



Research Article

Phyto nano-synthesis of Metal Oxide (Mg, Cu) Nanoparticles: Green Synthesis, Characterization, and Antibacterial Activity

Hassan Koohestani^{*}, Aida Ghodrati Nezhad, Ali Balooch

Faculty of Materials and Metallurgical Engineering, Semnan University, Semnan, Iran

PAPER INFO

Article history:

Received: 16/Jun/2026

Revised: 29/Jul/2026

Accepted: 23/Aug/2026

Keywords:

Green Synthesis,
Nanoparticles,
Copper Oxide,
Magnesium Oxide,
Verbascum extract.

ABSTRACT

In recent years, metal oxide nanoparticles have attracted considerable attention in various scientific and technological fields due to their unique physicochemical properties. In this study, MgO and CuO metal oxide nanoparticles were synthesized via a green synthesis approach using *Verbascum thapsus* extract, and their structural, chemical, and biological properties were investigated. XRD analysis confirmed the successful synthesis of MgO and CuO nanoparticles with crystallinity percentages of 63.5% and 39.1%, respectively. The crystallite sizes were estimated to be approximately 14 and 21 nm for MgO and CuO, respectively. FTIR spectra verified the presence of characteristic Mg-O and Cu-O bonds. FESEM images revealed that MgO nanoparticles exhibited a dense nanorod/nanoneedle morphology with diameters ranging from approximately 50 to 150 nm and lengths of 300 to 800 nm. In contrast, CuO nanoparticles exhibited a three-dimensional, porous, sponge-like structure with interconnected pores ranging from 200 to 800 nm. EDS analysis further confirmed the high purity of the synthesized nanoparticles. Antibacterial evaluation showed that both nanoparticles had identical MIC and MBC values of 270 µg/ml against the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*, indicating that relatively high concentrations are required to inhibit the bacterium. In contrast, significantly stronger antibacterial activity was observed against the Gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus*. MgO nanoparticles showed MIC and MBC values of 135 µg/ml, while CuO nanoparticles exhibited the highest antibacterial efficacy with MIC = MBC = 33.75 µg/ml, resulting in complete inhibition of *S. aureus*. These findings indicate the superior antibacterial performance of CuO nanoparticles compared with MgO, which may be attributed to their porous structure and higher active surface area, enhancing their antimicrobial effectiveness.

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2026.41640.2463>

© 2026 Semnan University.

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

^{*}.Corresponding author: Assistant Professor of Material Science and Metallurgy. E-mail address: H.Koohestani@Semnan.ac.ir

How to cite this article: Fouladgar, M., Hasanpour, F., Semnani, A. & Daftari, F. (2026). Phyto nano-synthesis of Metal Oxide (Mg, Cu) Nanoparticles: Green Synthesis, Characterization, and Antibacterial Activity. *Applied Chemistry Today*, 21(79), 135-152. (in Persian)

سنتز نانوذرات اکسیدهای فلزی (Cu و Mg): سنتز سبز، مشخصه‌یابی و بررسی خواص ضدباکتری

حسن کوهستانی^{*}، آیدا قدرتی‌نژاد، علی بلوچ

دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
دریافت مقاله: ۱۴۰۵/۰۳/۲۶	در سال‌های اخیر، نانوذرات اکسید فلزی به دلیل ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد، توجه قابل توجهی را در حوزه‌های مختلف علمی و فناوری به خود جلب کرده‌اند. در این پژوهش، نانوذرات اکسید فلزی CuO و MgO به روش سنتز سبز با استفاده از عصاره گیاه خرگوشک تهیه و ویژگی‌های ساختاری، شیمیایی و زیستی آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. الگوی XRD نشان داد که نانوذرات CuO و MgO با موفقیت سنتز شده‌اند و به ترتیب دارای درصد بلورینگی ۶۳٫۵٪ و ۳۹٫۱٪ بوده‌اند. اندازه بلورک نیز به ترتیب حدود ۱۴ و ۲۱ نانومتر محاسبه شد. طیف‌های FTIR حضور باندهای شاخص مربوط به پیوندهای Mg-O و Cu-O را تأیید کرد. تصاویر FESEM نشان داد که نانوذرات MgO دارای مورفولوژی نانومیله‌ای/نانوسوزنی متراکم با قطر تقریبی ۵۰ تا ۱۵۰ نانومتر و طول ۳۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر هستند، در حالی که نانوذرات CuO ساختاری سه‌بعدی، اسفنجی و متخلخل با منافذ به هم پیوسته در محدوده ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر از خود نشان دادند. نتایج آنالیز EDS نیز خلوص مناسب نانوذرات سنتز شده را تأیید کرد. ارزیابی فعالیت ضدباکتری نانوذرات نشان داد که هر دو نوع نانوذره برای باکتری گرم منفی <i>E. coli</i> مقادیر یکسان MIC و MBC معادل ۲۷۰ μg/ml داشتند که نشان دهنده نیاز به غلظت‌های بالاتر برای مهار این باکتری است. در مقابل، فعالیت مهار در برابر باکتری گرم مثبت <i>S. aureus</i> بسیار قوی‌تر بود؛ به طوری که نانوذرات MgO دارای MIC و MBC برابر ۱۲۵ μg/ml بودند. نانوذرات CuO بیشترین فعالیت ضدباکتری را نشان دادند و با MIC = MBC = ۳۳.۷۵ μg/ml قادر به مهار کامل <i>S. aureus</i> بودند. این نتایج بیانگر فعالیت ضدباکتری به مراتب قوی‌تر CuO در مقایسه با MgO بوده و نشان می‌دهد که ساختار متخلخل و سطح فعال بالاتر این نانوذرات می‌تواند نقش مهمی در افزایش کارایی ضد میکروبی آن‌ها ایفا کند.
کلیمات کلیدی:	
سنتز سبز، نانوذره، اکسید منیزیم، اکسید مس، عصاره خرگوشک.	

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2026.41640.2463>

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

۱- مقدمه

در دهه‌های اخیر، نانوفناوری به یکی از حوزه‌های پیشرو در علوم مواد، شیمی و زیست فناوری تبدیل شده است. نانوذرات اکسیدهای فلزی به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، پایداری شیمیایی مناسب و خواص فیزیکی و زیستی منحصر به فرد، توجه گسترده‌ای را در کاربردهای مختلف از جمله پزشکی، داروسازی، کاتالیز، حسگرها و سامانه‌های ضد میکروبی به خود جلب کرده‌اند [۱]. در میان این مواد، نانوذرات اکسید مس (CuO) و اکسید منیزیم (MgO) به دلیل فعالیت ضدباکتری قابل توجه، سمیت نسبتاً پایین و هزینه تولید مناسب، به عنوان گزینه‌های امیدوار کننده برای مقابله با رشد و گسترش میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۲، ۳].

روش‌های متداول سنتز نانوذرات مانند روش‌های شیمیایی و فیزیکی، اغلب نیازمند استفاده از حلال‌های سمی، عوامل کاهنده خطرناک و شرایط عملیاتی پرهزینه هستند که می‌توانند اثرات زیست محیطی نامطلوبی ایجاد کنند. در پاسخ به این چالش‌ها، رویکرد سنتز سبز به عنوان جایگزینی پایدار و دوستدار محیط زیست مطرح شده است. در این روش از منابع زیستی نظیر عصاره گیاهان، میکروارگانیسم‌ها و ترکیبات طبیعی به عنوان عوامل کاهنده و پایدارکننده استفاده می‌شود که علاوه بر کاهش مصرف مواد شیمیایی مضر، فرآیند سنتز را ساده‌تر و اقتصادی‌تر می‌کند [۴].

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که استفاده از عصاره‌های گیاهی در سنتز سبز نانوذرات می‌تواند منجر به تولید ذراتی با اندازه کوچک، توزیع یکنواخت و پایداری مناسب شود. برای مثال، در پژوهش‌هایی با استفاده از عصاره میوه ازگیل وحشی، زرشک وحشی و ولیک، نانوذرات کروی CuO با اندازه ۵۰ تا ۱۰۰ نانومتر سنتز شد که فعالیت ضد باکتری قابل توجهی از خود نشان دادند [۲]. با استفاده از عصاره گیاه سوسن آتش نیز نانوذراتی بسیار ریزتر CuO (۵ تا ۱۰ نانومتر) سنتز شده‌اند که خاصیت ضد میکروبی قوی در برابر باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* داشته‌اند [۵]. همچنین، عصاره پوست انار در سنتز سل-ژل نانوذرات CuO با اندازه متوسط ۳۵ نانومتر استفاده شد و عملکرد ضد باکتری مطلوبی نشان داده است [۶].

