

بررسی خواص ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسیدروی بیوستنژ شده توسط عصاره آبی هسته ازگیل ژاپنی (*Eriobotrya japonica* Lindl.)

معصومه شعبانی^۱، سمیه رهایی^{۱*}، محبوبه زارع^۲

۱) گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

۲) گروه گیاهان دارویی، دانشکده گیاهان دارویی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲۰

چکیده

مقدمه: در سال های اخیر، روش سنتز زیستی نانوذرات به عنوان یک فرآیند دوست دار محیط زیست، مقرون به صرفه و آسان مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه، سنتز نانوذرات اکسیدروی به کمک عصاره آبی هسته ازگیل ژاپنی (*L. Eriobotrya japonica*) و بررسی فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی آن ها است.

مواد و روش ها: در ابتدا عصاره آبی هسته ازگیل تهیه شد. سپس میزان فنول و فلاونوئید کل آن مورد سنجش قرار گرفت. بعد از تهیه نانوذرات اکسیدروی توسط عصاره، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات و عصاره توسط روش رادیکال آزاد DPPH (1-(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) سنجیده شد. هم چنین، فعالیت ضد باکتریایی عصاره و نانوذرات توسط روش انتشار دیسک علیه باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* و باکتری گرم منفی *Escherichia coli* تعیین گردید.

یافته های پژوهش: نتایج نشان داد که عصاره آبی دارای میزان مشخصی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به ترتیب به میزان ۹/۸۶ mg/g و ۲۷mg/g وزن خشک عصاره است. نانوذرات سنتز شده دارای متوسط اندازه قطر کمتر از ۳۰ نانومتر و پیک جذب برجسته ای در ۳۴۹ نانومتر بودند. نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره و نانوذرات نشان داد که با افزایش غلظت، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش می یابد. هم چنین، نتایج ضد باکتریایی نشان داد که نانوذرات دارای فعالیت ضد باکتریایی خوبی علیه باکتری *S.aureus* بوده در حالی که عصاره هیچ گونه فعالیت ضد باکتریایی نداشت.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که نانوذرات اکسیدروی سنتزی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی خوبی بوده و امکان کاربرد آن ها در بخش های مختلف مانند محصولات آرایشی-بهداشتی، بسته بندی مواد غذایی و هم چنین به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک های سنتزی پیشنهاد می شود.

واژه های کلیدی: عصاره آبی، هسته ازگیل ژاپنی، نانوذرات اکسیدروی، سنتز سبز، ضد باکتریایی، آنتی اکسیدانی

* نویسنده مسئول: گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

Email: S.rahaiee@ausmt.ac.ir; s.rahaiee@gmail.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

نانوذرات، ذراتی با ابعاد بین ۱۰۰-۱ نانومتر بوده که دارای اندازه، اشکال، خصوصیات شیمیایی و سطحی متفاوتی هستند. آن‌ها با دارا بودن اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالا، دارای کاربردهای مختلف زیستی و صنعتی می‌باشند (۱،۲). نانوذرات فلزی دسته‌ای از نانوذرات بوده که در غلظت‌های کم، فعالیت ضدباکتریایی بالایی دارند. هم‌چنین در شرایط سخت‌پایدارتر هستند. در میان نانوذرات فلزی، نانوذرات اکسیدروی به‌طور گسترده‌ای به‌خصوص در علوم پزشکی و نانوفناوری مورد توجه قرار گرفته است. نانوذرات اکسیدروی دارای خواص مهمی از جمله نسبت سطح به حجم بالا، شفافیت نوری، غیرسمی، سازگاری زیستی، پایداری بالای فتوشیمیایی و شیمیایی، فعالیت الکتروشیمیایی و انتقال الکترون بالا می‌باشند (۳). هم‌چنین این نانوذرات دارای خواص بیولوژیکی مختلفی مانند خواص ضدباکتریایی و ضدسرطانی می‌باشند. با توجه به نقش ترکیبات ضدباکتریایی در جلوگیری و درمان بیماری‌های عفونی در انسان‌ها و حیوانات و افزایش مقاومت باکتری‌ها در اثر افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، مسئله درمان چنین باکتری‌های مقاومی به‌موضوع مهمی تبدیل شده است (۴). بر اساس تحقیقات، تاثیر نانوذرات اکسیدروی بر باکتری‌ها می‌تواند به علت ایجاد برهم‌کنش‌های الکتروستاتیک بین نانوذرات و دیواره سلولی باکتری‌ها و افزایش عبور پذیری غشای سلولی باشد که سرانجام منجر به تخریب و مرگ سلول‌های باکتریایی می‌شوند (۴،۵).

برای سنتز نانوذرات سه روش فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی وجود دارد. روش‌های سنتز شیمیایی و فیزیکی نیازمند استفاده از اتمسفر بی‌اثر، مواد شیمیایی سمی، پایدارکننده‌ها و پیشران‌های سمی است که به محیط زیست لطمه‌های جدی وارد می‌کنند (۵). در روش سنتز زیستی یا سنتز سبز، از منابع بیولوژیکی جهت سنتز نانو ساختارها با قابلیت و کاربردهای فراوان استفاده می‌شود (۴،۱۱). این روش به طراحی محصولات و فرآیندهایی منجر می‌شود که با محیط زیست سازگار بوده و خطرات ناشی از مواد شیمیایی را به حداقل برساند. منابع بیولوژیکی که جهت سنتز سبز نانوذرات به کار

