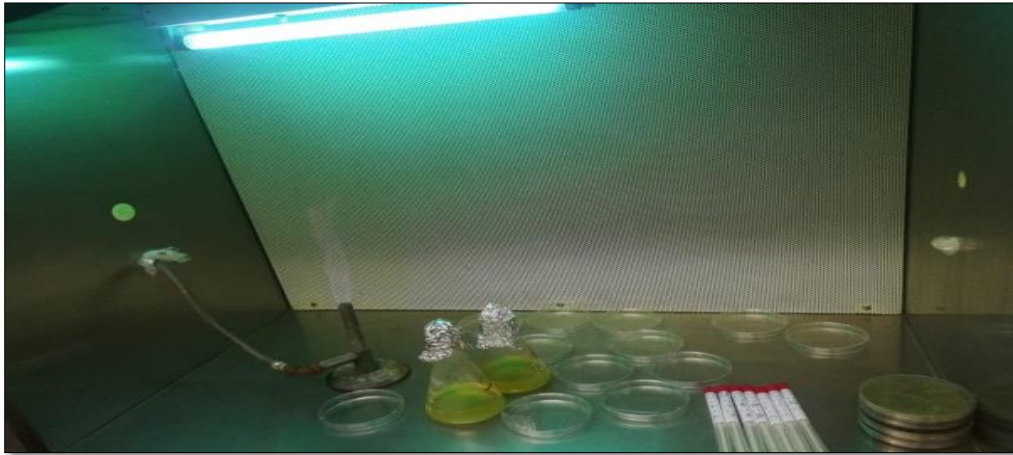
ولزراعة البكتيريا تم استخدام الوسط الغذائي Nutrient/ Agar والذي يتكون من:

- Peptone 0.5%
- Yeast Extract 0.3%
- Agar 1.5%
- Sodium chloride 0.5% + distilled water and pH adjusted to neutral (6.8 to 7)

وهذا الوسط الغذائي يُطلق عليه البيئة الأساسية Basal Media حيث إنها تحتوي على المكونات الأساسية فقط بدون إضافات، وتمت زراعة المسحات كما سبق مع الفطريات داخل الـ (Chamber Hood) في أطباق بترى معقمة؛ وذلك بحقن أطباق البترى المحتوية على بيئة النمو Nutrient/ Agar، ثم تم التحضين لمدة سبعة أيام عند درجة حرارة ٣٧°م للبكتيريا و ٢٥°م للفطريات في جهاز التحضين Incubator وبعد انتهاء فترة التحضين لوحظ نمو المستعمرات الميكروبية.^{٢٣}

^{٢٢} الهجرسي، "دراسة لعلاج تأثير التلف الميكروبيولوجي على الصور الجدارية"، ١٦٩.

^{٢٣} الهجرسي، "دراسة لعلاج تأثير التلف الميكروبيولوجي على الصور الجدارية"، ١٧٥.



(صورة ٣) توضح الأدوات وبيئة النمو المستخدمة لعزل وتنمية البكتيريا والفطريات *

* جميع الصور الفوتوغرافية من تصوير الباحث

٢,٣. طرق الدراسة:

١,٢,٣. الفحص باستخدام الميكروسكوب الرقمي USB digital microscope:

تم استخدام الميكروسكوب الرقمي في دراسة السطح الأثري للأحجار الجيرية بمعد حريشاف بأهناسيا للتعرف على مظاهر التلف التي يعاني منها الأثر، ولقد استخدم ميكروسكوب رقمي من نوع USB Leuchtturm Digital Microscope (China) بدرجة تكبير ٢٠: ٥٠٠ x ومزود بعدد ٨ لمبات ليد صغيرة الحجم.

٢,٢,٣. التحليل بحيود الأشعة السينية X-ray Diffraction:

تم إجراء التحليل المعدني (X-Ray Diffraction) في مركز بحوث الفلزات ؛ وذلك للتعرف على مكونات أحجار المبنى الأثرى وما بها من معادن، وكذلك الأملاح الموجودة بها ومدى تبلورها ودراسة تركيب المونات المستخدمة ، والعينات المستخدمة للتحليل كانت في شكل مسحوق ، والجهاز الذي تم تحليل العينات عليه هو جهاز ("Philips PW 1140 and Rigaku- Miniflex Ca 2005 diffractometers") مع مرشح Ni ومصدر إشعاع Cu-K α ، (Goldsmith 1961).

٣,٢,٣. الفحص باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني النافذ (TEM) :

تم استخدام الميكروسكوب الإلكتروني النافذ في المركز القومي للبحوث وهو من نوع (HR-TEM, Japan) عند التكبير ٢٥ X والجهود ٢٠٠ كيلو فولت، وقد تم استخدامه لمعرفة حجم جسيمات الزنك التي تم تحضيرها والتأكد أنها في حجم النانومتر.

٤,٢,٣. تعريف الكائنات الحية الدقيقة الفطرية والبكتيرية :

تم تعريف الكائنات الحية الدقيقة المعزولة من الأحجار الأثرية بمعبد حريشاف مورفولوجياً في معمل التحاليل الدقيقة بكلية العلوم جامعة القاهرة؛ وذلك من خلال مفاتيح التعريف العلمية المتخصصة كما جاءت في المراجع التالية:

– {Pitt, J.I (١٩٧٩) ،.} ²⁶ – {Gilman, J. C. & Abbott, E. V (١٩٧٧) ²⁵} – {Abbott, E.V (١٩٢٦) ²⁴} . {Domsh. K.H., et al (١٩٨٠) ²⁷} .

٥,٢,٣. الفحص والتحليل باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح SEM المزود بوحدة: (EDX)

الميكروسكوب الإلكتروني الماسح الذي تم استخدامه لفحص وتحليل العينات الحجرية هو موديل (" Jeol JSM 5600LV Model Philips XL 30 ملحق بوحدة EDX ") ، مع قوة تسريع (الجهود ٣٠ K.v ، والتكبير ١٠ x حتى ٤٠٠,٠٠٠ x) وقد استخدم للتأكد من وجود جسيمات الزنك النانوميتري في مسام عينات الأحجار الجيرية وتحديد أنسب تركيز للاستخدام. وتم الفحص والتحليل بمعمل الميكروسكوب الإلكتروني بالهيئة العامة للثروة المعدنية بالقاهرة .

٤. النتائج:

٤,١ الفحص بالميكروسكوب الرقمي:

أظهر المجهر الرقمي (Digital-Usb-Microscope) عند دراسة العينة الحجرية تواجد الأملاح المتبلورة على السطح مع هشاشة الحجر (صورة ٤)، كما أوضح الفحص وجود أكاسيد الحديد و نسبة عالية من المارل، كما هو موضح من خلال (صورة ٥)، كما أظهر المجهر الرقمي تواجد بعض من البقع الميكروبية على سطح الأحجار الجيرية لمعبد حريشاف. (صورة ٦).