تاکنون در تحقیقات مختلف نانوذرات MgO، با استفاده از عصاره‌های گیاهی و زیستی سنتز شده‌اند. به کمک عصاره پوست پرتقال، نانوذرات MgO با اندازه تقریبی ۵۰ تا ۶۰ نانومتر با خاصیت ضد باکتری و ضد قارچی قوی علیه باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا سنتز شدند [۷]. با استفاده از عصاره برگ گواوا و آلوئه‌ورا، نانوذرات MgO با ساختار مکعبی و عملکرد مؤثر ضد میکروبی در برابر *E. coli* و *S. aureus* تهیه شد [۸]. علاوه بر این، سنتز MgO با استفاده از جلبک دریایی قهوه‌ای ذراتی پایدار با اندازه تقریبی ۶۸ نانومتر ایجاد کرد که ضمن نشان دادن فعالیت ضدباکتری و ضدقارچی، خواص سمیت سلولی کنترل شده و توان فوتوکاتالیستی نیز داشتند [۹].

مقایسه نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات، شامل اندازه، مورفولوژی، روش سنتز و نوع عامل زیستی مورد استفاده، تأثیر قابل توجهی بر عملکرد ضد باکتری آن‌ها دارد. در میان روش‌های مختلف سنتز، سنتز سبز به دلیل استفاده از منابع طبیعی، کاهش مصرف مواد شیمیایی سمی و سازگاری زیست محیطی، به عنوان یک رویکرد مناسب برای تولید نانوذرات اکسید فلزی مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش، عصاره آبی گیاه *Verbascum thapsus* به دلیل دارا بودن ترکیبات زیست فعال متعدد، از جمله ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و سایر متابولیت‌های ثانویه، که دارای گروه‌های عاملی هستند، به عنوان عامل زیستی انتخاب شد. این ترکیبات می‌توانند از طریق برهم‌کنش با پیش‌ماده‌های فلزی، کنترل فرآیند تشکیل، محدود کردن رشد ذرات و پایداری‌سازی سطح نانوذرات نقش مؤثری ایفا کنند. بنابراین، در پژوهش حاضر نانوذرات CuO و MgO با استفاده از عصاره آبی *Verbascum thapsus* سنتز شده و ویژگی‌های ساختاری، مورفولوژیکی و فعالیت ضد باکتری آن‌ها مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته است.

با وجود گزارش‌های مختلف درباره سنتز سبز نانوذرات CuO و MgO با استفاده از عصاره‌های گیاهی مختلف، اغلب این مطالعات تنها بر سنتز و بررسی یکی از این اکسیدهای فلزی متمرکز بوده‌اند. تاکنون مطالعه‌ای که سنتز و مقایسه مستقیم نانوذرات CuO و MgO حاصل از یک عصاره گیاهی یکسان را از نظر ویژگی‌های مختلف تحت شرایط سنتز مشابه بررسی کند، انجام نشده است.

۲- مواد اولیه و روش کار

در این پژوهش، تمامی مواد شیمیایی از درجه خلوص آزمایشگاهی برخوردار بوده و بدون هرگونه خالص‌سازی اضافی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. نیتрат منیزیم ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 99%)، نیترات مس ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 98%) از شرکت ADS (ایران) تهیه شدند. گیاه خرگوشک از منطقه طبیعی ابر، شهرستان شاهرود (استان سمنان) جمع‌آوری شد. برگ‌های گیاه پس از شست‌وشو با آب مقطر در دمای محیط خشک شده و سپس به صورت پودر درآورده شدند.

۲-۱- عصاره گیری

ابتدا ۱۰ گرم از پودر خشک شده گیاه خرگوشک در ۱۰۰ ml آب مقطر در یک ارلن شیشه‌ای (پیرکس) سرپوشیده ریخته شد. پس از ۱۵ دقیقه زمان خیس خوردگی اولیه، مخلوط به مدت ۲ ساعت در دمای 70°C در آون قرار داده شد و در این مدت هر ۳۰ دقیقه یکبار به آرامی همزده شد. در پایان، محلول حاصل (که با VT نام گذاری می‌شود) با استفاده از کاغذ صافی واتمن جدا شد تا عصاره بدون ذرات گیاه به دست آید (شکل ۱).



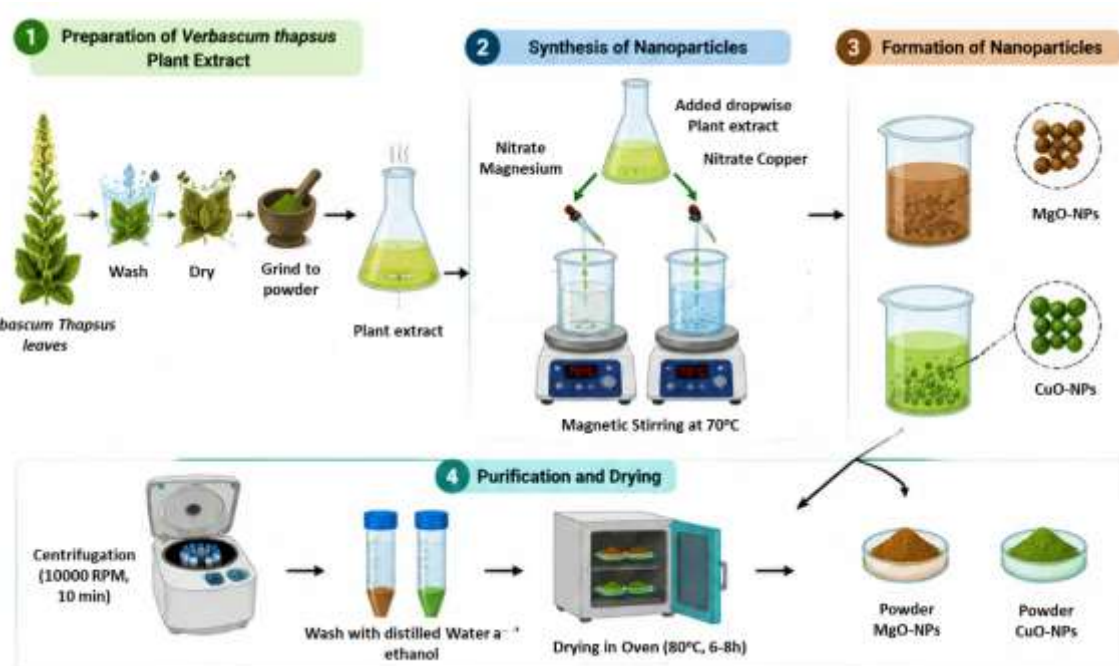
شکل ۱. تصاویر عصاره بدست آمده از گیاه خرگوشک

۲-۲- سنتز اکسید فلزات

به منظور سنتز سبز نانوذرات اکسید منیزیم (MgO-NPs) و اکسید مس (CuO-NPs)، از عصاره آبی گیاه خرگوشک به عنوان عامل احیا کننده و پایدارکننده استفاده شد. در این روش، از نیترات منیزیم و نیترات مس به طور جداگانه یک گرم در ۱۰ ml آب مقطر سه بار تقطیر شده حل شدند تا محلول‌های پیش‌ساز تهیه گردد.

سپس ۰.۵ ml از عصاره آبی گیاه خرگوشک به صورت قطره‌ای و طی حدود ۵ دقیقه به هر یک از محلول‌ها افزوده شد. واکنش در حین همزدن مداوم در دمای 70°C انجام گرفت و pH حدود ۷ نگه داشته شد. مخلوط واکنش به مدت ۶۰ دقیقه تحت همزدن ادامه یافت تا فرایند احیا و تشکیل نانوذرات انجام شود. رنگ محلول حاوی اکسید مس و اکسید منیزیم به ترتیب سبز و قهوه‌ای شدند. شکل ۲ شماتیک فرآیند آماده سازی و سنتز نانوذرات را نشان می‌دهد.

