

سنتز سبز نانوذرات نقره با عصاره برگ توت تحت مایکروویو: بهینه‌سازی و خواص ضدقارچی

فرهاد رحمانی^{۱*}، امید احمدی^۲

^۱- دانشیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

^۲ استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

f.rahmanichiyane@uok.ac.ir

چکیده:

نانو ذرات نقره به دلیل کارایی ضدقارچی بالا و پایداری زیستی، جایگاه ویژه‌ای در میان شاخه های نانوفناوری دارند که استفاده از روش های سبز مانند سنتز با عصاره های گیاهی و حرارت دهی مایکروویو می تواند هم زمان کارایی و پایداری زیستی را بهبود دهد و بهینه سازی شرایط تولید، به تعادل بین عملکرد فیزیکی و اثرات زیستی منجر شود. در تحقیق حاضر از عصاره برگ درخت توت به عنوان ماده اولیه احیا کننده جهت سنتز سبز نانوذرات نقره استفاده گردید، با بهینه سازی شرایط سنتز نانوذرات نقره توسط طراحی آزمایش انجام گرفته با روش پاسخ سطح در بازه مقدار حجمی عصاره استخراج شده ۱۵ mL الی ۵ و مدت زمان حرارت دهی توسط مایکروویو در بازه ۵ min الی ۱ فرآیند سنتز نانوذرات نقره با روش سبز انجام گرفت. پس از بهینه سازی انجام گرفته نتایج نشان داد، مقدار حجمی عصاره ۱۱/۳۹ mL و مدت زمان حرارت دهی ۸/۶ min مناسب ترین حالت جهت انجام فرآیند سنتز بود که در این حالت بیشترین غلظت و کمترین میانگین اندازه نانوذرات به ترتیب با مقادیر ۶۷/۱۱ ppm و ۶۶ nm بدست آمد. در نهایت با بررسی کاربرد نانوذرات سنتز گردیده در نقطه بهینه خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدقارچی محصول حاضر به ترتیب ۵۲/۳۱٪ و ۷۴/۱۷٪ حاصل گردید.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدانی، سنتز سبز، نانوذرات نقره، بهینه سازی، ضدقارچی

۱. مقدمه

در سال های اخیر توجه محققان به توسعه روش های سبز و پایدار برای سنتز نانوذرات فلزی، به ویژه نانوذرات نقره (AgNPs)، افزایش چشمگیری یافته است [۱]. نانوذرات نقره به دلیل خواص فیزیکی و بیوشیمیایی منحصر به فرد، از جمله درخشندگی سطحی، خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی قوی، و کارایی بالا در فرآیندهای کاتالیستی، به عنوان کاندیدای مناسب برای کاربردهای گسترده در داروسازی، پزشکی، محیط زیست و صنایع غذایی مطرح شده اند [۲، ۳]. یکی از چالش های اصلی در این حوزه، کنترل مناسب اندازه، شکل، سطح فعال و ماده سازنده است

تا هم کارایی مطلوب حاصل شود و هم سمیت زیستی کاهش یابد [۴]. در این راستا، رویکردهای سبز و زیست‌سازگار برای سنتز نانوذرات نقره با استفاده از مواد گیاهی یا عصاره‌های گیاهی به‌عنوان عامل کاهش‌دهنده و کربن‌دهنده سطحی توجه فزاینده‌ای را به خود جلب کرده‌اند [۵].

سنتز سبز با استفاده از عصاره برگ درخت توت (*Morus spp.*) به‌دلیل ترکیبات فعال گسترده‌ای مانند فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و فنول‌ها، امکان پدیدآیی کاتالیست‌های با اندازه مطلوب و پایدار را فراهم می‌آورد [۶، ۷]. عصاره‌های گیاهی نه تنها به‌عنوان عامل‌های کاهنده و پایدارکننده عمل می‌کنند بلکه به‌دلیل حضور ترکیبات زیست‌فعال، می‌توانند روی فراورده‌های نانوذرات اثرات مثبتی در زیست‌سازگاری و فعال‌سازی ضدقارچی داشته باشند [۸، ۹]. در این راستا، سنتز در محیط‌های آبی و با درجات حرارت‌دهی کنترل‌شده، به‌ویژه با استفاده از فناوری میکروویو، به‌عنوان روشی کارآمد، سریع و کم‌مصرف انرژی معرفی شده است. حرارت‌دهی میکروویو با فراهم‌آوری گرمای سریع و یکنواخت در ناحیه کانونی، اندازه نانوذرات را به دقت کنترل می‌کند و منجر به توزیع اندازه‌ی بهتری نسبت به روش‌های سنتز سنتی که شامل روش‌های فیزیکی و شیمیایی است می‌شود. علاوه بر این، کاهش زمان واکنش و کاهش آلودگی‌های آلی-آلاینده‌ای از مزایای عمده این رویکرد به‌شمار می‌آید [۱۰، ۱۱].