²⁴ ABBOTT, E.V.; «Taxonomic Studies on Soil Fungi Iowe State Collection», *Journal of Science* 1, 1926, 15-30.

²⁵ GILMAN, J. C. & ABBOTT, E. V.; «A Summary of the Soil Fungi, Iowe State Collection», *Journal of Science* 51, 1977, 225-244

²⁶ PITT, J.I.; The Genus *Penicillium* and its Teleomorphic States, *Eupenicillium* and *Taraomyces*, London & New York, Academic Press, 1977.

²⁷ DOMSH, K.H., GAMS, W., & ANDERSON T.H.; *COMPENDIUM of Soil Fungi*, London: Academic Press, Vol.1-2, 1980.

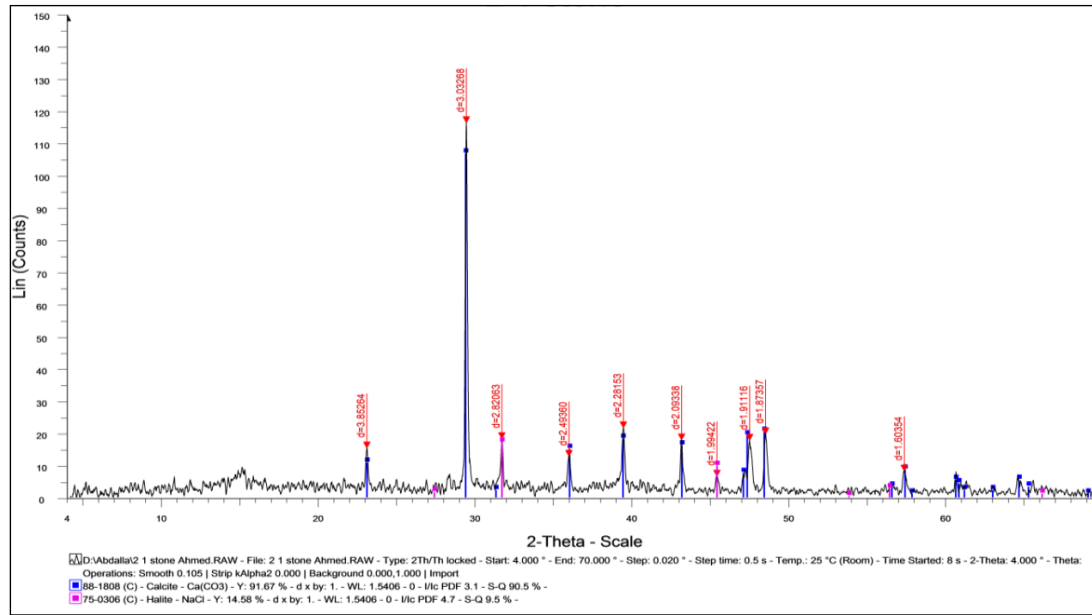


(صورة ٤) تمثل صورة بالمجهر الرقمي بقوة تكبير 1, (031 MM) لجزء من العينة توضح الأملاح المتبلورة على السطح ©تصوير الباحث



٢,٤. التحليل بحيود الأشعة السينية:

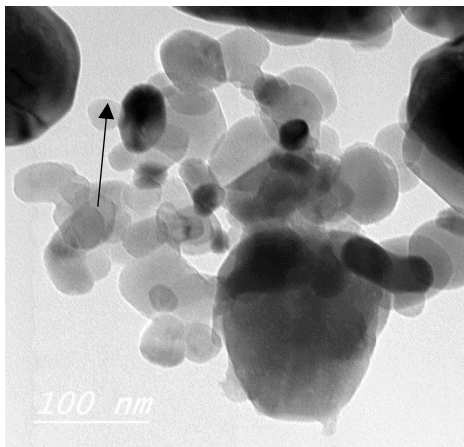
استخدام جسيمات أكسيد الزنك النانوميتريّة في تثبيط التلف الحيوي للأحجار الجيرية الأثرية (٣٧٧-٤٠٠)



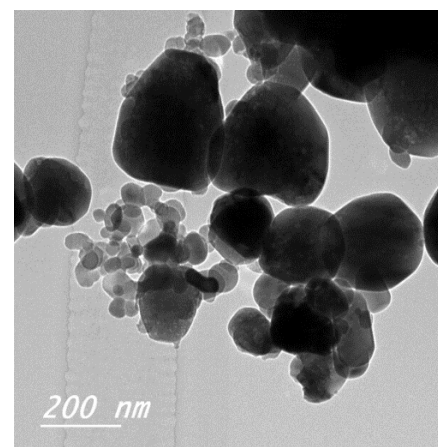
(شكل ١) يمثل نمط حيود الأشعة السينية (XRD) لعينة من الحجر الجيري بمعبد حريشاف © عمل الباحث

٣، ٤. الميكروسكوب الإلكتروني النافذ TEM

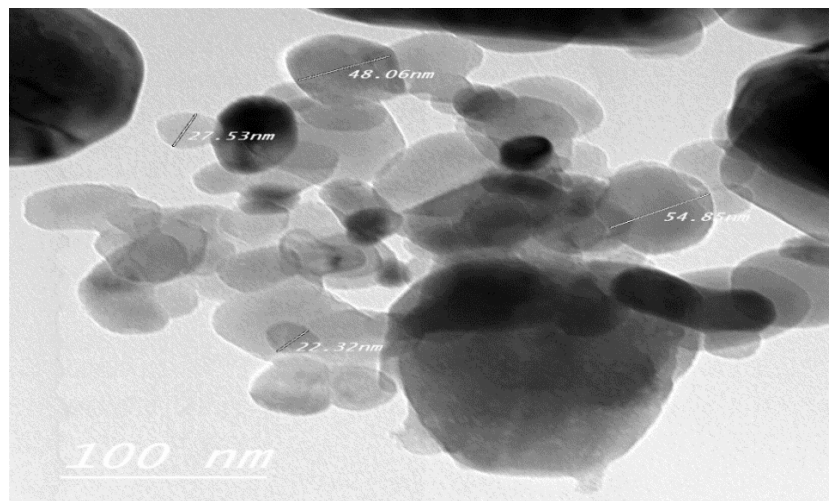
تم عمل فحص وتحليل لجسيمات أكسيد الزنك النانوية المعدة بالمعمل باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني النافذ (TEM) وأظهر الفحص أن جسيمات أكسيد الزنك النانوية تأخذ الشكل الكروي مع متوسط قطر من (22.32 nm : 54.85 nm) ، (صورة ٧، ٨، ٩).