پس از پایان واکنش، مخلوط حاصل به مدت ۱۲ ساعت در دمای 70°C حرارت داده شد تا فرایند پیرسازی و تشکیل کامل رسوب نانوذرات صورت گیرد. سپس محلول به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد تا رسوب نانوذرات از فاز مایع جدا شود. رسوب به دست آمده ۳ بار با آب مقطر و یک بار با الکل ۹۶٪ شستشو داده شد تا ناخالصی‌های احتمالی حذف گردد. در نهایت، نمونه‌ها در آون و در دمای 100°C به مدت ۶ ساعت خشک شدند تا نانوذرات پایدار MgO-NPs و CuO-NPs حاصل شود.



شکل ۲. شماتیک فرآیند آماده سازی عصاره و سنتز نانوذرات.

۲-۳- مشخصه یابی

ساختار بلوری و فازی نانوذرات سنتز شده با استفاده از پراش پرتو ایکس (XRD) با دستگاه Bruker D8 Advance (ژاپن) و تابش Cu-K α (با طول موج $1.54 \text{ \AA}$) در محدوده زاویه‌ای 2θ بین 10° تا 80° مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. گروه‌های عاملی و ویژگی‌های پیوندی نمونه‌ها توسط طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوری (FTIR) در محدوده 400 تا 4000 cm^{-1} با استفاده از دستگاه Shimadzu FTIR-8400S (ژاپن) بررسی شد.

مورفولوژی و ساختار سطحی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) مدل CIQTEK SEM5000X (چین) مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین، ترکیب عناصر تشکیل دهنده نانوذرات سنتز شده توسط طیفسنجی تفرق انرژی پرتو ایکس (EDS) متصل به میکروسکوپ FESEM در ولتاژ شتاب ۳۰ KV تعیین گردید. علاوه بر این، خواص نوری نمونه‌ها جهت تایید تشکیل نانوذرات، با استفاده از طیفسنجی مرئی-فرابنفش (UV-Vis) در محدوده طول موج nm ۲۰۰ تا ۸۰۰ با دستگاه Shimadzu UV-1800 (ژاپن) بررسی شد.

۲-۴- بررسی خواص ضد باکتری

فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات MgO-NPs و CuO-NPs با تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) علیه *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) و *Escherichia coli* (ATCC 25922) ارزیابی شد. برای تهیه سوسپانسیون نانوذرات، ۳ میلی گرم از هر پودر نانوذره در ۳ ml آب دی‌یونیزه استریل حل گردید و به مدت ۲ دقیقه با ورتکس مخلوط شد. سپس برای یکنواختی پراکنش، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک (۴۰ KHz) قرار گرفتند. در این آزمون، کنترل مثبت شامل محیط کشت حاوی باکتری بدون نانوذره (کنترل رشد) و کنترل منفی شامل محیط کشت استریل بدون باکتری بود. همچنین، آب دی‌یونیزه استریل مورد استفاده برای تهیه سوسپانسیون نانوذرات نیز به عنوان کنترل حلال بررسی شد و هیچ اثر ضد باکتری از آن مشاهده نشد.

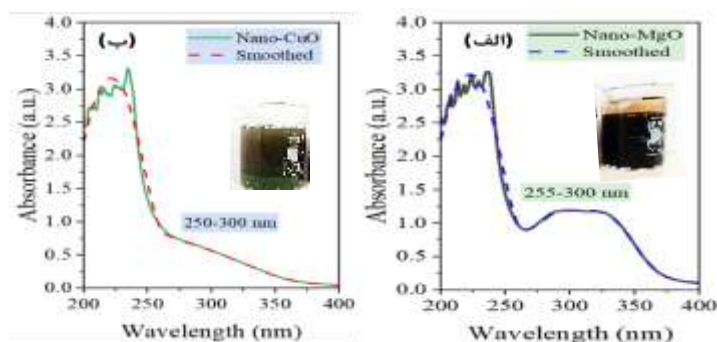
تعیین MIC با روش رقت‌سازی دوبرابری در پلیت میکروتیتر ۹۶ خانه استریل انجام شد؛ به طوری که غلظت نهایی نانوذرات در دامنه ۱۰۰۰ تا ۱،۹۵ میکروگرم بر میلی لیتر قرار گرفت. سپس کشت باکتری با غلظت حدود 10^6 CFU/ml (بر اساس استاندارد MF ۵،۰) به چاهک‌ها اضافه شد. پلیت‌ها در 37°C به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند و MIC به عنوان کمترین غلظت نانوذره که در آن رشد قابل مشاهده‌ای مشاهده نشد، ثبت شد.

برای تعیین MBC، از چاهک‌های بدون رشد (مطابق MIC)، مقدار $10\ \mu\text{l}$ برداشت و روی آگار مولر-هینتون استریک شد. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته در 37°C ، MBC به عنوان کمترین غلظت نانوذره که منجر به عدم تشکیل کلنی قابل مشاهده گردید تعیین گردید.

۳- نتایج و بحث

طیف‌های جذب فرابنفش-مرئی (UV-vis) نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس سنتز شده به روش سبز در شکل ۳، بیانگر تشکیل موفق ساختارهای نانومتری با رفتار نوری ویژه اکسیدهای فلزی است. MgO-NPs یک پیک جذب مشخص در ناحیه تقریباً ۲۵۵-۳۰۰ nm نشان می‌دهند که معمولاً به انتقال‌های الکترونی باند-باند و وجود نقص‌های سطحی مرتبط با فرآیندهای زیستی سنتز نسبت داده می‌شود. در مورد CuO-NPs نیز یک پیک جذب قوی در ناحیه ۲۵۰-۳۰۰ nm مشاهده می‌شود که این ناحیه پیش‌تر به عنوان ناحیه جذب شاخص برای CuO نانو مقیاس گزارش شده و نشان دهنده تشکیل موفق فاز اکسیدی

و اندازه کوچک ذرات است. حضور این قله‌های جذب در هر دو نمونه تأیید می‌کند که روش سنتز سبز مورد استفاده، توانایی تولید نانوذرات را داشته است.

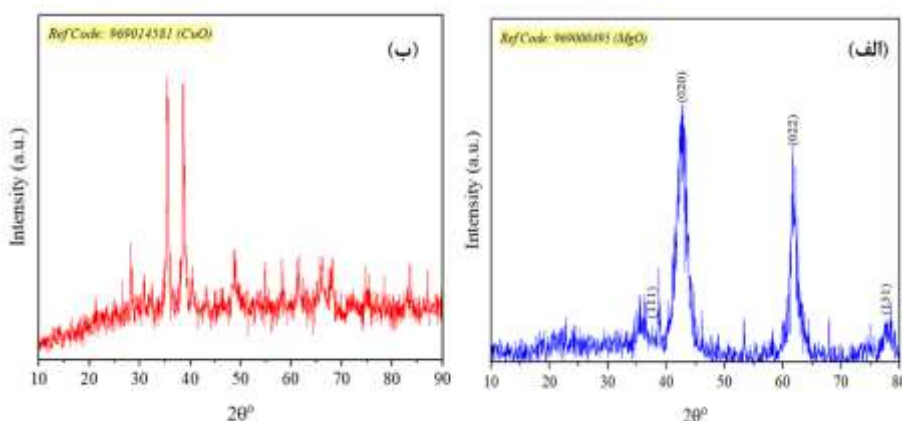


شکل ۳. طیف سنجی UV-vis، (الف) اکسید منیزیم و (ب) اکسید مس

با توجه به شکل ۴، الگوهای پراش پرتو ایکس (XRD) نانوذرات MgO-NPs و CuO-NPs به ترتیب با کارتهای استاندارد ICDD-PDF شماره ۹۶-۹۰۰-۰۴۹۵ و ۹۶-۱۰۱-۱۱۴۹ مطابقت دارند. در الگوی MgO-NPs، پیک‌های مشخص در زوایای $2\theta = 36.8^\circ$ ، 42.8° ، 62.3° و 74.6° مشاهده شد که به ترتیب به صفحات (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) ساختار مکعبی MgO نسبت داده می‌شوند. در الگوی CuO-NPs نیز پیک‌های اصلی در زوایای $2\theta = 32.5^\circ$ ، 35.6° ، 38.7° ، 48.7° و 53.5° ظاهر شدند که به صفحات $(11\bar{1})$ ، (۱۱۱)، $(20\bar{2})$ ، (۲۰۲) و (۰۲۰) ساختار مونوکلینیک CuO مربوط هستند و تشکیل موفق فاز CuO را تأیید می‌کنند [۲، ۳، ۱۰]. درصد بلورینگی نانوذرات با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد [۱۱]:

$$CI \% = \frac{I_{crystalline}}{I_{total}} \times 100$$

در این رابطه $I_{crystalline}$ ، مساحت زیر پیک‌های بلوری در الگوی XRD و I_{total} مساحت کل زیر الگو که شامل پیک‌های کریستالی و آمورف هستند. برای تعیین درصد بلورینگی، مساحت زیر پیک‌های پراش مربوط به فازهای بلوری پس از شناسایی موقعیت پیک‌ها محاسبه شد. انتگرال‌گیری از سطح زیر پیک‌ها با استفاده از نرم افزار OriginPro 2022 انجام شد. سپس درصد بلورینگی نسبی بر اساس نسبت مجموع مساحت پیک‌های بلوری به کل سطح زیر منحنی پراش در محدوده مورد بررسی محاسبه شد.



شکل ۴. طیف پراش اشعه X نانو ذرات (الف) اکسید منیزیم و (ب) اکسید مس

بر این اساس، درصد بلورینگی برای MgO-NPs برابر ۶۳٫۵٪ و برای CuO-NPs برابر ۳۹٫۱٪ به دست آمد. این اختلاف نشان‌دهنده نظم بلوری بیشتر و کیفیت ساختاری بالاتر نانوذرات MgO-NPs نسبت به نانوذرات CuO-NPs است؛ موضوعی که با تصاویر میکروسکوپ الکترونی ارائه شده در شکل ۶ نیز همخوانی دارد.

برای تعیین اندازه بلورک‌های نانوذرات، از معادله شرر استفاده شد که به صورت زیر بیان می‌شود [۱۲]:

$$D = \frac{K \lambda}{\beta \cos \theta}$$

که در آن، D اندازه بلورک، k ثابت شکل (۰٫۸۹)، λ طول موج پرتو X مورد استفاده (Cu K α)، برابر با ۰٫۱۵۴۰۶ nm، β پهنای پیک در نیمه ارتفاع (FWHM) بر حسب رادیان و θ زاویه براگ است. اندازه بلورک‌ها با استفاده از پهن شدگی پیک‌های پراش و بر اساس معادله شرر محاسبه شد. نتایج نشان داد که میانگین اندازه بلورک نانوذرات MgO و CuO به ترتیب حدود ۲۰ و ۱۶٫۸ نانومتر است.

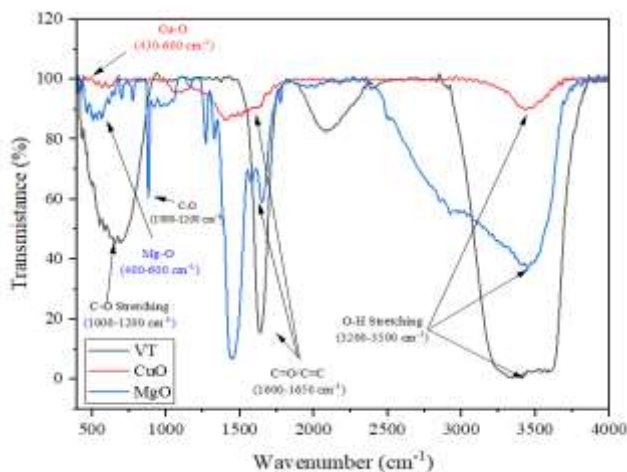
جدول ۱. بلورینگی و اندازه بلورک‌ها به روش شرر

نانو ذره	درصد بلورینگی (%CI)	اندازه بلورک، nm
MgO-NPs	۶۳٫۵	۲۰٫۰
CuO -NPs	۳۹٫۱	۱۶٫۸

طیف FTIR عصاره گیاهی و نانوذرات در شکل ۵، حضور گروه‌های عاملی زیست فعال موجود در عصاره *Verbascum thapsus* و مشارکت احتمالی آن‌ها در فرآیند تشکیل نانوذرات را نشان می‌دهد. باند پهن O-H در ناحیه $3200-3500\text{ cm}^{-1}$ به گروه‌های هیدروکسیل مربوط بوده و معمولاً به پلی‌فنول‌ها/الکل‌ها و نیز آب جذب شده نسبت داده می‌شود. همچنین باندهای مشاهده شده در حدود $1600-1650\text{ cm}^{-1}$ می‌تواند به ارتعاشات C=O (مانند کربونیل‌های کونژوگه/آمیدی) و/یا C=C آروماتیک مربوط باشد که با حضور فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها و ترکیبات آروماتیک موجود در عصاره سازگار است و نقش مهمی در احیای یون‌های فلزی و پایدارسازی سطح نانوذرات دارد. حضور باندهای C-O در محدوده $1000-1200\text{ cm}^{-1}$ نیز به دلیل وجود ترکیبات الکلی، فنولی و/یا کربوهیدراتی است که غالباً به عنوان عامل پوشش دهنده و پایدارکننده روی سطح نانوذرات عمل می‌کنند [۱۳-۱۵]. این ترکیبات با تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی، انتقال الکترون و احیای آن‌ها به نانوذرات، نقش عامل کاهنده را ایفا می‌کنند. همچنین، جذب این مولکول‌ها بر سطح نانوذرات سنتز شده، با ایجاد ممانعت فضایی و برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی، از طریق کنترل فرآیند هسته‌زایی از تجمع ذرات جلوگیری کرده و سبب محدود شدن رشد ذرات و افزایش پایداری آن‌ها می‌شود.

در طیف FTIR ذرات MgO-NPs سنتز شده با عصاره، علاوه بر باقی ماندن برخی باندهای O-H و C-O ناشی از ترکیبات پوشش دهنده، انتظار می‌رود باند مشخص ارتعاش Mg-O در ناحیه $400-600\text{ cm}^{-1}$ ظاهر شود [۱۶-۱۸]. به طور مشابه،

ذرات CuO-NPs نیز معمولاً باند ویژه Cu-O را در محدوده $500-600\text{ cm}^{-1}$ (و گاهی یک باند ضعیف‌تر در حدود cm^{-1} ۴۸۰-۴۳۰) نشان می‌دهند [۱۹، ۲۰]. این الگوی طیفی با گزارش‌های موجود درباره سنتز سبز اکسیدهای فلزی مطابقت داشته و تأیید می‌کند که ترکیبات زیست فعال عصاره می‌توانند هم‌زمان نقش عامل احیا کننده و پایدار کننده را در فرآیند تشکیل نانوذرات ایفا کنند.