کاربردهای بالقوه نانوذرات نقره به‌ویژه در زمینه دارورسانی و ضدقارچ بودن آن‌ها، محققان را به بررسی دقیق کارایی و سازگاری زیستی این نانوذرات و همچنین مکانیسم‌های ضدقارچی آن‌ها واداشته است [۱۲]. مکانیسم‌های متنوعی برای فعالیت ضدقارچی نانوذرات نقره از جمله اتصال به غشای سلولی، ایجاد اختلال در پاسخ‌های اکسند-ضد اکسند، تولید گونه‌های اکسیژن فعال و نهایتاً مختل کردن آنزیم‌ها و مسیرهای متابولیکی کلیدی پیشنهاد شده است؛ در عین حال، وجود ترکیبات استخراج شده از برگ توت می‌تواند با افزایش پایداری سطحی نانوذرات نقره و افزودن خواص بیولوژیکی، کارایی این نانوذرات را بهبود بخشد [۱۳، ۱۴]. با توجه به افزایش نگرانی‌های بهداشتی و زیست‌محیطی پیرامون روش‌های سنتز سنتی، پژوهش حاضر به بررسی بهینه‌سازی شرایط عملیاتی حرارت‌دهی میکروویو برای سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ توت و ارزیابی خاصیت ضدقارچی آن‌ها می‌پردازد.

در زمینه فنی، انتخاب شرایط عملیاتی مناسب در فرایند میکروویو، مانند قدرت حرارتی، زمان واکنش، نسبت عصاره به محلول نمکی و وجود عوامل کاهنده-پایدارکننده، از اهمیت بالایی برخوردار است. به‌طور خاص، متغیرهای زمان واکنش و شدت میدان میکروویو می‌توانند تأثیر قابل توجهی بر اندازه ذرات، شکل سطحی و توزیع همگن آن‌ها بگذارند. در حرارت‌دهی میکروویو، برخلاف روش‌های معمولی که گرما از سطح به درون ماده منتقل می‌شود، انرژی مستقیماً به مولکول‌های حلال (معمولاً آب) و ترکیبات قطبی موجود در عصاره گیاهی منتقل می‌گردد. این امر موجب چرخش سریع دوقطبی‌ها و یون‌های موجود در محلول شده و گرمایش یکنواخت، سریع و حجمی ایجاد می‌کند. در نتیجه، زمان لازم برای احیا شدن یون‌های نقره به نانوذرات از چند ساعت به چند دقیقه کاهش می‌یابد. علاوه بر تسریع واکنش، حرارت میکروویو باعث تشکیل هسته‌های یکنواخت‌تر (به دلیل همگنی دما) و جلوگیری از رشد بیش از حد ذرات می‌شود که منجر به تولید نانوذرات با توزیع اندازه باریک‌تر

