

تولید زیستی و تعیین خواص نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن با استفاده از جلبک دریایی *Sargassum ilicifolium*

نگار فدیان بهبهانی، فؤاد بوعدار*

گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۱۸

شناسه دیجیتال (DOI): [10.22113/jmst.2017.41515](https://doi.org/10.22113/jmst.2017.41515)

چکیده

امروزه تقاضا برای گسترش روش های سنتز نانوذرات دوستدار محیط زیست، رو به افزایش است. این پژوهش به منظور بررسی سنتز نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن با استفاده از عصاره الکلی جلبک دریایی *Sargassum ilicifolium* انجام شد. نتایج بدست آمده از طیف سنجی UV/Vis، پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ الکترونی عبوری و در نهایت مغناطیس سنج مرتعش، سنتز و مشخصات نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن را با استفاده از جلبک تأیید کرد. تشکیل نانوذرات اکسید آهن با تغییر رنگ از سبز به سبز متمایل به قهوه ای همراه بود. حداکثر جذب نانوذرات توسط UV/Vis در محدوده ۴۲۸ نانومتر مشاهده شد که نشان دهنده احیاء یون های آهن و تشکیل نانوذرات آهن می باشد. بر اساس نتایج داده ها، شکل نانوذرات کروی و دارای ساختار کریستالی مکعبی مرکز وجوه پر با اندازه ۲۶/۷۳ نانومتر می باشند، همچنین این نانوذرات دارای خواص شگفت انگیز ابرپارامغناطیسی و مغناطیس نرم هستند که بین سایر نانوذرات آهن منحصر به فرد است.

کلید واژه ها: تولید زیستی، نانوذرات مغناطیسی آهن، جلبک دریایی سارگاسوم

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: f.buazar@gmail.com

۱. مقدمه

نانوفناوری سبز، فناوری بالقوه‌ای است که از تلفیق علوم فناوری بیوشیمی و نانو ظهور کرده است که با هدف تولید مواد در مقیاس نانومتر از طریق روش‌های زیستی آلی سازگار با محیط زیست در حال توسعه و پیشرفت مداوم می باشد (Sahayaraj and Kumar, 2011). از آنجا که نانو ذرات فلزی و غیر فلزی پلی بین حالت حجیم مواد و حالت اتمی یا مولکولی هستند بسیار مورد توجه می باشند (Thakkar *et al.*, 2010). پیش بینی شده که در قرن ۲۱ فناوری نانو به میزان قابل توجهی علم، اقتصاد و زندگی روزمره را تحت تأثیر قرار دهد و تبدیل به یکی از نیروهای محرک انقلاب صنعتی بعدی شود. جنبه‌های مختلف این تکنولوژی جدید شامل تولید، تعیین خواص و دستکاری ساختارها در مقیاس نانو است. در دهه گذشته، توجه علم و صنعت به تولید نانو ذرات متمرکز شده است. ذرات جامد می توانند نانو کریستال، تجمع کریستالی یا تک کریستالی در طیف وسیعی از ۱۰۰-۱ نانومتر باشند (Faramarzi *et al.*, 2011). بررسی منابع علمی نشان می دهد کاربرد نانوذرات آهن نسل جدیدی از تکنولوژی پاک سازی محیط زیست است که می تواند بر خلاف روش‌های سنتی، راه حلی اقتصادی برای برخی مشکلات ناشی از آلاینده‌ها باشد (Zhang, 2003).

آزمایشاتی که در محیط‌های آبی انجام گرفته است نشان می دهد توانایی نانوذرات آهن صفر ظرفیتی برای جداسازی کاتیون‌های فلزی، فلزات روی، کادمیوم، مس، نیکل، سرب و نقره از محلول آبی بیشتر از سایر ترکیباتی است که به همین منظور در گذشته استفاده شده اند (Zhang and Li, 2007). یکی از جنبه‌های مهم در فناوری نانو، سنتز نانو مواد با اندازه، ویژگی‌های شیمیایی و ابعاد قابل کنترل در زیست شناسی می باشد (Kumar *et al.*, 2013).