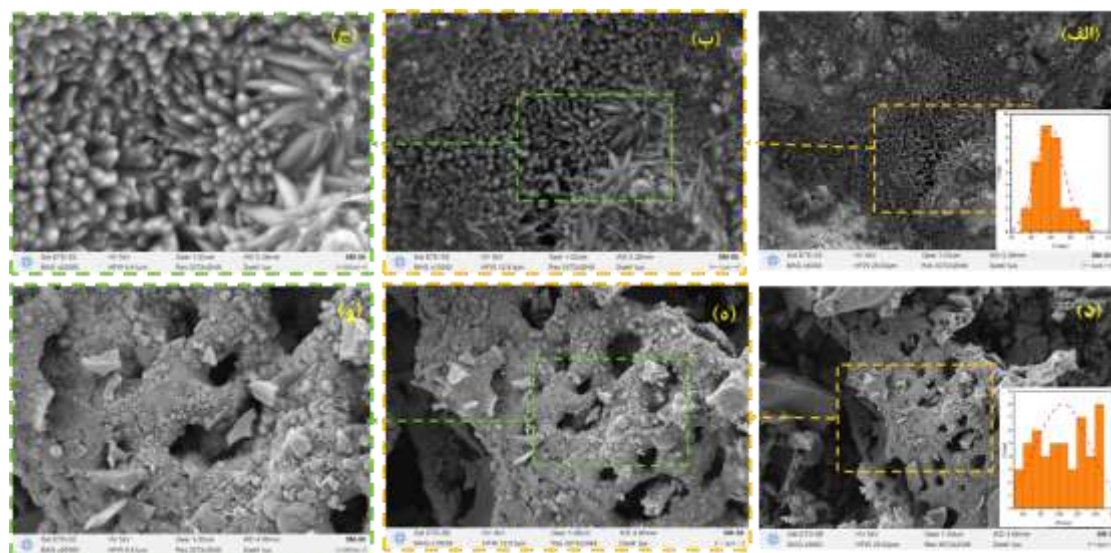


شکل ۵. طیف FTIR عصاره و نانوذرات پودری

تصاویر FESEM نانوذرات MgO-NPs نشان می‌دهد که این اکسید دارای مورفولوژی نانومیله‌ای/نانوسوزنی متراکم است که از تجمع کریستال‌های کشیده با رشد جهت‌دار تشکیل شده‌اند. قطر نانومیله‌ها در محدوده تقریبی ۵۰ تا ۱۵۰ nm و طول آن‌ها حدود ۳۰۰ تا ۸۰۰ nm برآورد می‌شود. این مورفولوژی بیانگر رشد ناهمسانگرد بلورها و حفظ نسبی ساختار پیش‌ماده در طی استحاله حرارتی است. به احتمال زیاد MgO از تجزیه حرارتی Mg(OH)_2 حاصل شده و طی استحاله توپوتاکتیک، ضمن خروج مولکول‌های آب، جهت‌گیری بلوری اولیه حفظ شده است. بنابراین ساختار میل‌های مشاهده شده را می‌توان نتیجه مستقیم رشد ترجیحی بلورها و استحاله فازی Mg(OH)_2 به MgO دانست [۲۱، ۲۲]. همچنین آگلومراسیون قابل توجه نانومیله‌ها ناشی از انرژی سطحی بالای ذرات و نیروهای جاذبه بین‌ذره‌ای است.

در مقابل، تصاویر FESEM مربوط به نانوذرات CuO-NPs، مورفولوژی کاملاً متفاوتی را نشان می‌دهند؛ به طوری که ساختاری اسفنجی و سه بعدی با حفرات متعدد و به هم پیوسته در تمام سطح نمونه مشاهده می‌شود. اندازه منافذ موجود در ساختار متخلخل در محدوده تقریبی ۲۰۰ تا ۸۰۰ nm قرار داشته و دیواره‌های این منافذ از تجمع نانوذراتی با اندازه حدود ۳۰ تا ۱۰۰ nm تشکیل شده‌اند. تشکیل این ساختار متخلخل را می‌توان به استحاله حرارتی Cu(OH)_2 به CuO و خروج بخار آب از شبکه بلوری نسبت داد که موجب انقباض موضعی، ایجاد حفرات و افزایش تخلخل شده است. علاوه بر این، اختلاف نرخ نفوذ گونه‌های یونی در طول فرآیند اکسیداسیون و استحاله می‌تواند موجب ایجاد حفرات از طریق مکانیسم کرکندال شود [۲۳، ۲۴].

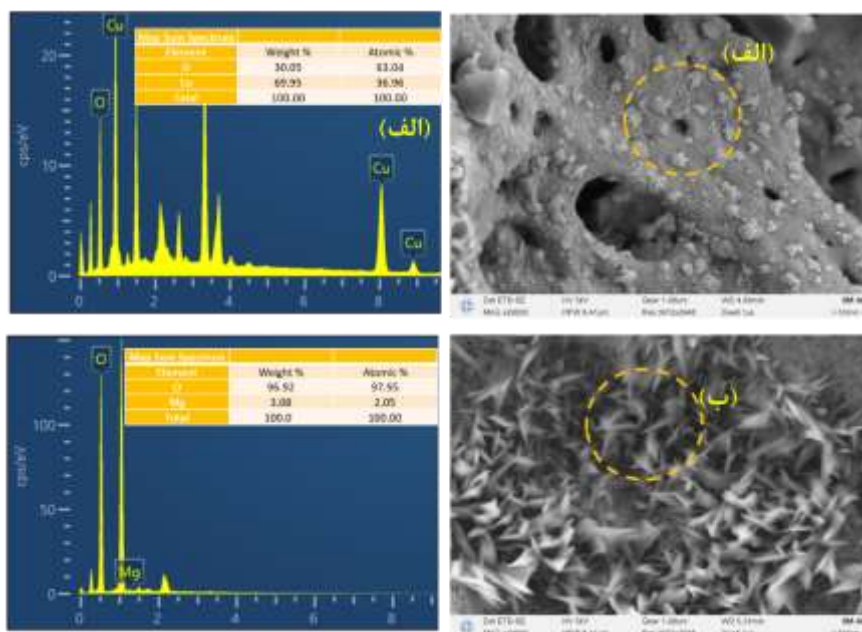
زبری دیواره‌های منافذ نیز نشان می‌دهد که ساختار نهایی از تجمع و به هم پیوستن نانوکریستال‌های CuO تشکیل شده است. در نتیجه، MgO عمدتاً تحت تأثیر رشد بلوری جهت‌دار و استتال توپوتاکتیک قرار گرفته، در حالیکه در CuO استتال فاز ی همراه با خروج مواد فرار و تشکیل تخلخل نقش غالب را در ایجاد مورفولوژی نهایی ایفا کرده است.



شکل ۶ تصاویر FESEM نانو ذرات الف-ج) اکسید منیزیم و د-و) اکسید مس

این تمایز ساختاری عمیق، مستقیماً مکانیسم و بازدهی عملکرد ضد باکتری این دو اکسید را از دو مسیر فیزیکی و شیمیایی تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ به طوری که لبه‌های تیز و ساختار ناهمسانگرد نانوسوزن‌های MgO-NPs با اعمال تمرکز تنش مکانیکی بالا بر روی غشای پلاسمایی باکتری، موجب تخریب و پارگی فیزیکی آن می‌گردد، در حالیکه ساختار متخلخل و اسفنجی CuO با فراهم آوردن سطح ویژه بسیار بالا، ضمن تسهیل نفوذ سیال زیستی، سینتیک رهایش یون‌های فعال Cu^{2+} را به شدت تسریع کرده و از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، منجر به فروپاشی شیمیایی دیواره و اجزای داخلی باکتری می‌شود [۲، ۲۵].

نتایج آنالیز EDS در شکل ۷ صحت تشکیل اکسیدهای فلزی و خلوص بالای نمونه‌ها را تأیید می‌کند. در طیف مربوط به CuO (تصویر الف)، حضور پیک‌های قدرتمند عناصر مس و اکسیژن بدون مشاهده هیچ پیک مربوط به عناصر ناخالصی، بیانگر موفقیت آمیز بودن فرآیند سنتز و تبدیل کامل پیش ماده به فاز اکسیدی است. در نمونه MgO-NP (تصویر ب) نیز پیک‌های منیزیم و اکسیژن به وضوح مشاهده می‌شوند؛ غلبه پیک اکسیژن در این نمونه را می‌توان به ماهیت نانومتری و متخلخل نانوسوزن‌ها نسبت داد که باعث افزایش سطح تماس و احتمال جذب گونه‌های اکسیژنی یا تأثیر زمینه در هنگام ثبت طیف شده است. به طور کلی، نتایج اتمی و وزنی استخراج شده از جداول، ضمن تأیید استوکیومتری فازهای اکسیدی، نشان دهنده توزیع یکنواخت عناصر در ساختارهای نانوسوزنی و اسفنجی است که این خلوص فازی بالا، نقشی تعیین کننده در پایداری خواص ضد باکتری و مکانیسم‌های آزادسازی یون در کاربردهای نهایی ایفا می‌کند.