می‌گردد. همچنین، اجزای فعال عصاره مانند ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها در اثر تابش مایکروویو کارایی احیاکنندگی و پایدارکنندگی بالاتری از خود نشان می‌دهند، بدون اینکه ساختار شیمیایی آن‌ها تخریب شود. بنابراین، مایکروویو نه تنها سرعت سنتز سبز را به طور چشمگیری افزایش می‌دهد، بلکه کیفیت محصول نهایی را نیز بهبود می‌بخشد [۱۵]. بهبود یکنواختی اندازه نانوذرات، بهینه‌سازی سطح فعال و کاهش اندازه‌گیری‌های غیرمتوازن، از جمله اهداف اصلی این پژوهش است. از سوی دیگر، استفاده از عصاره برگ توت به عنوان عامل سبز، به دنبال مدیریت میزان آلاینده‌های آلی و کاهش وابستگی به مواد شیمیایی خطرناک است که در نهایت به بهبود ایمنی زیستی و کاهش اثرات زیست‌محیطی فرایند منجر می‌شود. همچنین، ارزیابی کارایی ضدقارچی نانوذرات نقره سنتز شده با این رویکرد اهمیت فراوانی دارد. قارچ‌ها به عنوان عوامل بیماری‌زای مهم گیاهی درک عمیق‌تری از مکانیسم‌های مقاومت در برابر داروها و نانوذرات ارائه می‌دهند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که نانوذرات نقره در غلظت‌های پایدار توانایی مهار رشد قارچ‌های پاتوژن را دارند، اما کارایی و سازگاری زیستی نانوذرات سبز با مدل‌های قارچی مختلف، نیازمند تحلیل دقیق است تا بتوان در آینده به کاربردهای بالینی یا کشاورزی با سطح ایمنی بالا دست یافت [۱۶]. در این راستا، این مطالعه با بررسی ضدقارچی بودن نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره برگ توت، به دنبال ارائه شواهدی است که بتواند نقش ترکیبات استخراجی گیاهی در بهبود اثربخشی و پایداری این نانوذرات را تایید کند.

در کل در تحقیق حاضر، ترکیبی از طراحی آزمایش با فناوری مایکروویو و بهینه‌سازی شرایط عملیاتی آن و ارزیابی‌های ضدقارچی را در برمی‌گیرد. با به‌کارگیری مدل‌های طراحی واکنش‌ها و تحلیل‌های آماری مناسب، می‌توان به حوزه بهینه‌سازی پاسخ سطح (RSM) یا روش‌های بهینه‌سازی چندمتغیره دست یافته تا پارامترهای کلیدی مانند زمان واکنش، قدرت حرارتی و نسبت عصاره به محیط را بهینه نمود. در نتیجه، با هدف فراهم‌آوری یک چارچوب روشن برای اهمیت موضوع، خلاهای علمی موجود، و رویکردهای پیشنهادی برای بهینه‌سازی و ارزیابی کارایی ضدقارچی نانوذرات نقره سبز با استفاده از عصاره برگ توت است. این پژوهش نه تنها به بهبود فرآیند سنتز و کاهش هزینه و مصرف انرژی می‌انجامد، بلکه می‌تواند به توسعه واکنش‌های ایمن‌تر و پایدارتر منجر شود که برای فناوری‌های آینده در حوزه نانوپزشکی، کشاورزی هوشمند و حفظ سلامت محیط زیست مناسب است.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد

در تحقیق انجام گرفته حاضر از گیاه برگ درخت توت به عنوان ماده سبز احیاکننده استفاده گردید که از باغ‌های محلی شهرستان سمنان تهیه گردید. از آب مقطر (شرکت مروارید پارس) به عنوان حلال در بخش عصاره‌گیری و محلول‌سازی استفاده گردید. نمک مورد استفاده در سنتز نانوذرات نقره در تحقیق حاضر نمک نیترات نقره

(AgNO₃) بوده که از شرکت سیگما-آلد ریچ خریداری شد. جهت بررسی خواص ضدقارچی نانوذرات نقره با خواص بهینه، از قارچ پنی سیلینیوم اکسپانسون (PTCC 89046) که از بانک میکروبی ایران خریداری شد استفاده گردید. محیط کشت PDA و جهت بررسی خواص ضد قارچی از شرکت Oxoid (انگلستان) تهیه گردید، همچنین جهت بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی آن از ماده ۲۰۲ دی فنیل-۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH^۱) استفاده گردید.

۲-۲ روش‌ها

۲-۲-۱- تهیه عصاره برگ درخت توت

در تحقیق حاضر برگ درخت توت جمع‌آوری و با آب مقطر شست‌وشو داده شد. به دلیل ساختار اولیه برگ و میزان بالای آب موجود در آن، برگ‌ها برای مدت ۸ روز در دمای محیط قرار گرفتند تا خشک شوند. پس از خشک‌سازی کامل، ۶ گرم از برگ خشک شده پودر گردیده و با ۱۰۰ میلی لیتر آب در حال جوش (۰/۰۶ وزنی/حجمی) ترکیب گردید و این مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه، تحت فرآیند عصاره‌گیری قرار گرفت تا استخراج کامل مواد مؤثر در سنتز نانوذرات نقره انجام شود. در ادامه، عصاره به کمک فیلتر کاغذی واتمن شماره ۱ فیلتر شد و در دمای یخچال (۴°C) نگهداری گردید تا در زمان نیاز مورد استفاده قرار گیرد.