در اکثر روش‌های معمول شیمیایی از یک عامل کاهنده سمی شیمیایی (به عنوان مثال، سدیم بوروهیدرید) برای کاهش یون‌های فلزی و تثبیت کننده آلی (به عنوان مثال، پلی وینیل پیرولیدون) برای کنترل رشد ذرات و جلوگیری از تجمع استفاده می شود. علاوه براین، در این روش‌های سنتز شیمیایی ثبات ذرات بحث برانگیز می شود و تولید در مقیاس گسترده دشوار است. به همین دلایل، تقاضا برای تولید نانوذرات با روش‌های دوستدار محیط زیست بشدت احساس می شود. در این راستا، روش تولید جایگزین، تولید نانو ذرات با استفاده از روش‌های زیستی است (Liesje *et al.*, 2009). از بین این فاکتورهای زیستی، جلبک‌ها به ویژه ماکرو جلبک‌ها جایگاه بهتری را به خود اختصاص داده اند. چرا که این منابع دریایی به صورت طبیعی در دسترس و دارای منابع مهم فتوشیمیایی از جمله کارتنوئید، پروتئین، اسیدهای چرب ضروری، پلی ساکاریدها، ویتامین ها و مواد معدنی هستند، همچنین نانوذراتی تولید می کنند که پایداری بالایی داشته و به آسانی قابل تغییر می باشند (Kumar *et al.*, 2013). از دیگر فواید بیوسنتز نانوذرات توسط جلبک‌های دریایی عدم استفاده از فشار بالا، انرژی، دما و مواد شیمیایی خطرناک و سمی است (Asmathunisha *et al.*, 2010)، علاوه بر آن، جلبک‌های دریایی منبع پایان ناپذیر از مواد خام هستند که در داروسازی، پزشکی، صنایع غذایی و لوازم آرایشی استفاده می شوند (Badea *et al.*, 2009). تحقیقات نشان داده است که ماکرو جلبک‌های دریایی منبع غنی آنتی اکسیدان‌های مختلف مثل پلی فنول هستند که می‌توانند نقش مهمی در پیشگیری از اکسیداسیون داشته باشد. فنول‌ها گروهی از ترکیبات طبیعی جالب با خواص آنتی اکسیدانی دارویی و دیگر خواص بیولوژیکی مهم هستند (Onofrejora *et al.*, 2010).

سپس با آب مقطر شستشو داده شد. جلبک‌های شسته شده به مدت یک هفته در محیط باز قرار داده شد تا خشک گردند. نمونه های خشک شده توسط آسیاب به شکل پودر درآورده شدند. مقدار ۵۰ گرم پودر جلبک را در ۱۵۰ میلی لیتر متانول به مدت ۷۲ ساعت خیسانده و در طول این مدت روی همزن مغناطیسی همزده شد. سپس از کاغذ واتمن عبور داده شد. عصاره بدست آمده توسط دستگاه روتاری تا حجم ۵۰ میلی لیتر تغلیظ شد.

عصاره تهیه شده در دمای 4°C تا زمان استفاده نگهداری شد (Kaladharan et al; 1999). مقدار ۰/۳۹۲ گرم از نمک فروآمونیم سولفات در ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه به منظور تهیه محلول ۰/۰۱ مولار حل شد. محلول ۰/۰۱ مولار فروآمونیم سولفات به نسبت ۱:۹ به عصاره متانولی افزوده شد. سپس محلول به مدت یک ساعت روی همزن مغناطیسی کاملا همزده شد تا واکنش کامل شود.

محلول تهیه شده جهت مشاهده تغییر رنگ و میزان جذب نانو ذرات و اطمینان از تشکیل نانوذرات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل Analytic Jena مورد بررسی قرار گرفت. سپس رسوب نانوذرات تولید شده جهت خشک شدن به مدت ۵ ساعت در دمای ۹۰°C در آن قرار داده شد (Buazar et al., 2016) و به منظور تعیین اندازه و شکل نانو کریستال‌ها توسط دستگاه پراش اشعه ایکس (XRD) مدل MPD آزمایشگاه متالورژی رازی تهران مورد بررسی قرار گرفت. همچنین به منظور آنالیز نانوذرات و تعیین شکل و اندازه دقیق نانوذرات از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل Zeiss-EM10C-100 KV شرکت دی پترونیک استفاده شد و در نهایت برای بررسی خواص مغناطیسی نمونه از دستگاه مغناطیس سنج مرتعش (VSM) آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهید چمران اهواز استفاده گردید.