شکل ۷. نتایج آنالیز EDS از نانو ذرات الف) اکسید مس و ب) اکسید منیزیم

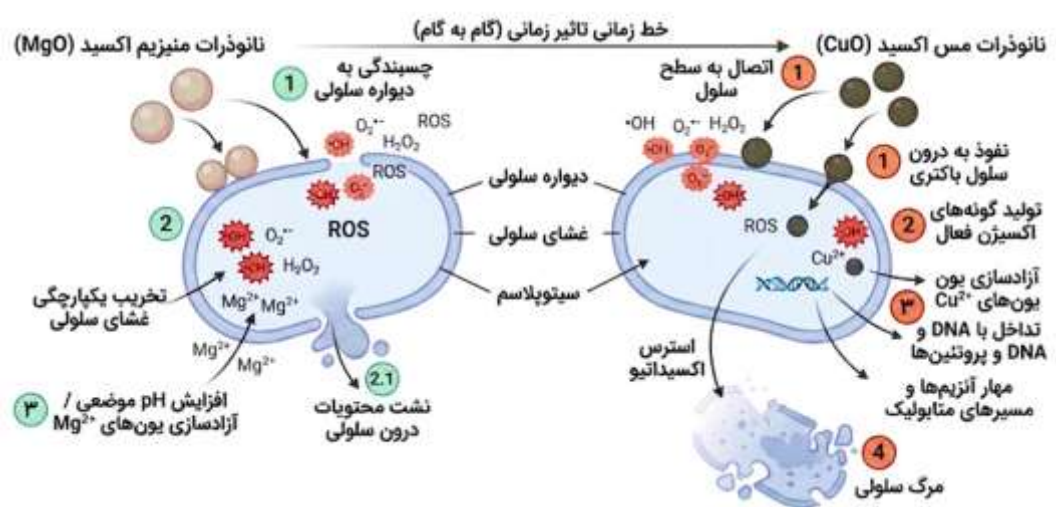
در مطالعات مختلف، MgO-NPs سنتز شده به روش سبز با استفاده از کیتوسان دارای اندازه‌ای در حدود ۲۵ nm تا ۶۰ nm گزارش شده‌اند. همچنین، با استفاده از عصاره برگ *Manihot esculenta*، اندازه ذرات MgO-NPs در محدوده ۳۵,۹ nm تا ۴۷,۳ [۱۰] و با عصاره برگ *Lawsonia inermis* در بازه ۱۰ nm تا ۱۰۰ [۱۶] به دست آمده است. در مورد ذرات CuO-NPs نیز سنتز سبز با استفاده از عصاره‌های ازگیل وحشی، زالزالک وحشی و زرشک منجر به تشکیل ذراتی با اندازه‌های به ترتیب ۵۰-۷۰، ۶۰-۱۰۰ و ۵۰-۸۰ نانومتر شده است [۱۹]. علاوه بر این، با استفاده از عصاره *Parthenium hysterophorus*، اندازه ذرات CuO-NPs حدود ۲۹,۷ nm گزارش شده است [۲۶].

شکل ۸، مکانیزم ضد باکتری توسط نانوذرات را نشان می‌دهد. نانوذرات MgO-NPs و CuO-NPs عمدتاً بر پایه سه مسیر اصلی عمل می‌کند: تعامل مستقیم با دیواره سلولی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، و آزادسازی یون‌های فلزی. ابتدا نانوذرات به دلیل بار سطحی و اندازه کوچک خود به سطح باکتری متصل شده و با ایجاد تنش مکانیکی، موجب تخریب لایه‌های لیپیدی، تغییر نفوذپذیری و نهایتاً نشت محتویات سلولی می‌شوند. در مرحله بعد، این نانوذرات با کاتالیز واکنش‌های اکسیداسیون، مقدار قابل توجهی از گونه‌های فعال اکسیژن نظیر $\text{OH}^\bullet$ ، $\text{O}_2^{\bullet-}$ و H_2O_2 تولید می‌کنند که مستقیماً به پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA باکتری آسیب زده و فرآیندهای متابولیک را مختل می‌کند.

در نانوذرات CuO-NPs، مکانیزم آزادسازی یون‌های Cu^{2+} نقش بسیار مهمی دارد؛ این یون‌ها با پروتئین‌های غشایی و آنزیم‌های حیاتی باکتری پیوند برقرار کرده و موجب واسرشتگی (Denaturation) شدن پروتئین‌ها و اختلال در تنفس سلولی می‌شوند. در MgO-NPs نیز سطح قلیایی ذرات و توانایی آن‌ها در تولید ROS و برهم‌کنش الکترواستاتیکی با غشا، عامل اصلی ایجاد اثرات کشندگی است. مجموع این فرایندها باعث ایجاد آسیب اکسیداتیو شدید، توقف رشد و در نهایت مرگ

سلول های باکتری می شود؛ مکانیزمی که با گزارش های متعدد در زمینه فعالیت ضد باکتری نانوذرات اکسیدهای فلزی همخوانی دارد [۲، ۲۷، ۲۸].

نتایج ارزیابی ضد باکتری، نشان می دهد که نانوذرات سنتز شده به روش سبز با عصاره خرگوشک، CuO-NPs و MgO-NP رفتار مهارتی متفاوتی در برابر باکتری های گرم منفی (*E. coli*) و گرم مثبت (*S. aureus*) دارند. هر دو نانوذره حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی یکسانی برای *E. coli* نشان دادند (MIC= MBC= 270 $\mu\text{g/ml}$) که بیانگر نیاز به غلظت های نسبتاً بالاتر برای غیرفعال سازی این باکتری گرم منفی است. در مقابل، فعالیت نانوذرات در برابر *S. aureus* بسیار قوی تر بود؛ به طوری که نانوذرات MgO-NP با MIC و MBC برابر ۱۳۵ $\mu\text{g/ml}$ اثرگذاری قابل توجهی نشان دادند. چشمگیرترین فعالیت مربوط به نانوذرات CuO-NPs بود که توانستند با مقادیر بسیار پایین تر (MIC= MBC= 33.75 $\mu\text{g/ml}$) *S. aureus* را مهار و غیرفعال کنند. این نتایج نشان می دهد که CuO-NPs عملکرد ضد باکتری به مراتب قوی تری نسبت به MgO-NP دارد، به ویژه در مقابل باکتری های گرم مثبت، که احتمالاً به دلیل آزادسازی مؤثر یون های Cu^{2+} و تولید بالاتر گونه های فعال اکسیژن است [۲].



شکل ۸. شماتیک پیشنهادی مکانیسم ضد باکتری نانوذرات MgO-NPs و CuO-NPs. بر اساس مطالعات پیشین و بازطراحی شده با استفاده از ابزار هوش مصنوعی Nano Banana 2 (Gemini 3.1 Flash Image)

بررسی نتایج جدول ۲ نشان می دهد که CuO-NPs در مقایسه با MgO-NPs فعالیت ضدباکتری بالاتری از خود نشان می دهند، به طوری که مقادیر MIC برای CuO-NPs به طور قابل توجهی کمتر از MgO-NPs است. این برتری را می توان به مکانیسم های چندگانه ضدباکتری CuO نسبت داد. نانوذرات CuO علاوه بر برهم کنش مستقیم با غشای سلولی، با آزادسازی یون های Cu^{2+} و تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) موجب تخریب غشا، اکسیداسیون پروتئین ها، آسیب به DNA و در

نهایت مرگ سلولی می‌شوند. در مقابل، عملکرد MgO-NPs عمدتاً به تولید ROS، قلیایی شدن محیط اطراف ذره و تماس مستقیم با دیواره سلولی وابسته است؛ از این رو معمولاً فعالیت ضدباکتریایی ضعیف‌تری نسبت به CuO نشان می‌دهد.

