

Green synthesis of iron oxide and silver metal nanoparticles from the roots of *Ferula Gummosa* and investigation of their antimicrobial properties

Hashem Yaghoobi 

*Corresponding author. Associate Professor, Department of Biology, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran. E-mail: yaghoobi_2532@yahoo.com

Somayyeh Rostamzadeh Mansour 

Assistant Professor, Department of chemistry, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran. E-mail: Somayyehrostamzade@gmail.com

Arman Ghorban Doost 

MSc Student, Department of Biology, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran. E-mail: arman_gh@gmail.com

Abstract

Objective

Ferula gummosa is a stable, self-sufficient perennial herb of the Apiaceae family, known for its medicinal compounds such as flavonoids with antioxidant and anticancer properties. These compounds play a vital role in the green synthesis of metal nanoparticles due to their redox activity. This study focused on synthesizing iron oxide and silver nanoparticles using aqueous extract of *F. gummosa* and evaluating their antibacterial properties along with those of the plant extract.

Materials and methods

Green synthesis of silver and iron oxide nanoparticles was performed using *F. gummosa* extract. UV-Vis, FTIR, and XRD spectroscopy confirmed nanoparticle formation. Morphology, size, and surface charge were assessed using TEM and DLS. Antibacterial activity was tested against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* on solid LB medium using nanoparticle concentrations of 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, and 1 mg, incubated at 37 °C for 24 hours.

Results

The results of UV-Vis, FTIR, and XRD spectroscopy showed that iron oxide and silver nanoparticles were successfully synthesized from the extract of the *F. gummosa* plant. TEM images showed silver nanoparticles had multifaceted structures while iron oxide nanoparticles were spherical. Their sizes were 16 nm and 35 nm, and surface charges were -23 mV and -18 mV, respectively. Antimicrobial tests revealed that both silver nanoparticles and the plant extract had

effective antibacterial activity, whereas iron oxide nanoparticles showed negligible effects below 1 mg. MIC and MBC tests showed silver nanoparticles inhibited *E. coli* and *S. aureus* at 2.5 and 5 mg, respectively, while the plant extract required 5 mg/ml to inhibit both bacteria.

Conclusions

According to the results obtained, a significant difference was observed between the aqueous extract of the *F. gummosa* plant and the green synthetic silver nanoparticles prepared from it in terms of antibacterial activity. However, the antibacterial properties of the aqueous extract of the *F. gummosa* plant and silver nanoparticles were significantly higher than those of iron oxide nanoparticles.

Keywords: *Ferula gummosa*, iron oxide nanoparticles, green synthesis, silver nanoparticles.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Yaghoubi, H., Rostamzadeh Mansour, S., Ghorban Doost, A. (2025). Green synthesis of iron oxide and silver metal nanoparticles from the roots of *Ferula Gummosa* and investigation of their antimicrobial properties. *Agricultural Biotechnology Journal*, 17(3), 1-26.

Agricultural Biotechnology Journal, 17(3), 1-26.

DOI: 10.22103/jab.2025.24522.1636

Received: March 17, 2025.

Received in revised form: June 02, 2025.

Accepted: June 03, 2025.

Published online: August 30, 2025.

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian
Biotechnology Society.



© the authors

Introduction

Green synthesis is one of the new methods for synthesizing metal nanoparticles, which is economically cost-effective compared to physical and chemical methods of nanoparticle synthesis and environmentally less toxic than other methods of nanoparticle synthesis. In this method, plant compounds are used as initiators and catalysts for the synthesis of nanoparticles. Since plants are among the available and cheap resources, the use of these compounds in the synthesis of nanoparticles has attracted the attention of many researchers. Nanoparticles can be classified into different categories such as metal-ceramic copolymer nanoparticles, etc., based on their shape, chemical composition, and functional properties. Metal nanoparticles include nanoparticles of silver, gold, copper, iron oxide, and other metals, which have diverse applications due to their electrical and thermal properties. Silver nanoparticles are known as a strong disinfectant and are widely used in the medical and pharmaceutical industries. Oxide nanoparticles include various metal oxides such as titanium oxide, zinc oxide, and iron oxide. Oxide nanoparticles are used in the fields of electronics, catalysts, and also as reinforcing materials in plastics and cement. This

research was designed and conducted with the aim of using the root extract of the *F. Gummosa* plant to synthesize metal nanoparticles and investigate their antimicrobial properties.

Materials and methods

In order to prepare hydroalcoholic extract from the root of the *F. Gummosa* plant, the roots were first washed with water to remove contaminants. Then they were cut into small pieces and dried in an incubator at 45 °C. 100 grams of the dried roots were finely powdered by a grinder. Then N-hexane was used for degreasing. For this purpose, 500 ml of N-hexane was added to 100 grams of the powdered sample and shaken for 24 hours at 25 °C with a shaker. Then 500 ml of 80% methanol was added to 100 grams of the resulting powder and kept for 48 hours at room temperature on a shaker in the dark. After 48 hours, the resulting solution was centrifuged (15,000 rpm for half an hour) and the supernatant was passed through filter paper. A rotary dryer was used to dry the prepared extract. Finally, the weight of the extract was calculated and dissolved with PBS buffer at a concentration of 10 mg/ml. The resulting sample was stored in a refrigerator at 4°C for subsequent experiments. Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles, by combining the precursors in the ratio of 1 mmol of ferrous chloride (FeCl₂. 4H₂O) and 2 mmol of ferric chloride (FeCl₃. 6H₂O) at a temperature of 80 °C under nitrogen gas and within a period of 10 minutes, 15 ml of hydroalcoholic extract was added dropwise. After 5 minutes, 60 ml of 1 molar sodium hydroxide was added to it and stirred again under nitrogen gas for 1 hour. A black precipitate was formed. After completion of the reaction and purification by centrifugation and ethanol (three times), they were dried in a vacuum at 50°C. For this purpose, 15 ml of aqueous extract of *F. Gummosa* was mixed with 85 ml of 1 mM silver nitrate and stirred for 72 hours at room temperature to carry out the reaction. The resulting nanoparticles were separated using a centrifuge for 15 minutes at 15,000 rpm. Then they were washed 3 times with phosphate buffer. After removing the supernatant solution, the desired precipitate was washed three times with phosphate buffer and after drying using a freeze-dryer, it was stored at -80°C for subsequent experiments.

Results

According to the results obtained from FI-IR spectroscopy and XRD, the biosynthesis of silver and iron oxide nanoparticles by *F. Gummosa* extract was confirmed. The results from transmission electron microscopy (TEM) showed that the silver nanoparticles had a polyhedral structure and the iron oxide had a spherical and regular structure. The results of the investigation of the size and surface charge of nanoparticles by DLS showed that the silver nanoparticles biosynthesized from the methanol extract of *F. Gummosa* had a size of 16±1.7 nm and a surface charge of -23±1.35 mV. It was also found that the iron oxide nanoparticles had a spherical structure and a size of 30±1.2 nm. The DLS results also showed that the iron oxide nanoparticles had a surface charge of -18.3±1.22 mV. Also, the PDI of silver and iron oxide nanoparticles was 0.15±0.009 and 0.23±0.02, respectively. According to the results obtained, it was determined that

the extract of the *F. Gummosa* had a favorable antibacterial effect on *E. coli* or *S. aureus* bacteria. However, the results of examining the diameter of the growth inhibition zone of *E. coli* or *S. aureus* bacteria treated with different concentrations of silver nanoparticles showed that these compounds significantly increased the size of the growth inhibition zone of *E. coli* or *S. aureus* bacteria compared to treatment with the extract of the *F. Gummosa*. On the other hand, according to the results obtained, it was determined that with increasing the concentration of each of these compounds, the diameter and area of the growth inhibition zone in *E. coli* or *S. aureus* bacteria increased, so that the largest diameter of the growth inhibition zone in *E. coli* bacteria (10.3 mm) was observed in the treatment of 1 mg of the *F. Gummosa* extract, this amount for silver nanoparticles was equal to (18.5 mm). Also, the largest diameter and area of the growth inhibition zone in *S. aureus* bacteria (16.3 mm) was observed at a concentration of 1 mg of silver nanoparticles from the *F. Gummosa*. These results showed that in general, silver nanoparticles from the *F. Gummosa* have higher antibacterial properties compared to the extract of this plant. In addition, the results showed that iron oxide nanoparticles synthesized from the *F. Gummosa* extract did not have significant antimicrobial properties on *E. coli* or *S. aureus* bacteria up to the used concentration of 1 mg, so other antimicrobial tests were not applied to them. The toxicity percentage of hydroalcoholic extract of *F. Gummosa* and silver nanoparticles biosynthesized from it on *E.coli* or *S. aureus* bacteria was investigated using the mixed culture test in the plate. According to the results obtained, it was found that *F. Gummosa* extract reduces the number of colonies in *E.coli* or *S. aureus* bacteria. Also, according to the results obtained, it was found that *F. Gummosa* extract reduced the survival of *E.coli* or *S. aureus* bacteria by more than 48 and 52 percent, respectively. On the other hand, it was found that silver nanoparticles biosynthesized from *F. Gummosa* extract have a high ability to control the growth of *E.coli* or *S. aureus* bacteria. So that this group of nanoparticles can reduce the growth of *E.coli* or *S. aureus* bacteria colonies by 73 and 82 percent, respectively.

Conclusions

Murgueitio et al. (2018) used FTIR, XRD and UV-Vis spectroscopy to confirm the biosynthesized iron oxide nanoparticles after synthesizing iron oxide nanoparticles from the hydroalcoholic extract of *Vaccinium floribundum*. This group examined the morphology of the resulting nanoparticles by imaging with a transmission electron microscope (TEM) and stated that the biosynthesized iron oxide nanoparticles have a spherical, non-complex and uniform structure. This is consistent with the results obtained in this study. Abedini et al. (2011) used apple plant extract to synthesize silver nanoparticles. They found that the silver nanoparticles had a spherical structure. The results obtained from the DLS device of the silver nanoparticles in this group showed that the biosynthesized nanoparticles were in two different size ranges, with the largest amount of nanoparticles having a size between 8 and 12 nm. They also reported that in the MIC and MBC test of silver nanoparticles (125, 1000, 500 and 1000 µg/ml) on *E.coli*, *S.arueus* and *P.*

aeruginosa bacteria, it was found that silver nanoparticles had high toxicity on the mentioned bacteria at all concentrations, but with increasing concentration, the growth rate of bacteria decreased significantly. They also reported that among the 3 strains of *E.coli*, *S.aerueus* and *P. aeruginosa*, *E.coli* bacteria had the least resistance to silver nanoparticles and its growth was more limited compared to other strains. On the other hand, *P. aeruginosa* bacteria had the highest resistance to equal concentrations of silver nanoparticles among the mentioned strains. Which is consistent with the results obtained in this study. In this study, based on the results obtained from the disk diffusion test, mixed culture test in the plate, and MIC and MBC tests, it was determined that increasing the concentration of biosynthesized silver nanoparticles caused a decrease in the viability of *E. coli* and *S. aureus* bacteria.