در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در زمینه تولید زیستی نانوذرات اکسید آهن با استفاده از جلبک‌های دریایی مانند *sargassum muticum* (Mahdavi et al., 2013) و همچنین دیگر فاکتورهای زیستی مانند عصاره سیب زمینی صورت گرفته است (Buazar et al., 2016). همچنین به تولید زیستی دیگر نانوذرات از جمله نانو ذرات نقره با استفاده از جلبک دریایی *polycyctum* (Thanagaraju et al., 2012) اشاره کرد.

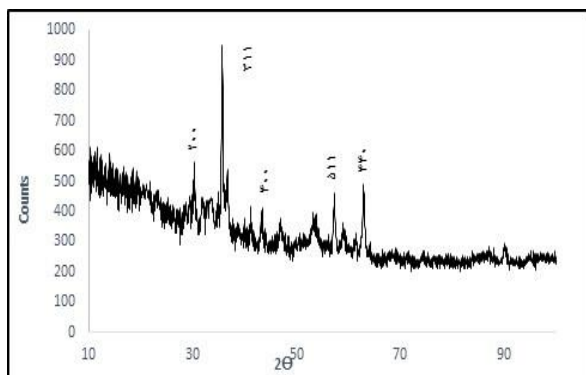
اعتقاد بر این است که این روش می تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های شیمیایی تولید نانومواد باشد (Buazar and Koopi, 2018). استفاده از کاهنده‌های طبیعی به جای استفاده از کاهنده‌های شیمیایی و کمک به شیمی سبز از اهداف این پژوهش است. در روش‌های شیمیایی، استفاده از مواد مضر و سمی علاوه بر اینکه باعث تولید پساب‌های خطرناک برای محیط زیست می شوند، کاربرد این نانوذرات را در جنبه های پزشکی با تردید روبرو می سازد.

بنابراین روش‌های زیستی سنتز نانومواد با استفاده از جلبک‌ها، به علت هزینه کم و همچنین زیست سازگار بودن، مورد توجه است. همچنین با توجه به امکانات موجود و فراوانی این جلبک ها می توان امیدوار بود گامی در جهت تولید نانومواد بر پایه منابع طبیعی و دریایی نهاد (Bita et al., 2015).

۲. مواد و روش ها

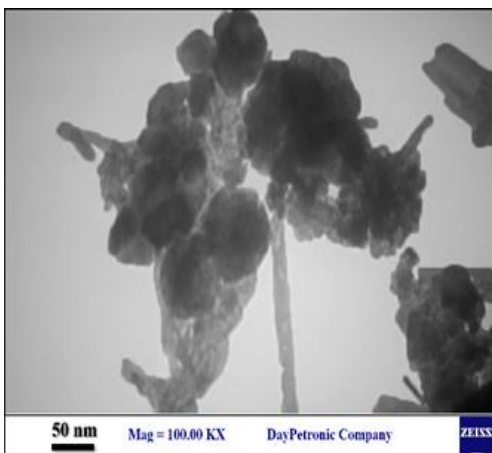
جلبک دریایی *Sargassum ilicifolio* که از نوع جلبک‌های قهوه ای از شاخه فتوفیسه، راسته فوکال و از خانواده سارگاسوم می باشد، از سواحل استان بوشهر، شهرستان دشتی، روستای گلستان جمع آوری شد. سپس نمونه‌های جمع آوری شده در داخل کیسه‌های پلاستیکی در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه به منظور جدا کردن گل ولای و سایر ضایعات، چند بار با آب تمیز و تصفیه شده شهری و