(صورة ٨) تمثل صورة أخرى بالميكروسكوب الإلكتروني النافذ (TEM) لجسيمات الزنك النانوية توضح الشكل الكروي © تصوير الباحث



(صورة ٧) تمثل صورة بالميكروسكوب الإلكتروني النافذ (TEM) لجسيمات الزنك النانوية توضح الشكل العام © تصوير الباحث



(صورة ٩) تمثل صورة بالميكروسكوب الإلكتروني النافذ (TEM) لجسيمات الزنك النانوية توضح الأقطار

المختلفة لجسيمات الزنك النانوية مع متوسط قطر من (22.32 nm : 54.85 nm)

©عمل الباحث

٤,٣. تعريف الكائنات الحية الدقيقة المعزولة:

١,٤,٣. الفطريات:

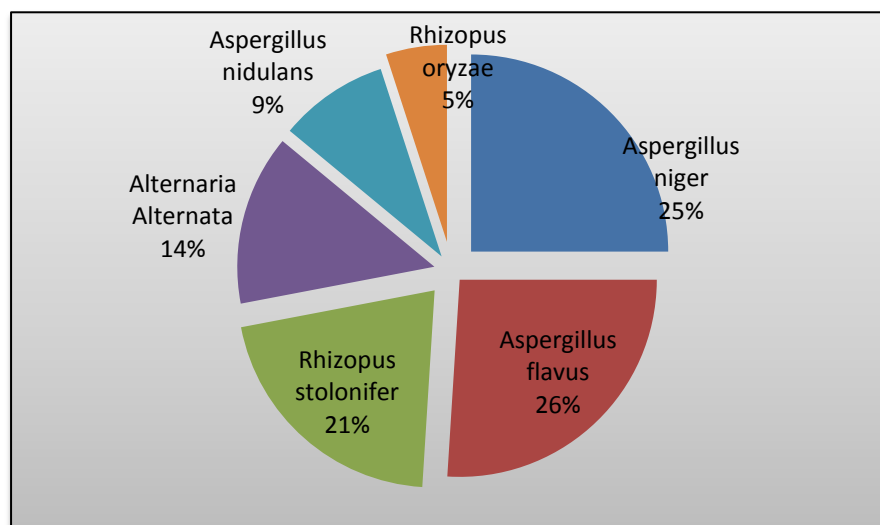
لقد تمت عملية الفحص والتصنيف للفطريات المعزولة ، بحيث يتم التعرف على كل فطر من خلال دراسة الصفات المورفولوجية له ودراسة أطوار نموه، وطبقاً للمفاتيح العلمية المتخصصة .

تم التعرف على ستة أنواع من الفطريات ومعدل تواجدها بالنسبة لعدد العزلات كما هو موضح (الجدول ١)، و (الشكل ٢) وصورة من (١٠ : ١٥):

	الأجناس الفطرية	معدل تواجدها
1	<i>Aspergillus niger</i>	25%
2	<i>Aspergillus flavus</i>	26%
3	<i>Rhizopus stolonifer</i>	21%
4	<i>Alternaria Alternata</i>	14%
5	<i>Aspergillus nidulans</i>	9%
6	<i>Rhizopus oryzae</i>	5%

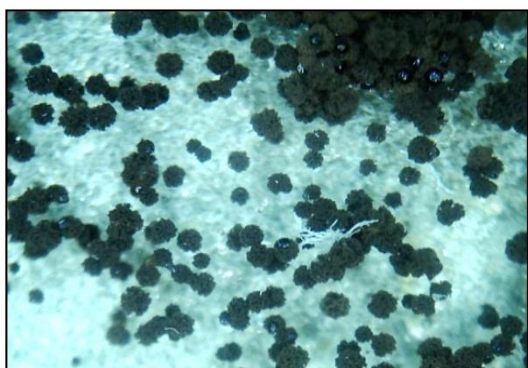
(جدول ١) يوضح أجناس الفطريات ومعدل تواجدها بالنسبة لعدد العزلات