Author contributions

Conceptualization: Yaghobi H, Methodology: Yaghob H, Software: Yaghobi H, Validation: Yaghobi H, Formal analysis: Rostamzadeh Mansour S. Investigation: Yaghobi H; Resources: Yaghobi H, Data curation: Rostamzadeh Mansour S and Ghorban doost A, Writing-original draft preparation: Yaghobi H, Writing-review and editing: Yaghobi H, Visualization: Yaghobi H, Supervision: Yaghobi H, Project administration: Yaghobi H, Funding acquisition: Rostamzadeh Mansour S and Ghorban doost A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Data availability statement

Not applicable.

Acknowledgements

The authors thank all participants in this study.

Ethical considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Funding

The study was funded by Department of Biology, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Iran.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

سنتز سبز نانوذرات فلزی اکسید آهن و نقره از ریشه گیاه باریجه (*Ferula Gummosa*) و بررسی

خصوصیات ضد میکروبی آن‌ها

هاشم یعقوبی

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران. رایانامه:

yaghoobi_2532@yahoo.com

سمیه رستم زاده منصور

استادیار، گروه شیمی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران. رایانامه: somayyehrostamzade@gmail.com

آرمان قربان دوست

دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران. رایانامه:

arman_gh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۷ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۳

چکیده

هدف: گیاه باریجه با نام علمی *Ferula gummosa* گیاهی خودرو و پایا است. این گیاه علفی و چند ساله عضوی از خانواده Apiaceae می‌باشد. این گیاه دارای ترکیبات شیمیایی مهم دارویی از جمله فلاونوئیدها است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی می‌باشد. این گروه از ترکیبات گیاهی-دارویی به دلیل حضور فعال در فرایند اکسایش و کاهش، نقش کلیدی در سنتز سبز نانوذرات فلزی دارند. در این پژوهش ویژگی‌های نانوذرات فلزی هم‌چون اکسید آهن و نقره سنتز شده از عصاره آبی گیاه *F. gummosa* مورد مطالعه قرار گرفته و در ادامه به خواص ضدباکتریایی عصاره آبی حاصل از ریشه این گیاه و نانوذرات فلزی حاصل از آن پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه سنتز سبز نانوذرات نقره و نانوذرات اکسید آهن با استفاده از عصاره گیاه باریجه صورت گرفت. به منظور تایید سنتز سبز نانوذرات فلزی به ترتیب از طیف سنجی UV-Vis، FTIR و XRD استفاده شد. هم‌چنین جهت بررسی مورفولوژی، اندازه و بار سطحی نانوذرات به ترتیب از میکروسکوپ الکترونی عبوری و دستگاه DLS استفاده شد. اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن و نقره از دیگر بررسی‌های انجام شده در این تحقیق بود. بدین منظور ابتدا باکترهای *Escherichia coli*

Staphylococcus aureus بر روی محیط LB جامد کشت شدند. سپس غلظت‌های متفاوتی از نانوذرات (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم) بر هر کدام از باکتری‌ها اثر داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت 37°C نگهداری شدند.

نتایج: نتایج حاصل از طیف سنجی UV-Vis، FTIR و XRD نشان داد نانوذرات اکسید آهن و نقره با موفقیت از عصاره گیاه باریجه سنتز شده‌اند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره ریشه گیاه باریجه نشان داد که این نانوذرات دارای ساختار چند وجهی می‌باشند این درحالی بود که نانوذرات آهن از ساختار کروی برخوردار بودند. اندازه نانوذرات نقره و نانوذرات اکسید آهن به ترتیب برابر با ۱۶ و ۳۵ نانومتر بودند. میزان بار سطحی برای نانوذرات اکسید آهن برابر با -18 mV و برای نانوذرات نقره برابر با -23 mV بود. نتایج حاصل از بررسی خواص ضد میکروبی ترکیبات نشان داد که نانوذرات نقره و عصاره گیاه باریجه از خواص ضد میکروبی مطلوبی برخوردار بودند، با این حال اثر معنی داری برای خواص ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن تا غلظت پایین تر از ۱ میلی گرم مشاهده نشد. علاوه بر این نتایج حاصل از بررسی MIC و MBC از نانوذرات نقره و عصاره گیاه باریجه نشان داد. نانوذرات نقره به ترتیب در غلظت مورد استفاده ۲/۵ و ۵ میلی گرم سبب مهار باکترهای *E. coli* و *S. aureus* می‌گردد. حداقل غلظت مورد نیاز جهت مهار باکترهای *E. coli* و *S. aureus* توسط عصاره گیاه باریجه ۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود.

نتیجه گیری: طبق نتایج به دست آمده بین عصاره آبی حاصل از گیاه باریجه و نانوذرات نقره سنتز سبز شده از آن از نظر میزان فعالیت ضد باکتریایی تفاوت معنی داری مشاهده شد. این در حالی است که خواص ضد باکتریایی عصاره آبی گیاه باریجه و نانوذرات نقره به طور معنی داری بیشتر از نانوذرات اکسید آهن بود.

کلیدواژه‌ها: سنتز سبز، گیاه باریجه، نانوذرات اکسید آهن، نانوذرات نقره

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: یعقوبی هاشم، رستم زاده منصور سمیه، قربان دوست آرمان (۱۴۰۴) سنتز سبز نانوذرات فلزی اکسید آهن و نقره از ریشه گیاه باریجه (*Ferula Gummosa*) و بررسی خصوصیات ضد میکروبی آن‌ها. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۷(۳)، ۱-۲۶.

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian

Biotechnology Society.

© the authors



مقدمه

سنتز سبز یکی از روش‌های جدید جهت سنتز نانوذرات فلزی است که در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی سنتز نانوذرات از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه و از لحاظ زیست محیطی از سمیت کمتری در مقایسه با سایر روش‌های سنتز نانوذرات برخوردار می‌باشد در این روش از ترکیبات گیاهی به عنوان آغازگر و کاتالیزور به منظور سنتز نانوذرات استفاده می‌گردد (Ali et

(al., 2016). باتوجه به اینکه ترکیبات گیاهی متنوعی در عصاره و اسانس گیاهان وجود دارد، لذا جذب این ترکیبات توسط میکروارگانیسم‌ها با سرعت بیشتری در مقایسه نانوذرات سنتز شده با استفاده از روش‌های دیگر انجام می‌گیرد که در نتیجه آن تاثیر نانوذرات بر میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با نانوذرات سنتز شده از روش‌های دیگر افزایش می‌یابد. از آنجا که گیاهان از جمله منابع در دسترس و ارزان می‌باشند لذا استفاده از این ترکیبات در سنتز نانوذرات مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است (Azizi et al., 2014). بخش‌های که از گیاه جهت سنتز سبز به کار گرفته می‌شود می‌تواند شامل اندام‌های ریشه، ساقه، برگ و حتی گل و میوه گیاهان نیز باشد. وجود ترکیبات متعدد در گیاهان احتمال انجام واکنش‌ها و فعل و انفعالات در خلال سنتز را افزایش می‌دهد (Babanejad et al., 2017). باتوجه به زیست‌سازگاری عصاره‌های گیاهی و همچنین نظر به اینکه استفاده از ترکیبات گیاهی علاوه کم هزینه بودن جهت سنتز نانوذرات فلزی روشی آسان‌تر در مقایسه با روش‌های شیمیایی مرسوم است (Durán et al., 2005). از طرف دیگر تحقیقات نشان می‌دهد که نانوذرات سنتز شده با استفاده از روش سبز در مقایسه با نانوذرات سنتز شده از روش‌های شیمیایی، از جذب بیشتری در سلول‌های یوکاریوتی برخوردارند. لذا، استفاده از این نانوذرات در سیستم‌های دارو رسانی نیز مفید است (Bakkali et al., 2008). از جمله دلایل افزایش جذب نانوذرات فلزی به سلول‌های یوکاریوتی وجود ترکیبات متنوعی از قبیل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و غیره در گیاهان می‌باشد که به عنوان منابع مختلف در سلول‌های یوکاریوتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Carson & Hammer, 2011). گیاه باریجه از گیاهان دارویی با ترکیبات فنولی، پلی‌ساکاریدی و پلی‌پپتیدی فراوانی می‌باشد این گیاه در کشور ایران بیشتر در نواحی شمال خراسان می‌روید و به دلیل خواص تسکین دهنده ناراحتی معده در بین بومیان این منطقه شهرت دارد. اسانس این گیاه در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله کیست‌های تخمدان و کبد چرب نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. خواص ضد میکروبی اسانس و عصاره گیاه باریجه در مطالعاتی به اثبات رسیده است (Cushnie et al., 2014). خواص ضد میکروبی اسانس گیاه باریجه بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بیشتر مرتبط به ترکیبات آروماتیک گیاه دانسته شده است (He et al., 2004). ترکیباتی از قبیل ^۱آلفا-پینن، ^۲پی-سیمن، ^۳آلفا-توجون، ^۴کادینن و ^۵جرماکرن دی در اسانس این گیاه به مقدار قابل توجهی وجود دارد (Mehrsorosh et al., 2014). باریجه یکی از گیاهان دارویی پرمصرف است که به علت خواص فراوان صمغ و ریشه آن مورد استفاده واقع می‌شود. عصاره ریشه باریجه دارای ویتامین‌ها و املاح ضروری برای پوست است و فرایند کلاژن سازی را با خاصیت آنتی‌اکسیدانی‌اش تحریک می‌کند (Mahboubi, 2016). نانوتکنولوژی به عنوان علمی نوظهور و فراگیر، به مطالعه و کنترل مواد در مقیاس نانومتری اشاره دارد. نانومتر واحدی اندازه‌گیری است که برابر با یک میلیاردیم متر می‌باشد و در این مقیاس، خواص فیزیکی و شیمیایی مواد به طریقی