می‌روند شامل میکروارگانیسم‌ها، آنزیم‌ها، گیاهان و عصاره‌های گیاهی می‌باشد (۵). استفاده از عصاره‌های گیاهی یک گزینه مناسب برای تولید نانوذرات به‌شمار می‌رود چون می‌توانند اندازه و شکل نانوذرات را کنترل کنند و دوست‌دار محیط زیست هستند و از طرفی دیگر به استفاده از حلال‌های سمی و شیمیایی نیازی نیست. عصاره بخش‌های مختلف گیاهان مانند ریشه، برگ، ساقه، هسته و میوه برای سنتز نانوذرات به‌کار می‌روند زیرا عصاره آن‌ها سرشار از مواد فتوشیمیایی بوده که به عنوان مواد احیاکننده و پایدارکننده عمل می‌نمایند (۴،۱۱). محیط زیست به‌عنوان خزانه‌ای از ترکیبات و مواد دورریز به‌خصوص ضایعات مواد غذایی و کشاورزی می‌باشد که به راحتی می‌تواند به نانوذرات با ارزش تبدیل شود. ضایعات دارای ترکیبات آلی مختلفی مانند پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و ویتامین‌ها هستند که می‌توانند در سنتز نانوذرات نقش موثری ایفا کنند. گروه‌های عملکردی متنوع که در این ترکیبات حضور دارند باعث احیای زیستی پیش‌سازهای فلزی می‌شوند و در واقع به‌عنوان یک کارخانه زیستی عمل می‌کنند. هم‌چنین استفاده از ضایعات در سنتز نانوذرات، نگرانی حضور ضایعات در طبیعت و چگونگی مدیریت برای حذف آن‌ها از طبیعت را کاهش می‌دهد (۱۲).

درخت ازگیل ژاپنی با نام علمی *Eriobotrya japonica* و نام لاتین Loquat درختی همیشه‌سبز و نیمه‌گرمسیری است و متعلق به خانواده Rosaceae و زیرخانواده Pomoideae می‌باشد (۶). هسته ازگیل ژاپنی به‌عنوان بخش دورریز میوه حاوی ترکیبات مختلفی مانند پروتئین، لیپید، کربوهیدرات، آمیگدالین (۷) و املاح معدنی مانند سدیم، پتاسیم، منیزیم، کلسیم، آهن، روی، منگنز و مس است (۶). حضور ترکیباتی هم‌چون هیدروکسی بنزوئیک اسید، هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونوئیدهایی مانند نارنجین و کامپفرول، در حذف رادیکال‌های آزاد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی هسته ازگیل موثر هستند (۸). هسته ازگیل دارای ترکیبات فنولی مانند اسید بنزوئیک، اسید کلروژنیک، اسید کافئیک (۹)، خاصیت ضدباکتریایی، خاصیت ضد سرطانی و آنتی‌متاستاتیک در مهار تکثیر سلول‌های سرطانی

می باشد (۱۰). هسته از گیل با دارا بودن ترکیبات زیست فعال مختلف می تواند به عنوان عوامل کاهنده و پایدارکننده در تولید زیستی نانوذرات فلزی به کار رود. بنا بر این، با توجه به این که تاکنون مطالعه ای بر روی سنتز زیستی نانوذرات اکسیدروی توسط عصاره آبی هسته از گیل ژاپنی انجام نشده است، هدف از این مطالعه تعیین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره آبی هسته از گیل ژاپنی و بیوسنتز نانوذرات اکسیدروی به کمک آن می باشد. نانوذرات تولید شده با استفاده از تکنیک های FESEM و UV-Vis مشخصه یابی و تایید شدند. هم چنین فعالیت های بیولوژیکی نانوذرات اکسیدروی از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی آن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

تهیه عصاره آبی هسته از گیل ژاپنی: هسته های میوه از گیل، بعد از جدا شدن از میوه چندین بار با آب شستشو داده شد و سپس در آن خشک گردید. بعد از آن به وسیله آسیاب به پودر تبدیل شد و جهت تهیه عصاره آبی، میزان ۲۵ گرم پودر هسته را به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه کردیم و به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد روی همزن مغناطیسی قرار دادیم. سپس عصاره را فیلتر نموده و آنرا در دمای ۴ درجه سانتی گراد جهت انجام آنالیزهای بعدی قرار دادیم.

تعیین فنول کل عصاره: میزان ترکیبات فنولی کل عصاره بر اساس روش فولین-سیوکالتو به روش طیف سنجی تعیین شد (۱۳). برای این منظور، ۰/۳ میلی لیتر از عصاره و ۱/۵ میلی لیتر شناساگر فولین ۰/۲ نرمال مخلوط و بعد از گذشت ۵ دقیقه، ۱/۲ میلی لیتر از محلول کربنات سدیم (۷۵ گرم بر لیتر) به آن ها اضافه نمودیم. مخلوط نهایی در دمای اتاق و در شرایط تاریکی برای ۹۰ دقیقه گرمخانه گذاری کردیم. سپس جذب مخلوط حاصله توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانش شد. گالیک اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و میزان فنول کل معادل میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره گزارش گردید.

تعیین فلاونوئید کل عصاره: جهت تعیین میزان فلاونوئید کل عصاره از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیم استفاده شد (۱۳). در این روش، ۰/۵ میلی لیتر از

عصاره با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیم ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم (یک مولار) و سپس ۲/۸ میلی لیتر آب دیونیزه مخلوط کردیم. جذب محلول حاصله بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری، در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط طیف سنج فرابنفش مرئی خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد.

سنتز سبز نانوذرات اکسیدروی: جهت سنتز نانوذرات، محلول استات روی دو آبه (zinc acetate dehydrate) با فرمول شیمیایی $(Zn(CH_3CO_2)_2 \cdot 2H_2O)$ با غلظت ۰/۰۵ مولار و pH برابر با ۱۱/۵۹ تهیه شد و با نسبت حجمی ۵/۵ برابر عصاره، به عصاره آبی هسته افزوده شد. سپس به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد عمل همزنی انجام گرفت. بعد از اتمام واکنش، برای ۲۴ ساعت به نمونه فرصت دادیم تا رسوب سفید رنگی در ته ظرف جمع آوری شود. آن گاه رسوبات را به کمک سانتریفیوژ در دور ۶۰۰۰ rpm برای ۲۰ دقیقه جمع آوری کردیم و بعد از جداسازی از محلول رویی دوبار با آب دیونیزه و اتانول شستشو دادیم تا ناخالصی ها حذف گردند. سپس ته نشست جمع آوری شده را در دستگاه آون در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد خشک نمودیم. برای ایجاد فرم پودری از نمونه حاصله، آن را در کوره در دمای ۴۰۰ درجه سانتی گراد برای ۲ ساعت قرار دادیم.