مقایسه با مطالعات پیشین نیز نشان می‌دهد که نانوذرات MgO سنتز شده با استفاده از عصاره‌های *Citrullus colocynthis*، *Saussurea costus* و *Plumbago zeylanica* با اندازه ذرات حدود ۱۰ تا ۵۰ نانومتر، به دلیل سطح ویژه بالاتر و نسبت سطح به حجم بیشتر، فعالیت ضدباکتری مطلوبی در برابر *S. aureus*، *E. coli* و *P. aeruginosa* از خود نشان داده‌اند [۲۹-۳۱]. در مقابل، در پژوهش حاضر نانوذرات MgO دارای مورفولوژی میله‌ای با قطر حدود ۵۰-۱۵۰ نانومتر و طول ۳۰۰-۸۰۰ نانومتر بودند که نسبت به نانوذرات کروی یا کوچک‌تر، سطح ویژه مؤثر کمتری داشته و احتمال تجمع نیز در آن‌ها بیشتر است؛ این موضوع می‌تواند دلیل مقادیر بالاتر MIC در مطالعه حاضر باشد.

در مورد CuO-NPs نیز نتایج این پژوهش با مطالعات گزارش شده برای نانوذرات سنتز شده با عصاره‌های *Averrhoa carambola*، *Tridax procumbens* و *Balanites aegyptiaca* همخوانی دارد و نشان می‌دهد که CuO حتی در بازه اندازه ذرات ۳۰-۱۰۰ نانومتر نیز فعالیت ضدباکتری قابل توجهی حفظ می‌کند [۲۳، ۲۴، ۳۲]. این موضوع بیانگر آن است که در CuO، علاوه بر اندازه ذرات، آزادسازی یون‌های Cu^{2+} و تولید ROS نقش غالب‌تری در مهار رشد باکتری‌ها دارند؛ بنابراین کاهش جزئی اندازه ذرات نسبت به MgO تأثیر کمتری بر عملکرد نهایی دارد.

به طور کلی، اختلاف نتایج گزارش شده در مطالعات مختلف را می‌توان به عواملی مانند اندازه و مورفولوژی ذرات، درجه آگلومراسیون، بلورینگی، روش سنتز، نوع و ترکیب فیتوشیمیایی عصاره گیاهی، غلظت نانوذرات، سویه باکتری مورد آزمایش و شرایط انجام آزمون ضدباکتری نسبت داد. با وجود اینکه نانوذرات سنتز شده در این پژوهش با استفاده از عصاره *Verbascum thapsus* نسبت به برخی مطالعات دارای اندازه بزرگ‌تری بودند، CuO-NPs همچنان فعالیت ضدباکتری بالاتری نسبت به MgO-NPs نشان دادند که بیانگر نقش غالب ترکیب شیمیایی و مکانیسم‌های اختصاصی CuO در مهار رشد باکتری‌ها است. نوع عصاره گیاهی به عنوان عامل مؤثر در فرآیند سنتز سبز، بر ویژگی‌های ساختاری و در نتیجه بر عملکرد زیستی نانوذرات تأثیر گذار بوده است [۲]. به طور کلی، CuO دامنه اثر وسیع‌تری علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داده است، در حالیکه MgO در برخی موارد حساسیت بیشتری به تغییرات ساختاری و اندازه ذره دارد. زیرا فعالیت ضد باکتری آن عمدتاً به ویژگی‌های فیزیکی نظیر اندازه ذره، مورفولوژی، مساحت سطح ویژه و میزان آگلومراسیون وابسته است. کاهش اندازه ذرات موجب افزایش نسبت سطح به حجم، افزایش تعداد سایت‌های فعال و تماس مؤثرتر با دیواره سلولی باکتری می‌شود، در حالی که تجمع ذرات یا تغییر در مورفولوژی می‌تواند این برهم‌کنش را کاهش داده و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را محدود کند. از این رو، تغییرات کوچک در شرایط سنتز که بر اندازه و ساختار MgO اثر می‌گذارند، می‌توانند به طور محسوسی عملکرد ضد باکتری آن را تحت تأثیر قرار دهند [۲۵].

جدول ۲. مقایسه نانوذرات CuO-NPs و MgO-NPs

منبع	بakterی هدف	نتیجه ضد باکتری	مشخصات ذره (nm)	عصاره	نانوذرات
[۲۹]	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	MIC: ۳۵,۳ µg/ml / MBC: ۹۷,۱ µg/ml MIC: ۴۷,۵ µg/ml / MBC: ۱۰۵,۵ µg/ml	اندازه: ۲۵-۱۵	<i>Citrullus colocynthis</i>	MgO-NPs
[۳۰]	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Candida</i> spp.	Inhibition: ۱۵ mm (<i>E. coli</i>), ۱۶ mm (<i>P. aeruginosa</i>), ۱۴ mm (<i>S. aureus</i>), ۱۰-۱۲ mm (<i>B. subtilis</i>), ۱۷-۱۸ mm (<i>Candida tropicalis</i> and <i>C. glabrata</i>)	اندازه: ۵۰-۲۰	<i>Saussurea costus</i>	
[۳۱]	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>	فعالیت ضدباکتریایی قوی، کاهش رشد گرم مثبت و گرم منفی، وابسته به ROS و سطح ویژه بالا	اندازه: ۴۰-۱۰	<i>Plumbago zeylanica</i> leaf	
مطالعه حاضر	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	۱۳۵ µg/ml ۲۷۰ µg/ml	اندازه: ۵۰-۱۵۰ طول: ۳۰۰-۸۰۰	<i>Verbascum thapsus</i>	
[۲۳]	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	MIC: ~۵۰-۱۰۰ µg/ml (گزارش فعالیت قوی وابسته به دوز)	اندازه: ۲۵	<i>Averrhoa carambola</i> leaf	CuO-NPs
[۲۴]	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	Inhibition: ۷,۲-۷,۵ mm (<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>)	اندازه: ۳۰-۱۰	<i>Tridax procumbens</i> root	
[۳۲]	<i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. faecalis</i>	Inhibition: ≈ ۱۳ mm (<i>B. subtilis</i>) + فعالیت مؤثر علیه <i>E. coli</i> و <i>E. faecalis</i>	اندازه: ۴۰-۲۰	<i>Balanites aegyptiaca</i> stem bark	
مطالعه حاضر	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	۳۳,۷۵ µg/ml ۲۷۰ µg/ml	اندازه منافذ: ۸۰۰-۲۰۰ اندازه ذرات: ۱۰۰-۳۰	<i>Verbascum thapsus</i>	

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش، نانوذرات اکسید منیزیم (MgO) و اکسید مس (CuO) به روش سنتز سبز و با استفاده از عصاره گیاه خرگوشک (*Verbascum thapsus*) با موفقیت سنتز و مشخصه‌یابی شدند. نتایج آنالیزهای XRD، FTIR، FESEM و EDS تشکیل موفق نانوذرات با خلوص مناسب، ساختار بلوری مطلوب و مورفولوژی متمایز را تأیید کرد. همچنین بررسی فعالیت ضدباکتری نشان داد هر دو نانوذره دارای خاصیت مهارکنندگی در برابر باکتری‌های *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* هستند، اما نانوذرات CuO به دلیل ساختار متخلخل، سطح فعال بیشتر و احتمال آزادسازی مؤثرتر یون‌های مس، عملکرد ضدباکتری به مراتب بالاتری، به ویژه در برابر *S. aureus*، از خود نشان دادند.

نوآوری این پژوهش در سنتز سبز و مقایسه مستقیم نانوذرات MgO و CuO با استفاده از یک عصاره گیاهی یکسان و تحت شرایط سنتز مشابه است؛ موضوعی که امکان بررسی دقیق اثر نوع اکسید فلزی بر ویژگی‌های ساختاری، مورفولوژیکی و عملکرد ضد باکتری را فراهم کرده و در مطالعات پیشین کمتر مورد توجه قرار گرفته است. از نظر کاربردی، نتایج این پژوهش نشان

می‌دهد که نانوذرات سنتز شده، به ویژه CuO، می‌توانند گزینه‌های مناسبی برای استفاده در پوشش‌های ضد میکروبی، تجهیزات و مواد زیست‌پزشکی، سامانه‌های تصفیه آب و سایر فناوری‌های دوستدار محیط‌زیست باشند.