^۱- α -Pinene

^۲- p-Cymene

^۳- α -Thujene

^۴- δ -Cadinol

^۵- Germacrene-D

چشمگیر تغییر می‌کند (Mohammadabadi & Mozafari, 2018) یکی از ویژگی‌های بارز نانومواد، افزایش نسبت سطح به حجم آن‌هاست. این ویژگی باعث می‌شود که نانومواد دارای خصوصیات ویژه‌ای چون استحکام بالا، رسانش حرارتی و الکتریکی قابل توجه و همچنین واکنش‌پذیری افزایشی باشند (Heidarpour et al., 2011). در حوزه پزشکی، نانوتکنولوژی نویدبخش روش‌های نوینی در درمان بیماری‌هاست. استفاده از نانوذرات برای هدف‌گذاری داروها به‌طور خاص بهبود یافته و می‌تواند تأثیرات جانبی داروها را کاهش دهد. همچنین، نانوسنسورها قادر به تشخیص بیماری‌ها در مراحل اولیه و با دقت بالا هستند (Mohammadabadi et al., 2009). علاوه بر کاربردهای پزشکی، نانوتکنولوژی در زمینه‌های دیگری چون حفاظت محیطی و انرژی پاک نیز مؤثر است. به‌کارگیری نانومواد در تصفیه آب و بهبود کارایی سلول‌های خورشیدی، نمونه‌هایی از این کاربردها هستند (Noruzpuor et al., 2024a). پیشرفت در علم نانو و فناوری نانو به‌طور معمول ساخت و شناسایی حامل‌های زیست فعال زیر میکرونی را امکان‌پذیر کرده است (Zarrabi et al., 2020). انتقال مواد فعال زیستی به نقاط هدف در بدن و رفتار آزادسازی آنها مستقیماً تحت تأثیر اندازه ذرات است (Mortazavi et al., 2005). نانوذرات را می‌توان بر اساس شکل، ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های عملکردی به دسته‌های مختلفی نیر نانوذرات کوپلمری سرامیکی فلزی و غیره تقسیم‌بندی نمود (Mohammadabadi & Mozafari, 2019). نانوذرات فلزی شامل نانوذرات نقره، طلا، مس، اکسید آهن و سایر فلزات هستند که به دلیل خاصیت‌های الکتریکی و حرارتی خود کاربردهای متنوعی دارند. نانوذرات نقره به عنوان یک ضدعفونی‌کننده قوی شناخته می‌شوند و در صنایع پزشکی و داروسازی کاربرد زیادی دارند. نانوذرات اکسیدی شامل اکسیدهای فلزی مختلف مانند اکسیدتیتانیم، اکسیدروی و اکسید آهن هستند. نانوذرات اکسیدی در زمینه‌های الکترونیک، کاتالیزورها و همچنین به عنوان مواد تقویت‌کننده در پلاستیک‌ها و سیمان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Bourang et al., 2024a). روش‌های مختلفی جهت سنتز انواع نانوذرات فلزی وجود دارد که می‌توان به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی اشاره نمود. یکی از مهم‌ترین روش‌های تولید نانوذرات فلزی، روش فیزیکی است که به علت عدم نیاز به مواد شیمیایی مضر و امکان کنترل دقیق‌تر اندازه و شکل نانوذرات، از مزایای بسیاری برخوردار است (Noruzpuor et al., 2024b). روش‌های شیمیایی تولید نانوذرات فلزی معمولاً شامل استفاده از پیش‌ماده‌های فلزی، احیاکننده‌ها و تثبیت‌کننده‌ها می‌باشد. در این فرآیند، پیش‌ماده‌های فلزی در حضور یک احیاکننده شیمیایی به نانوذرات تبدیل می‌شوند. این احیاکننده‌ها قابلیت تبدیل یون‌های فلزی به نانوذرات را دارند و با کنترل شرایط واکنش می‌توان اندازه و شکل نانوذرات را تنظیم کرد. یکی از مزایای روش‌های شیمیایی، قابلیت کنترل دقیق ویژگی‌های نانوذرات است. با تغییر شرایط محیطی نظیر pH، دما و غلظت پیش‌ماده‌ها، می‌توان نانوذراتی با اندازه‌ها و خواص مختلف تولید نمود. روش بیولوژیکی به معنای سنتز نانوذرات با استفاده از باکتری، قارچ، جلبک، مخمر و گیاهان است. روش‌های بیولوژیکی مزایای بیشتری نسبت به روش‌های فیزیکی و شیمیایی نظیر سازگاری با محیط‌زیست، هزینه کم تولید، عدم پردازش پایین دستی و بازدهی بالای دارند (Zarrabi et al., 2020). ترکیبات با ارزش دارویی نظیر فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، فنل‌ها، آلکالوئیدها، تانن‌ها و غیره موجود در عصاره‌های گیاهان دارویی به عنوان عوامل احیاکننده، پوشاننده و تثبیت‌کننده نانوذرات فلزی عمل می‌کنند. قسمت‌های

مختلف گیاهان از جمله برگ، ساقه، ریشه، شاخساره، گل، پوست، بذر و همچنین متابولیت‌های ثانویه حاصل از آن‌ها جهت بیوسنتز نانوذرات فلزی مورد استفاده قرار گرفته است (Bourang et al., 2024). لذا، این تحقیق با هدف استفاده از عصاره ریشه گیاه باریجه جهت سنتز نانوذرات فلزی و بررسی خواص ضد میکروبی آن‌ها طرح‌ریزی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌های باکتری: باکتری گرم مثبت (*S. aureus* (ATCC6538) و همچنین باکتری گرم منفی (*E. coli* (ATCC11303) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (IROST) خریداری شد. سپس پس از تکثیر بر روی محیط جامد جهت انجام آزمایشات مربوط به خواص ضد میکروبی در دمای 4°C نگهداری شدند.

تهیه نمونه گیاهی: ریشه گیاه باریجه مورد استفاده در این تحقیق از دامنه کوه‌های خراسان رضوی (شهرستان قوچان) تهیه و سپس جهت تأیید بخشی از ریشه گیاه در هرباریوم دانشگاه تهران مورد بررسی قرار گرفت.

تهیه عصاره هیدروالکلی: به منظور تهیه عصاره هیدروالکلی از ریشه گیاه باریجه ابتدا ریشه‌ها به منظور رفع آلودگی‌ها توسط آب مورد شستشو قرار گرفتند. سپس به قطعات کوچک تبدیل شده و توسط انکوباتور در دمای 45°C خشک شدند. میزان 100°C گرم از ریشه‌های خشک شده توسط آسیاب به خوبی پودر گردید. سپس از N-هگزان جهت چربی‌زدایی استفاده شد، برای این منظور به 100°C گرم از نمونه پودری 500 میلی‌لیتر N-هگزان افزوده شده و به مدت 24 ساعت و در دمای 25°C توسط شیکر تکان داده شد. سپس 500 میلی‌لیتر متانول 80 درصد به 100°C گرم پودر حاصل اضافه شد و به مدت 48 ساعت در دمای اتاق بر روی شیکر و در شرایط تاریکی نگهداری شد. پس از 48 ساعت محلول حاصل سانتریفیوژ شد (15000 دور به مدت نیم ساعت) و ترکیب رویی از کاغذ صافی عبور داده شد. از روتاری جهت خشک کردن عصاره بدست آماده استفاده شد. در انتها وزن عصاره محاسبه شد و با غلظت 10 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توسط بافر PBS حل گردید. و نمونه حاصل برای آزمایشات بعدی در یخچال و دمای 4°C نگهداری شد (Ghorbani et al., 2016; Jalaliet et al., 2011).

بیوسنتز نانوذرات اکسید آهن: سنتز نانوذرات Fe_3O_4 ، با ترکیب پیش ماده‌ها به نسبت 1 میلی‌مول کلرید فروس ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) و 2 میلی‌مول کلرید فریک ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) در دمای 80°C تحت گاز نیتروژن در بازه زمانی 10 دقیقه 15 میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی را به صورت قطره قطره به آن اضافه گردید. بعد از 5 دقیقه 60 میلی‌لیتر سود یک مولار به آن اضافه شد و مجدداً تحت گاز نیتروژن به مدت 1 ساعت هم‌زده شد تا رسوب سیاه رنگی تشکیل شد. بعد از اتمام واکنش و انجام خالص سازی با سانتریفیوژ و اتانول (سه بار)، در دمای 50°C درجه در خلاء خشک شدند (Sohrabi-Gilani et al., 2022).

بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره متانولی گیاه باریجه: برای این منظور 15 میلی‌لیتر از عصاره آبی گیاه باریجه به 85 میلی‌لیتر نیترات نقره 1 میلی‌مولار مخلوط شد و به منظور انجام واکنش به مدت 72 ساعت در دمای لتاق

همزده شد. نانوذرات حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه و در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه جداسازی شدند. سپس به مدت ۳ مرتبه توسط بافر فسفات مورد شستشو قرار گرفتند. پس از حذف محلول رویی رسوب مورد نظر برای سه مرتبه توسط بافر فسفات شستشو و پس از خشک شدن توسط دستگاه Freeze-dry، جهت آزمایشات بعدی در دمای 80°C - نگهداری شد (Chokheli et al., 2020).

بررسی خصوصیات نانوذرات بیوسنتز شده-میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM): مورفولوژی نانوذرات فلزی حاصل به کمک میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (LEO 1430, Zeiss, Oberkochen, آلمان) مورد ارزیابی دقیق قرار گرفت.

پراش اشعه ایکس (XRD): درجه کریستالیزاسیون و ساختار نانوذرات فلزی با استفاده از دستگاه (Bruker D8 DISCOVER ساخت کشور آلمان) بررسی شد.

پراکندگی نور دینامیکی (DLS): اندازه متوسط نانوذرات فلزی و کوپلمیری حاصل با استفاده از دستگاه پراکندگی نور دینامیکی (DLS، شرکت Horiba، ساخت کشور ژاپن) تعیین شد.

طیف سنجی (FTIR): تشکیل نانوذرات فلزی و کوپلمیری توسط طیف سنجی FTIR (شرکت Thermo Scientific، ساخت کشور آمریکا) تأیید شد.

توزیع گرافیکی پتانسیل زتا (Zeta): توزیع بار الکتریکی سطحی نانوذرات نقره و اکسید آهن توسط دستگاه شرکت Horiba، ساخت کشور ژاپن انجام شد.

