Ministry of Higher Education

And Scientific Research

University of Mosul

College of Dentistry

Efficacy of nanoparticles synthesized from pineapple fruit extracts against *Enterococcus faecalis* and oral *streptococci* (an in vitro study)

A Thesis Submitted to the Council College of Dentistry /University of Mosul

By

Ebtihal Safi Mohamad

As a Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in Oral Microbiology

Supervised by

Assist. Prof. Dr. Ghada Y. Abdul-Rahman

2023 A.D **1444 A.H**

ABSTRACT

The study aims at biosynthesis of nanoparticles from silver, iron, copper, and ammonium and aqueous and ethanolic extracts of two parts (core and pomace) of pineapple fruit and to assess the effectiveness of the prepared extracts and nanoparticles as antibacterial against two species of oral bacteria (*Enterococcus faecalis* and *Streptococcus sanguis*). Aqueous and ethanolic extracts were prepared for pomace and core of pineapple fruit in order to prepare nanoparticles of silver, iron, copper, and ammonium by adding solutions of silver nitrate, ferric sulfate, copper sulfate and ammonium sulfate. Black sediments formed for silver particles and a slight change in the brown color of the iron particles, and the copper particles appeared in turquoise color, and the ammonium particles appeared in a light pink color. The prepared nanoparticles were diagnosed using a (UV-visible) spectrophotometer, which showed absorption peaks of the nanoparticles from aqueous and ethanolic extracts for two pineapple parts (core & pomac) absorbance peaks were measured at (306 nm for Ag Nps , 348nm for Fe Nps , 198 nm for Cu Nps , 205 nm for NHNps) Infrared spectroscopy (FTIR) showed the effective groups of each of the aqueous and alcoholic extracts of pineapple parts, as well as the active groups of the prepared nanoparticles The most important aggregates for the two parts of the pineapple fruit (core, pomace) were: (O-H) bonding group between 3319-3000 cm and the (CH) bonding group the peak vibrated at 2933 and 1627- 1635 cm -1. As for the nanoparticles, strong peak vibrations involved groups of hydroxyl around the broad peak at 3348 cm. The strong band at 1635 cm -1

corresponds to a 1-degree amine group with N - H bond. The peak is 1338 cm -1 for silver nanoparticles and the Fe-O bond group in Fe3O4 shows characteristic peaks around 560-580 cm -1 and bending vibration of the group. The Fe-OH is between 3200-3600 cm-1 for iron nanoparticles and in the copper nanoparticles, a strong peak around 600-800 cm -1 corresponds to the Cu-O stretching vibration in CuO and a weak peak around 3400-3500 cm -1 is associated with the O-H stretching vibration of the surface hydroxyl groups on the copper nanoparticles and in the ammonium nanoparticles it showed a strong peak about 3300-3500 cm-1 corresponds to the N-H stretching vibration in NH3 . The Energy Dispersive X-Ray Analysis (EDX) device showed that concentration of the metal used for the synthesis of the nanoparticles, in addition to the presence or absence of impurities of other minerals, and the Scanning Electron Microscope (SEM) device was used to described the external shape of the formed nanoparticles and their size showed whether they were dispersed or in the form of agglomerations, where the silver nanoparticles appeared in an elliptical to spherical shape, and the iron nanoparticles appeared in a shape similar to the appearance of shattered rocks, while the copper nanoparticles were observed as smooth and highly crystalline in nature it has a great tendency to aggregate, and the ammonium particles appeared approximate to the shape of platelets. The antibacterial effect of prepared nanoparticles and aqueous and alcoholic extracts of pineapple fruit was studied by the turbidity measurement method, where three concentrations (1:1, 1:2, 1:4) of the aqueous extract and three concentrations of the ethanolic extracts (1:1, 1:10, 1:١٠٠) were used, for all prepared extracts and nanoparticles. The turbidity was measured by using a spectrophotometer at 530-nanometer wavelength, where the results showed that the aqueous extract of both parts (core, pomace) have a higher effect than the ethanolic extract of (core, pomace), and the results of silver nanoparticles from the aqueous and alcoholic extracts of (core, pomace) have the higher effect among the different prepared nanoparticles. The effect of

extracts and nanoparticles of iron, copper and ammonium, which also showed an inhibitory effect on bacteria, but in lower proportions than silver nanoparticles .

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية طب الاسنان

فعالية الجسيمات النانوية المصنعة من مستخلصات فاكهة الأناناس ضد المكورات المعوية البرازية والمكورات العقدية الفموية (دراسة مختبرية)

