

ORIGINAL ARTICLE

Green synthesis of iron oxid nanoparticles using *Cressa cretica* leaf extract and investigating its antimicrobial efficacy

Azim Sarani¹, Leila Mehravaran² , Barat Ali Fakheri³, Maryam Allahdou⁴

1. M. Sc, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

3. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

4. Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

Correspondence:

Leila Mehravaran

Email: lmehravaran@uoz.ac.ir

Received: 19, May 2024

Accepted: 28, Feb. 2025

How to cite:

Sarani, A., Mehravaran, L., Fakheri, B. A., & Allahdou, M. (2025). Green synthesis of iron oxid nanoparticles using *Cressa cretica* leaf extract and investigating its antimicrobial efficacy. *Crop Biotechnology*, 14 (4), 69-83. (DOI: [10.30473/cb.2025.71377.1969](https://doi.org/10.30473/cb.2025.71377.1969))

ABSTRACT

In recent years, the use of plants for the synthesis of nanoparticles has gained significant attention due to its cost-effectiveness and environmental friendliness. For the green synthesis of iron oxide nanoparticles, the leaf extract of *Cressa cretica* L. was employed as a reducing agent. When iron sulfate was added to the leaf extract, iron oxide nanoparticles formed within minutes. The initial indication of nanoparticle synthesis was a color change in the solution from yellow to dark brown. The synthesized iron oxide nanoparticles were characterized using various analytical techniques, including UV-visible spectrophotometry, X-ray diffraction (XRD), Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), and transmission electron microscopy (TEM). The UV-visible spectrophotometry spectrum exhibited a peak at 280 nm, indicating the transfer of oxygen electrons to the synthesized iron oxide nanoparticles. The XRD analysis revealed the crystalline structure of the nanoparticles, with 2θ values of 35.64 and 43.42, confirming their successful formation. TEM images showed that the synthesized nanoparticles were uniform and spherical, with an average size of 21 nm. The FT-IR spectrum identified functional groups derived from plant phytochemicals, which likely contributed to the formation and stabilization of the nanoparticles. The analysis also confirmed the presence of flavonoids and phenolic compounds in the *Cressa cretica* L. leaf extract. These compounds are believed to facilitate the reduction of metal ions and play a role in nanoparticle formation. Additionally, they act as natural capping agents, stabilizing the nanoparticles and preventing their aggregation. The synthesized iron oxide nanoparticles exhibited significant antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, and *Escherichia coli*. At a concentration of 3000 $\mu\text{g/ml}$, inhibition zones of 7 mm and 14 mm were observed for *Escherichia coli* and *Streptococcus pyogenes*, respectively. These findings suggest that the synthesized nanoparticles have potential applications in the development of antibacterial drugs and other biological applications.

KEYWORDS

Antibacterial activity, Antioxidant compounds, Biosynthesis, *Cressa cretica*, Physical properties.



«مقاله پژوهشی»

سنتز سبز نانوذرات اکسید آهن از عصاره برگ گیاه علف مورچه (*Cressa cretica*) و بررسی خواص ضد میکروبی آن

عظیم سارانی^۱، لیلا مهرآوران^۲ , براتعلی فاخری^۳، مریم اله دو^۴

چکیده

استفاده از گیاهان برای سنتز نانوذره به دلیل هزینه کم و سازگاری آن با محیط زیست امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته است. به منظور سنتز سبز نانوذرات اکسید آهن، از عصاره گیاه علف مورچه (*Cressa cretica* L.) به عنوان عامل احیا کننده استفاده گردید. نانوذرات اکسید آهن در عرض چند دقیقه بعد از اضافه کردن سولفات آهن به عصاره گیاهی تشکیل شد. تغییر رنگ محلول از زرد به قهوه‌ای تیره اولین نشانه سنتز نانوذرات بود. نانوذرات اکسید آهن سنتز شده با تکنیک‌های مختلفی مانند اسپکتروفتومتر مرئی بنفش، XRD، FT-IR، TEM تجزیه و تحلیل شدند. در بررسی UV-اسپکتروفتومتر، پیک روی شاخص ۲۸۰ نانومتر مشاهده شد که نشان‌دهنده انتقال الکترون اکسیژن به آهن سنتز شده از علف مورچه می‌باشد. طیف XRD ساختار کریستالی نانوذرات اکسید آهن سنتز شده را به تصویر کشید. بر اساس این نتایج، $35/64 = 2\theta$ و $43/42$ سنتز نانوذرات اکسید آهن را تایید کردند. تصاویر TEM ذرات کروی شکل یکنواخت نانوذرات سنتز شده را با میانگین اندازه ۲۱ نانومتر نشان داد. طیف FT-IR وجود گروه‌های عاملی از مواد شیمیایی گیاهی را نشان می‌دهد که احتمالاً در تشکیل و تثبیت نانوذرات نقش دارند. این نتایج حضور ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی را در عصاره برگ علف مورچه تایید می‌کنند. این ترکیبات می‌توانند مسئول کاهش یون فلز و تشکیل نانوذرات باشند. نانوذرات اکسید آهن سنتزی، مهار موثری در برابر استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز و *شریشیا کلی* نشان دادند به طوری که در غلظت $\mu\text{g/ml}$ ۳۰۰۰، ناحیه مهاری ۷ میلی‌متر برای باکتری *شریشیا کلی* و ۱۴ میلی‌متر برای استرپتوکوکوس پیوژنز مشاهده شد. این نتایج، نشان‌دهنده امکان سنتز نانوذرات آهن از عصاره برگ علف مورچه و کاربرد احتمالاً موثر نانوذرات سنتزی در تولید داروهای ضد باکتری و فرایندهای مختلف بیولوژیکی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

ترکیبات آنتی اکسیدانی، خواص فیزیکی، سنتز زیستی، علف مورچه، فعالیت ضد باکتریایی.

۱. کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران.
۲. استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران.
۳. استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران.
۴. استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران.

نویسنده مسئول:

لیلا مهرآوران

رایانامه: lmehravarani@uoaz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۰

استناد به این مقاله:

سارانی، عظیم؛ مهرآوران، لیلا؛ فاخری، براتعلی و اله دو، مریم (۱۴۰۴). سنتز سبز نانوذرات اکسید آهن از عصاره برگ گیاه علف مورچه (*Cressa cretica*) و بررسی خواص ضد میکروبی آن، فصلنامه علمی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۱۴ (۴)، ۶۹-۸۳.

(DOI: [10.30473/cb.2025.71377.1969](https://doi.org/10.30473/cb.2025.71377.1969))

مقدمه

نانوذرات، ذراتی با ابعاد حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند به طوری که ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی آن‌ها متفاوت با منشأ اولیه‌شان می‌باشد (Mishra et al., 2005; Sellmyer, 2014). اندازه آن‌ها به عوامل مختلفی مانند دما، pH، نوع ماده احیا کننده و تثبیت کننده مورد استفاده بستگی دارد (Elgorban et al., 2016). روش‌های مختلفی برای سنتز نانوذرات وجود دارد با این حال روش سنتز سبز نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهی روشی جدید، بسیار ساده و اقتصادی، بدون آسیب به محیط زیست می‌باشد (Fazlzadeh et al., 2017). روش‌های شیمیایی سنتز نانوذرات، معمولاً آسان ولی به دلیل مصرف مواد شیمیایی سمی، احتمال آلودگی و تشکیل محصولات جانبی خطرناک را دارد (Sayadi et al., 2020; Hussein et al., 2017). شکل و اندازه نانوذرات سبز سنتز شده، با نانوذرات سنتز شده توسط سایر موجودات متفاوت است. سنتز سبز نانوذرات نسبت به سنتز نانوذرات با استفاده از باکتری‌ها، جلبک‌ها، مخمرها و قارچ‌ها، قابل اعتمادتر، ایمن‌تر، ارزان‌تر و تجدید پذیرتر است (Chandran et al., 2006). نانوذرات سبز با ثبات تر و سرعت سنتزشان بیشتر است (Iravani, 2011). گیاهان به دلیل دارا بودن ترکیبات ثانویه‌ای مانند ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و ... دارای خاصیت احیا کنندگی یا آنتی اکسیدانی هستند (Tavosi et al., 2018). این ترکیبات آنتی اکسیدانی، نقش اصلی را به عنوان عامل کاهش دهنده ایفا می‌کنند و بدین ترتیب به سنتز نانوذرات اکسید آهن سازگار با محیط زیست کمک می‌کنند (Kanagasubbulakshmi et al., 2017).