سنجش فعالیت ضد میکروبی با روش انتشار دیسک^۶: بدین منظور ابتدا دیسک‌ها توسط اشعه UV به مدت ۱۲ ساعت کاملاً استریل گردیدند. سپس دیسک‌های حاوی غلظت‌های متفاوتی از نانوذرات اکسید آهن و نقره (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره گیاه باریجه (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی لیتر) به طور جداگانه برای هر گونه باکتری در یک پلیت جداگانه قرار گرفت. در انتها این پلیت‌ها به انکوباتور با دمای 37°C انتقال داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند (Gul et al., 2002).

کشت باکتری به روش پورپلیت: در این روش، تعداد کل واحدهای تشکیل دهنده کلنی (CFU) در سطح یک محیط آگار محاسبه می‌شود. واحد تشکیل کلنی در حوزه میکروبیولوژی، واحدی است که برای تخمین تعداد سلول‌های باکتریایی زنده در یک نمونه محاسبه می‌شود. از نظر تئوری، یک سلول زنده قادر به رشد و تشکیل کلنی است و می‌توان گفت که هدف از شمارش کلنی‌ها با استفاده از روش پورپلیت، در واقع تخمین تعداد سلول‌ها بر اساس توانایی آن‌ها برای رشد و ایجاد کلنی تحت شرایط تغذیه ای، دمایی و زمانی خاص است. در این روش، ابتدا غلظت‌های متفاوتی از نانوذرات اکسید آهن و نقره (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱

^۶- Ffusion disk

میلی گرم بر میلی لیتر) و عصاره گیاه باریجه (۰/۵، ۰/۲۵، ۱ میلی لیتر) به پتری دیش های حاوی آگار ذوب شده و خنک شده (۴۲-۴۵) به همراه ۲ سویه باکتری (*E. coli* یا *S. aureus*) به صورت جداگانه، تلقیح شدند. سپس و با چرخش پتری دیش نمونه و آگار مخلوط شدند. در انتها این پلیت ها به انکوباتور با دمای 37°C انتقال داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند (Sadeghi et al., 2016).

بررسی حداقل غلظت مهار کنندگی^۷ (MIC): به منظور بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات نقره و اکسید آهن از غلظت های ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم استفاده شد. به هر کدام از چاهک های پلیت ۹۶ خانه حاوی ۱۰۰ میکرولیتر باکتری *E. coli* یا *S. aureus* غلظت های ذکر شده افزوده شده و پلیت های نهایی به مدت ۲۴ ساعت به انکوباتور با دمای 37°C منتقل گردید. هم چنین از روش فوق جهت بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره گیاه باریجه استفاده شد، با این تفاوت که از غلظت های (۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکرولیتر) برای عصاره گیاهی استفاده شد (Wiegand et al., 2008).

بررسی حداقل غلظت کشندگی^۸ (MBC): برای این منظور از هر کدام از چاهک های MIC (پس از آزمایش و کسب نتایج) ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و بر روی محیط LB جامد گسترش داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون با دمای 37°C ، پلیت ها از لحاظ وجود کلنی مورد بررسی قرار گرفتند. آخرین رقتی که توانسته بود بیش از ۹۹/۹ درصد از باکتری ها را از بین ببرد به عنوان رقت MBC در نظر گرفته شد (Owuama, 2017).

نتایج و بحث

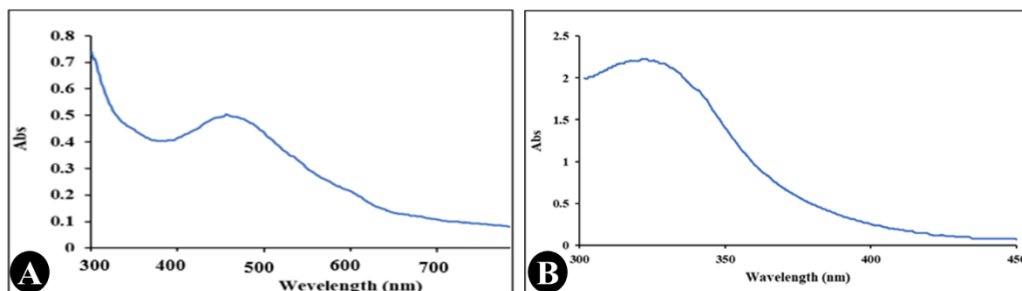
تأیید بیوسنتز نانوذرات نقره و آهن-نتایج طیف سنجی UV/Visible: شکل ۱ نتایج حاصل از اسپکتروفتومتری اشعه UV حاصل از نانوذرات نقره و اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه را نشان می دهد. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که، بیشترین میزان جذب اشعه UV نانوذرات نقره در محدوده ۴۰۰ الی ۴۵۰ نانومتر بود (شکل ۱-A). وجود یک پیک قوی در ناحیه ۳۰۰ الی ۳۵۰ نانومتر سنتز نانوذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) و پایدار بودن آنها را به خوبی تأیید می کند (شکل ۱-B). علاوه بر این پیک جذبی موجود در این محدوده تا حدودی تأیید کننده سنتز Fe_3O_4 را در ابعاد نانومتری نیز می باشد. این نتایج با نتایج تحقیقات پیشین هم راستا بود (Rahman et al., 2012).

نتایج طیف سنجی FT-IR: نتایج طیف سنجی FI-IR عصاره گیاه باریجه و نانوذرات نقره و اکسید آهن بیوسنتز شده از آن در شکل ۲ نشان داده شده است. طبق نتایج به دست آمده از طیف سنجی FI-IR عصاره گیاه باریجه (شکل ۲-A)، پیک موجود در طول 1257 cm^{-1} مربوط به O-H، 1388 cm^{-1} مربوط به C-H، 1618 cm^{-1} مربوط به C=N، 2357 cm^{-1} مربوط به C=O کششی و طیف های 2856 cm^{-1} و 3429 cm^{-1} به ترتیب مربوط به O-H خمشی و C-H خمشی بود. هم چنین طیف های

⁷ - Minimum Inhibitory Concentration

⁸ - Minimum bactericidal concentration

حاصل از نانوذرات نقره (شکل ۲-ب)، ۱۲۶۳، ۱۳۹۲، ۱۶۰۷، ۲۳۵۸، ۲۸۵۹، ۲۹۲۵ و 3390 cm^{-1} ثبت شد که به ترتیب مربوط به ارتعاشات گروه‌های O-H، C-H، C=N، C=O، کششی و O-H خمشی و C-H خمشی بودند. اما در نتایج حاصل از طیف سنجی FI-IR عصاره گیاه باریجه علاوه بر طیف‌های مربوط به نانوذرات نقره و اکسید آهن، طول موج 1514 cm^{-1} ثبت شد که مربوط به ارتعاش C=C بود که این طول موج در IR ثبت شده در نانوذرات مشاهده نشد که دلیل محکمی بر کاهش نیترات نقره، به نقره فلزی بود.



شکل ۱. طیف سنجی اسپکتروفتومتری اشعه UV؛ A) نانوذرات نقره و B) نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه

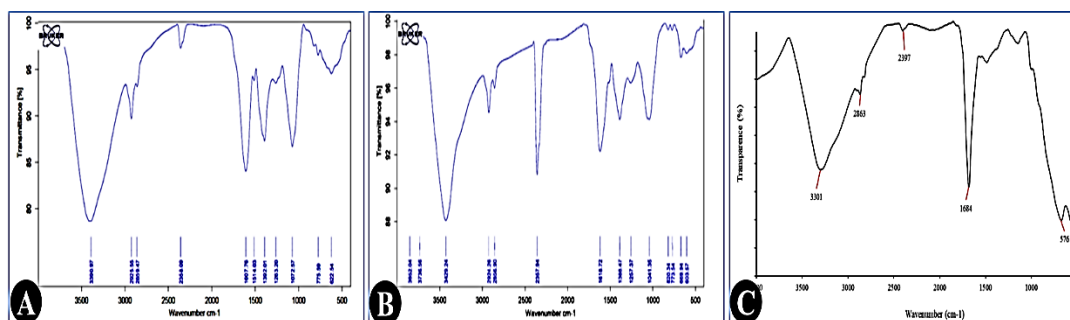
Figure 1. UV-vis spectrophotometry of A) silver nanoparticles and B) iron oxide nanoparticles biosynthesized from *F. gummosa* extract

حذف این پیک در نانوذرات، تأییدی بر تشکیل نانوذرات نقره بود. در طیف حاصل از نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه (شکل ۲-ب) پیک‌های موجود در 3390 cm^{-1} و 1684 cm^{-1} مرتبط با ارتعاش کششی گروه‌های هیدروکسیل O-H موجود در ترکیبات فنولی عصاره متانولی گیاه باریجه بود، که احاطه کننده نانوذرات اکسید آهن و همچنین آب موجود در سطح نانوذرات اکسید آهن می‌باشند. پیک‌های مشاهده شده در طیف‌های ۵۰۰ الی 600 cm^{-1} مرتبط با ارتعاش کششی Fe-O بود. همچنین پیک موجود در 2800 cm^{-1} مرتبط با ارتعاش کششی C-H بود (شکل ۲-ب).

نتایج بررسی پراش اشعه X (XRD): نتایج حاصل از بررسی ساختاری (XRD) نانوذرات نقره و نانوذرات اکسید

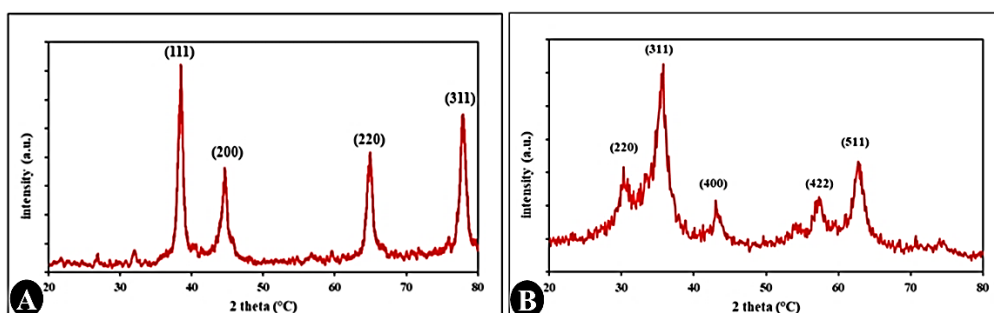
آهن در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج حاصل از XRD نانوذرات نقره (شکل ۳-ا)، بیانگر کشش سطحی در صفحات کریستالی (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) مشاهده شد که با پهنای نقطه اوج، ضخامت و کشش سطحی با استاندارد نانوذرات نقره سنتز شده در مطالعات قبلی مطابقت داشت (Jalali et al., 2011). همچنین نتایج حاصل از XRD نانوذرات اکسید آهن (شکل ۳-ب)، پیک‌های مشاهده شده (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۴۰۰)، (۴۴۰) و (۵۱۱) که به ترتیب مربوط به زاویه‌های $2\theta = 36^\circ$ ، $2\theta = 45^\circ$ ، $2\theta = 55^\circ$ و $2\theta = 63^\circ$ بودند، در نانوذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره گیاه باریجه مشاهده شدند، که مقایسه این طیف‌ها

با طیف استاندارد با کد JCPDS^۹ شماره ۱۹-۰۶۲۹ نشان از صحت سنتز این نانوذرات داشت. پهن شدگی پیک‌های XRD نشان دهنده اندازه کوچک نانوذرات اکسید آهن بود.