©عمل الباحث



(شكل ٢) يوضح نسبة تواجد العزلات الفطرية في المزرعة المختلطة

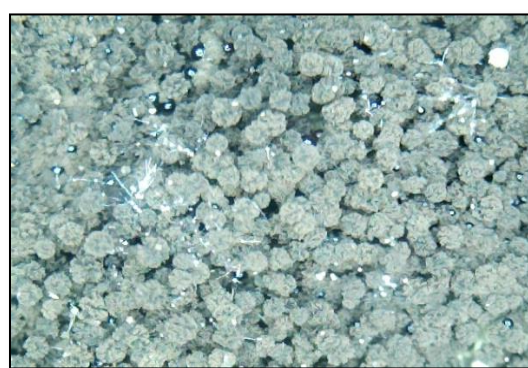
© عمل الباحث



(صورة ١١) تمثل صورة بالميكروسكوب الضوئي لفطر

Aspergillus niger

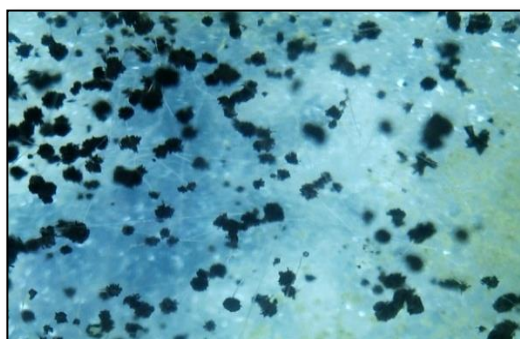
© عمل الباحث



(صورة ١٠) تمثل صورة بالميكروسكوب الضوئي لفطر

Aspergillus flavus

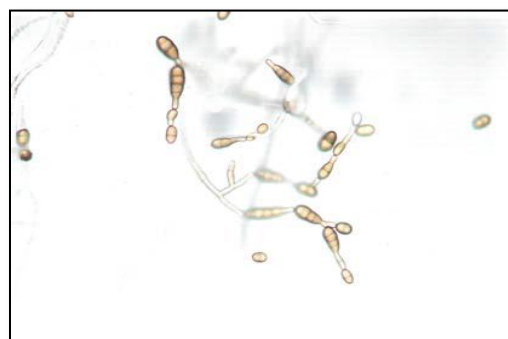
© عمل الباحث



(صورة ١٣) تمثل صورة بالميكروسكوب الضوئي لفطر

Rhizopus stolonifera

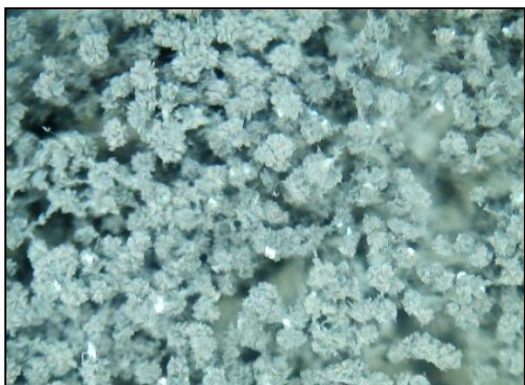
© عمل الباحث



(صورة ١٢) تمثل صورة بالميكروسكوب الضوئي لفطر

Alternaria alternata

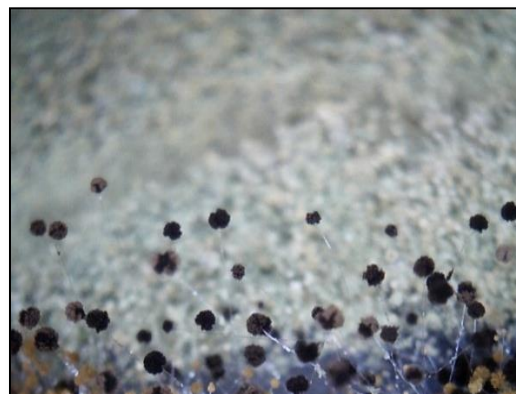
© عمل الباحث



(صورة ١٥) تمثل صورة بالميكروسكوب الضوئي لفطر

Aspergillus nidulans

© عمل الباحث



(صورة ١٤) تمثل صورة بالميكروسكوب الضوئي

Rhizopus oryzae لفطر

© عمل الباحث

٤. البكتيريا:

بعد أن تم متابعة نمو المستعمرات البكتيرية يومياً، أعقب ذلك عمل فصل وتنقية لهذه المستعمرات في أطباق جديدة تحتوي على نفس البيئة، وبعد ذلك تم زراعتها على نفس الأوساط في أنابيب اختبار وبعد نموها تم حفظها في ٤° م، وذلك لاستخدامها في الدراسة، حيث تم التعرف على ثلاثة أنواع من البكتيريا

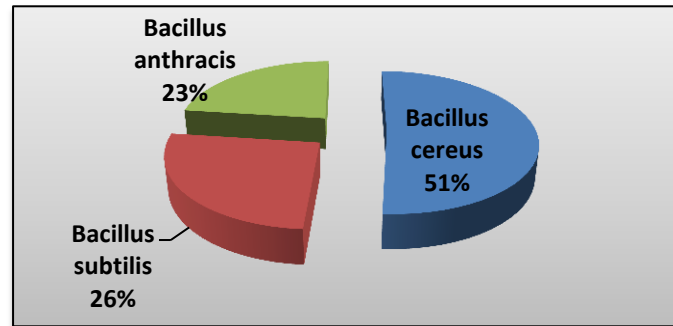
Bacillus anthracis ، *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus*

التي كان معدل تواجدها بالنسبة لعدد عزلاتها كما هو موضح (الجدول ٢) ، (شكل ٣) :

	اجناس البكتيريا	%معدل تواجدها
1	<i>Bacillus cereus</i>	51%
2	<i>Bacillus subtilis</i>	26%
3	<i>Bacillus anthracis</i>	23%

(جدول ٢) يوضح أجناس البكتيريا المعزولة

© عمل الباحث

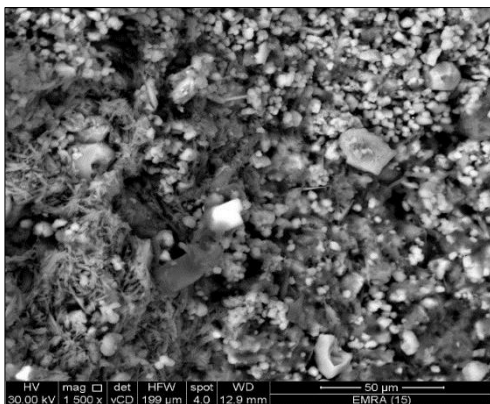


(شكل ٣) يوضح معدل اجناس البكتيريا المعزولة

©عمل الباحث

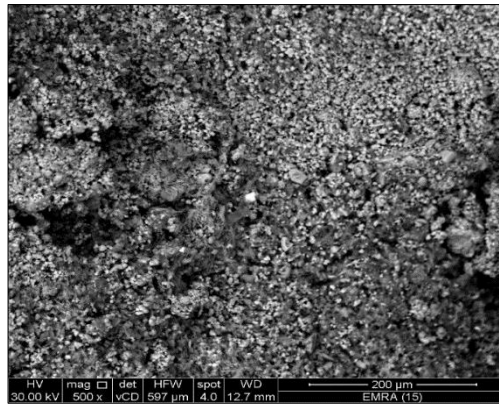
٢,٤. الفحص والتحليل بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح المزود بوحدة تشتت الطاقة:

تم فحص العينات التجريبية المغمورة في محلول أكسيد الزنك النانوي فـالعينات المغمورة في المحلول بالتركيزات [(538.46 ppm)، (692.31 ppm)] حيث لوحظ من خلال فحصها عدم وجود أكسيد الزنك النانوي وأيضاً من خلال التحليل (EDX) لم يتواجد عنصر الزنك، وهذا يدل على عدم وجودها داخل مسام العينات الحجرية، أما العينة ذات تركيز (615.38 ppm) فقد أعطت نتائج إيجابية ، حيث أظهر الفحص وجود أكسيد الزنك النانوي داخل مسام الحجر (صورة ١٦)، (صورة ١٧)، أما التحليل من خلال نمط (EDX) فيستدل منه على وجود عنصر الزنك (شكل ٤) .



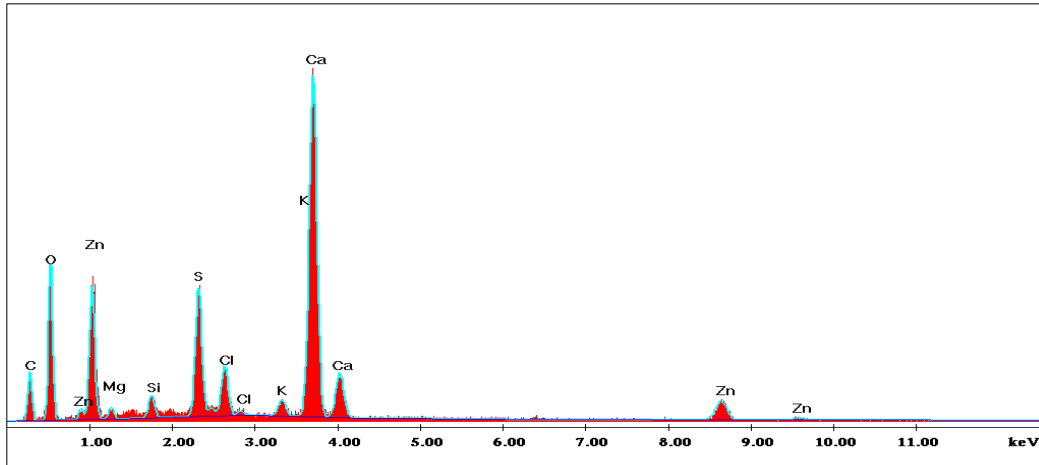
(صورة ١٧) تمثل صورة بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح لعينة حجر ذات تركيز (٦١٥,٣٨ ppm) توضح وجود أكسيد الزنك النانوي داخل مسام الحجر بقوة تكبير (1500x).