طیف سنجی فرابنفش-مرئی نانوذرات حاصله (UV-Vis): برای این منظور، یک میلی لیتر محلول حاوی نانوذرات تهیه شد و طیف فرابنفش-مرئی آن ها توسط طیف سنج فرابنفش-مرئی (Thermo Biomate, USA) با مسیر عبور یک میلی متری در محدوده طول موج ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر به دست آمد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM): جهت بررسی شکل، اندازه و توزیع اندازه نانوذرات از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (MIRA 3, TESCAN) استفاده شد.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی
فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره و نانوذرات حاصله: جهت سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هسته از گیل و نانوذرات اکسیدروی حاصله، ابتدا

مختلف ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر دیسک، به دیسک ها اضافه کردیم. برای عصاره، از مقادیر ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر دیسک استفاده شد. سپس پلیت ها را در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای ۲۴ ساعت قرار دادیم. در این پژوهش، آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین به عنوان نمونه کنترل مثبت استفاده شد. قدرت ضد میکروبی نانوذرات و عصاره بر اساس قطر ناحیه بازداري توسعه یافته اطراف دیسک ها محاسبه گردید.

آنالیز آماری: تمامی آزمایش ها به صورت سه بار تکرار انجام گرفته شد و برای تحلیل داده های خام به دست آمده در بخش های مختلف آزمایشی بنا به نیاز از نرم افزارهای SPSS vol.16 و Origin Pro2018 استفاده شد. برای مقایسه میانگین های تیمارها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. نتایج به شکل میانگین \pm انحراف استاندارد (Mean \pm SD) گزارش شد.

یافته های پژوهش

تعیین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره هسته ازگیل ژاپنی: بر اساس نتایج حاصله در این پژوهش، میزان ترکیبات فنولی عصاره آبی هسته ازگیل ژاپنی ۹/۸۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک عصاره برحسب اسید گالیک و میزان فلاونوئید ۲۷ میلی گرم بر گرم وزن خشک عصاره معادل استاندارد کوئرستین به دست آمد.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هسته ازگیل ژاپنی به دو روش DPPH و FRAP: نتایج نشان داد که خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی هسته در دو روش سنجش DPPH و FRAP وابسته به غلظت است. همان طور که در شکل شماره ۱ (الف) می بینید، عصاره آبی هسته فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی را از خود نشان داده است به طوری که بیشترین مهار رادیکال آزاد DPPH با میزان ۸۰ درصد در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره به دست آمد. قدرت احیاکنندگی عصاره هسته در تبدیل آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی (شکل شماره ۱ (ب)) نشان داد که قدرت احیاکنندگی عصاره با افزایش غلظت آن افزایش می یابد. چنان چه،

مقدار ۰/۵ میلی لیتر از عصاره هسته و نانوذرات اکسیدروی سنتزی با غلظت های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میکرولیتر) و ۰/۵ میلی لیتر محلول DPPH مخلوط کردیم و با یک میلی لیتر متانول به حجم ۲۰۰۰ میکرولیتر رساندیم، سپس فالكون ها را ورتکس و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار دادیم. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید.

$$I_{DPPH} (\%) = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c} \right) \times 100$$

که در آن A_c جذب نمونه کنترل و A_s جذب نمونه است (۱۴).

تعیین قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP) توسط عصاره هسته ازگیل ژاپنی: یک میلی لیتر عصاره هسته با غلظت های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میکرولیتر)، یک میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار و یک میلی لیتر پتاسیم فری سیانات (یک درصد) را با هم ترکیب کردیم، سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد درون حمام آب گرم قرار دادیم. در ادامه پس از سرد شدن محلول، ۰/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (۱۰ درصد) به ترکیب بالا اضافه نمودیم. سپس ۱/۵ میلی لیتر از مایع رویی را با ۱/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۶۰۰ میکرولیتر کلرید آهن (۰/۱ درصد) در یک فالكون جدید مخلوط و جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. جذب بالاتر نشان دهنده افزایش قدرت احیاکنندگی است (۱۵).

بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره هسته ازگیل و نانوذرات حاصله: جهت مطالعه فعالیت ضد باکتریایی عصاره هسته ازگیل ژاپنی و نانوذرات اکسیدروی از باکتری پاتوژن گرم مثبت مقاوم به متی سیلین *Staphylococcus aureus* (PTCC 1764) و باکتری گرم منفی *Escherichia coli* (PTCC 1399) تهیه شده از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی ایران (IROST) استفاده شد. سوسپانسیون های میکروبی رشد یافته درون محیط کشت نوترینت برات، را روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار پخش کردیم. آن گاه دیسک های استریل روی سطح قرار دادیم و میزان مشخصی از نانوذرات اکسیدروی با مقادیر

میکروگرم بر میلی لیتر از نانوذرات حاصل شد (شکل شماره ۴). هم چنین نمودار فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات اکسیدروی، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها افزایش می یابد.

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره هسته ازگیل و نانوذرات اکسیدروی حاصله: فعالیت ضدباکتریایی عصاره هسته ازگیل ژاپنی و نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به کمک آن، بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و باکتری گرم منفی اشرشیاکلاهی بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره آبی هسته ازگیل ژاپنی در هیچ کدام از دوزهای کاربردی فعالیت ضدباکتریایی نداشته است (داده ها نشان داده نشده است). مقایسه دوزهای مختلف نانوذرات اکسیدروی بر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات، قطر هاله عدم رشد افزایش یافته و در نتیجه رشد باکتری ها کاهش یافته است (شکل شماره ۵). هم چنین نانوذرات اکسیدروی سنتزی فعالیت ضد باکتریایی بیشتری علیه باکتری گرم مثبت نسبت به باکتری گرم منفی نشان دادند (جدول شماره ۱). در این میان، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به دوزهای مختلف نانوذرات اکسیدروی حساس تر بوده و در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر دیسک، به ترتیب هاله عدم رشد با قطر 14 ± 0 و $17/0 \pm 5/7$ میلی متر ایجاد شد.