نانوذرات آهن صفر ظرفیتی خاصیت میکروب کشی قوی‌تری نسبت به نانوذرات سایر ترکیبات آهن از خود نشان می‌دهد (Boxall et al., 2007). نانوذرات آهن صفر ظرفیتی به دلیل مساحت سطحی بالا و واکنش پذیری زیاد در عرصه‌های مختلف مورد توجه بوده است (Barnes et al., 2010). برای کاهش عصاره‌های گیاهی می‌توان از پیش سازهای مناسب مانند سولفات آهن استفاده نمود (Senthil & Ramesh, 2012).

عصاره‌های گیاهی با خواص آنتی اکسیدانی می‌توانند نمک‌های فلزی را بازسازی کرده و نانوذرات تولید کنند. هنگامی که نمک‌های فلزی در معرض این ترکیبات قرار می‌گیرند، به یون‌های فلزی کاهش می‌یابند (Taheri et al., 2017).

علف مورچه با نام علمی *Cressa cretica* L. از خانواده *Convolvulaceae* گیاهی نمک دوست است (Jahangir & Nasernakhaei, 2021). این گیاه در شمال اروپا، آفریقا، آسیا (ترکیه، پاکستان، ایران و ...) پراکنده است. در ایران تقریباً در اکثر نقاط از جمله سیستان و بلوچستان رشد می‌کند (Ghassemi et al., 2012). قسمت‌های مختلف گیاه علف مورچه در درمان بیماری‌های مختلفی مانند آسم، یبوست، جذام، دیابت و ضعف عمومی کاربرد دارد. همچنین این گیاه به عنوان نیروبخش، اشتهاآور، خون‌ساز و ضد کرم استفاده می‌شود (Priyashree et al., 2010; Sunita et al., 2012). علف مورچه دارای ترکیبات شیمیایی بسیاری از جمله آلکالوئیدها، تانن‌ها، کربوهیدرات‌ها، گلیکوزیدها، استرول‌ها، پروتئین و مقدار زیادی نمک است (Fawzi et al., 2019). همچنین در اندام‌های هوایی این گیاه ترکیبات فلاونوئیدی مانند کوئرستین، روتین و استراگالین وجود دارد (Jahangir & Nasernakhaei, 2021). کوئرستین یک آنتی اکسیدان طبیعی با خواص ضد سرطانی است. آستراگالین یکی از مهم‌ترین فلاونوئیدها است که دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد حساسیت، ضد التهابی و ضد توموری است (Jahangir & Nasernakhaei, 2021).

پیشینه پژوهش

استفاده از عصاره‌های گیاهی برای سنتز نانوذرات به دلیل مزایای بالقوه آن‌ها نسبت به میکروارگانیزم‌ها، سهولت دسترسی، خطرات زیست‌محیطی کمتر و فرآیند دقیق نگهداری از کشت‌های سلولی آن‌ها حائز اهمیت است (Kalishwaralal et al., 2010). نانوذرات سنتزی، عوامل ضد باکتریایی در برابر تعداد بسیاری از باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها می‌باشند که به دلیل خواص

فیزیکوشیمیایی خاص و فعالیت‌های بیولوژیکی آن‌ها است (Emrani et al., 2018). Fe_3O_4 کاربردهای زیست پزشکی زیادی دارند، از جمله استفاده از ذرات نانومغناطیسی در جذب باکتری، طراحی حسگر برای شناسایی عوامل مختلف بیولوژیکی و به عنوان ابزاری در پزشکی و نیز به عنوان حامل دارو جهت هدفمند را می‌توان مثال زد (Kumar et al., 2016; Sari & Yulizar, 2017). همچنین نانوذرات اکسید آهن سنتزی برای اهداف مختلفی از جمله حذف آلاینده‌ها از آب‌های زیرزمینی، حذف رنگ‌ها و فلزات سنگین از فاضلاب به کار برده شده است (Saod et al., 2024).

گزارش‌های فراوانی در زمینه سنتز زیستی نانوذرات و فعالیت ضد میکروبی آن‌ها وجود دارد. برای سنتز نانوذرات از گیاهان مختلفی مانند نعنای (Tavosi et al., 2018)، جلبک دریایی (Mahdavi et al., 2013)، چای ترش (Wu et al., 2008) استفاده شده است. در پژوهشی از ۲۵ گیاه مختلف برای سنتز نانوذرات آهن استفاده شده است (Machado et al., 2013). در سایر گیاهان دارویی مانند زعفران (Taghva & Entezari, 2017)، زیره سبز (Salari et al., 2019) نیز امکان سنتز نانوذرات مختلف، بررسی و تایید شده است. گزارش شده است که عصاره برگ گیاه علف مورچه دارای اثرات ضد باکتریایی بر ضد باکتری‌های /شریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتلیس، باسیلوس پومیلوسو کلبسیا پنومونیه است به همین علت می‌توان از این گیاه در درمان بیماری‌های باکتریایی استفاده نمود (Thirunavukkarasu et al., 2000).

در تحقیقات قبلی روی گیاه علف مورچه، نانوذرات نقره، طلا و مس با استفاده از عصاره آبی برگ‌های این گیاه سنتز شده است. در تحقیقی، نانوذرات طلای سنتز شده با استفاده از عصاره علف مورچه دارای اشکال شش ضلعی، پنج ضلعی، کروی و میله‌ای با اندازه‌های بین ۱۵ تا ۲۲ نانومتر بودند. مطالعات FTIR نشان داد که گروه‌های هیدروکسیل، آمید و آمین برگ‌های علف مورچه مسئول تشکیل و تثبیت نانوذرات طلا می‌باشند. فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات طلا در برابر پاتوژن‌های انسانی مهار

قابل توجهی را نشان داد. این تایید می‌کند که نانوذرات طلای ساخته شده به عنوان یک ابزار ضد باکتری عمل می‌کنند. نتایج این تحقیق نشان داد که سنتز بیولوژیکی نانوذرات طلا می‌تواند روشی سریع و جایگزین برای سنتز شیمیایی باشد (Balasubramanian et al., 2019). در پژوهشی از عصاره برگ گیاه علف مورچه برای سنتز نانوذرات نقره استفاده شد. سرعت جذب نانوذرات نقره در این مطالعه حداکثر در ۴۴۴/۵ نانومتر بود. بر اساس تصاویر SEM، نانوذرات نقره سنتز شده میله‌ای شکل بودند و فعالیت ضد باکتریایی مؤثری را در برابر پاتوژن‌ها نشان دادند (Balasubramanian et al., 2015). اندازه نانوذرات مس سنتز شده با استفاده از عصاره برگ علف مورچه در محدوده نانومتری قرار داشت. با توجه به نتایج FTIR، وجود پیوند Cu-O برای تشکیل نانوذرات اکسید مس ضروری است. نتایج آزمایش XRD نیز نشان دهنده وجود نانوذرات اکسیدی در مقیاس نانومتری است. از نظر مورفولوژیکی، نانوذرات سنتز شده دارای ساختارهای متفاوتی بودند، Kalaiaarasi & Yokeswari Nithya, (2019). در تحقیقی از عصاره برگ *Cynometra ramiflora* برای تولید نانوذرات اکسید آهن استفاده شد. نتایج نشان داد که در عرض چند دقیقه از افزودن سولفات آهن به عصاره برگ، نانوذرات اکسید آهن تشکیل می‌شود و بنابراین روش بسیار ساده و سریع است. تصاویر SEM از ذرات کریستالی گسسته و طیف EDS وجود آهن و اکسیژن را تایید کرد. نتایج XRD ساختار کریستالی نانوذرات اکسید آهن را نشان داد. طیف FT-IR حضور گروه‌های عاملی فیتوشیمیایی را نشان می‌دهد که احتمالاً در تشکیل و تثبیت نانوذرات نقش دارند (Groiss et al., 2017). نانوذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره *Lagenaria Siceraria* دارای اندازه‌های از ۳۰ میلی‌متر تا ۱۰۰ نانومتر بودند. نانوذرات سنتز شده دارای منطقه مهار ۱۰ میلی‌متر برای /شریشیا کلی و ۸ میلی‌متر برای /استافیلوکوکوس اورئوس بود (Kanagasubbulakshmi & Kadirvelu, 2017). نانوذرات کریستالی حاصل از عصاره آبی برگ گیاه برگ بو (*Laurus nobilis* L.) دارای ساختار کروی تا شش ضلعی با متوسط اندازه