©عمل الباحث



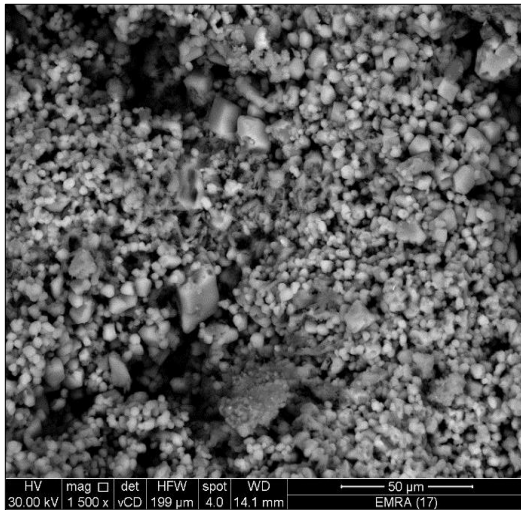
(صورة ١٦) تمثل صورة بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح لعينة حجر ذات تركيز (٦١٥,٣٨ ppm) توضح وجود أكسيد الزنك النانوي داخل مسام الحجر بقوة تكبير (500x).

©عمل الباحث



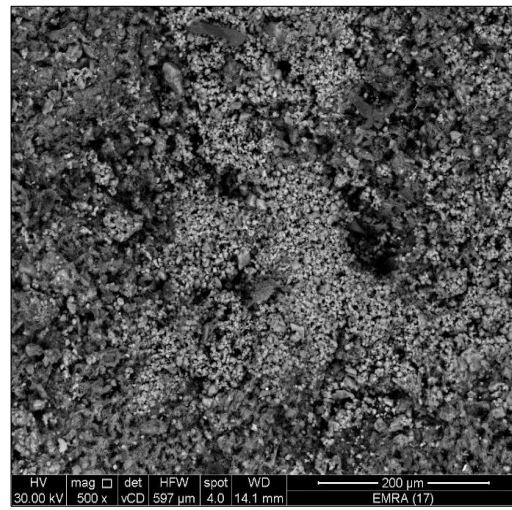
(شكل ٤) تمثل نمط تشتت طاقة الأشعة السينية EDX بالميكروسكوب الإلكتروني يوضح وجود عنصر الزنك © عمل الباحث

أما العينة ذات تركيز (769.23ppm) فقد أعطت نتائج إيجابية حيث أظهر الفحص انتشار وجود أكسيد الزنك النانوي داخل مسام الحجر (صورة ١٨)، (صورة ١٩)، أما التحليل من خلال نمط (EDX) فيستدل منه على وجود عنصر الزنك (شكل ٥).



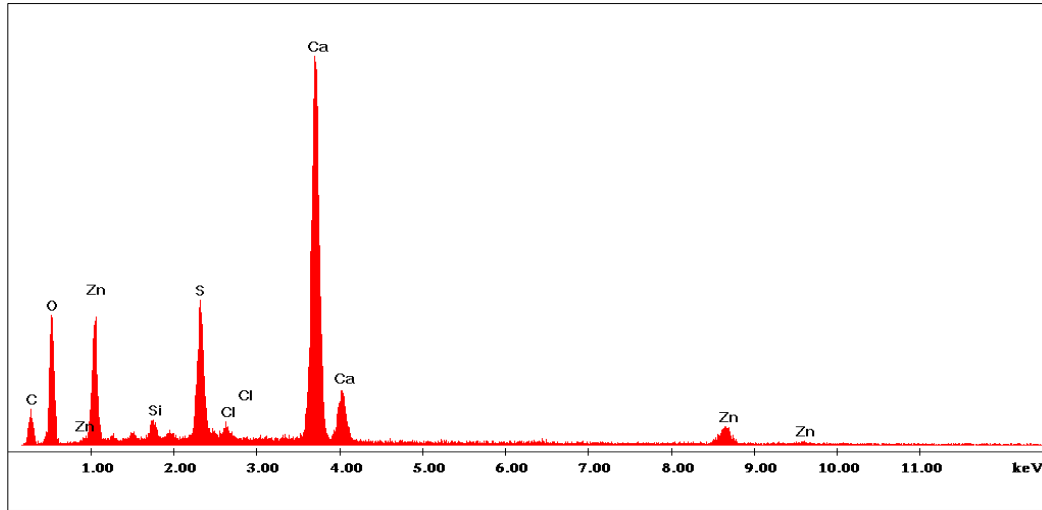
(صورة ١٩) تمثل صورة بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح SEM لعينة ذات تركيز (٧٦٩,٢٣ ppm) توضح وجود أكسيد الزنك النانوي داخل مسام الحجر بقوة تكبير (1500x).

© عمل الباحث



(صورة ١٨) تمثل صورة بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح SEM لعينة ذات تركيز (769.23ppm) توضح انتشار جسيمات أكسيد الزنك النانوي داخل مسام الحجر بقوة تكبير (500x).

© عمل الباحث



(شكل ٥) تمثل نمط تشتت طاقة الأشعة السينية EDX بالميكروسكوب الإلكتروني يوضح وجود عنصر الزنك ©عمل الباحث

٤,٦. النشاط ضد ميكروبي:

أ- تم تجهيز عينات قياسية من خلال إضافة الماء المقطر إلى عدد ٦ أطباق بترى لزراعة أنواع الفطريات التي تم تعريفها سابقاً بالدراسة التحليلية (*Aspergillus niger* , *Aspergillus flavus* , *Rhizopus stolonifer* , *Alternaria alternata* , *Aspergillus nidulans* and *Rhizopus oryzae*)، وعدد ٣ أطباق لزراعة أنواع البكتيريا التي تم تعريفها أيضاً (*Bacillus anthracis* , *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*)؛ وذلك عن طريق تلقيح هذه الأنابيب بالفطريات التي سبق زراعتها عمر ٧ أيام والبكتيريا عمر ٢٤ ساعة ، وحيث ترج الأطباق جيداً وتترك لمدة ٢٤ ساعة.

ب- بعد مرور فترة التحضين لكل من الفطريات والبكتيريا:

أولاً : تم فحص العينات القياسية لكل من الفطريات والبكتيريا وكان هناك نمو كامل لكل أنواع الفطريات الستة، ونمو كامل لأنواع البكتيريا الثلاثة.