بالاترین توان احیاکنندگی در حدود $0/6$ بر حسب میلی مول Fe^{2+} بر گرم عصاره خشک در غلظت عصاره ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد.

طیف سنجی فرابنفش-مرئی: طیف جذبی فرابنفش-مرئی جهت بررسی تایید مواد سنتز شده، جذب و انرژی نوری باند گپ در محدوده ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر اندازه گیری شد. طبق شکل شماره ۲، پیک جذبی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده از عصاره ازگیل ژاپنی عدد ۳۴۹ را نشان داد که نمایانگر تشکیل نانوذرات اکسیدروی است.

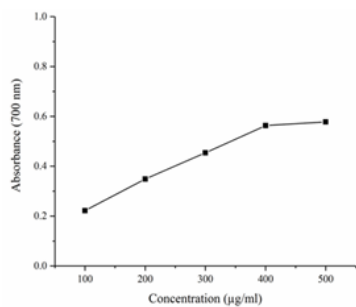
بررسی ریخت شناسی نانوذرات: به منظور ارزیابی اندازه و مورفولوژی نانوذرات اکسیدروی از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی استفاده شد. تصاویر میکروسکوپی حاصله (شکل شماره ۳) نشان داد که بیشتر نانوذرات سنتز شده دارای شکل کروی هستند. هم چنین نتایج آنالیز، بیانگر تجمع نانوذرات است که می تواند ناشی از کاربرد فرآیند خشک کردن در آون باشد. با توجه به نتایج میکروسکوپی، الگوی توزیع اندازه نشان داد که اندازه نانوذرات روی سنتزی در محدوده زیر ۳۰ نانومتر قرار دارند.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده: طبق نتایج به دست آمده، بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسیدروی علیه رادیکال های آزاد DPPH به میزان ۷۵ درصد در غلظت ۵۰۰

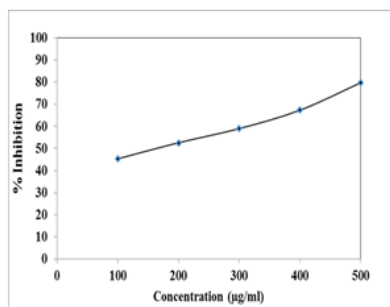
جدول شماره ۱. قطر هاله عدم رشد (میلی متر) باکتری های مختلف در مقابل غلظت های مختلف نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به کمک عصاره هسته ازگیل ژاپنی

| آنتی بیوتیک ۵ میکروگرم/دیسک | غلظت نانوذرات اکسیدروی (میکروگرم بر دیسک) | | | باکتری |
|--------------------------------|---|------------------|----------------|-----------------------|
| | ۲۰۰ | ۱۵۰ | ۱۰۰ | |
| --- | c 14 ± 15 | b $0/7 \pm 13/5$ | a 14 ± 11 | Ecoli PTCC 1399 |
| ۳۵ | c $0/7 \pm 17/5$ | b $0/2 \pm 15/5$ | a $0/0 \pm 14$ | S. aureus PTCC1764 |

حروف کوچک بالای اعداد در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی داری ($P < 0.05$) بین سه غلظت کاربردی است.

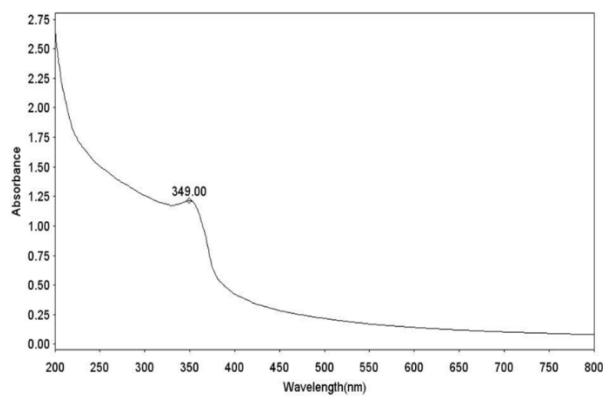


(ب)

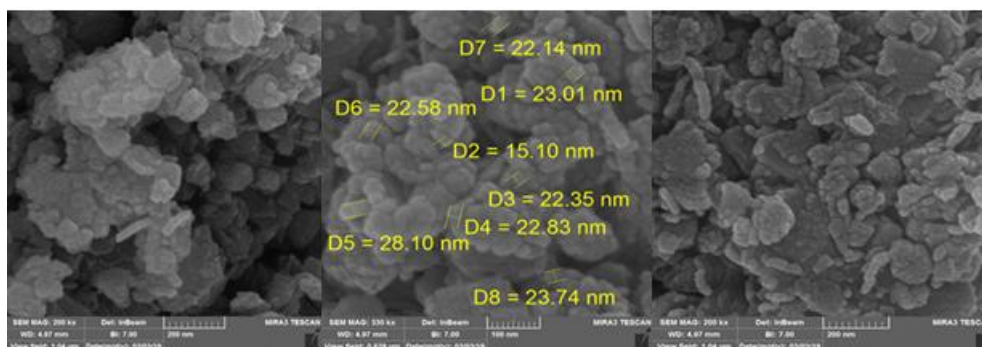


(الف)

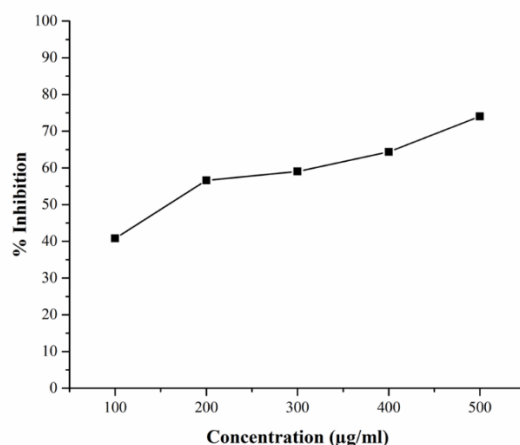
شکل شماره ۱. نمودار تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هسته ازگیل ژاپنی (الف) فعالیت آنتی اکسیدانی به روش مهار رادیکال آزاد DPPH و (ب) فعالیت آنتی اکسیدانی به روش توان کاهندگی آهن (FRAP)