جهت تعیین فاز و ساختار کریستالی و اندازه نانوذرات از نمونه مورد نظر آنالیز طرح پراش اشعه ایکس در محدوده $10 < 2\theta < 20$ انجام شد. همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است پیک‌های شاخص و بلند موجود مقدار 2θ ، $30/24^\circ$ ، $35/32^\circ$ ، $43/03^\circ$ ، $56/99^\circ$ ، $62/58$ مطابق با سطوح کریستالی (۲۰۰) و (۳۱۱) و (۴۰۰) و (۵۱۱) و (۴۴۰) بودند. به این ترتیب، نتایج نشان داد ساختار فاز نمونه مطابق با کارت استاندارد (۱۱-۰۶۱۴) مربوط به پیک‌های مگنتیت می باشد.



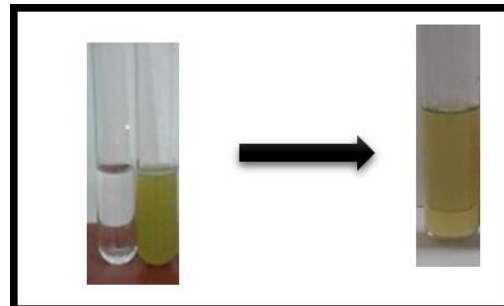
شکل ۳. الگوی XRD نانوذرات اکسید آهن (Fe_3O_4)

برای تعیین ویژگی‌های نانوذرات و همچنین کیفیت آن‌ها از دستگاه TEM استفاده شد (شکل ۴).



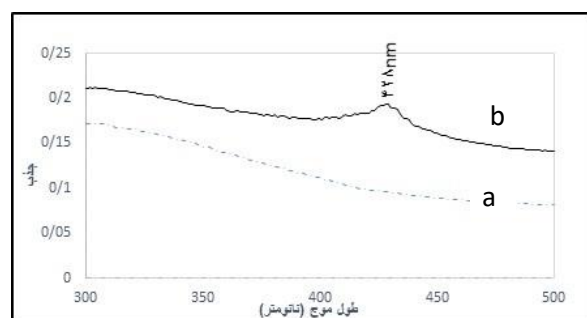
۳. نتایج

در سنتز نانو ذرات با عصاره متانولی، تغییر رنگ از سبز کم رنگ به سبز تیره متمایل به قهوه‌ای کاملاً قابل تشخیص بود (شکل ۱). تغییر رنگ در سنتز نانو ذرات اولین نشانه تشکیل نانوذرات در محلول واکنش است.



شکل ۱. تغییر رنگ محلول از سبز روشن به سبز متمایل به قهوه‌ای

برای اطمینان از تولید نانوذرات آهن با استفاده از جلبک دریایی *Sargassum ilicifolium* از دستگاه طیف سنج UV-Vis در محدوده ۳۰۰-۵۰۰ نانومتر استفاده شد. بالاترین مقدار جذب بعد از گذشت ۵ ساعت از شروع واکنش عصاره جلبک و یون‌های آهن و در محدوده ۴۲۸ نانومتر مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲. طیف جذبی UV/Vis، (a) عصاره جلبک، (b) نانوذره آهن اکسید

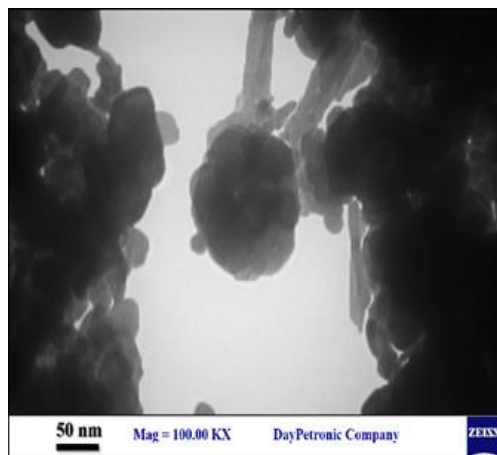
با توجه به کاربردهای گسترده نانوذرات فلزی، کنترل سایز ذرات، شکل و مورفولوژی، ساختار درونی و ترکیب شیمیایی آن‌ها به منظور بدست آوردن نانوذراتی با کیفیت و پایداری خوب بسیار ضروری است. شکل و سایز در تعیین خواص ساختاری، فیزیکی و شیمیایی نانوذرات فاکتورهای بسیار مهمی هستند (Kiernan, 2000).