ثانياً : تم فحص الأطباق الملقحة بالفطريات ، ولم يكن هناك نمو لكل أنواع الفطريات الستة مع جزيئات أكسيد الزنك النانوية (ZnO Nps) بتركيزين ٦١٥,٣٨ ppm و ٧٦٩,٢٣ ppm، (جدول ٣).

ثالثاً : تم فحص الأطباق الملقحة بالبكتيريا ، ولم يكن هناك نمو لكل أنواع البكتيريا مع محلول جزيئات أكسيد الزنك النانوية (ZnO Nps) بتركيزين ٦١٥,٣٨ ppm و ٧٦٩,٢٣ ppm، (جدول ٤).

	Fungi	ZnO Nps 1 615.38ppm	ZnO Nps 2 769.23ppm	Standard samples
1	<i>Aspergillus flavus</i>	NO growth	NO growth	YES
2	<i>Aspergillus niger</i>	NO	NO	YES
3	<i>Aspergillus nidulans</i>	NO	NO	YES
4	<i>Alternaria alternata</i>	NO	NO	YES
5	<i>Rhizopus stolonifer</i>	NO	NO	YES
6	<i>Rhizopus oryzae</i>	NO	NO	YES

(جدول ٣) محلول جزيئات أكسيد الزنك النانوية (ZnO Nps) بتركيزين (615.38ppm) و (769.23ppm) ، لهما القدرة على منع النمو الفطري ©عمل الباحث

	Bacteria	ZnO Nps 1 615.38ppm	ZnO Nps 2 769.23ppm	Standard samples
1	<i>Bacillus cereus</i>	NO	NO	YES
2	<i>Bacillus subtilis</i>	NO	NO	YES
3	<i>Bacillus anthracis</i>	NO	NO	YES

(جدول ٤) محلول جزيئات أكسيد الزنك النانوية (ZnO Nps) بتركيزين (615.38ppm) و (769.23ppm) ، لهما القدرة على منع النمو البكتيري. ©عمل الباحث

٥. الخاتمة و النتائج:

إن التلف الميكروبي هو أحد أبرز العوامل الحيوية التي تؤثر على الآثار وتنتسب في العديد من أشكال التلف الكيميائي والفيزيائي والجمالي للمقتنيات التراثية^{٢٨}، وهو ما تم إثباته في معبد حريشاف حيث تم أخذ مسحات من البقع الحيوية التي ظهرت باستخدام الميكروسكوب الرقمي والذي أثبت تواجد بقع سوداء منتشرة على الأحجار الأثرية للمعبد بالإضافة إلى تبلور للأملاح، وتعد هذه البقع السوداء من دلائل التلف الفطري الذي يشوه الآثار المصرية وهذا طبقاً لما ذكره (الهجري، ٢٠١٠م)^{٢٩}. وبتعريف هذه العزلات المأخوذة من السطح الأثري أظهر التعريف تواجد ل (*Rhizopus stolonifer* , *Aspergillus flavus* , *Aspergillus niger* , *Alternaria Alternata* , *Aspergillus nidulans* and *Rhizopus oryzae*)، وهذا بالإضافة الى البكتيريا من أجناس (*Bacillus anthracis* , *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*).

²⁸ ELHAGRASSY, A.F.; «Bio-restoration of mural paintings using viable cells of *Pseudomonas stutzeri* and characterization of these murals », *International Journal of Archaeology* 7, 2019, 8-16

²⁹ الهجري، "دراسة لعلاج تأثير التلف الميكروبيولوجي على الصور الجدارية"، ١٧٥.

وفقاً لدراسة كل من (كفاي، ٢٠٠٥م، المداح ٢٠٠٥م، ودرويش ٢٠٠٧م)^{٣٠} وتعد هذه الكائنات الحية الدقيقة المعزولة من أبرز الكائنات الحية التي تعاني منها الآثار المصرية والعالمية^{٣١} ، يعد جسيمات أكسيد الزنك النانوميتريّة من الجسيمات المعدنية التي تستخدم في التثبيط الحيوي^{٣٢} ، ولقد تم تحضير جسيمات أكسيد الزنك معملياً. أظهرت نتائج فحص جسيمات أكسيد الزنك بواسطة الميكروسكوب الإلكتروني النافذ أنها في حجم النانو، حيث تراوحت أقطارها بين متوسط ٤٥,٨٥ نانومتر وبين ٢٢,٣٢ نانومتر، كما أن جسيمات أكسيد الزنك النانوي قد اتخذت الشكل الكروي^{٣٣}.

أظهر التحليل باستخدام حيود الأشعة السينية أن الأحجار الكلسية التي يتكون منها معبد حريشاف هو الحجر الجيري والذي يتكون من ٩٥% من معدن الكالسيت و ٥% من ملح الهاليت المتواجد كمظهر تلف، وقد تم عمل العينات التجريبية من الأحجار المتساقطة من المعبد نفسه ؛ ولهذا لم يتم عمل تقادم للعينات التجريبية. تم غمر العينات التجريبية المأخوذة من الموقع الأثري في تركيزات مختلفة من أكسيد الزنك النانوميتري وأظهرت النتائج باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني الماسح أن تركيزات 538.46 و 692.31ppm لم تستطع الترسيب والانتشار داخل مسام الحجر الجيري، وهذا ما أكدته نتائج التحليل باستخدام وحدة تشتت الطاقة المزودة بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح ، حيث أظهر التحليل اختفاء عنصر الزنك تماماً، أما عن تركيز 615.38 و 729.23ppm فقد أعطت نتيجة إيجابية من حيث تواجدها وانتشارها داخل مسام النماذج الأثرية التجريبية وهذا ما أكدته نتائج التحليل بوحدة تشتت الطاقة حيث ظهر به عنصر الزنك داخل مسام العينة الأثرية التجريبية. تم استخدام تركيزي 615.38 و 729.23ppm في النشاط ضد الميكروبي للفطريات والبكتيريا المعزولة وقد أثبت التحليل قدرة التركيزين على تثبيط الأجناس الفطرية والبكتيرية وهذا ما يؤكد إمكانية استخدام جسيمات الزنك النانوميتريّة في التثبيط الميكروبي للفطريات والبكتيريا المعزولة بطريقة آمنة.

^{٣٠} الكفاي، دراسات علمية تجريبية وتطبيقية في علاج وصيانة الأحجار الجيرية، ٧٦؛ المداح، "تطبيق نظام تحليل المخاطر وتحديد نقطة التحكم الحرجة على التلف الميكروبي، ٩٢؛ دروش، "دراسة التلف الفطري لمواد البناء في المباني الأثرية بمدينة القاهرة؛ ٨٠.