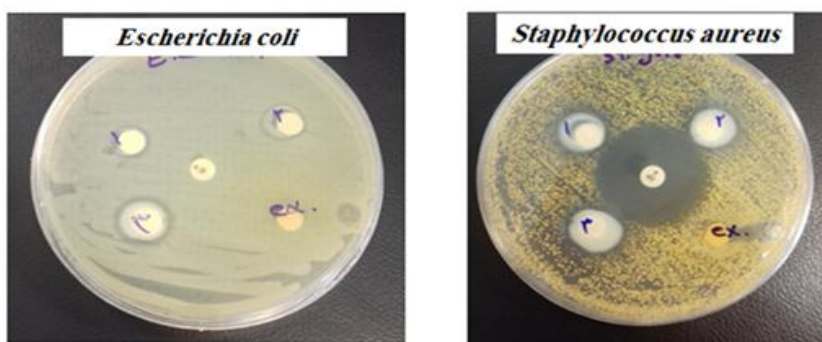
شکل شماره ۲. نمودار طیف UV-vis نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به کمک عصاره هسته ازگیل ژاپنی



شکل شماره ۳. تصاویر میکروسکوپی FE-SEM نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به کمک عصاره هسته ازگیل ژاپنی



شکل شماره ۴. نمودار فعالیت آنتی اکسیدانی مهار رادیکال آزاد DPPH توسط نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به کمک عصاره هسته ازگیل ژاپنی



شکل شماره ۵. تاثیر نانوذرات اکسیدروی و عصاره هسته ازگیل ژاپنی بر باکتری گرم مثبت و گرم منفی (اعداد ۱-۳-۲ به ترتیب غلظت های ۲۰۰-۱۵۰-۱۰۰ میکروگرم بر دیسک نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با استفاده از عصاره هسته ازگیل ژاپنی، نمونه کنترل آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین در وسط و ex. عصاره هسته ازگیل ژاپنی می باشد)

بحث و نتیجه گیری

گیاهان و سایر قسمت های آن ها دارای ترکیبات متعددی هستند که هر کدام دارای ساختاری متفاوت می باشند. ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گروه بزرگی از ترکیبات زیست فعال هستند که می توانند در قسمت های مختلف گیاهان از جمله هسته آن ها یافت شود. از مهم ترین مشخصه های این دسته ترکیبات می توان به خاصیت آنتی اکسیدانی آن ها اشاره کرد که به آن ها امکان از دست دادن هیدروژن و بدام انداختن رادیکال آزاد را می دهد. در این پژوهش، آزمایش ها وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در عصاره آبی هسته

ازگیل را تایید می کند. طبق تحقیقات انجام شده توسط جئونگ و همکاران (۹)، ترکیبات فنولی عصاره هسته ازگیل ژاپنی می تواند به علت حضور اسیدهای فنولیک هم چون اسید بنزویک، اسید کلروژنیک، اسید کافئیک، اسید الاجیک، اسید گالیک، اسید کوماریک و اسید فرولیک باشد که در این میان، اسید کلروژنیک فراوان ترین اسید فنولی گزارش شده است. هم چنین ترکیبات فلاونوئیدی عصاره هسته ازگیل ژاپنی می تواند به علت فلاونوئیدهایی مانند کاتچین، اپی کاتچین و کوئرستین موجود در هسته باشد (۱۶). این ترکیبات می توانند به عنوان ترکیبات کاهنده و پایدارکننده

نانوذرات اکسیدروی عمل کنند. از تکنیک های مشخصه یابی نوری که شاهدهی بر شکل گیری نانوذرات سنتز شده، سنجش جذب و انرژی نوری نانوذرات می باشد طیف سنجی مرئی-فرابنفش است. پیک حضور نانوذرات اکسیدروی اغلب در محدوده ۳۲۰-۴۵۰ نانومتر است. نتایج طیف سنجی فرابنفش-مرئی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با استفاده از عصاره برگ *Azadirachta indica* نشان داد که نانوذرات اکسیدروی سنتز شده دارای پیک جذبی در طول موج ۳۷۷ نانومتر می باشد (۱۷) که با حداکثر پیک جذب مشاهده شده در این پژوهش مطابقت داشت. اندازه نانوذرات فلزی نقش بسیار مهمی در ویژگی ها و عملکرد نانوذرات ایفا می کند. نانوذرات اکسیدروی با اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالا عملکرد بهتری در بخش های مختلف به ویژه به عنوان یک ترکیب ضدباکتریایی دارد. در پژوهش هایی که بر روی سنتز نانوذرات اکسیدروی توسط عصاره هسته *Trachyspermum ammi* و عصاره پوست *Nephelium lappaceum* انجام شد، اندازه نانوذرات سنتزی به ترتیب ۴۱ و ۲۵-۴۰ نانومتر گزارش شد (۱۸،۱۹) و با نتایج به دست آمده از پژوهش ما هم خوانی داشت.