مقطر به آن اضافه شد و به مدت ۶ ساعت روی شیکر چرخشی با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. در نهایت، عصاره آبی به دست آمده توسط کاغذ صافی واتمن، صاف و برای مراحل بعدی در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. برای سنتز نانوذرات اکسید آهن، محلول سولفات آهن ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (ساخت شرکت Merck، آلمان) ۰/۱ مولار به صورت قطره قطره به عصاره علف مورچه با نسبت حجمی ۳:۲ و در شرایط اختلاط با سرعت ۶۰۰ دور در دقیقه به کمک همزن مغناطیسی اضافه گردید. pH محلول در طی فرآیند سنتز برابر با ۶ بود. تشکیل نانوذرات آهن صفر ظرفیتی با ظهور رسوبات قهوه‌ای تیره در محیط مشخص گردید. پس از ۲۴ ساعت، رسوب با استفاده از سانتریفیوژ با دور rpm ۴۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه جدا و در آن با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شد (Hoag et al., 2009).

ویژگی‌های نانوذرات اکسید آهن سنتز شده

طیف جذب نانوذرات با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Uv-vis (SERIES8000CECIL) در محدوده طول موج ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. از آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) برای مشخص کردن اندازه و شکل نانوذرات آهن بیوسنتز شده استفاده شد (Jamzad & Kamari Bidkorpeh., 2020). بدین منظور، یک قطره از نمونه محلول نانوذرات آهن بر روی شبکه‌ای مسی با پوشش کربنی قرار گرفت. پس از خشک شدن نمونه با میکروسکوپ الکترونی عبوری عکس آن تهیه شد. تجزیه و تحلیل اندازه ذرات با استفاده از نرم افزار آنالیز Image J صورت گرفت. برای شناسایی گروه‌های عاملی سطحی روی نانوذرات طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)، از قرص‌های پتاسیم بروماید استفاده شد. قرص‌های پتاسیم بروماید حاوی ۲ میلی گرم نمونه و ۸ میلی گرم پتاسیم بروماید برای اندازه‌گیری FTIR تهیه شد. تجزیه و تحلیل جذب IR از 4500 cm^{-1} تا 400 cm^{-1} در دمای اتاق انجام شد (Jamzad & Kamari Bidkorpeh, 2020).

۸/۰۳-۸/۹۹ نانومتر بودند. بررسی فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی این نانوذرات سنتزی، نشان دهنده تاثیر مثبت آن‌ها بر باکتری گرم مثبت لیستریا مونوسیژنر و قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و *پنی سیلیوم اسپینولوزوم* بود (Jamzad & Kamari Bidkorpeh, 2020). در مطالعه‌ای از عصاره کاسه گل چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) جهت سنتز نانوذرات اکسید آهن استفاده شد. نانوذرات سنتزی، ساختار کریستالی عمدتاً کروی داشتند با پیک جذب بین ۲۹۰ تا ۳۰۰ نانومتر و اندازه متوسط ۶۱ نانومتر. حداقل غلظت بازدارندگی نانوذرات سنتزی در برابر باکتری‌های *E. coli*, *K. pneumoniae* و *P. aeruginosa* به ترتیب ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود. همچنین اثر بخشی نانوذرات سنتزی در ترکیب با آنتی بیوتیک‌ها به میزان قابل توجهی افزایش یافت. بر این اساس نانوذرات اکسید آهن سنتز شده کاربردهای امیدوار کننده‌ای به عنوان ترکیبات ضد باکتریایی و به عنوان افزودنی برای افزایش اثر بخشی آنتی بیوتیک‌ها دارند (Saod et al., 2024).

به دلیل اهمیت سنتز سبز نانوذرات با استفاده از عصاره‌های گیاهی، در این تحقیق از عصاره برگ گیاه علف مورچه برای سنتز نانوذرات اکسید آهن استفاده شد. همچنین فعالیت ضد میکروبی نانوذرات سنتز شده در برابر سه پاتوژن به نام‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (گرم مثبت)، *استرپتوکوکوس پیوژنز* (گرم مثبت) و *اشریشیا کلی* (گرم منفی) مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌شناسی پژوهش

تهیه نمونه و عصاره گیری

این آزمایش در دانشگاه زابل انجام شد. به این منظور نمونه‌های تازه *Cressa cretica* L. از اطراف شهر زابل جمع‌آوری و پس از تایید گیاه توسط کارشناس گیاهشناسی دانشگاه شستشو داده شدند، سپس برگ‌های گیاه جدا و به مدت ۹ روز در سایه خشک شدند. عصاره گیری به روش پرکولاسیون با حلال آب مقطر (با نسبت ۱ به ۱۰ گیاه به حلال) انجام شد برای این منظور، مقدار ۱۰ گرم از برگ‌های آسیاب شده توزین و ۱۰۰ میلی لیتر آب

کریستالی نانوذرات سنتز شده از طریق کریستالوگرافی پراش اشعه ایکس (XRD) مورد ارزیابی قرار گرفت (Mourdikoudis et al., 2018).

اثرات ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده

در این مطالعه کلیه محیط‌های کشت میکروبی مورد استفاده ساخت شرکت مرک آلمان بود، همچنین سویه باکتریایی استاندارد/استافیلوکوکوس/اورئوس (گرم مثبت)، استرپتوکوکوس پیوژنز (گرم مثبت) و اشریشیا کلی (گرم منفی) مورد استفاده از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی سازمان علمی پژوهشی و صنعتی ایران (IROST) تهیه شد.

تهیه سوسپانسیون میکروبی

جهت انجام آزمایش‌های ضد میکروبی به کشت تازه میکروب‌ها نیاز می‌باشد. منظور از کشت تازه، کشت ۲۴ ساعت قبل برای باکتری است. برای تهیه کشت تازه از کشت ذخیره (کشت خطی) استفاده گردید. جهت کشت، ابتدا لوپ را با حرارت کاملاً استریل کرده و بعد از سرد شدن، یک کلونی تک از کشت ذخیره برداشته و در محیط نوترینت برات سوسپانسیون گردید و سپس لوله‌ها در انکوباتور قرار داده شدند. از سوسپانسیون تهیه شده به داخل لوله‌ها حاوی محیط نوترینت برات آنقدر اضافه گردید تا کدورتی معادل محلول ۰/۵ مک فارلند حاصل گردد. این کدورت معادل 1×10^8 CFU/ml می‌باشد (Bauer et al., 1966).

آزمون انتشار دیسک

به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده به روش انتشار دیسک (Prakash et al., 2014)، سوسپانسیون میکروبی از یک کلنی باکتری بر اساس استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد. باکتری‌ها به طور جداگانه روی محیط کشت مولر هیتتون آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رشد داده شدند. ۷ دیسک حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات آهن روی سطح هر صفحه قرار داده شد. با سمپلر ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه روی

دیسک ریخته شد. سپس پلیت‌ها در آون با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ناحیه مهار بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد و به عنوان فعالیت در برابر پاتوژن مورد بررسی قرار گرفت (Bauer et al., 1966; Rios et al., 1988).