^{٣١} GARG, & MISHRA; «Role of Fungi in The Deterioration of Wall Painting», 255 – 271 . Sterflinger, & Piñar, G. « Microbial deterioration of cultural heritage and works of art — tilting at windmills? », 9637–9646 . ROMERO, S.M. GIUDICISSI, S.L., VITALE, R.G.; « Is the fungus Aspergillus a threat to cultural heritage? », 107-124.

^{٣٢} على، ياسر، "دراسة تقوية الآثار الحجرية الرملية باستخدام تكنولوجيا النانو تطبيقاً على نموذج مختار"، رسالة ماجستير، قسم الترميم، كلية الآثار/ جامعة القاهرة، ٢٠١٣، ١٠٢.

^{٣٣} TAMIMI, N., NAFCHI, A.M., MOGHADDAM, H. H., BAGHAIE, H. « The effects of nano-zinc oxide morphology on functional and antibacterial properties of tapioca starch bionanocomposite », *Food science & Nutrition* 9, N°8 2021, doi.org/10.1002/fsn3.2426.

من خلال الدراسة الميكروبية استطاعت جسيمات الزنك النانوميتريّة تثبيط نمو البكتيريا من جنس *Bacillus anthracis* وهي العامل المسبب لمرض الجمرة الخبيثة، هي بكتيريا موجبة لجرام، ومكونة للجراثيم. تُعزى ضراوة الجمرة الخبيثة بشكل أساس إلى توكسين ثلاثي من النوع AB مفرز يتكون من ثلاثة بروتينات محددة (PA) Ag والعامل المميت وعامل الودمة، وهي من النوع السام الذي تسبب في موت الكثير من الجنس البشري^{٣٤}.

التوصيات:

- يوصي البحث بضرورة عمل مسحات دورية للمناطق الأثرية للوقوف على التلف الميكروبي الذي يهاجم الآثار.
- ضرورة استخدام تقنيات علمية حديثة مناسبة للأثر في التعقيم والحماية.
- استخدام جسيمات أكسيد الزنك النانوميتريّة تركيزي 615.38 و 729.23ppm في النشاط ضد الميكروبي للفطريات والبكتيريا.
- تعقيم موقع حريشاف الأثري كاملاً للتخلص من التلف الميكروبي بصفة عامة و البكتيريا من جنس *Bacillus anthracis* بصفة خاصة حفاظاً على صحة المرممين والزوار.

³⁴ CRAWFORD, M., AYLOTT, C.V., BOURDEAU, R.W. & BOKOCH, G.M., «Bacillus anthracis Toxins Inhibit Human Neutrophil NADPH Oxidase Activity», *Journal of Immunology* 176, 2006, 7557: 7565.

ثبت المصادر والمراجع

أولاً: المراجع العربية

- الهرسي، عبير، "دراسة لعلاج تأثير التلف الميكروبيولوجي على الصور الجدارية المنفذة بأسلوب التمبرا تطبيقاً على نماذج مختارة"، رسالة ماجستير، قسم الترميم، كلية الآثار، جامعة القاهرة، ٢٠١٠ م.
- El-Hāgrassy, Abeer, Dirāsāt 'ilāğ ta'sir al-talaf al- microbiology 'alā al- šwār al- ġdāryā al- monafza be ešlob al Tempira tāṭbīqan 'alā namāzig muḥtārā" *Master thesis*, faculty of Archaeology, Cairo university, 2010
- دروش، رحاب، "دراسة التلف الفطري لمواد البناء في المباني الأثرية بمدينة القاهرة - أسباب وميكانيكية التلف وطرق العلاج"، رسالة ماجستير، قسم الترميم، كلية الآثار، جامعة القاهرة، ٢٠٠٧ م.
- Darūš, Rehab, «Dirāsāt al-talaf al- Feṭry le mwād al- benā' fe al mābānī al-aṭārī be mādenh al kāherh- āšbāb we mekanekiah al-talaf wa ṭuruq 'ilāğ», *Master thesis*, faculty of Archaeology, Cairo university, 2007
- الكفاي، عبد الحميد، دراسات علمية تجريبية وتطبيقية في علاج وصيانة الأحجار الجيرية في بعض المباني الأثرية في مصر من التلف الميكروبيولوجي، رسالة ماجستير، قسم الترميم، كلية الآثار، جامعة القاهرة، ٢٠٠٥.
- KEFĀFI, 'BDEL ḤAMĪD, «Dirāsāt 'lmyh tağribīya wa tāṭbīqīya fe 'ilāğ wa šiyānat al- aḡğār al- ġereh fe al mābānī al-aṭārīh fe mašr min al-talaf al- microbiology», *Master thesis*, faculty of Archaeology, Cairo university, 2005
- المداخ، إيمان، "تطبيق نظام تحليل المخاطر وتحديد نقطة التحكم الحرجة على التلف الميكروبي لبعض المقتنيات المتحفية العضوية"، رسالة دكتوراة، قسم الترميم، كلية الآثار / جامعة القاهرة، ٢٠٠٥ م.
- MĀDĀH, EMĀN, Taṭbiq niẓām taḥlyl al- mḥāṭr wa ṭḥded nqṭh al ṭḥkm al ḥrğh ala al-talaf al- microbiy lb'd al mqtniāt al mḥfīh al- 'dwyh, *Ph.D thesis*, faculty of Archaeology, Cairo university, 2005
- على، ياسر، "دراسة تقوية الآثار الحجرية الرملية باستخدام تكنولوجيا النانو تطبيقاً على نموذج مختار"، رسالة ماجستير، قسم الترميم، كلية الآثار / جامعة القاهرة، ٢٠١٣ م.
- 'ly, yāsr: Dirāsāt tqwih al-aṭār al- aḡğār al- rmlyh bstḥdām nano- technology tāṭbīqan 'alā namāzig muḥtārā, *Master thesis*, faculty of Archaeology, Cairo university, 2013

ثانياً: المراجع الأجنبية:

- BRANYSOVA, T., DEMNEROVA, K., DUROVIC, M., STIBOROVA, H.: «Microbial biodeterioration of cultural heritage and identification of the active agents over the last two decades», *Journal of Cultural Heritage* 55, 2022, 245-260
- LIU, X., QIAN, Y., WANG, Y., WU, F., WANG, W., GU. J.: « Innovative approaches for the processes involved in microbial biodeterioration of cultural heritage materials, » *Current Opinion in Biotechnology* 75, 2022, 102716