اندازه گیری میزان مهار رادیکال های آزاد DPPH روشی معتبر، دقیق، آسان و مقرون به صرفه با قابلیت تکرارپذیری بالا می باشد که رادیکال آزاد DPPH با گرفتن H از گروه های هیدروکسیل ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره و تبدیل به DPPH-H منجر به کاهش مولکول های DPPH می شود که با تغییر رنگ محلول واکنش از رنگ بنفش تیره به زرد روشن همراه است (۱۴). فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی موجود در عصاره های گیاهی به نوع و غلظت این ترکیبات و هم چنین تعداد و موقعیت گروه های هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک این ترکیبات بستگی دارد. به طوری که با افزایش غلظت عصاره فعالیت ضدرادیکالی آن ها بیشتر می شود زیرا در غلظت های بالاتر، تعداد گروه های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنولی موجود در محیط واکنش افزایش یافته، احتمال انتقال هیدروژن به رادیکال های آزاد، و به دنبال

آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد (۲۰). در پژوهشی که بر روی سنتز سبز نانوذرات اکسیدروی به کمک عصاره برگ *Andrographis paniculata* انجام شد در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بیشترین درصد مهار رادیکال های DPPH برای نانوذرات و عصاره برگ به ترتیب ۶۳/۳۲ و ۵۷/۷۱ درصد گزارش شد (۲۱). هم چنین نتایج تست آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسیدروی سنتزی توسط عصاره ریشه *Scutellaria baicalensis* نشان داد که نانوذرات به میزان ۴۹-۵۷ درصد توانایی مهار رادیکال های DPPH را داشتند (۲۲). عصاره هسته ازگیل ژاپنی به دلیل دارا بودن اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدهایی هم چون کاتچین که بیشترین میزان را در بین فلاونوئیدهای موجود در هسته دارد، خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی (حدود ۸۰ درصد) از خود نشان داد. نانوذرات سنتزی توسط عصاره هسته ازگیل نیز در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر دارای ۷۵ درصد توانایی مهار رادیکال های DPPH بودند که نسبت به دو پژوهش مذکور بالاتر بود و می تواند به دلیل نوع و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در هسته ازگیل باشد که به عنوان ترکیبات احیاکننده و پایدارکننده در سنتز نانوذرات اکسیدروی نقش دارند.

حضور احیاکننده ها و ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی موجود در عصاره در احیای کمپلکس فری سیانید و تبدیل آن ها به فرم فروس نقش دارند که این توانایی با توجه به ظرفیت احیاکنندگی عصاره با تغییر رنگ محلول از زرد تا سبز و آبی متغیر است. افزایش عدد جذب در اثر جذب الکترون از ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدان ها و احیای یون سه ظرفیتی می باشد (۱۵). نتایج قدرت احیاکنندگی در پژوهش حاضر با نتایج به دست آمده توسط راجاکومار و همکاران (۲۰۱۸) هم خوانی داشت. قدرت احیاکنندگی در هر دو پژوهش با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت زیرا با افزایش غلظت عصاره، حضور ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی بیشتر شده و از آن جا که این ترکیبات به عنوان دهنده الکترون عمل می کنند لذا یون آهن سه ظرفیتی به یون آهن دو ظرفیتی احیا می شود (۲۱). در پژوهش حاضر، غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره، قدرت احیاکنندگی خوبی از خود نشان داد که می تواند به دلیل

ترکیبات فنولی موجود در عصاره باشد و هم چنین بیانگر این است که ترکیبات موجود در عصاره قابلیت اتصال بالایی با اتم آهن سه ظرفیتی داشته اند. با توجه به نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسیدروی سنتزی، می توان استفاده از آن ها را در محصولات آرایشی و دارویی پیشنهاد داد چون آن ها می توانند در کاهش یا جلوگیری از تنش های اکسیداتیو نقش موثری داشته باشند.

فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده از طریق عصاره های گیاهی، به احتمال زیاد به علت حضور مواد فیتوشیمیایی است (۲۳) و از طریق ناحیه مهاری رشد تعیین می شود. هر چقدر این ناحیه بزرگ تر باشد خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسیدروی بیشتر است. ناحیه مهاری با اندازه نانوذرات اکسیدروی رابطه عکس دارد یعنی هرچقدر نانوذرات کوچک تر، اندازه ناحیه عدم رشد بزرگ تر خواهد بود. غلظت زیاد نانوذرات و تاثیر آن بر افزایش فعالیت ضدباکتریایی به دلیل افزایش نفوذپذیری غشای باکتری در مواجهه با غلظت زیاد نانوذرات است (۲۴). زمانی که غشای پلاسمایی باکتری ها با نانوذرات اکسیدروی مواجه می شود ساختارش تخریب شده و نفوذپذیری سلول تغییر می کند. سپس نانوذرات اکسیدروی به سمت سیتوپلاسم حرکت می کنند و فعالیت عادی سلول را دستخوش تغییرات می کنند و گونه های آزاد مانند گونه های فعال اکسیژن (رادیکال های هیدروکسید) و هیدروژن پراکسید تولید می کنند که سبب مرگ سلولی می شود (۲۵). در پژوهش حاضر، نتایج ضدباکتریایی نانوذرات اکسیدروی سنتزی توسط عصاره هسته ازگیل نشان داد که نانوذرات علیه باکتری گرم مثبت در بالاترین سطح خود (۲۰۰ میکروگرم) نسبت به باکتری گرم منفی خاصیت ضدباکتریایی بالاتری داشتند. این نتایج ممکن است به علت تفاوت دیواره سلولی در باکتری های گرم مثبت و گرم منفی باشد چنانچه نفوذ نانوذرات اکسیدروی به غشای سلولی باکتری های گرم مثبت راحت تر صورت می گیرد یا به عبارتی این باکتری ها نفوذپذیرتر هستند و همین امر موجب مرگ سلولی بیشتر و ایجاد هاله عدم رشد بزرگ تر می شود. هم چنین اثر ضدباکتریایی نانوذرات اکسیدروی به علت