آزمون حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC)

برای بررسی اثرات ضد میکروبی ماده مورد نظر از روش میکرودايلوشن برات برای تعیین MIC و MBC استفاده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) نانوذرات آهن سنتز شده، ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هیتتون (ساخت شرکت Merck، آلمان) به هر چاهک صفحه میکروتیتر اضافه شد. در چاه اول ۱۰۰ میکرولیتر از رقت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اضافه شد و پس از مخلوط کردن، ۱۰۰ میکرولیتر از چاه اول خارج و به چاه دوم اضافه شد، به همین ترتیب رقت‌های مضاعف در چاهک ادامه یافت. چاه‌های دیگر سپس ۱۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون باکتریایی ($cfu=1.5.108$) در میلی‌لیتر، (نیم مک فارلند) به چاهک-ها اضافه شد. DMSO به چاهک کنترل منفی (بدون عصاره) اضافه شد، سپس پلیت میکروتیتر به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. حداقل غلظت بازدارنده به عنوان کمترین غلظت مورد نیاز برای توقف رشد باکتری در پایان ۲۲ ساعت انکوباسیون تعریف شد. برای تعیین حداقل غلظت کشنده (MBC)، ۱۰ میکرولیتر از محتویات چاهک‌ها در پایان ۲۴ ساعت در گلخانه، کشت ثانویه بر روی محیط کشت نوترینت آگار (ساخت شرکت Merck، آلمان) و پلیت‌ها داده شد. برای بررسی رشد باکتری‌ها استفاده شد. آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در گلخانه نگهداری شدند که کمترین غلظت عصاره که ۹۹/۹ درصد باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشنده یا MBC در نظر گرفته

1. MIC. Minimum Inhibitory Concentration

2. MBC. Minimum Bactericidal Concentration

Bidkorpheh, 2020; Karpagavinayagam & Vedhi, 2019; Saod *et al.*, 2024) جذب مداوم در محدوده طول موج مرئی، یکی از ویژگی‌های مشخصه نانوذرات اکسید آهن سنتز شده می‌باشد (Hoag *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2014). مطالعات قبلی تایید می‌کنند پلی فنول‌های عصاره برگ، مسئول کاهش FeSO_4 برای تشکیل نانوذرات آهن هستند (Machado *et al.*, 2013).

زمانی که یک پرتو نور به نانوذرات فلزی می‌تابد، میدان نوسانی موج فرودی باعث می‌شود که الکترون‌های رزونانس فلز به طور جمعی نوسان کنند. این نوسان جمعی الکترون‌های رسانا، پلاسمون سطحی نامیده می‌شود. نانوذرات فلزی دارای جذب تشدید پلاسمون سطحی در محدوده طیف مرئی تا فرابنفش هستند و به‌طور خاص نور را با فرکانس‌های مختلف بسته به اندازه، شکل و مواد خود جذب و پراکنده می‌کنند. پلاسمون‌های سطحی در ذرات فلزی کوچک برانگیخته می‌شوند، اما تحریک مستقیم پلاسمون‌های سطحی روی سطح فلزی صاف امکان پذیر نیست (Tavosi *et al.*, 2018). سپس این نانوذرات تشکیل شده توسط یک سانتیفریوژ با سرعت بالا از محلول جدا و با آب مقطر دیونیزه شسته شدند تا مواد واکنش نداده حذف شوند و سپس در اجاق با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد خشک گردیدند (شکل ۱).

شد (Shahverdi *et al.*, 2007). تمام آزمایشات ضد میکروبی حداقل ۳ بار تکرار شد.

یافته‌های پژوهش

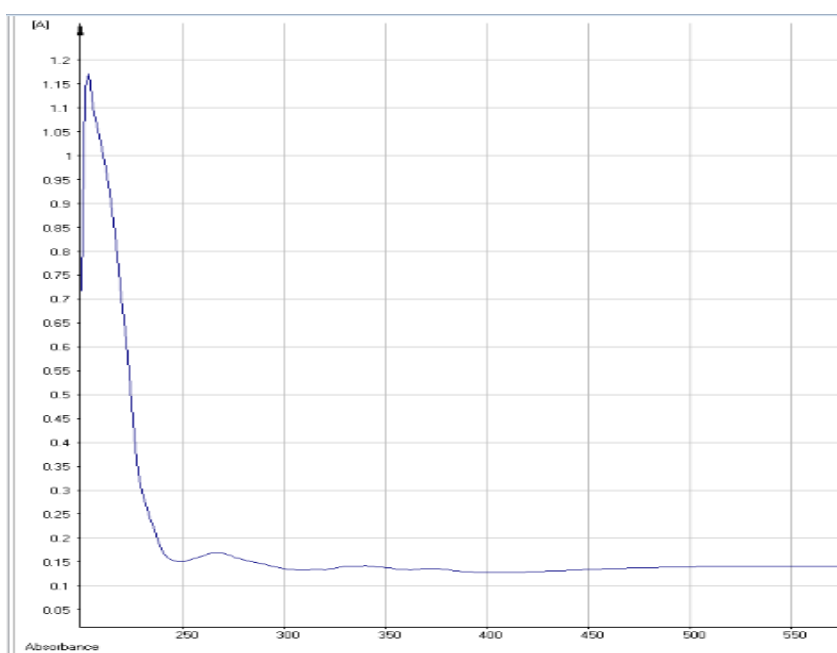
پس از اختلاط عصاره و نمک، تغییر رنگ فوری محلول از زرد به قهوه‌ای تیره، اولین نشانه قابل مشاهده از کاهش یون‌های آهن و تشکیل نانوذرات است (شکل ۱). این فرآیند کاهش امکان پذیر و به صورت خود به خودی است زیرا پتانسیل کاهش استاندارد پلی فنل‌های موجود در عصاره برگ بین 0.534 V و 0.540 V است (Cadenas & Packer, 1996) و پتانسیل کاهش استاندارد آهن 0.44 V است (Huang *et al.*, 2014). این تغییر رنگ که نشان دهنده تشکیل اکسید آهن است در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Prasad, 2016; Wang *et al.*, 2014).

در تجزیه و تحلیل نانوذرات آهن با طیف سنجی UV-Vis پیک جذب، در طول موج ۲۸۰ نانومتر مشاهده شد که بیانگر وجود نانوذرات آهن در محلول واکنش است (شکل ۲). بر اساس منابع معتبر، بیشینه پیک جذبی نانوذرات آهن، در طول موج‌های ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر می‌باشد که در مطالعات گذشته نیز گزارش شده است (Kanagasubbulakshmi & Kadirvelu, 2017; Jagtap & Bapat, 2013; Jamzad & Kamari



شکل ۱. تغییر رنگ محلول از زرد به قهوه‌ای تیره و رسوب نانوذرات حاصل

Figure 1. The solution's color changed from yellow to dark brown and precipitation of the synthesized nanoparticles



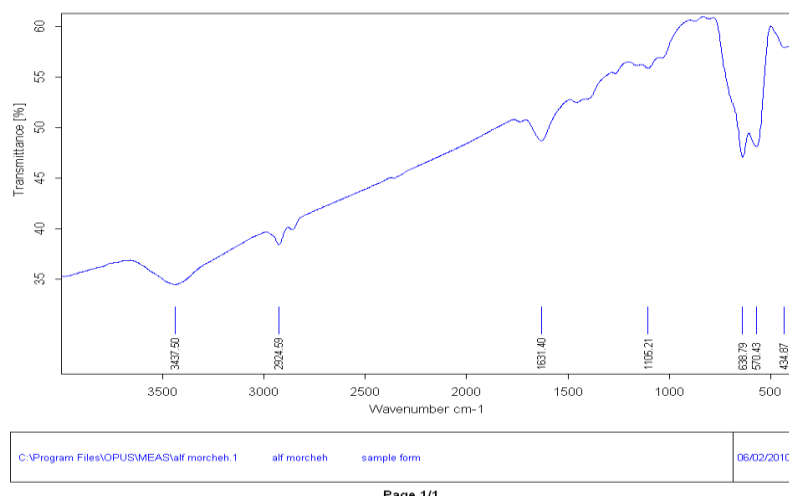
شکل ۲. طیف UV نانوذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره برگ علف مورچه

Figure 2. UV spectrum of iron oxide nanoparticles synthesized using *Cressa cretica* leaf extract

(Rehana et al., 2017; Nasrollahzadeh et al., 2015). همچنین بر اساس نتایج، وجود باند جذبی cm^{-1} ۵۷۰ و cm^{-1} ۶۳۸ نشان دهنده پیوند Fe-O در فاز هماتیت است و دلیلی بر تشکیل نانوذرات مغناطیسی آهن می باشد (شکل ۳). در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است که نوارهای جذب کمتر از cm^{-1} ۸۰۰ با ارتعاش پیوندهای Fe-O مطابقت دارد (Venkateswarlu et al., 2019; Kumar et al., 2014; Rajendran et al., 2015; Jamzad & Kamari Bidkorpeh, 2020).