- CLAIR, L.ST & SEAWARD, M. (EDS): "Biodeterioration of Rock Surfaces," *kluwer Academic Publishers*, chapter 3. Limestone Stabilization Studies at a Maya Site in Belize, 2004, 24:25.
- , «PYZIK, A, CIUCHCINSKI, K, DZIURZYNSKI, M., DZIEWIT, L.; "The Bad and the Good -Microorganisms in Cultural Heritage Environments-An Update on Biodeterioration and Biotreatment Approaches". *Materials*, 14, 2021; 177».
- ELHAGRASSY, A.F. & HAKEEM, A.: «Comparative Study of Biological Cleaning and Laser Techniques for Conservation of Weathered Stone in Failaka Island, Kuwait», *Scientific Culture* 4, 2018, 43-50
- DEVALAPALLY, H, CHAKILAM, A, AMIJI, MM. « Role of Nanotechnology in Pharmaceutical Product Development» *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96, 2007, 2547-2565
- «SONG, G, CHENG, L, CHAO, Y, YANG, K, LIU, Z; Emerging Nanotechnology and Advanced Materials for Cancer Radiation Therapy", *Advanced materials*, 29, 2017, 1700996».
- BELLISSIMA, F., BONINI, M., GIORGI, R., BAGLIONI, P., BARRESI, G., MASTROMEI, G., PERITO, B.: « Antibacterial activity of silver nanoparticles grafted on stone surface Chemistry in a sustainable society», *Environ Sci Pollut Res*, 2013, DOI 10.1007/s11356-013-2215-7
- «GUTAROWSKA, B. SKORA, J. ZDUNIAK, K. REMBISZ, D.: "Analysis of the sensitivity of microorganisms contaminating museums and archives to silver nanoparticles, *International Biodeterioration & Biodegradation* 68, 2012, 7:17»
- «SABOURI, Z., AKBARI, A., HOSSEINI, H., KHATAMI, M., DARROUDI, M." Green-based bio-synthesis of nickel oxide nanoparticles in Arabic gum and examination of their cytotoxicity, photocatalytic and antibacterial effects". *Green Chemistry Letters and Reviews* 14, 2021, 404-414».
- HAMED, M., BAKR, B., SHAHIN, Y., ELWAKIL, B., ABU-SERIE, M., ALJOHANI, F., BEKHIT, A. "Novel Synthesis of Titanium Oxide Nanoparticles: Biological Activity and Acute Toxicity Study", *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2021, DOI.ORG/10.1155/2021/8171786.
- HOSSAIN, F., PERALES-PEREZ, O., HWANG, S., ROMÁN, F.: « Antimicrobial nanomaterials as water disinfectant: Applications, limitations and future perspectives», *Science of the Total Environment* 466–467, 2014, 1047–1059.
- EL-FEKY, O., HASSAN, E., FADEL, S., HASSAN, M.: «Use of ZnO nanoparticles for protecting oil paintings on paper support against dirt, fungal attack, and UV aging», *Journal of Cultural Heritage*, 15, 2014, 165-172.
- FARIA, A, F. MORAES, A. ALVES, O.: "Toxicity of Nanomaterials to Microorganisms: Mechanisms, Methods, and New Perspectives", *Chapter 17, Nanomedicine and Nanotoxicology*, 2014, 363-405.

- MAHENDRA C, MURALI M, MANASA G, PONNAMMA P, ABHILASH MR, LAKSHMEESHA TR, SATISH A, AMRUTHESH KN, SUDARSHANA MS .: «Antibacterial and antimetabolic potential of bio-fabricated zinc oxide nanoparticles of *Cochlospermum religiosum* (L.) » , *Microb Pathog.* 110, 2017, 620-629.
- SUPRAJA, N. PRASAD, T. N. V. K. V., GIRIDHARA ,T. DAVID,,E.: «Synthesis, characterization, and evaluation of the antimicrobial efficacy of *Boswellia ovalifoliolata* stem bark extract-mediated zinc oxide nanoparticles», *Appl Nanosci*, DOI 10.1007/s13204-015-0472-0,2015.
- LEE, J. MAHENDRA,S. AND ALVAREZ,P.J.J.: "Potential Environmental and Human Health Impacts of Nanomaterials Used in the Construction Industry", *Nanotechnology in Construction 3*. ISBN 978-3-642-00979-2. Springer Berlin Heidelberg, 2009, p. 1
- CIOFFI ,N. RAI,M.:«Nano-Antimicrobials, Progress and Prospects" Ch.16: Antimicrobial Nanomaterials for Water Disinfection», *Springer Heidelberg Dordrecht London New York, Library of Congress Control*, 2012, 465 - 495.
- HASSAN, M.L. & ALI, A.F. «Synthesis of nanostructured cadmium and zinc sulfides in aqueous solutions of hyper branched poly ethylene imine», *J. Crystal Growth* 310, 2008, 5252–5258.
- JIANG. J, PI. J, CAI. J: "The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications", *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2018, DOI.ORG/10.1155/2018/1062562
- LAKSHMI V.J, SHARATH. R, CHANDRAPRABHA. MN, NEELUFAR E, HAZRA.A, PATRA.M; «Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles» *J Biochem. Tech* .3, 2012, 151 - 154.
- ABBOTT, E.V.; « Taxonomic Studies on Soil Fungi Iowe State Collection», *Journal of Science*1, 1926, 15-30.
- GILMAN, J. C. & ABBOTT, E. V.; « A Summary of the Soil Fungi, Iowe State Collection», *Journal of Science* 51, 1977, 225-244.
- PITT, J.I.; *The Genus Penicillium and its Teleomorphic States, Eupenicillium and Taroomyces*, London & New York, Academic Press, 1977.
- DOMSH K.H.,GAMS,W.AND ANDERSON T.H.,,"*Compendium of Soil Fungi* 1-2, Academec Press, London,. 1980.
- ELHAGRASSY, A.F., «Bio-restoration of mural paintings using viable cells of *Pseudomonas stutzeri* and characterization of these murals», *International Journal of Archaeology*, 7, 2019, 8-16.
- GARG, K., L., JAIN, K. & MISHRA, A. K.; «Role of Fungi in The Deterioration of Wall Painting», *The Science of the Total Environments*,167, 1996, 25– 271.
- STERFLINGER, K., PIÑAR, G.; « Microbial deterioration of cultural heritage and works of art — tilting at windmills? » *Appl Microbiol Biotechnol* 97, 2013, 9637–9646.

- ROMERO, S.M. GIUDICESSI, S.L., VITALE, R.G.; « Is the fungus *Aspergillus* a threat to cultural heritage? », *Journal of Cultural Heritage*, 51, 2021, 107-124.
- TAMIMI, N., NAFCHI, A.M., MOGHADDAM, H. H., BAGHAIE, H. « The effects of nano-zinc oxide morphology on functional and antibacterial properties of tapioca starch bionanocomposite », *Food science & Nutrition* 9, N°8 2021, doi.org/10.1002/fsn3.2426
- CRAWFORD, M., AYLOTT, C.V., BOURDEAU, R.W. & BOKOCH, G.M. « *Bacillus anthracis* Toxins Inhibit Human Neutrophil NADPH Oxidase Activity », *Journal of Immunology* 176, 2006, 7557: 7565.