شکل ۲. طیف سنجی FTIR: A) عصاره گیاه باریجه، B) نانوذرات نقره و C) نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه

Figure 2. FTIR spectroscopy; A) *F. Gummosa* extract, B) silver nanoparticles and C) iron oxide nanoparticles biosynthesized from *F. gummosa* extract



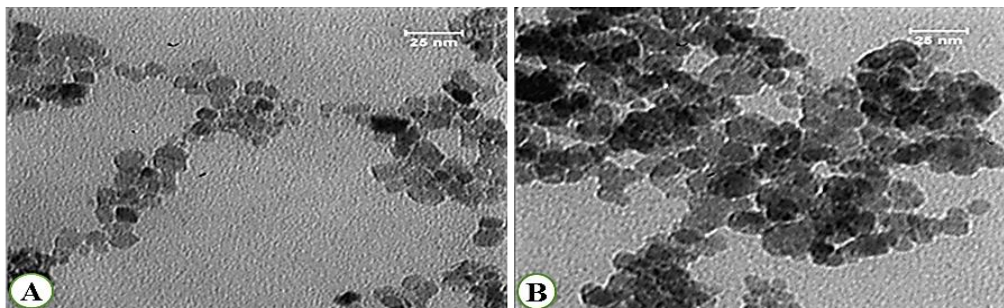
شکل ۳. طیف سنجی XRD: A) نانوذرات نقره و B) نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه

Figure 3. XRD spectroscopy; A) silver nanoparticles and B) iron oxide nanoparticles biosynthesized from *F. gummosa* extract

نتایج بررسی مورفولوژی-میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM): شکل ۴ نتایج حاصل از بررسی مورفولوژی

نانوذرات نقره و نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده از گیاه باریجه را توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان می‌دهد. طبق نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که نانوذرات نقره از ساختار چندوجهی برخوردار هستند (شکل ۴-۱). در تحقیق مشابه (Murgueitio et al., 2018) پس از سنتز نانوذرات اکسید آهن از عصاره هیدروالکلی *Vaccinium floribundum*

طیف سنجی FTIR، XRD و UV-Vis جهت تأیید نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده استفاده نمودند. این گروه با بررسی مورفولوژی نانوذرات حاصل توسط تصویربرداری توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) بیان کردند که نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده دارای ساختاری کروی، غیرمجموع و یکسانی هستند. که با نتایج به دست آمده در این پژوهش (شکل ۴-ب) همخوانی دارد.



شکل ۴. تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM): (A) نانوذرات نقره و (B) نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه

Figure 4. Transmission electron microscope (TEM): A) silver nanoparticles and B) iron oxide nanoparticles biosynthesized from *F. gummosa* extract

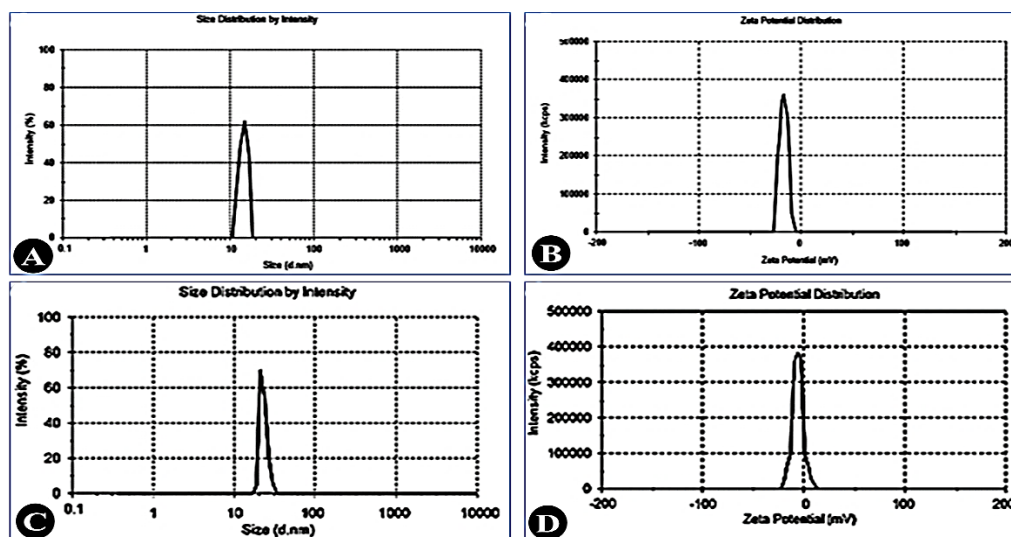
نتایج حاصل از DLS: نتایج حاصل از بررسی اندازه و بار سطحی نانوذرات توسط دستگاه DLS نشان داد که نانوذرات

نقره بیوسنتز شده از عصاره متانولی گیاه باریجه دارای اندازه‌ای برابر با 16 ± 1.7 نانومتر و بار سطحی 23 ± 1.35 میلی‌ولت داشتند (جدول ۱ و شکل ۵-ا و ج). همچنین مشخص شد که نانوذرات اکسید آهن دارای ساختار کروی بوده و اندازه‌ای برابر با 30 ± 2.1 نانومتر دارند (جدول ۱ و شکل ۵-ب)، همچنین نتایج DLS نشان داد نانوذرات اکسید آهن دارای بار سطحی 18.3 ± 1.22 میلی‌ولت می‌باشند (جدول ۱ و شکل ۵-د). همچنین میزان PDI نانوذرات نقره و اکسید آهن به ترتیب برابر با 0.15 ± 0.09 و 0.23 ± 0.02 بود (جدول ۱). در پژوهشی Abedini et al. (2011) از عصاره گیاه سیب جهت سنتز نانوذرات نقره استفاده نمودند. ایشان از طیف سنجی FTIR، XRD و UV-Vis جهت بررسی و تأیید بیوسنتز نانوذرات نقره استفاده نمودند. همچنین جهت بررسی ساختار مورفولوژیکی و اندازه نانوذرات حاصل به ترتیب از میکروسکوپ الکترونی نگاره و همچنین دستگاه DLS استفاده کردند. پس از انجام فرایند سنتز رنگ عصاره از سبز کمرنگ به قهوه‌ای تیره تبدیل شد که به عنوان اولین نشانه‌های سنتز در نظر گرفته شد. همچنین نتایج حاصل از طیف سنجی FTIR، XRD و UV-Vis بیانگر تأیید سنتز نانوذرات حاصل بود. این گروه در گزارشات خود در زمینه تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی نگاره (TEM) از نانوذرات نقره بیان کردند که این نانوذرات از ساختار کروی برخوردار هستند. نتایج حاصل از دستگاه DLS نانوذرات نقره در این گروه نشان داد که نانوذرات بیوسنتز شده در دو محدوده اندازه متفاوت وجود داشتند که بیشترین میزان نانوذرات دارای اندازه‌ای در بین ۸ الی ۱۲ نانومتر بودند.

جدول ۱. اندازه، بار سطحی و میزان PDI نانوذرات نقره و اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره متانولی گیاه باریجه

Table ۱. Size, surface charge, and PDI content of silver and iron oxide nanoparticles biosynthesized from methanolic extract of *F. gummosa*

Samples	Average size (nm)	Standard deviation	Zeta (mV)	Standard deviation	PDI	Standard deviation
Silver nanoparticles	16	±1.7	-23	±1.35	0.15	±0.009
Iron nanoparticles	30	±2.1	-18.3	±1.22	0.23	±0.02



شکل ۵. نتایج حاصل از دستگاه DLS (A و B) اندازه نانوذرات نقره و اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه (به ترتیب؛ C و D) بار سطحی نانوذرات نقره و اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه (به ترتیب)

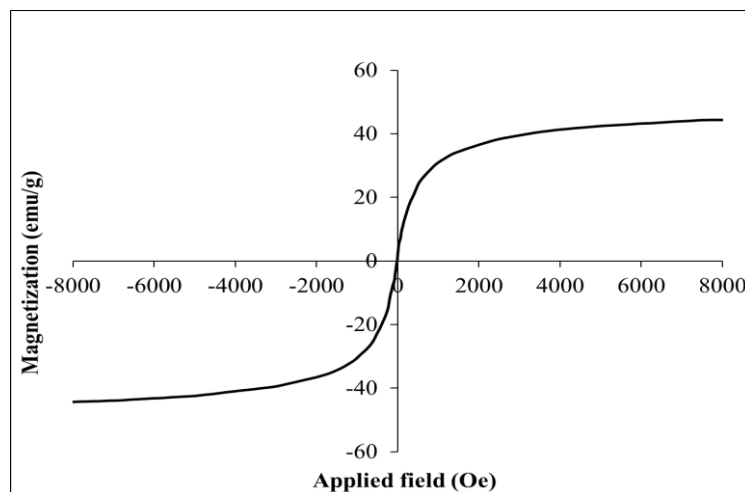
Figure 5. Results from DLS A, B) Size of silver and iron oxide nanoparticles biosynthesized from *F. gummosa* extract (respectively); C, D) Surface charge of silver and iron oxide nanoparticles biosynthesized from *F. gummosa* extract (respectively)

همچنین میزان قابل توجهی از نانوذرات در محدوده اندازه ۳۰ الی ۶۰ نانومتر مشاهده شدند. همچنین گزارش دادند که در

آزمون MIC و MBC نانوذرات نقره (۱۲۵، ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) بر روی باکتری‌های *S.arueus* *E.coli*

و *P. aeruginosa* مشخص شد که نانوذرات نقره در تمامی غلظت ها سمیت بالایی بر روی باکتری های مذکور داشتند، اما با افزایش غلظت میزان رشد باکتری ها به طور معنی داری کاهش می یابد. هم چنین گزارش دادند که از میان ۳ سویه *E. coli*، *S. aureus* و *P. aeruginosa* باکتری های *E. coli* کمترین مقاومت را به نانوذرات نقره داشته و رشد آن محدودتر شد نسبت به سایر سویه ها از طرفی دیگر باکتری *P. aeruginosa* بالاترین میزان مقاومت در برابر غلظت های برابر نانوذرات نقره را در بین سویه های ذکر شده داشتند. که با نتایج به دست آمده در این پژوهش همراستا می باشد، در این پژوهش و بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون انتشار دیسک (شکل ۷ و ۸)، آزمون کشت آمیخته در پلیت (شکل ۹ و ۱۰) و آزمون MIC و MBC (جدول ۳) مشخص شد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه از ۰/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر به ۱ و ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر موجب کاهش زنده مانی و رشد باکتری های *E. coli* و *S. aureus* شد، از سویی دیگر باکتری *E. coli* در مقایسه با باکتری *S. aureus* حساسیت بالاتری نسبت به عصاره گیاه باریجه و نانوذرات نقره بیوسنتز شده از آن را داشتند.