رسالة مقدمة
الى جامعة الموصل / كلية طب الاسنان

من قبل
ابتهال صافي محمد

كجزء من متطلبات لنيل شهادة الماجستير في الاحياء المجهرية الفموية

بأشراف
الاستاذ المساعد الدكتورة غادة يونس عبدالرحمن

١٤٤٤ هـ ٢٠٢٣م

الخلاصة

الهدف من الدراسة هو التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية من الفضة والحديد والنحاس والأمونيوم مع المستخلصات المائية والإيثانولية لجزئي (اللب والثفل) من ثمار الأناناس وتقييم فعالية المستخلصات المحضرة والجسيمات النانوية كمضاد للبكتيريا ضد اثنين من أنواع بكتيريا الفم (Enterococcus faecalis و Streptococcus sanguis). تم تحضير المستخلصات المائية والإيثانولية لثفل ولب ثمار الأناناس من أجل تحضير الجسيمات النانوية من الفضة والحديد والنحاس والأمونيوم بإضافة محاليل نترات الفضة وكبريتات الحديد وكبريتات النحاس وكبريتات الأمونيوم على التوالي منفرده . تشكلت الرواسب السوداء لجزيئات الفضة النانوية واظهرت تغير طفيف في اللون البني لجزيئات الحديد ، وظهرت جزيئات النحاس باللون الفيروزي ، بينما ظهرت جزيئات الأمونيوم بلون وردي فاتح. تم تشخيص الجسيمات النانوية المحضرة باستخدام مقياس الطيف الضوئي (المرئي والأشعة فوق البنفسجية) ، والذي أظهر ذروة امتصاص الجسيمات النانوية من المستخلصات المائية والإيثانولية لجزئين من الأناناس (اللب والثفل) تم قياس قمم الامتصاص عند (٣٠٦ نانومتر لـ Ag Nps، 348 نانومتر Fe Nps، 198 نانومتر لـ Cu Nps، 205 نانومتر لـ NHNps) يوضح التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء (FTIR) المجموعات الفعالة لكل من المستخلصات المائية والايثانولية لأجزاء الأناناس وكذلك المجموعات النشطة للجسيمات النانوية المحضرة حيث كانت أهم مجاميع جزئيين من ثمار الأناناس (اللب ، الثفل) هي: (O-H) مجموعة الترابط بين ٣٣١٩-٣٠٠٠ سم$^{-1}$ ومجموعة الترابط (C-H) كانت للاهتزازات عند ٢٩٣٣ و١٦٢٧-١٦٣٥ سم$^{-1}$. بالنسبة للجسيمات النانوية ، اشتملت اهتزازات الذروة القوية على مجموعات من الهيدروكسيل حول الذروة العريضة عند ٣٣٤٨ سم. الذروة القوية عند ١٦٣٥ سم -١ يتوافق مع مجموعة أمين بدرجة ١ مع رابطة N - H. تبلغ الذروة ١٣٣٨ سم$^{-1}$ للجسيمات النانوية الفضية وتظهر مجموعة رابطة Fe-O في Fe_3O_4 قمم مميزة حول ٥٦٠-٥٨٠ سم$^{-1}$ واهتزاز الانحناء للمجموعة يتراوح Fe-OH بين ٣٢٠٠-٣٦٠٠ سم$^{-1}$ لجسيمات الحديد النانوية وفي الجسيمات النانوية النحاسية ، تتطابق ذروة قوية عند تردد حوالي ٦٠٠-٨٠٠ سم$^{-1}$ مع اهتزاز تمدد Cu-O في CuO وذروة ضعيفة حوالي ٣٤٠٠-٣٥٠٠ سم$^{-1}$ مرتبطة باهتزاز التمدد O-H لمجموعات الهيدروكسيل السطحية لجزيئات النحاس النانوية وفي جسيمات الأمونيوم النانوية ذروة قوية حوالي ٣٣٠٠-٣٥٠٠ سم -١ يتوافق مع اهتزاز التمدد N-H في NH_3 ، ويوضح لنا جهاز تحليل الأشعة السينية المشتتة للطاقة (EDX) تركيز المعدن المستخدم في تصنيع الجسيمات النانوية ، بالإضافة إلى وجود أو عدم وجود شوائب من معادن أخرى ، ويوصف جهاز المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) ،

يوضح الشكل الخارجي للجسيمات النانوية المتكونة وحجمها ما إذا كانت مشتتة أو على شكل تكتلات ، حيث ظهرت جسيمات الفضة النانوية في شكل بيضاوي إلى كروي ، و ظهرت جزيئات الحديد النانوية بشكل مشابه لمظهر الصخور المحطمة ، بينما ظهرت جسيمات النحاس النانوية. لوحظت الجسيمات على أنها ناعمة وذات بلورية عالية في الطبيعة و لديها ميل كبير للتجمع ، وظهرت جزيئات الأمونيوم بشكل تقريبي لشكل الصفائح الدموية. تمت دراسة التأثير المضاد للبكتيريا للجسيمات النانوية المحضرة والمستخلصات المائية والكحولية لفاكهة الأناناس بواسطة طريقة قياس التعكر ، حيث تم دراسة ثلاثة تراكيز (١:١ ، ١:٢ ، ١:٤) للمستخلصات المائية وثلاث تراكيز للمستخلصات الإيثانولية (١:١ ، ١:١٠ ،١:١٠٠) لجميع المستخلصات والجسيمات النانوية المحضرة ، وتم قياس العكارة باستخدام مقياس طيف ضوئي بطول موجة ٥٣٠ نانومتر ، حيث أظهرت النتائج أن المستخلص المائي لكلا الجزئين (اللب ، الثفل) يحتوي على تأثير أعلى من المستخلص الكحولي لـ (اللب ، الثفل) ، ونتائج جسيمات الفضة النانوية من المستخلصات المائية والكحولية لـ (اللب ، الثفل) لها تأثير أعلى بين الجسيمات النانوية المحضرة المختلفة. اما الجسيمات النانوية من الحديد والنحاس والأمونيوم ، فقد أظهرت أيضًا تأثيرًا مثبطًا على البكتيريا ، ولكن بنسب أقل من جسيمات الفضة النانوية