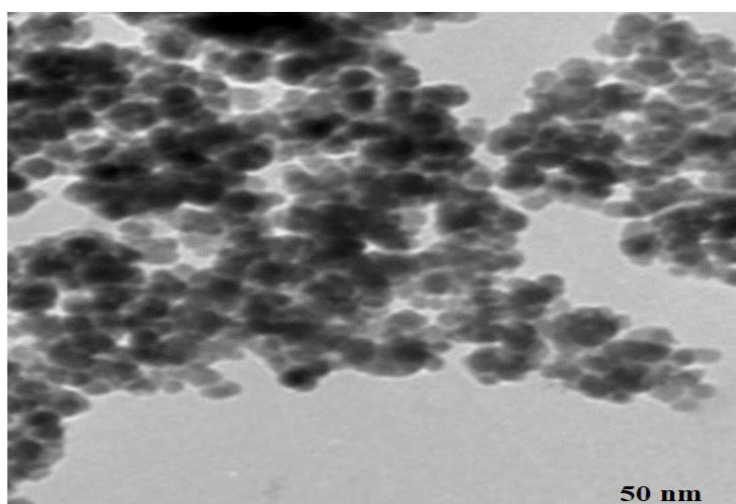
نتایج آنالیز با میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM
اندازه و شکل نانوذرات آهن سنتز شده از عصاره گیاهی علف مورچه، در شکل ۴ نشان داده شده است. بر اساس تصاویر به دست آمده، نانوذرات سنتز شده دارای مورفولوژی کروی و یکنواخت هستند و میانگین اندازه این ذرات حدود ۲۱ نانومتر می باشد این نتایج با یافته های سایر محققین همراستا می باشد (Weng et al., 2013; Huang et al., 2015; Groiss et al., 2017). توده ای نانوذرات احتمالا به دلیل وجود فیتوکمیکال های عصاره برگ است (Wang et al., 2014).

بررسی طیف سنجی تبدیل فوریه زیر قرمز FT-IR
به منظور شناسایی گروه های عاملی از ترکیب های شیمیایی عصاره علف مورچه که بر روی نانوذرات اتصال دارند طیف FT-IR از نانوذرات آهن مورد بررسی قرار گرفت. وجود باند جذبی (cm^{-1} ۳۴۳۷) نشان دهنده ارتعاشات کششی OH پلی فنول ها، باند جذبی (cm^{-1} ۲۹۲۴) را می توان به گروه هیدروکربن های آلیفاتیک C-H نسبت داد. باند جذبی (cm^{-1} ۱۶۳۱) مربوط به گروه های کششی C-O و گروه آمین های نوع دوم می باشند. همچنین باند جذبی (cm^{-1} ۱۱۰۵) را می توان به گروه خمشی N-O نیترو نسبت داد (Fan et al., 2018). نتایج به دست آمده حضور ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی را در عصاره ی برگ علف مورچه تایید می کنند. این ترکیبات می توانند مسئول کاهش یون فلز و تشکیل نانوذرات باشند (Nasrollahzadeh et al., 2015). همچنین حضور این ترکیبات در عصاره برگ علف مورچه به عنوان عامل پوششی جهت پایدار کردن نانوذرات و جلوگیری از تجمع آن ها را نشان می دهد. تحقیقات نشان داد که پلی فنول ها می توانند با برهمکنش الکترون های π ، بدون حضور لیگاندهای قوی به سطح نانوذرات فلز جذب شوند



شکل ۳. طیف FT-IR نانوذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره برگ علف مورچه

Figure 3. FT-IR spectrum of iron oxide nanoparticles synthesized using *Cressa cretica* extract



شکل ۴. تصویر TEM نانوذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره برگ علف مورچه

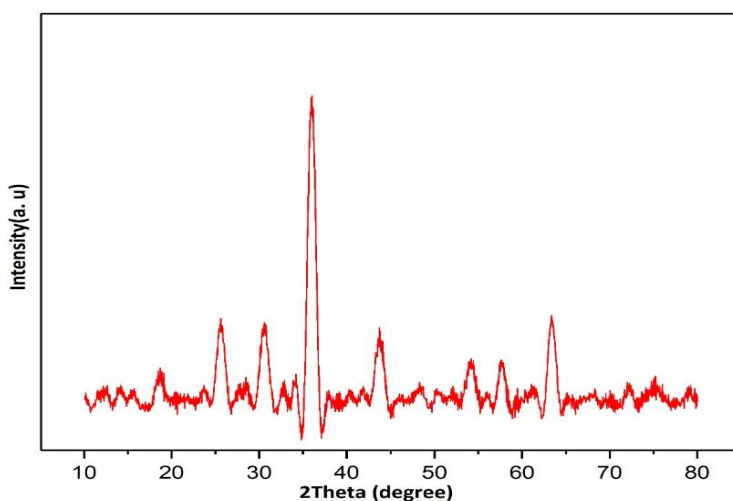
Figure 4. TEM image of iron oxide nanoparticles synthesized using *Cressa cretica* leaf extract

پیک‌های برجسته‌ای در محدوده‌های ۳۰/۲۴، ۳۵/۶۴، ۴۳/۴۲، ۵۳/۵۲، ۵۷/۲۶ و ۶۳/۶۸ به ترتیب مربوط به صفحات ۲۰۰، ۳۱۱، ۴۰۰، ۴۲۲، ۵۱۱ و ۴۴۰ نشان می‌دهد که بیانگر انطباق کامل این پیک‌ها با ساختار اکسید آهن می‌باشد (Kumar et al., 2016; Taufik & Saleh 2017). مطالعات نشان داده که پیک پراش اشعه ایکس در محدوده 2θ از ۴۳-۴۵ درجه مربوط به آهن صفر ظرفیتی و پیک در محدوده $2\theta = 36$ درجه به علت وجود ترکیبات معدنی (مگنتیت (Fe_3O_4)) می‌باشد (Ebrahiminezhad et al., ۲۰۱۷).