وجود ترکیبات فنولی در عصاره های گیاهی نشان داده شده است (۲۶،۲۷،۹). نتایج مطالعات پیشین نشان داد که نانوذرات اکسیدروی سنتز شده توسط عصاره برگ گیاه *Atalantia monophylla* و عصاره برگ چای سبز *Camellia sinensis* دارای فعالیت ضدباکتریایی خوبی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بودند و باکتری های گرم منفی حساسیت کمتری از خود نشان دادند (۲۸،۲۹). باکتری استافیلوکوکوس اورئوس پلائی مقاوم به متی سیلین (MRSA) عامل انواع مختلفی از عفونت های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک است. این دسته باکتری ها به آنتی بیوتیک های گروه بتالاکتام مثل پنی سیلین (متی سیلین-نافی سیلین-اکزاسیلین) و سفالوسپورین ها مقاوم هستند به طوری که این آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت های حاصل از آن ها هیچ تاثیری ندارند (۳۰). از آن جایی که مقاومت باکتری ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس در اثر مصرف زیاد آنتی بیوتیک ها افزایش یافته است لذا یافتن ترکیبات طبیعی و ایمن با خاصیت ضدباکتریایی بالا در درمان باکتری های مقاوم حائز اهمیت است. نانوذرات اکسیدروی توسط موسسه غذا و داروی آمریکا (FDA) به عنوان مواد ایمن شناخته شده است. در پژوهش حاضر، نانوذرات اکسیدروی به کمک ماده طبیعی عصاره هسته ازگیل در یک روش ایمن و مقرون به صرفه و بدون کمک حلال های شیمیایی سمی سنتز شده است که با دارا بودن خواص ضد باکتریایی می تواند پتانسیل کاربرد در علم پزشکی داشته و یا به عنوان یک ماده ضدباکتریایی ایمن در پوشش بسته بندی مواد غذایی به کار رود.

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه اخیر، مشخص شد که عصاره آبی هسته ازگیل ژاپنی با دارا بودن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می تواند در احیا و پایداری نانوذرات اکسیدروی موثر واقع شود. هم چنین این ترکیبات می توانند در خواص آنتی اکسیدانی عصاره نقش بارزی داشته باشند. نانوذرات اکسیدروی سنتز شده در یک روش ارزان و زیست سازگار ایمن بوده و با دارا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجوی بوده و از دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می آید.

کد/خلاق: Ir.ausmt.rec.1398.11.33

برجسته خود می توانند در بخش های مختلفی مانند علم پزشکی، بسته بندی مواد غذایی و محصولات آرایشی و بهداشتی به کار روند. به هر حال، در این زمینه مطالعات بیشتری مورد نیاز است که در تحقیقات آینده مورد توجه قرار می گیرد.

References

- 1.Santhoshkumar J, Kumar SV, Rajeshkumar S. Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen. Res Eff Technol2017; 3:459-65. doi.10.1016/j.reffit.2017.05.001
- 2.Salata OV. Applications of nanoparticles in biology and medicine. J Nanobiotechnol 2004; 2:3. doi.10.1186/1477-3155-2-3
- 3.Zare E, Pourseyedi S, Khatami M, Darezereshki E. Simple biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using natures source and it in vitro bio activity. J Mol Struc 2017; 1146:96-103. doi.10.1016/j.molstruc.2017.05.118
- 4.Ahmed S, Chaudhry SA, Ikram S. A review on biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts and microbes a prospect towards green chemistry. J Photochem Photobiol Biol 2017; 166:272-84. doi.10.1016/j.jphotobiol.2016.12.011
- 5.Krol A, Pomastowski P, Rafinska K, Railean V, Buszewski B. Zinc oxide nanoparticles synthesis antiseptic activity and toxicity mechanism. Adv Coll Int Sci 2017; 249:37-52. doi.10.1016/j.cis.2017.07.033
- 6.Sundrarajan M, Ambika S, Bharathi K. Plant extract mediated synthesis of ZnO nanoparticles using Pongamia pinnata and their activity against pathogenic bacteria. Adv Powd Technol 2015; 26:1294-9. doi.10.1016/j.appt.2015.07.001
- 7.Sharma D, Kanchi S, Bisetty K. Biogenic synthesis of nanoparticles a review. Arab J Chem 2019; 12:3576-600. doi.10.1016/j.arabjc.2015.11.002
- 8.Li X, Xu C, Chen K. Nutritional and composition of fruit cultivars loquat Eriobotrya japonica lindl. Nut Com Fru Cul 2016; 371-94. doi.10.1016/B978-0-12-408117-8.00016-7
- 9.Hojjati M, Hemmatyar S, Jooyandeh H, Barzegar H. Evaluation of fatty acid profile of mesocarp and seed of loquat Eriobotrya japonica L. Int 6th National Con Org Agri Ardabil Iran 2019;231.
- 10.Barbi RC, Teixeira GL, Hornung PS, Avila S, Hoffmannribani R. Eriobotrya japonica seed as a new source of starch assessment of phenolic compounds antioxidant activity thermal rheological and morphological properties. Food Hydrocoll 2018; 77:646-58. doi.10.1016/j.foodhyd.2017.11.006
- 11.Jeong JM, Lee KI, Kim SM. Simultaneous determination of benzoic acid, caffeic acid and chlorogenic acid in seeds of Eriobotrya japonica and their antibacterial effect. J Appl Biol Chem 2014; 57:89-93. doi.10.3839/jabc.2014.014
- 12.Kim MS, You MK, Rhuy DY, Kim YJ, Baek HY, Kim HA. Loquat Eriobotrya japonica extracts suppress the adhesion migration and invasion of human Breast cancer cell line. Nut Res Pract2009; 3:259-64. doi.10.4162/nrp.2009.3.4.259
- 13.Asadisamani M, Rafieiankopaei M, Lorigooini Z, Shirzad H. A screening to determine total phenol and flavonoid content of some Irans medicinal plants grown in Chaharmahal va Bakhtyari province. Indian J Nat Prod Res2019; 9:296-302.
- 14.Singh S, Singh RP. Invitro methods of assay of antioxidants overview. Food Rev Int2008; 24:392-415. doi.10.1080/87559120802304269
- 15.Soares AA, Souza CG, Daniel FM, Ferrari GP, Costa SM, Peralta RM. Antioxidant activity and total phenolic content of Agaricus brasiliensis in two stages of maturity. Food Chem 2009;