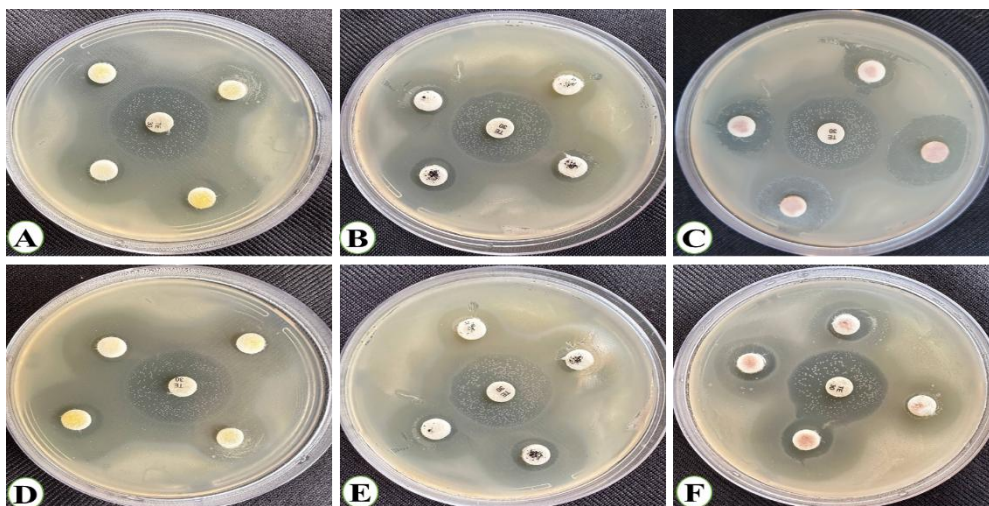
نتایج بررسی خواص مغناطیسی: شکل ۶، خواص مغناطیسی نانوذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) وابسته به میدان مغناطیسی، در دمای اتاق با استفاده از مگنتومتر نمونه ارتعاشی (VSM) در میدان ۱۵ K Oe را نشان می دهد. مقدار کورسیویتی (Oe) ریمنس (emu/g) نانوذرات مگنتیت در دمای ۳۰۰ درجه کلوین در حدود ۴۳ emu/g می باشد که رفتار سوپرپارامغناطیسی از خود نشان می دهد که می تواند به دلیل اندازه بسیار کوچک نانوذرات (کمتر از ۳۵ نانومتر) و هم چنین دارا بودن دومین مغناطیسی منفرد بالا باشد (Mahdavi et al., 2013). همان طوری که در شکل ۶ مشاهده می شود، خاصیت اشباع مغناطیسی نانوذرات اکسید آهن برابر با ۴۳ emu/g می باشد که بیانگر خواص سوپرپارامغناطیسی این نانوذرات است.



شکل ۶. منحنی هیسترسیس نانوذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه

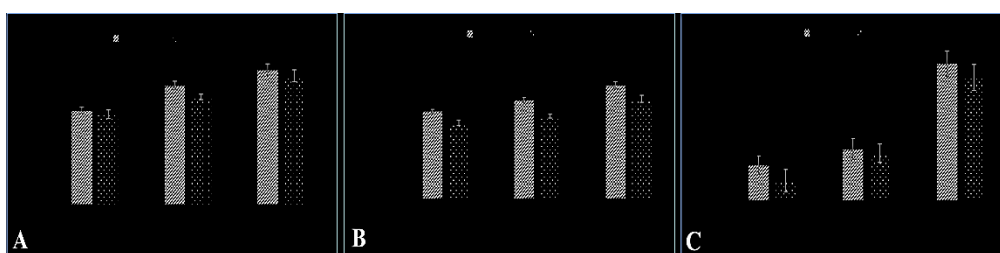
Figure 6. Hysteresis curve of iron oxide nanoparticles (Fe_3O_4) biosynthesized from *F. gummosa* plant extract

خواص ضد میکروبی نانوذرات-آزمون انتشار دیسک: نتایج حاصل از بررسی قطر هاله عدم رشد توسط نرم افزار Image J از خواص ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی گیاه باریجه و نانوذرات نقره و نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده از آن بر باکتری های *E. coli* یا *S. aureus*، توسط آزمون انتشار دیسک در شکل ۷ نشان داده شده است. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که عصاره گیاه باریجه خاصیت ضدباکتریایی مطلوبی بر باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* داشت. با این حال نتایج حاصل از بررسی قطر هاله عدم رشد باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* تیمار شده با غلظت های مختلف نانوذرات نقره نشان داد، این ترکیبات به طور معنی داری سبب افزایش اندازه هاله عدم رشد باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* در مقایسه با تیمار با عصاره گیاه باریجه شده اند (شکل ۷ و شکل ۸-A و B). از طرفی دیگر طبق نتایج به دست آمده (شکل ۸-A و B) مشخص شد که با افزایش غلظت هر کدام از این ترکیبات بر قطر و مساحت هاله عدم رشد در باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* افزوده شد، به نحوی که بیشترین قطر هاله عدم رشد در باکتری *E. coli*، (۱۰/۳ میلی متر) در تیمار ۱ میلی گرم از عصاره گیاه باریجه مشاهده شد، این میزان برای نانوذرات نقره برابر با (۱۸/۵ میلی متر) بود. همچنین بیشترین قطر و مساحت هاله عدم رشد در باکتری *S. aureus* (۱۶/۳ میلی متر) نیز در غلظت ۱ میلی گرم از نانوذرات نقره حاصل از گیاه باریجه مشاهده شد. این نتایج نشان دادند به طور کلی نانوذرات نقره حاصل از گیاه باریجه در مقایسه با عصاره این گیاه از خواص ضدباکتریایی بالاتری برخوردار هستند. علاوه بر این نتایج حاصل نشان داد که نانوذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره گیاه باریجه تا غلظت مورد استفاده ۱ میلی گرم از خواص ضد میکروبی قابل توجهی بر باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* برخوردار نبودند (شکل ۸-C)، به همین دلیل سایر آزمون های ضد میکروبی بر روی آن ها اعمال نگردید. از اسانس گیاهان عموماً به عنوان عوامل طعم دهنده در محصولات غذایی، نوشیدنی ها، عطرها، داروها و لوازم آرایشی استفاده می شود (Hussain et al., 2008). عوامل متعددی از قبیل تنوع ژنتیکی، اکوتیپ و تنوع گیاهان، تغذیه گیاهی، کود استفاده شده، موقعیت جغرافیایی گیاهان، محیط اطراف گیاه، تغییرات فصلی، تنش در طول رشد یا بلوغ و همچنین خشک کردن و ذخیره سازی بعد از برداشت محصول، بر شیمی اسانس ها و عصاره های گیاهی تأثیر می گذارد. علاوه بر این، نوع مواد گیاهی مورد استفاده و روش استخراج، عملکرد و ترکیب (اجزاء) اسانس و عصاره های گیاهی را تعیین می کند و در نتیجه خواص بیولوژیکی آن را تعیین می کند (Routh et al., 2011). تحقیقات متعددی توانایی اسانس ها و عصاره برخی از گیاهان در کاهش سطح آلودگی ناشی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی را تأیید کرده اند. نتایج این تحقیقات نشان داده است که اغلب فعالیت های ضد میکروبی این ترکیبات خاص با یک یا دو جزء اصلی آن می باشد. اما گاهی اوقات فعالیت های ضدباکتریایی این ترکیبات را نمی توان به هیچ یک از اجزای اصلی نسبت داد (Bakkali et al., 2008). کارایی ترکیبات مختلف گیاهی بر کاهش عفونت های ناشی از باکتری های مختلف بر اساس مهار رشد ارگاناسم های هدف تعیین می گردد. به طور کلی، جهت مقایسه تأثیر ترکیبات گیاهی بر فعالیت های زیستی، حداقل غلظت مهار رشد (MIC)، حداقل غلظت کشنده (MBC یا MFC) و مقادیر متعددی دیگر از قبیل LD₅₀ مورد استفاده قرار می گیرد که با استفاده از روش های استاندارد می توان این مقادیر را بدست آورد (Carson & Hammer, 2011).



شکل ۷. تصویر آزمون انتشار دیسک، A، B و C) باکتری *E. coli* تحت تیمار با غلظت‌های مختلفی از عصاره گیاه باریجه و نانوذرات نقره و اکسید آهن بیوسنتز شده از آن (به ترتیب) و D، E و F) باکتری *S. aureus* تحت تیمار با غلظت‌های مختلفی از عصاره گیاه باریجه و نانوذرات نقره و اکسید آهن بیوسنتز شده از آن (به ترتیب)

Figure 7. Image of disk diffusion test, A, B and C) *E. coli* bacteria treated with different concentrations of *F. gummosa* plant extract and silver nanoparticles and iron oxide biosynthesized from it (respectively) and D, E and F) *S. aureus* bacteria treated with different concentrations of *F. gummosa* plant extract and silver nanoparticles and iron oxide biosynthesized from it (respectively).