نتایج آنالیز با استفاده از پراش پرتو ایکس (XRD) یک تکنیک مرسوم برای تعیین مورفولوژی و ساختار کریستالی نانوذرات است. این تکنیک برای تعیین ماهیت فلزی ذرات استفاده می‌شود. مواد مختلف به دلیل آرایش و ترتیب اتمی متفاوت دارای الگوهای پراش متفاوت و منحصر به فردی هستند. به منظور شناسایی و درک بهتر ساختارهای بلوری به‌دست‌آمده، الگوی XRD نانوذرات اکسید آهن سنتز شده با استفاده از عصاره علف مورچه در شکل ۵ ارائه و تحلیل شده است. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود

استرپتوکوکوس پیوژنز به میزان ۱۴ میلی‌متر، بر ضد استافیلوکوکوس/اورئوس به میزان ۱۰ میلی‌متر و بر ضد اشریشیا کلی به میزان ۷ میلی‌متر بود. فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن سنتز شده تایید کردند که نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره گیاهی علف مورچه خاصیت ضد باکتریایی خوبی در برابر سویه‌های باکتری گرم مثبت و گرم منفی دارد. نانوذرات سنتزی به روش سبز از گیاه *N. sativa* نیز فعالیت ضد باکتریایی قوی در برابر سویه‌های باکتری‌های بیماری‌زای اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس/اورئوس داشت (Abid et al., 2020; Al-Karagoly et al., 2022). تحقیقات فراوانی بر روی نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن انجام شده است و مشخص شده است که آن‌ها سمیت کمی بر روی سلول‌های منفرد و به ویژه باکتری‌ها دارند، نتایج به دست آمده در مطالعه‌ای دیگر نشان داد که این نانوذرات در غلظت پایین اثرات کمتری بر منحنی رشد باکتری‌ها دارند اما در غلظت بالا فاز تأخیر رشد باکتری‌ها را به شدت افزایش می‌دهند، از طرفی در غلظت‌های بالا رشد باکتری در حضور این نانوذرات تقریباً متوقف می‌شود اما این نانوذرات اثرات کشنده قابل توجهی بر روی این باکتری ندارند. همچنین در دوزهای بالاتر، این نانوذرات باکتری‌های در حال تکثیر را می‌پوشانند و در نتیجه همه باکتری‌ها توسط نانوذرات پوشش داده می‌شوند (Kafayati et al., 2013).

(2018; Groiss et al., 2017). علاوه بر این وجود پیک در محدوده $2\theta = 25$ درجه مربوط به مواد ارگانیک شده از عصاره علف مورچه می‌باشد که به عنوان عامل پوشش‌دهنده و پایدار کننده شناخته می‌شود (Ebrahimi et al., 2016). نتایج خواص ضدباکتریایی نانوذرات اکسید آهن: بسیاری از محققان فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات آهن را تایید کرده‌اند (Feitz et al., 2005; Lee et al., 2008; Iconaru et al., 2012). در این مطالعه فعالیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن سنتز شده بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا مانند سویه‌های استاندارد استافیلوکوکوس/اورئوس (گرم مثبت)، استرپتوکوکوس پیوژنز (گرم مثبت) و اشریشیا کلی (گرم منفی) با روش انتشار دیسک مورد بررسی قرار گرفت (Prakash et al., 2014; Abo-zeid & Williams, 2020). بر اساس نتایج مشاهده شده، قطر هاله عدم رشد در هر سه باکتری با افزایش غلظت نانوذرات آهن افزایش یافت (جدول ۱). بر اساس این نتایج، باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس نسبت به باکتری اشریشیا کلی حساسیت بیشتری نسبت به نانوذرات اکسید آهن داشت (شکل ۶). که با نتایج (Mirhosseini & Firouzabadi, 2013; Torabi & Zarchi, 2017) مطابقت داشت. حداکثر فعالیت ضد باکتریایی در غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نانوذرات اکسید آهن سنتز شده، بر ضد



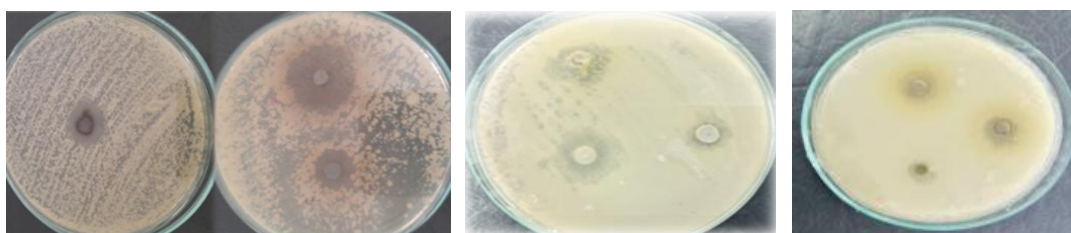
شکل ۵. طیف XRD نانوذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره برگ علف مورچه

Figure 5. XRD spectrum of iron oxide nanoparticles synthesized using *Cressa cretica* leaf extract

جدول ۱. قطر هاله مهارى نانو ذرات اكسيد آهن در رقت هاى مختلف (میلی متر)

Table 1. Diameter of the inhibition zone (mm) for iron oxide nanoparticles at various dilutions

سويه باكتري (Bacterial strain)	750 µg/ml	1500 µg/ml	3000 µg/ml
اشرشیا کلی (<i>Escherichia coli</i>)	2	5	7
استافیلوکوکوس اورئوس (<i>Staphylococcus aureus</i>)	1	5	10
استرپتوکوکوس پیوژنز (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	7	10	14



شکل ۶. فعالیت آنتی باکتریال نانوذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره برگ علف مورچه بر علیه اشرشیا کلی (شکل راست)، استافیلوکوکوس اورئوس (شکل وسط)، استرپتوکوکوس پیوژنز (شکل سمت چپ)

Figure 6. Antibacterial activity of iron oxide nanoparticles synthesized from *Cressa cretica* leaf extract against bacterial strains *Escherichia coli* (right figure), *Staphylococcus aureus* (middle figure), *Streptococcus pyogenes* (left figure)

مربوط به تاثیر این نانوذرات بر باکتری /اشرشیا کلی (MIC=۱۸۷/۵) بود. همچنین بر اساس نتایج MBC، بیشترین تاثیر باکتری کشی مربوط به نانوذرات سنتز شده بر روی باکتری /استرپتوکوکوس پیوژنز (MBC=۱۵۰) و پس از آن بر روی /استافیلوکوکوس اورئوس (MBC=۷۵۰) بود.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج این آزمایش قابلیت سنتز نانوذرات آهن با استفاده از عصاره برگ گیاه علف مورچه با داشتن شکل کروی و اندازه ذرات ۲۱ نانومتر را ثابت کرد. همچنین براساس نتایجی که با دستگاه های UV-Vis، XRD، SEM و FT-IR به دست آمد، عصاره برگ گیاه علف مورچه پتانسیل بالایی در تولید نانوذرات آهن با خلوص بالا داشتند. به علاوه خواص ضدباکتریایی نانوذرات آهن و عدم ایجاد مقاومت در برابر میکروارگانیسم ها، باعث شده است که این مواد جایگزین خوبی برای آنتی بیوتیک ها به شمار روند. بارزترین ویژگی این ذرات سمیت دوگانه است بنابراین در مقابل باکتری اثرات سمی از خود بروز می دهند و در نقطه مقابل برای بدن زیست سازگارند. بر

تعیین حداقل غلظت بازدارى (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشى (MBC)

نتایج مربوط به مقدار MIC و MBC بر روی باکتری های اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز در محیط کشت مایع در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل

غلظت کشندگی (MBC) نانو ذرات اكسيد آهن

Table 2. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of iron oxide nanoparticles

سويه باكتري (Bacterial strain)	MIC	MBC
اشرشیا کلی (<i>Escherichia coli</i>)	750	1500
استافیلوکوکوس اورئوس (<i>Staphylococcus aureus</i>)	375	750
استرپتوکوکوس پیوژنز (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	187.5	375

بر اساس نتایج MIC و MBC، نانوذرات اکسید آهن سنتز شده، قابلیت مهار رشد باکتری های مورد بررسی را داشتند. بر اساس نتایج MIC بیشترین تاثیر مربوط به نانوذرات اکسید آهن بر روی باکتری استرپتوکوکوس پیوژنز (MIC=۷۵۰ mg/ml) و کمترین تاثیر مهار کنندگی

روش سنتز نانوذرات ارجح تر از روش های فیزیکی و شیمیایی است. لذا نتایج این تحقیق می تواند برای ارتقا دانش در زمینه نانو تکنولوژی اثر بخش باشد.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

این اساس علاوه بر مصارف دارویی گیاه علف مورچه از آن برای سنتز نانوذرات آهن و ایجاد خاصیت ضد باکتریایی می توان استفاده کرد. اگر چه بازده نانوذرات سنتز شده به روش سبز، در مقایسه با سایر روش های شیمیایی و فیزیکی کمتر است ولی به دلیل غیر سمی بودن نانوذرات سنتزی با استفاده از عصاره گیاهی، این