در این پژوهش طیف UV/Vis ثبت شده از عصاره جلبک و همچنین از محلول عصاره و نمک آهن بعد از کامل شدن واکنش، نشان داد که باند جذبی در طول موج ۴۲۸ نانومتر اثبات کننده تشکیل نانوذرات آهن در محیط عصاره جلبک دریایی می باشد. همچنین تغییر رنگ عصاره از سبز روشن به سبز متمایل به قهوه-ای نشانه تشکیل نانوذرات اکسید آهن می باشد. تغییر رنگ در سنتز نانو ذرات اولین نشانه تشکیل نانوذرات در محلول واکنش است.

با توجه به نمودار حاصل از XRD، پیک‌های شاخص و بلند موجود مقدار 2θ ، 30.24° ، 35.32° ، 43.03° ، 56.99° ، 62.58° مطابق با سطوح کریستالی (200) و (311) و (400) و (511) و (440) ، می باشد (Buazar et al; 2016).

همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود تیزی پیک‌ها گویای ویژگی بلورینگی نمونه تولید شده است. همچنین تحلیل طرح پراش پرتو ایکس، ساختار بلوری مکعبی مرکز وجوه پر (FCC) این نمونه را تایید می کند.

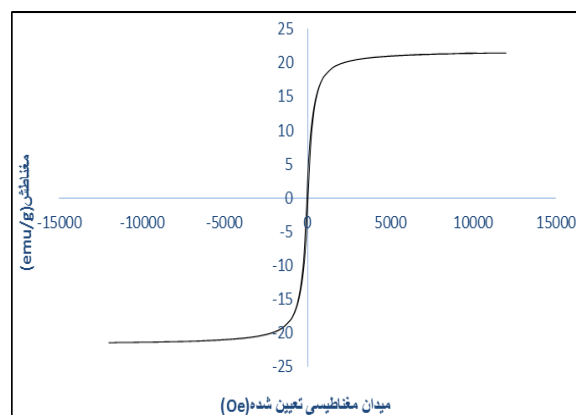
البته از آنجا که فاز Fe_3O_4 و فاز $Fe_2O_3 - \gamma$ بسیار به هم نزدیک است، به دلیل اینکه دمای واکنش زیر $100^\circ C$ بوده و همچنین رنگ محصول سیاه می باشد، از این رو فاز Fe_3O_4 به طور کامل تشکیل شده است. میانگین سایز ذرات با استفاده از معادله دبای - شرر محاسبه گردید و $26/73$ نانومتر تخمین زده شد. در



شکل ۴. تصاویر TEM نانوذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) با توجه به تصاویر مورفولوژی ذرات به صورت مکعبی و کروی با اندازه $26/73$ نانومتر می باشد.

جهت بررسی خواص مغناطیسی نمونه تهیه شده از دستگاه مغناطش سنج مرتعش استفاده شد. از این دستگاه برای اندازه گیری قدرت اشباع مغناطیسی مواد و استخراج سایر اطلاعات لازم در رابطه با قدرت مواد مغناطیسی و نحوه عملکرد آن تحت تأثیر میدان مغناطیسی شدید استفاده می شود که کامل ترین اطلاعات در رابطه با خواص مغناطیسی به وسیله این دستگاه قابل رؤیت می باشد.

در شکل ۵ حلقه پسماند نانوذرات آهن در میدان های 15000 تا 15000 اورستد نشان داده شده است.