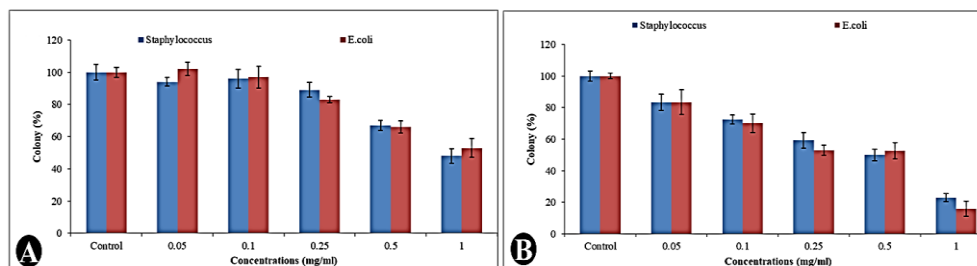


شکل ۸. مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های *E. coli* یا *S. aureus* پس از تیمار با غلظت‌های متفاوتی از (A) عصاره گیاه باریجه، (B) نانوذرات نقره و (C) نانوذرات اکسید آهن بیوسنتز شده از عصاره گیاه باریجه

Figure 8. Comparison of the average diameter of the growth inhibition zone of *E. coli* or *S. aureus* bacteria after treatment with different concentrations of A) *F. gummosa* extract, B) silver nanoparticles, and C) iron oxide nanoparticles biosynthesized from *F. gummosa* extract

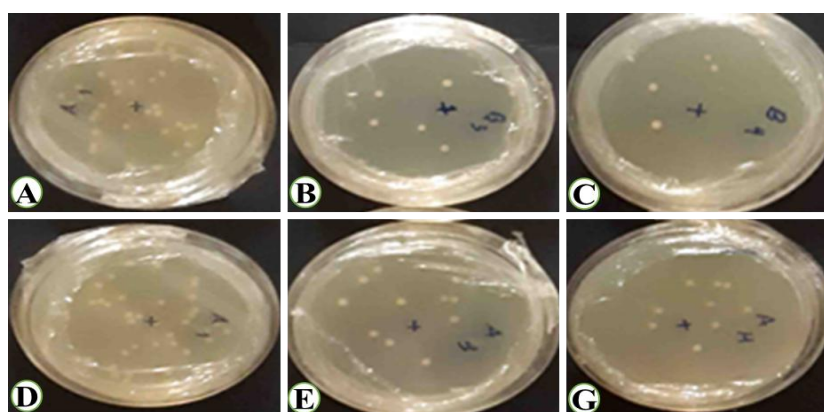
پیدایش سویه های مقاوم میکروبی در برابر داروها ضد میکروبی، افزایش جمعیت مقاوم به سیستم ایمنی و محدودیت های آنتی بیوتیک ها سبب شده است تا محققان به فکر استفاده از درمان های مکمل و جایگزین، از جمله استفاده از ترکیبات گیاهی حاوی خواص ضد میکروبی، به منظور مقابله با عفونت های میکروبی باشند (Perumal & Gopalakrishnakone, 2010). بسیاری از ترکیبات گیاهی در مقابل بسیاری از باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک موثر هستند. جالب توجه است که برخی ترکیبات با منشاء گیاهی دارای قابلیت بالقوه در برابر تشکیل بیوفیلم ها در برابر طیف گسترده ای از باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک می باشند. تحقیقات گذشته نشان داده اند که برخی ترکیبات گیاهی که حاوی خواص ضد میکروبی می باشند سبب تاثیر بر غشاء میکروارگانیسم ها می شوند و با از بین بردن غشاء و یا خاصیت نفوذ پذیری انتخابی آن سبب مرگ میکروارگانیسم ها و در نتیجه کاهش آلودگی های ناشی از آن می گردند. به عنوان مثال اسانس های گیاهی به طور کلی جزء ترکیبات لیپوفیل هستند و باتوجه به ماهیت لیپوفیل غشاء باکتری ها می توانند به راحتی به آن ها نفوذ کنند. همچنین واکنش ترکیبات لیپوفیل و سایر ترکیبات موجود در عصاره گیاه از قبیل اسیدهای چرب، پلی ساکارید ها، و فسفولیپید ها، نفوذپذیری باکتری را افزایش می دهد، و نهایتا سبب ایجاد عدم تعادل در ثبات یونی باکتری و محتوای سلول شده که در اثر آن میکروارگانیسم از بین خواهند رفت (Edris, 2007). نانوذرات فلزی متعددی از قبیل نانوذرات آهن، مس، نقره و حتی طلا با استفاده از روش سنتز سبز و از گیاهان مختلف سنتز شده است. نانوذرات آهن و نقره به دلیل استفاده فراوان در کاربردهای صنعتی، پزشکی و کشاورزی از اهمیت ویژه ای در مقایسه با سایر نانوذرات فلزی برخوردار هستند. به عنوان مثال گزارش شده است که محلول پاشی نانوذرات آهن به عنوان نانوکود بر گیاهان، به طور معنی داری سبب افزایش عملکرد گیاه در مقایسه با زمانی که از آهن به عنوان محلول پاشی استفاده شود، می گردد (Herlekar et al., 2014).

آزمون کشت آمیخته در پلیت: درصد سمیت عصاره هیدروالکلی گیاه باریجه و نانوذرات نقره بیوستتر شده از آن بر روی باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* به روش آزمون کشت آمیخته در پلیت مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که عصاره گیاه باریجه موجب کاهش تعداد کلونی در باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* می شود (شکل ۹-A و ۱۰-B و E). همچنین طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که عصاره گیاه باریجه زنده ماننی باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* به ترتیب تا بیش از ۴۸ و ۵۲ درصد کاهش داد (شکل ۹-A). از طرفی دیگر مشخص شد که نانوذرات نقره بیوستتر شده از عصاره گیاه باریجه از توانایی بالایی در کنترل رشد باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* برخوردارند (شکل ۱۰-C و F) به طوریکه این گروه از نانوذرات می توانند رشد کلنی های باکتری های *E. coli* یا *S. aureus* را به ترتیب ۷۳ و ۸۲ درصد کاهش دهند (شکل ۹-B).



شکل ۹. مقایسه میانگین درصد کلونی در باکتری‌های *E. coli* یا *S. aureus*؛ A) غلظت‌های متفاوتی از عصاره گیاه باریجه و B) نانوذرات نقره بیوسنتز شده از آن

Figure 9. Comparison of average colony percentage in *E. coli* or *S. aureus* bacteria; A) different concentrations of *F. gummosa* extract and B) silver nanoparticles biosynthesized from it



شکل ۱۰. کلونی در باکتری‌های *E. coli* یا *S. aureus*؛ A و D) نمونه شاهد باکتری‌های *E. coli* یا *S. aureus*، B، C) *E. coli* باکتری تحت تیمار با عصاره گیاه باریجه و نانوذرات نقره (به ترتیب) و D و E) *S. aureus* باکتری تحت تیمار با عصاره گیاه باریجه و نانوذرات نقره (به ترتیب)

Figure 10. Colony in *E. coli* or *S. aureus* bacteria; A and D) control sample of *E. coli* or *S. aureus* bacteria, B, C) *E. coli* bacteria treated with *F. gummosa* extract and silver nanoparticles (respectively), and D and E) *S. aureus* bacteria treated with *F. gummosa* extract and silver nanoparticles (respectively)

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): جدول ۲ نتایج بررسی میزان MIC و MBC تأثیر عصاره گیاهی باریجه و نانوذرات نقره بیوسنتز شده از آن بر باکتری‌های *E. coli* یا *S. aureus* را نشان می‌دهد. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که غلظت MIC و MBC برای نانوذرات نقره جهت مقابله با باکتری‌های *E. coli* یا *S. aureus* کمتر از عصاره گیاه باریجه می‌باشد. به عنوان مثال میزان MIC برای نانوذرات نقره برای باکتری *E. coli* برابر با ۲/۵

میلی گرم بر میلی لیتر بود این در حالی بود که این میزان برای عصاره آبی گیاه باریجه برابر با ۵ میلی لیتر بر میلی لیتر بود. در پژوهشی Ramya et al. (2015) با بررسی خاص ضدسرطانی نانوذرات نقره بیوسنتز از عصاره گیاه دارویی *Clerodendron serratum*، گزارش دادند که این گیاه دارویی سرشار از گلیکوزیدهای پلی فنولی نیر کوئرتستین هستند که در فرایند بیوسنتز نانوذرات نقره موثر هستند. هم چنین گزارش دادند که نانوذرات نقره از خواص ضد میکروبی مناسبی بر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت برخوردار هستند.

جدول ۲. میزان غلظت MIC و MBC عصاره گیاهی باریجه و نانوذرات نقره بیوسنتز شده از آن جهت مقابله

با باکتری های *E.coli* یا *S. aureus*

Table 2. MIC and MBC concentrations of *F. gummosa* extract and biosynthesized silver nanoparticles from it to combat *E.coli* or *S. aureus* bacteria

Bacterial strain	<i>F. gummosa</i> extract		Silver NPs	
	MIC (ml/ml)	MBC (ml/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
<i>E.coli</i>	5	10	2/5	5
<i>S. aureus</i>	5	10	5	5

نتیجه گیری: باتوجه به نتایج بررسی این تحقیق مشخص گردید گیاه باریجه از توانایی بالایی جهت استفاده در تهیه نانوذرات فلزی از قبیل نانوذرات آهن و نقره برخوردار هستند. این نتایج نشان داد نانوذرات آهن حاصل از عصاره گیاه باریجه از خواص مغناطیسی و همچنین اندازه و ساختار مرفولوژیکی مناسبی برخوردار هستند. نانوذرات نقره با موفقیت از عصاره متانولی گیاه باریجه سنتز شد و خواص ضد میکروبی آن به اثبات رسید. به نظر میرسد گیاه باریجه به دلیل وجود ترکیبات متنوع از قبیل ترین ها، فنول ها، پلی ساکاریدها و غیره به عنوان آغازگرو کاتالیزور مناسب جهت سنتز نانوذرات فلزی عمل می کنند. نانوذرات فلزی حاصل از گیاه باریجه می تواند در صنایع متعدد مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این انتظار می رود این نانوذرات نقش مهمی در کنترل بیماری های عفونی مقاوم به آنتی بیوتیک در آینده داشته باشند.

سپاسگزاری: بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات سلول های بنیادی دانشگاه آزاد اسلامی واحد

اردبیل که ما را در اجرای هرچه بهتر تحقیق یاری کردند صمیمانه سپاسگزاری می نمایم.