References

- Abid, M. A., Kadhim, D. A., & Aziz, W. J. (2022). Iron oxide nanoparticle synthesis using trigonella and tomato extracts and their antibacterial activity. *Materials Technology*, 37(8), 547-554.
- Abo-zeid, Y., & Williams, G. R. (2020). The potential anti-infective applications of metal oxide nanoparticles, A systematic review. *Wiley Interdisciplinary Reviews, Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 12(2), e1592.
- Al-Karagoly, H., Rhyaf, A., Naji, H., Albukhaty, S., AlMalki, F. A., Alyamani, A. A., Albaqami, J., & Aloufi, S. (2022). Green synthesis, characterization, cytotoxicity, and antimicrobial activity of iron oxide nanoparticles using *Nigella sativa* seed extract. *Green Processing and Synthesis*, 11(1), 254-265.
- Balasubramanian, S., Eyapaul, U., Bosco, A. J., & Kala, S. M. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using *cressa cretica* leaf extract and its antibacterial efficacy. *International Journal of Advanced Chemical Science and Applications (IJACSA)*, 3(1), 65-71.
- Balasubramanian, S., Kala, S. M. J., Pushparaj, T. L., & Kumar, P. (2019). Biofabrication of gold nanoparticles using *Cressa cretica* leaf extract and evaluation of catalytic and antibacterial efficacy. *Nano Biomedicine and Engineering*, 11(1), 58-66.
- Barnes, R. J., Gast, C. J., Riba, O., Lehtovirta, L. E., Prosser, J. I., Dobson, P. J & Thompson, I. P. (2010). The Impact of zero-valent iron nanoparticles on a river water bacterial community. *Journal of Hazardous Materials*, 184 (1-3), 73-80.
- Bauer A. W., Kirby W. M. M., Sherris J. C., & Truck M. (1966); Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45, 493-496.
- Boxall A. B. A., Tiede K., & Chaudhry Q. (2007). Engineered nanomaterials in soils and water, how do they behave and could they pose a risk to human health. *Nanomedicine*, 2(6), 919-27.
- Cadenas, E. & Packer, L. (1996). Handbook of antioxidants. Marcel Dekker Inc.
- Chandran SP, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A., & Sastry M. (2006). Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using aloe vera plant extract. *Biotechnology Progress*. 22(2), 577-83.
- Ebrahimi, N., Rasoul-Amini, S., Ebrahiminezhad, A., Ghasemi, Y., Gholami, A., & Seradj, H. (2016). Comparative study on characteristics and cytotoxicity of bifunctional magnetic-silver nanostructures, synthesized using three different reducing agents. *Acta Metallurgica Sinica (English Letters)*, 29(4), 326-334.
- Ebrahiminezhad, A., Taghizadeh, S., Ghasemi, Y., & Berenjian, A. (2018). Green synthesized nanoclusters of ultra-small zero valent iron nanoparticles as a novel dye removing material. *Science of the Total Environment*, 621, 1527-1532.
- Elgorban AM., Al-rahmah A.N., Rushdy S., Hirad A., Abdel-fattah Mostafa A., & Hassan A. (2016). Antimicrobial activity and green synthesis of silver nanoparticles using trichoderma virid. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 30(2), 299-304.
- Emrani, S., Zhiani, R., & Dafe Jafari, M. (2018). The biosynthesis of silver nanoparticles using plants of *Glycyrrhiza glabra* and *mentha piperata* and its antimicrobial effect on some bacterias that cause tooth decay. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 16 (10) ,953-968. (in Persian)
- Fan, D., Bao, C., Liu, X., Wu, D., Zhang, Y., Wang, H., Du, B., & Wei, Q. (2018). A novel label-free photoelectrochemical immunosensor based on NCQDs and Bi 2 S 3 co-sensitized hierarchical mesoporous SnO 2 microflowers for detection of NT-proBNP. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(46), 7634-7642.
- Fawzi, F., Mahdi M. F., & Abaas, I. S. (2019). Isolation of astragalin from *Cressa cretica* cultivated in Iraq. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(1), 185-90.

- Fazlzadeh, M., Tagizadeh, A., Entezari, A., & Khosravi, R. (2017). Green synthesis of ZnO nanoparticles and coating them on the activated carbon to investigate removal efficiency of hexavalent chromium. *Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 3, 7-19. (in Persian)
- Feitz, A. J., Joo, S. H., Guan, J., Sun, Q., Sedlak, D. L., & Waite, T. D. (2005). Oxidative transformation of contaminants using colloidal zero-valent iron. *Colloids and Surfaces A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 265(1-3), 88-94.
- Ghassemi Dehkordi, N., Norouzi, M., & Safaei Aziz, A. (2012). Collection and Evaluation of the Traditional Applications of Some Plants of Jandagh. *Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine*, 3 (1), 105-112
- Groiss, S., Selvaraj, R., Varadavenkatesan, T., & Vinayagam, R. (2017). Structural characterization, antibacterial and catalytic effect of iron oxide nanoparticles synthesised using the leaf extract of *Cynometra ramiflora*. *Journal of Molecular Structure*, 1128, 572-578.
- Hoag, G. E., Collins, J. B., Holcomb, J. L., Hoag, J. R., Nadagouda, M. N., & Varma, R. S. (2009). Degradation of bromothymol blue by 'greener' nano-scale zero-valent iron synthesized using tea polyphenols. *Journal of Materials Chemistry*, 19(45), 8671-8677.
- Huang, L., Weng, X., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2014). Green synthesis of iron nanoparticles by various tea extracts, comparative study of the reactivity. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 130, 295-301.
- Huang, L., Luo, F., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2015). Green synthesized conditions impacting on the reactivity of Fe NPs for the degradation of malachite green. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137, 154-159.
- Hussein M. A. M., Baños F. G. D., Grinholc M., Dena A. S. A., El-Sherbiny I. M., & Megahed M. (2020). Exploring the physicochemical and antimicrobial properties of gold-chitosan hybrid nanoparticles composed of varying chitosan amounts. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1760-1769.
- Iconaru, S. L., Andronescu, E., Ciobanu, C. S., Prodan, A. M., Coustumer, P. L., & Predoi, D. (2012). Biocompatible magnetic iron oxide nanoparticles doped dextran thin films produced by spin coating deposition solution. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB)*, 7(1).
- Iravani S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 10, 2638-2650.
- Jahangir M., & Nasernakhaei F. (2021). A review of medicinal properties of Alkali weed (*Cressa cretica* L.). *Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine*, 11 (4), 401-408. (in Persian)
- Jamzad, M., & Kamari Bidkorpeh, M. (2020). Green synthesis of iron oxide nanoparticles by the aqueous extract of *Laurus nobilis* L. leaves and evaluation of the antimicrobial activity. *Journal of nanostructure in Chemistry*, 10(3), 193-201.
- Kafayati, M. E., Raheb, J., Torabi Angazi, M., Alizadeh, Sh., & Bardania, H. (2013). The effect of magnetic Fe_3O_4 nanoparticles on the growth of genetically manipulated bacterium, *pseudomonas aeruginosa* (PTSOX4). *Iranian Journal of Biotechnology*, 11(1), 41.
- Kalaiaarasi, S., & Yokeswari Nithya, P. (2019). Synthesis, characterization and electrochemical behaviour of metal oxide nanoparticles from *Cressa Cretica* whole plant. *International Journal of Advanced Scientific Research and Management*, 4, 105-109.
- Kalishwaralal, K., Deepak, V., Pandian, S. R. K., Kottaisamy, M., BarathManiKanth, S., Kartikeyan, B., & Gurunathan, S. (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*. *Colloids and surfaces B, Biointerfaces*, 77(2), 257-262.
- Kanagasubbulakshmi, S., & Kadirvelu K. (2017). Green synthesis of Iron Oxide nanoparticles using *lagenaria siceraria* and evaluation of its antimicrobial activity. *Defence life science journal*, 2, 422-427.
- Karpagavinayagam, P., & Vedhi, C. (2019). Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Avicennia marina* flower extract. *Vacuum*, 160, 286-292.
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., & Debut, A. (2014). Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles for 2-arylbenzimidazole fabrication. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(4), 364-369.
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., Debut, A., Galeas, S. and Guerrero, V. H. (2016). Phytosynthesis and photocatalytic activity of magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles using the *Andean blackberry* leaf. *Materials Chemistry and Physics*, 179, 310-315.
- Lee, C., Kim, J. Y., Lee, W. I., Nelson, K. L., Yoon, J., & Sedlak, D. L. (2008). Bactericidal effect of zero-valent iron nanoparticles on *Escherichia coli*. *Environmental science & technology*, 42(13), 4927-4933.