- 112:775-81.
doi.10.1016/j.foodchem.2008.05.117
- 16.Pande G, Akoh CC. Organic acids antioxidant capacity phenolic content and lipid characterisation of Georgia grown underutilized fruit crops. *Food Chem* 2010; 120:1067-75.
doi.10.1016/j.foodchem.2009.11.054
- 17.Bhuyan T, Mishra K, Khanuja M, Prasad R, Varma A. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles from *Azadirachta indica* for antibacterial and photocatalytic applications. *Mate Sci Sem Proce* 2015; 32:55-61.
doi.10.1016/j.mssp.2014.12.053
- 18.Saravanakumar D, Sivaranjani S, Umamaheswari M, Pandiarajan S, Ravikumar B. Green synthesis of ZnO nanoparticles using *Trachyspermum ammi* seed extract for antibacterial investigation. *Der Pharm Chem* 2016; 8:11.
- 19.Karnan T, Selvakumar SA. Biosynthesis of ZnO nanoparticles using rambutan *Nephelium lappaceum* L. peel extract and their photocatalytic activity on methyl orange dye. *J Mol Struc* 2016; 1125:358-65.
doi.10.1016/j.molstruc.2016.07.029
- 20.Sakanaka S, Ishihara Y. Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegars in radical scavenging assays and on lipid oxidation in tuna homogenates. *Food Chem* 2008; 107:739-44. doi.10.1016/j.foodchem.2007.08.080
- 21.Rajakumar G, Thiruvengadam M, Mydhili G, Gomathi T, Chung IM. Green approach for synthesis of zinc oxide nanoparticles from *Andrographis paniculata* leaf extract and evaluation of their antioxidant anti-diabetic and anti-inflammatory activities. *Bioproc Biosyst Eng* 2018; 41:21-30. doi.10.1007/s00449-017-1840-9
- 22.Tetty CO, Shin HM. Evaluation of the antioxidant and cytotoxic activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using *Scutellaria baicalensis* Root. *Sci Af* 2019; 6: 157. doi.10.1016/j.sciaf.2019.e00157
- 23.Elumalai K, Velmurugan S, Ravi S, Kathiravan V, Raj GA. Bio approach plant mediated synthesis of ZnO nanoparticles and their catalytic reduction of methylene blue and antimicrobial activity. *Adv Powd Technol* 2015; 26:1639-51.
doi.10.1016/j.appt.2015.09.008
- 24.Rajiv P, Rajeshwari S, Venckatesh R. Bio fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Parthenium hysterophorus* L. and its size dependent antifungal activity against plant fungal pathogens. *Spectrochim Acta Mol Biomol* 2013; 112:384-7.
doi.10.1016/j.saa.2013.04.072
- 25.Jamdagni P, Rana JS, Khatri P, Nehra K. Comparative account of antifungal activity of green and chemically synthesized zinc oxide nanoparticles in combination with agricultural fungicides. *Int J Nano Dim* 2018; 9:198-208.
- 26.Zhang Z, Liao L, Moore J, Wu T, Wang Z. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels. *Food Chem* 2009; 113:160-5. doi.10.1016/j.foodchem.2008.07.061
- 27.Ayoughi F, Marzegar M, Sahari MA, Naghdibadi H. Chemical compositions of essential oils of *Artemisia dracunculus* L. and endemic *Matricaria chamomilla* L. and an evaluation of their antioxidative effects. *J Agr Sci Technol* 2011; 13:79-88.
doi.10.1089/FPD.2016.2267
- 28.Vijayakumar S, Mahadevan S, Arulmozhi P, Sriram S, Praseetha PK. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Atalantia monophylla* leaf extracts characterization and antimicrobial analysis. *Mate Sci Sem Proce* 2018; 82:39-45.
doi.10.1016/j.mssp.2018.03.017
- 29.Irshad S, Salamat A, Anjum AA, Sana S, Saleem RS, Naheed A, et al. Green tea leaves mediated ZnO nanoparticles and its antimicrobial activity. *Cogen Chem* 2018; 4:1469207. doi.10.1080/23312009.2018.1469207
- 30.Taylor TA, Unakal CG. *Staphylococcus aureus*. *Int Sta Pear* 2019; 3:132-6.

Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Activities of Biosynthesized Zinc oxide Nanoparticles using Aqueous Extract of Eriobotrya Japonica Seeds

Shabaani M¹, Rahaiee S^{1*}, Zare M²

(Received: February 9, 2020

Accepted: June 29, 2020)

Abstract

Introduction: Recently, much attention has been paid to the biosynthesis of nanoparticles (NPs) due to their eco-friendly, cost-effective, and easily applied nature. This study aimed to synthesize zinc oxide (ZnO) NPs using Eriobotrya Japonica seed aqueous extract. Moreover, it was attempted to evaluate their antioxidant and antibacterial activities.

Materials & Methods: Initially, the Eriobotrya Japonica seed aqueous extract was prepared, and the total phenolic and flavonoid contents were measured in this study. After the preparation of ZnO NPs by the extract, the antioxidant activity of ZnO NPs was evaluated using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical scavenging method. In addition, the antibacterial activities of the extract and NPs were determined using a disc diffusion method against Staphylococcus aureus gram-positive bacteria and Escherichia coli gram-negative bacteria. *Ethics code:* Ir.ausmt.rec.1398.11.33

Findings: The results showed that aqueous extract had a specific amount of phenolic and flavonoids (9.86 mg/g and 27 mg/g dry weight of extract, respectively). Moreover, the synthesized ZnO NPs were <30 nm in diameter with a good absorption rate at 349 nm. In addition, the antioxidant activity of the extract and NPs indicated an increase in the antioxidant activity following an increase in the concentration. Furthermore, the anti-bactericidal activity results demonstrated an appropriate antibacterial activity against S. aureus, whereas the aqueous extract had no antibacterial activities.

Discussions & Conclusions: The findings revealed that the biosynthesized ZnO NPs had appropriate antioxidant and bactericidal activities. This suggests that the NPs can be used in various sectors, such as cosmetic products and food packaging, as a potential alternative to synthetic antibiotics.

Keywords: Antibacterial, Antioxidant, Aqueous extract, Eriobotrya Japonica seed, Green synthesis, Zinc oxide nanoparticles

1. Dept of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

2. Dept of Medicinal Plant, Faculty of Medicinal Plants, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

*Corresponding author Email: s.rahaiee@ausmt.ac.ir