شکل ۵. منحنی مغناطش نانو ذرات اکسید آهن (Fe_3O_4)

Face Centered cubic(FCC) ^۲

نظر ماهیت مغناطیسی، ابرپارامغناطیس و مغناطیس نرم هستند. با توجه به رنگ نانوذرات (پودر سیاه رنگ)، دمای واکنش و همچنین بررسی پیک های XRD و مطابقت آن با کارت استاندارد Fe_3O_4 ، می توان نتیجه گرفت که در نانوذرات تهیه شده، Fe_3O_4 بیشترین مقدار را نسبت به دیگر نانوذرات اکسید آهن دارد.

منابع

- Aslani A, Oroojpour V, 2011. CO gas sensing of CuO nanostructures, synthesized by an assisted solvothermal wet chemical route. *Physica B, Physics of Condensed matter* 406:144-149.
- Asmathunisha N, Kathiresan K, Raj A, Alikunhi NM, 2010. Synthesis of Antimicrobial Silver Nanoparticles by Callus and Leaf Extracts from Saltmarsh Plant, *Sesuvium portulacastrum* L. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 488-493.
- Badea V, Balaban DP, Rapeanu G, Maria C, Badea CF, 2009. The antibacterial activity evaluation of *Cystoseira barbata* biomass and some agents upon bacteria from oropharyngeal cavity. *Rom. Soc. Bio. Sci.* 14:4851-4857
- Buazar F, Baghlani-Nejzad MH, Badri M, Kashisaz M, Khaledi-Nasab A, Kroshawi F, 2016. Facile one-pot phytosynthesis of magnetic nanoparticles using potato extract and their catalytic activity. *Starch*. 68:1-9
- Famarzi MA, Forootanfar H, 2011. Biosynthesis and Characterization of Gold Nanoparticles Produced by Laccase from *Paraconiothyrium variable*. *Colloids Surf B*. 23-7
- Kaladharan P, Kaliperumal N, 1999. Seaweed industry in India Naga. *The I clarm*. 22:11-14.
- Kaushik TN, Mhatre SS, 2010. Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles. *Nanomedicine*. 10:257-262.
- Kiernan JA, 2000. Formaldehyde, formalin, paraformaldehyde and glutaraldehyde: what they are and what they do. *Microscopy Today*, 1:8-12.
- Liesje SW, Windt De, Dick J, 2009. Lactic acid Bacteria as Reducing and Capping Agent for the Fast and Efficient Production of Silver

تصاویر TEM نیز ساختار مکعبی نانوذرات قابل مشاهده بود.

$$d = k\lambda / (\beta \cdot \cos\theta) \text{ - شوری}$$

β پهنای قله (پهنای کامل در نصف ماکسیمم)، λ طول موج اشعه ایکس، d اندازه ذره، θ زاویه بین اشعه تابش و صفحه (ذره) و K ثابت می باشد.

همانطور که در شکل ۵ نشان داده شده منحنی مغناطش ذرات از مبدأ عبور کرده است و در آن مغناطش اشباع آن $21/47 \frac{emu}{g}$ ، مقدار مغناطش پسماند آن مقدار بسیار ناچیز $1/80 \frac{emu}{g}$ و مقدار وادارندگی مغناطیسی آن حدود 50 Oe می باشد و همچنین شکل «S» مانند آن نشان دهنده این است که نانوذرات آهن تولید شده از نوع مواد مغناطیس نرم با خاصیت ابرپارامغناطیس هستند. نانو ذرات مغناطیسی یکی از مهمترین و پرکاربردترین انواع نانو ذرات می باشند که ویژگی های منحصر به فردشان موجب ایجاد کارایی های خاص آن ها نسبت به سایر نانوساختارها می باشد (Park, 2010). ترکیب، اندازه و فرایند تولید نانوذرات مغناطیسی با توجه نوع آن ها متفاوت است. این گونه مواد به دلیل گشتاور مغناطیسی شبکه و ساختار حوزه ها شدیداً از میدان مغناطیسی خارجی متاثر می شوند به نحوی که در نبود میدان مغناطیسی خارجی به صورت یک ذره غیرفعال عمل می کنند. تک حوزه بودن و ابرپارا- مغناطیسی از ویژگی های نانوذرات مغناطیسی هستند که منشأ بسیاری از ویژگی های منحصر به فردشان می - باشد (Aslani et al, 2011).