- Machado, S., Pinto, S.L., Grosso, J.P., Nouws, H.P.A., Albergaria, J.T., & Delerue-Matos, C. (2013). Green production of zero-valent iron nanoparticles using tree leaf extracts. *Science of the Total Environment*, 445, 1-8.
- Mahdavi, M., Namvar, F., Ahmad, M. B., & Mohamad, R. (2013). Green biosynthesis and characterization of magnetic iron oxide (Fe_3O_4) nanoparticles using seaweed (*Sargassum muticum*) aqueous extract. *Molecules*, 18 (5), 5954-5964.
- Mirhosseini, M., & Firouzabadi, F. B. (2013). Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticle suspensions on food-borne pathogens. *International Journal of Dairy Technology*, 66 (2), 291-295.
- Mishra V., Sharma R., Jasuja N. D., & Gupta D. K. (2014). A review on green synthesis of nanoparticles and evaluation of antimicrobial. *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, 3(1), 081-094.
- Mourdikoudis, S., Pallares, R. M., & Thanh, N. T. (2018). Characterization techniques for nanoparticles, comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. *Nanoscale*, 10(27), 12871-12934.
- Nasrollahzadeh, M., Maham, M., Rostami-Vartooni, A., Bagherzadeh, M., & Sajadi, S. M. (2015). Barberry fruit extract assisted insitu green synthesis of Cu nanoparticles supported on a reduced graphene oxide- Fe_3O_4 nanocomposite as a magnetically separable and reusable catalyst for the O-arylation of phenols with aryl halides under ligand-free conditions. *RSC advances*, 5(79), 64769-64780.
- Prakash, N., Sivakami, S., Elamaram, M., & Ingarsal, N. (2014). Synthesis and Invitro bacterial screening of 2-amino- 4-(2-naphthyl)-6-aryl-6H-1, 3-thiazines. *International Journal of Advanced Chemical Science and Applications*, 1(2), 21-24.
- Prasad, A. S. (2016). Iron oxide nanoparticles synthesized by controlled bio-precipitation using leaf extract of Garlic Vine (*Mansoa alliacea*). *Materials Science in Semiconductor Processing*, 53, 79-83.
- Priyashree, S., Jha, S., & Pattanayak, S. P. (2010). A review on *Cressa cretica* Linn., A halophytic plant. *Pharmacognosy Reviews*. Jul; 4(8), 161-166.
- Rajendran, K., Karunakaran, V., Mahanty, B., & Sen, S. (2015). Biosynthesis of hematite nanoparticles and its cytotoxic effect on HepG2 cancer cells. *International journal of biological macromolecules*, 74, 376-381.
- Rehana, D., Mahendiran, D., Kumar, R. S., & Rahiman, A. K. (2017). Evaluation of antioxidant and anticancer activity of copper oxide nanoparticles synthesized using medicinally important plant extracts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 1067-1077.
- Rios, J. L., Recio, M. C., & Villar, A. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity, a review of the literature. *Journal of ethnopharmacology*, 23(2-3), 127-149.
- Salari, N., Karimi Maleh, H., & Asadi, M. (2019). Biosynthesis of gold nanoparticles by extract of aerial organs of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Cellular and Molecular Researches (Iranian Journal of Biology)*, 32(3), 280-291. (in Persian)
- Saad, W. M., Al-Janaby, M. S., Gayadh, E. W., Ramizy, A., & Hamid, L. L. (2024). Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles using *Hibiscus sabdariffa* extract, Potential for antibiotic development and antibacterial activity against multidrug-resistant bacteria. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 8, 100397.
- Sari, I. P., & Yulizar, Y. (2017). Green synthesis of magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles using Graptophyllum pictum leaf aqueous extract. 2nd International Conference on Mining, Material and Metallurgical Engineering. 2017, April. IOP Publishing. 191(1), 1-5.
- Sayadi, M. H., Siami, M., Esmailpour, M., & Hajiani, M. (2017). The efficiency of biosynthesis silica nanoparticles at removal of heavy metals Cr and Cu from aqueous solutions. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 24 (1), 36-49. (in Persian)
- Sellmyer. (2005). Advanced Magnetic Nanostructures. Springer.
- Senthil, M., & Ramesh, C. (2012). Biogenic synthesis of Fe_3O_4 nanoparticles using tridax procumbens leaf extract and its antibacterial activity on pseudomonas aeruginosa. Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB), 7(4).
- Shahverdi, A. R., Minaeian, S., Shahverdi, H. R., Jamalifar, H., & Nohi, A. A. (2007). Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria, a novel biological approach. *Process Biochemistry*, 42, 919-923.
- Sunita, P., Jha, S., Pattanayak, S. P., & Mishra, S.K. (2012). Antimicrobial activity of a halophytic plant *Cressa cretica* L. *Journal of Scientific Research*, 4(1), 203-212.
- Taghva, A., & Entezari, M. (2017). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of Saffron corm and evaluation of their antibacterial and mutagenesis activity. *Journal of Police Medicine*, 6(1), 57-66. (in Persian)

- Taheri, R., Poor Seyedi, Sh., & Lohrasbi nejhadi, A. (2017). Green synthesis of Fe_3O_4 magnetic iron oxide nanoparticles using the leaf extract of *Melissa officinalis* L. Second National Conference on Nanostructures, Science and Nanotechnology, 25 February 2016. Islamic Azad University, Kashan branch. Kashan, Iran. (in Persian)
- Taufik, A., & Saleh, R. (2017). Organic dyes removal using magnetic Fe_3O_4 -nanographene platelets composite materials. *Physica B, Condensed Matter*, 526, 166-171.
- Tavosi, F., Ghafarzadegan, R., Mirshokraei, S., & Hajiaghade, R. (2018). Green synthesis of iron nano particles using *Mentha longifolia* L. Extract. *Journal of Medicinal Plants*, 2(66), 135-44. (in Persian)
- Thirunavukkarasu, P., Ramanathan, T., Manigandan, V., Dinesh, P., Vasanthkumar, A., & Kathiresan, K. (2000). Antimicrobial effect of coastal sand dune plant of *Cressa cretica*. *Diamond*, 9(4), 355-363.
- torabi zarchi, M., & Mirhosseini, M. (2017). Investigation of Combination Effect of Magnesium Oxide and Iron Oxide Nanoparticles on the Growth And Morphology of the Bacteria *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli* in Juice. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 24(11), 924-937.
- Venkateswarlu, S., Kumar, B. N., Prathima, B., SubbaRao, Y., & Jyothi, N.V.V. (2019). A novel green synthesis of Fe_3O_4 magnetic nanorods using *Punica Granatum* rind extract and its application for removal of Pb (II) from aqueous environment. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(4), 588-596.
- Wang, T., Jin, X., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2014). Green synthesis of Fe nanoparticles using eucalyptus leaf extracts for treatment of eutrophic wastewater. *Science of the total environment*, 466, 210-213.
- Weng, X., Huang, L., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2013). Synthesis of iron-based nanoparticles by green tea extract and their degradation of malachite. *Industrial Crops and Products*, 51, 342-347.
- Wu, W., He, Q., & Jiang, C. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles, synthesis and surface functionalization strategies. *Nanoscale research letters*, 3(11), 397-415.