References

- Abedini, S., Sankian, M., Falak, R., Tehrani, M., Talebi, F., Shirazi, F. G., & Varasteh, A. R. (2011). An approach for detection and quantification of fruits' natural profilin: natural melon profilin as a model. *Food and Agricultural Immunology*, 22(1), 47-55. <https://doi.org/10.1080/09540105.2010.524918>

- Ali, Z. A., Yahya, R., Sekaran, S. D., & Puteh, R. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using apple extract and its antibacterial properties. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2016(1), 4102196. <https://doi.org/10.1155/2016/4102196>
- Azizi, S., Ahmad, M. B., Ibrahim, N. A., Hussein, M. Z., & Namvar, F. (2014). Cellulose nanocrystals/ZnO as a bifunctional reinforcing nanocomposite for poly (vinyl alcohol)/chitosan blend films: fabrication, characterization and properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(6), 11040-11053. <https://doi.org/10.3390/ijms150611040>
- Babanejad, N., Farhadian, A., Omrani, I., & Nabid, M. R. (2017). Design, characterization and in vitro evaluation of novel amphiphilic block sunflower oil-based polyol nanocarrier as a potential delivery system: raloxifene-hydrochloride as a model. *Materials Science and Engineering: C*, 78, 59-68. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.235>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Bourang, S., Noruzpour, M., Jahanbakhsh Godekahriz, S., Ebrahimi, H. A. C., Amani, A., Asghari Zakaria, R., & Yaghoubi, H. (2024b). Application of nanoparticles in breast cancer treatment: a systematic review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 397(9), 6459-6505. <https://doi.org/10.1007/s00210-024-03082-y>
- Bourang, Sh., Jahanbakhsh-Godekahriz, S., Asghari-Zakaria, R., Parsa-Khankandi, H., & Noruzpour, M. (2024a). Green synthesis of iron oxide, copper, zinc oxide and silver nanoparticles from aqueous extract of *F. vulgare* and evaluation of their structural and antimicrobial properties. *Agricultural Biotechnology Journal*, 16(3), 61-88. <https://doi.org/10.22103/jab.2024.23102.1557>
- Carson, C. F., & Hammer, K. A. (2011). Chemistry and bioactivity of essential oils. *Lipids and essential oils as antimicrobial agents*, pp. 203-238. <https://doi.org/10.1002/9780470976623.ch9>
- Chokheli, V.A., P.A. Dmitriev, V.D. Rajput, S.D. Bakulin, A.S. Azarov, T.V. Varduni, V.V. Stepanenko, S. Tarigholizadeh, R.K. Singh & Verma, K.K. (2020). Recent development in micropropagation techniques for rare plant species. *Plants*, 9(12), 17-33. <https://doi.org/10.3390/plants9121733>
- Cushnie, T. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), 377-386. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>

- Durán, N., Marcato, P. D., Alves, O. L., De Souza, G. I., & Esposito, E. (2005). Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of Nanobiotechnology*, 3, 1-7. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-3-8>
- Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(4), 308-323. <https://doi.org/10.1002/ptr.2072>
- Ghorbani, A., Mohebbati, R., Jafarian, A. H., Vahedi, M. M., Hosseini, S. M., Soukhtanloo, M., & Sadeghnia, H. R. (2016). Toxicity evaluation of hydroalcoholic extract of *Ferula gummosa* root. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 77, 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.02.008>
- Gul, H. I., Ojanen, T., & Hänninen, O. (2002). Antifungal evaluation of bis Mannich bases derived from acetophenones and their corresponding piperidinols and stability studies. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(10), 1307-1310. <https://doi.org/10.1248/bpb.25.1307>
- He, Q., Liu, J., Sun, X., & Zhang, Z. R. (2004). Preparation and characteristics of DNA-nanoparticles targeting to hepatocarcinoma cells. *World Journal of Gastroenterology*, 10(5), 660. <https://doi.org/10.3748/wjg.v10.i5.660>
- Heidarpour, A., Fourouzandeh-Shahraki, A. D., & Eghbalsaied, S. (2011). Effects of *Spirulina platensis* on performance, digestibility and serum biochemical parameters of Holstein calves. *African Journal of Agricultural Research*, 6(22), 5061-5065. <https://doi.org/10.5897/AJAR11.1076>
- Herlekar, M., Barve, S., & Kumar, R. (2014). Plant-mediated green synthesis of iron nanoparticles. *Journal of Nanoparticles*, 2014(1), 140614. <https://doi.org/10.1155/2014/140614>
- Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3), 986-995. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>
- Jalali, H. T., Ebrahimian, Z. J., Evtuguin, D. V., & Neto, C. P. (2011). Chemical composition of oleo-gum-resin from *Ferula gummosa*. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 549-553. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.032>
- Mahboubi, M. (2016). *Ferula gummosa*, a traditional medicine with novel applications. *Journal of Dietary Supplements*, 13(6), 700-718. <https://doi.org/10.3109/19390211.2016.1157715>
- Mahdavi, M., Namvar, F., Ahmad, M. B., & Mohamad, R. (2013). Green biosynthesis and characterization of magnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles using seaweed (*Sargassum*

- muticum*) aqueous extract. *Molecules*, 18(5), 5954-5964. <https://doi.org/10.3390/molecules18055954>
- Mehrsorosh, H., Gavanji, S., Larki, B., Mohammadi, M. D., Karbasian, A., Bakhtari, A., & Mojiri, A. (2014). Essential oil composition and antimicrobial screening of some Iranian herbal plants on *Pectobacterium carotovorum*. *Global Nest Journal*, 16(2), 240-250. <https://www.researchgate.net/publication/263155216>
- Mohammadabadi, M. R., & Mozafari, M. R. (2018). Enhanced efficacy and bioavailability of thymoquinone using nanoliposomal dosage form. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 47, 445-453. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.08.019>
- Mohammadabadi, M. R., & Mozafari, M. R. (2019). Development of nanoliposome-encapsulated thymoquinone: Evaluation of loading efficiency and particle characterization. *Journal of Biopharm*, 11(4), 39-46. <https://www.researchgate.net/publication/336881270>
- Mohammadabadi, M. R., El-Tamimy, M., Gianello, R., & Mozafari, M. R. (2009). Supramolecular assemblies of zwitterionic nanoliposome-polynucleotide complexes as gene transfer vectors: Nanolipoplex formulation and in vitro characterisation. *Journal of Liposome Research*, 19(2), 105-115. <https://doi.org/10.1080/08982100802547326>
- Mortazavi, F., Ericson, M., Story, D., Hulce, V. D., & Dunbar, G. L. (2005). Spatial learning deficits and emotional impairments in pentylentetrazole-kindled rats. *Epilepsy & Behavior*, 7(4), 629-638. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2005.08.019>
- Murgueitio, E., Cumbal, L., Abril, M., Izquierdo, A., Debut, A., & Tinoco, O. (2018). Green synthesis of iron nanoparticles: Application on the removal of petroleum oil from contaminated water and soils. *Journal of Nanotechnology*, 2018(1), 4184769. <https://doi.org/10.1155/2018/4184769>
- Noruzpour, M., Asghari Zakaria, R., Zare, N., Ebrahimi, H. A., Parsa, H., & Bourang, S. (2024b). Investigating the Anticancer Properties of the Essential Oil and Aqueous Extract of *Moringa oleifera* and its Biosynthesized Metal Nanoparticles on MCF-7 and BT-549 Cell Lines. *Iranian Journal of Breast Diseases*, 17(1), 59-83. <http://ijbd.ir/article-1-1076-en.html>
- Noruzpuor, M., Asghari Zakaria, R., Zare, N., Ebrahimi, H. A., Parsa, H., & Bourang, S. (2024a). Green synthesis of metal nanoparticles using aqueous extract of *Moringa oleifera* L. and investigating their antioxidant and antibacterial properties. *Applied Chemistry Today*, 19(71), 283-302. <https://doi.org/10.22075/chem.2024.32548.2231>
- Owuama, C. I. (2017). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. *African Journal of*

Microbiology Research, 11(23), 977-980.

<https://www.researchgate.net/publication/317950371>

- Perumal Samy, R., & Gopalakrishnakone, P. (2010). Therapeutic potential of plants as anti-microbials for drug discovery. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 7(3), 283-294. <https://doi.org/10.1093/ecam/nen036>
- Rahman, O., Mohapatra, S. C., & Ahmad, S. (2012). Fe₃O₄ inverse spinal super paramagnetic nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, 132(1), 196-202. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2011.11.032>
- Ramya, K., Mohan, R., Anupama, K. K., & Joseph, A. (2015). Electrochemical and theoretical studies on the synergistic interaction and corrosion inhibition of alkyl benzimidazoles and thiosemicarbazide pair on mild steel in hydrochloric acid. *Materials Chemistry and Physics*, 149, 632-647. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2014.11.020>
- Routh, M. M., Raut, J. S., & Karuppaiyl, S. M. (2012). Dual properties of anticancer agents: an exploratory study on the in vitro anti-Candida properties of thirty drugs. *Chemotherapy*, 57(5), 372-380. <https://doi.org/10.1159/000330454>
- Sadeghi, E., Almasi, A., Bashiri, M., & Mohammadi, M. (2016). Performance Evaluation of Alternative Disinfectants in Reducing Microbial Contamination of Vegetables Supplied from City of Kermanshah. *Journal of Environmental Health Engineering*, 3(2), 123-128. <http://jehe.abzums.ac.ir/article-1-225-en.html>
- Sohrabi-Gilani, N., Ghayournezhad, A., & Rostamzadeh Mansour, S. (2022). Determination of ultratrace levels of cobalt (II) and chromium (III) by magnetic dispersive solid-phase extraction (SPE) using urea-formaldehyde polymer/magnetite nanoparticles with flame atomic absorption spectrometry (FAAS). *Analytical Letters*, 55(16), 2650-2667. <https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2067863>
- Villanueva-Ibáñez, M., Yañez-Cruz, M. G., Álvarez-García, R., Hernández-Pérez, M. A., & Flores-González, M. A. (2015). Aqueous corn husk extract-mediated green synthesis of AgCl and Ag nanoparticles. *Materials Letters*, 152, 166-169. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2015.03.097>
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163-175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
- Zarrabi, A., Alipoor Amro Abadi, M., Khorasani, S., Mohammadabadi, M. R., Jamshidi, A., Torkaman, S., ... & Rasti, B. (2020). Nanoliposomes and tocosomes as multifunctional nanocarriers for the encapsulation of nutraceutical and dietary molecules. *Molecules*, 25(3), 638. <https://doi.org/10.3390/molecules25030638>