۴. بحث و نتیجه گیری

طبق نتایج بدست آمده از این پژوهش، تولید نانوذرات اکسید آهن با استفاده از عصاره الکلی جلبک دریایی *Sargassum ilicifolium* به روش زیستی قابل انجام است. نانوذرات اکسید آهن تشکیل شده، دارای اندازه $26/73$ نانومتر با ساختار FCC می باشند و همچنین از

- Park EJ, Kim H, Kim Y, Parkm K, 2010. Inflammatory responses may be induced by a single intratracheal instillation of iron nanoparticles in mice. *Toxicology* 275:65-71.
- Kumar R, Malarkodi CH, Gnanajobitha G, 2013. Seaweed-mediated synthesis of gold nanoparticles using *Turbinaria conoides* and its characterization. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 3: 44-48.
- Sahayaraj. Kumar R, 2011. Bionanoparticles: synthesis and antimicrobial applications. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. biomaterial* 15:13-18.
- Zhang W, 2003. Nanoscale iron particles for environmental remediation: An overview. *Journal of nanoparticle Research*. 5:323-332.
- Zhang WX, Li XQ, 2007. Sequestration of Metal Cations with Zero-valent Iron Nanoparticles- A Study with High Resolution X-ray Photoelectron Spectroscopy (HR-XPS). *The Journal of Physical Chemistry C*. 111:6939-6946.
- Nanoparticles. *Appl Microbiol Biotechnol*, 7:741-749.
- Buazar F, and Koopi H, 2018. Synthesis and Characterization of Aluminum Oxide Macroalgae *Sargassum Nanoparticles* Using *Ilicifolium*, *Journal of marine science and technology*, 3:58-64
- Bitra S, Mesbah M, Shahriari A, and Najafabadi MN, 2015. Bioproduction using *Sargassum angustifolium* marine algae, *Journal of marine science and technology*, 1: 97-107
- Mahdavi M, Namvar F, Ahmad B, Mohamad R, 2013. Green Biosynthesis and Characterization of Magnetic Iron Oxide (Fe₃O₄) Nanoparticles Using Seaweed (*Sargassum muticum*) Aqueous Extract. *Molecules*, 18:5954-5964.
- Onofrejova. L, vasickova JV, Klejdus B, Stratil P, Misurcova L, Kracmar S, Kopecky J, Vacek J, 2010. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 51:464-470.

Green Synthesis and Characterization of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles Using Marine *Sargassum ilicifolium* Seaweed

N. Fadian Behbahani , F. Buazar*

Department of Marine Chemistry, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, PO Box. 669, Khorramshahr, Iran

Abstract

Recently, there is a growing demand to develop environmentally friendly nanoparticle synthesis methods. In this study, we have investigated biofabrication of magnetic iron nanoparticles using alcoholic extract of *Sargassum ilicifolium* algae. The biosynthesis and characterization of magnetic iron nanoparticles were obtained via UV-Vis spectrum, X-ray diffraction (XRD), transmission electron microscopy (TEM) and vibrating sample magnetometer (VSM), respectively. Formation of iron nanoparticle was attended with color change from green to green brownish. The maximum peak absorption of bioproduced iron nanoparticles was observed at 428 nm, indicating the reduction of iron ions and formation of magnetic nanoparticles. According to data analyses, shape of nanoparticles was spherical and face centered cubic (FCC) and the crystal size was 26.73 nm. Moreover, bioprepared iron nanoparticles were demonstrated superparamagnetic and soft magnetic properties.

Keyword: biosynthesis, magnetic iron nanoparticles, *Sargassum* seaweed

Figure 1: Visual changes of solution's color before and after reaction

Figure 2: UV/Vis absorbance spectra of a) algae extract b) algae-mediated Fe₃O₄ nanoparticles

Figure 3: XRD pattern of green Fe₃O₄ nanoparticles

Figure 4: TEM images of green Fe₃O₄ nanoparticles

Figure 5: Magnetization curve of green Fe₃O₄ nanoparticles

*Corresponding author, email: fb@kmsu.ac.ir