با این حال، این پژوهش دارای محدودیت‌هایی نیز است. ارزیابی فعالیت ضدباکتری تنها بر روی دو سویه باکتری انجام شد و بررسی سمیت سلولی، پایداری بلند مدت نانوذرات و ارزیابی عملکرد آن‌ها در شرایط واقعی انجام نگرفت. از اینرو، پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده، فعالیت این نانوذرات در برابر طیف گسترده‌تری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بررسی شود، مطالعات زیست‌سازگاری و سمیت سلولی انجام گیرد، شرایط سنتز برای بهینه‌سازی ویژگی‌های نانوذرات مورد ارزیابی قرار گیرد و امکان استفاده از این نانوذرات در کاربردهای عملی نظیر پوشش‌های پزشکی، بسته‌بندی‌های ضد میکروبی و سامانه‌های تصفیه آب مطالعه شود.

۵- مراجع

- [1] Jeevanandam, J., et al., Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. Beilstein journal of nanotechnology, 2018. **9**(1): p. 1050–1074.
- [2] Koohestani, H., A. Balooch, and H. Staji, Biosynthesis of CuO-nanoparticles using extracts of *Mespilus germanica*, *Crataegus* spp., and Wild barberry and their synergistic antibacterial activity. *Giant*, 2025: p. 100379.
- [3] Barzegar, M., et al., Green synthesis of magnesium oxide nanoparticles by chitosan polymer and assessment of their photocatalytic activity and cytotoxicity influences. *Materials Chemistry and Physics*, 2023. **301**: p. 127649.
- [4] Koohestani, H. and A. Balooch, Pathogen removal from simulated hospital wastewater via plant-mediated Ag nanoparticles synthesized with *Ferula assa-foetida* extract. *Journal of Applied Research in Water and Wastewater*, 2025.
- [5] Naika, H.R., et al., Green synthesis of CuO nanoparticles using *Gloriosa superba* L. extract and their antibacterial activity. *Journal of Taibah University for Science*, 2015. **9**(1): p. 7–12.
- [6] Siddiqui, V.U., et al., Green synthesis of copper oxide (CuO) nanoparticles by *Punica granatum* peel extract. *Materials Today: Proceedings*, 2021. **36**: p. 751–755.
- [7] Vijayakumar, S., V. Punitha, and N. Parameswari, Phytonanosynthesis of MgO nanoparticles: green synthesis, characterization and antimicrobial evaluation. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 2022. **47**(6): p. 6729–6734.
- [8] Umaralikhan, L. and M. Jamal Mohamed Jaffar, Green synthesis of MgO nanoparticles and its antibacterial activity. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 2018. **42**(2): p. 477–485.

- [9] Pugazhendhi, A., et al., Anticancer, antimicrobial and photocatalytic activities of green synthesized magnesium oxide nanoparticles (MgONPs) using aqueous extract of *Sargassum wightii*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2019. **190**: p. 86–97.
- [10] Essien, E.R., et al., Biogenic synthesis of magnesium oxide nanoparticles using *Manihot esculenta* (Crantz) leaf extract. *International Nano Letters*, 2020. **10**(1): p. 43–48.
- [11] Koohestani, H., A. Balooch, and M. Khoshshima, Low-hazard fabrication of natural zeolite@ NiO composite for Pb²⁺ removal from industrial wastewater: toxicity assessment. *Materials & Design*, 2026 :p. 116112.
- [12] Arefipour, N., H. Kohestani, and H. Gholami, Air purification and disinfection by biosynthesized Cu-doped TiO₂ nanoparticles with Aloe vera extract. *Giant*, 2025: p. 100375.
- [13] Khajuria, A.K., et al., Biofabrication of zinc oxide nanoparticles from two different zinc sources and their antimicrobial activity. *BioNanoScience*, 2021. **11**(3): p. 793–809.
- [14] Singh, R., et al., Phytochemical Profiling and Antifungal Activity of Mullein (*Verbascum thapsus*) Tissue Oils. *Chemistry & Biodiversity*, 20 : (°)۲۳ . ۲۶p. e71342.
- [15] Balooch, A., et al., Experimental and computational investigation on corrosion behavior of carbon steel in the presence of *Ferula assa-foetida* leaf extract. *Materials Today Communications*, 2025. **42**: p. 111350.
- [16] Akshaykranth, A .,et al., Comparative study on antibacterial activity of MgO nanoparticles synthesized from *Lawsonia inermis* leaves extract and chemical methods. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 2021. **31**(6): p. 2393–2400.
- [17] Kandiban, M .,P. Vigneshwaran, and I.V. Potheher. Synthesis and characterization of MgO nanoparticles for photocatalytic applications. in department of physics, Bharathidasan institute of technology (BIT) Campus, Anna University, Tiruchirappalli, Tamilnadu, India, conference paper. 2015.
- [18] Kurhade, P.I., et al., Synergistic action of sumatriptan delivery and targeting magnesium deficiency using green, pH-responsive MgO nanoparticles synthesized from mahua flower extracts. *Environmental Science and Pollution Research* : (۱۲)۳۲ . ۲۰۲۵ ,p. 7217–7236.
- [19] Koohestani, H., M. Nabilu, and A. Balooch, Biosynthesis and investigation of antibacterial properties of green silver nanoparticles using fruit extracts of Wild barberry, Medlar (*Mespilus germanica* L.), and Hawthorn. *Food Chemistry Advances*, 2025. **6**: p. 100850.
- [20] Elango, M., et al., Synthesis, characterization, and antibacterial activity of polyindole/Ag–CuO nanocomposites by reflux condensation method. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 2018. **57**(14): p. 1440. ۱۴۵۱–
- [21] Shinagawa, T. and M. Izaki, Template-free formation of oriented oxide nanowalls via topotactic-like pseudomorphic transformation:[110]-MgO (111) nanowall arrays. *Materials Advances*, 2022. **3**(19): p. 7257–7264.

- [22] Liu, P., et al., Ultrathin single crystalline MgO (111) nanosheets. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021. **60**(6): p. 3254–3260.
- [23] Saha, T., et al., Biogenic synthesis of copper oxide (CuO) NPs exploiting Averrhoa carambola leaf extract and its potential antibacterial activity. *Materials Chemistry and Physics*, 2023. **305**: p. 127979.
- [24] Vetrmani, A., et al., Effect of the green synthesis of CuO plate-like nanoparticles on their photodegradation and antibacterial activities. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2022. **24**(47): p. ۲۸۹۳۳–۲۸۹۲۳.
- [25] Dizaj, S.M., et al., Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 2014. **44**: p. 278–284.
- [26] Nzilu, D.M., et al., Green synthesis of copper oxide nanoparticles and its efficiency in degradation of rifampicin antibiotic. *Scientific Reports*, 2023. **13**(1): p. 14030.
- [27] Krishnamoorthy, K., et al., Mechanistic investigation on the toxicity of MgO nanoparticles toward cancer cells. *Journal of materials chemistry*, 2012. **22**(47): p. 24610.۲۴۶۱۷–
- [28] Applerot, G., et al., Enhanced antibacterial activity of nanocrystalline ZnO due to increased ROS-mediated cell injury. *Advanced Functional Materials*, 2009. **19**(6): p. 842–852.
- [29] Qaisar, M., et al., Eco-Friendly Synthesis of Magnesium Oxide Nanoparticles Using Citrullus colocynthis and their Synergistic Antimicrobial Activity against Drug-Resistant Pathogens. *Current Microbiology*, 2026. **83**(3): p. 165.
- [30] Amina, M., et al., Biogenic green synthesis of MgO nanoparticles using Saussurea costus biomasses for a comprehensive detection of their antimicrobial, cytotoxicity against MCF-7 breast cancer cells and photocatalysis potentials. *PLoS One*, 2020. **15**(8): p. e0237567.
- [31] Gebrie, H.T., et al., Biosynthesis and characterization of copper oxide nanoparticles from Plumbago zeylanica leaf extract for antibacterial and antioxidant activities. *Scientific Reports*, 2025. **15**(1): p. 30656.
32. Teklu, B., S.K. Kadiri, and S. Vidavalur, Green synthesis of copper oxide nanoparticles using Balanites aegyptiaca stem bark extract and investigation of antibacterial activity. *Results in Chemistry*, 2023. **6**: p. 101152.