۲-۲-۲- طراحی آزمایش و آنالیز آماری داده‌ها جهت بهینه سازی شرایط عملیاتی:

در پژوهش حاضر مقادیر ثابت مورد استفاده شامل غلظت عصاره (۰/۰۶ وزنی/حجمی)، توان مصرفی مایکروویو (۸۰۰ وات) و مقدار حجمی محلول ۱ میلی مولار نمک نیترات نقره (۱۱/۵۰ میلی لیتر) بوده که توسط فرآیند حرارت دهی با مایکروویو شامل دو متغیر ۱- زمان های مختلف فرآیند سنتز و ۲- مقدار مصرفی عصاره استخراج شده با شرایط زیر طراحی آزمایش انجام گرفت.

با توجه به در نظر گرفتن دو متغیر مستقل ۱- مقدار حجمی عصاره برگ درخت توت استخراج شده (محدوده ۵ الی ۱۵ میلی لیتر) و ۲- زمان فرآیند سنتز نانوذرات نقره (محدوده ۱ الی ۹ دقیقه) تعداد ۱۳ آزمایش انجام گرفت که هر ظرف به میزان یکسانی حجم محلول نمک ۱ میلی مولار نیترات نقره ریخته شده و با غلظت یکسانی از عصاره استخراج شده با مقادیر حجمی متفاوتی مخلوط گردیده و توان اعمال شده ۸۰۰ وات در مدت زمان های مختلف را تجربه نمودند. جهت تعیین خصوصیات نهایی نانوذرات نقره سنتز شده، بررسی اثر مقدار حجمی عصاره و زمان فرآیند سنتز مورد بررسی و تحلیل قرار گرفتند. برای دو متغیر مستقل در نظر گرفته شده تعداد آزمایش‌ها جهت بهینه‌سازی با این روش ۱۳ آزمایش بود که نقطه مرکزی برای تخمین خطای آزمایش استفاده شده ۵ بار تکرار شد و برای طراحی آزمایش از سیستم غیرکد استفاده شد. مزیت ۵ بار تکرار آزمایش نقطه مرکزی، جهت

^۱ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

تکرار پذیر بودن و دست یافتن به نتیجه قطعی در آزمایش می‌باشد. برای طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ از روش طرح مرکب مرکزی^۱ (CCD) استفاده شد که در این روش ضرایب به صورت یک رابطه ریاضی نوشته شده و پاسخ پیش‌بینی خواهد شد. معادله کلی که در آن Y پاسخ یا خروجی همان متغیرهای وابسته (۱- غلظت نانوذرات نقره ۲- میانگین اندازه ذرات) به صورت رابطه (۱) می‌باشد و مقادیر X مربوط به متغیرهای مستقل (X_1 : مقدار حجمی عصاره استخراج شده و X_2 : زمان فرآیند سنتز نانوذرات) می‌باشد.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1^2 + \beta_4 X_2^2 + \beta_5 X_1 X_2 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در رابطه (۱)، ضریب β_0 ضریب ثابت، ضرایب β_1 و β_2 اثرات خطی (درجه اول)، β_{11} و β_{22} اثرات مربعی (درجه دوم) و در انتها β_{12} ، اثرات متقابل یا برهمکنش مقدار حجمی عصاره و زمان فرآیند سنتز می‌باشد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از روش آنالیز واریانس^۲ (ANOVA) و از روش آماری متداول t-test جهت مقایسه داده‌ها استفاده گردید. در این مدل $P < 0.05$ به عنوان مقادیر آماری معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود و جملاتی که دارای $P > 0.05$ باشند به عنوان نتایج بی‌معنی و غیر اثرگذار تلقی شدند. مقدار $P < 0.05$ بدین معناست که مدل ارائه شده و استخراج شده با احتمال ۹۵٪ پذیرفته می‌شود [۱۷، ۱۸]. مقدار R^2 نیز معیار خوبی برای ارزیابی مناسب بودن یک مدل می‌باشد که هرچه مقدار این عدد به یک نزدیک‌تر باشد دلالت بر دقت بودن مدل در پیش‌بینی رفتار متغیرهای مستقل بر روی متغیر وابسته دارد [۱۹]. نتایج حاصل از هرکدام از آزمایش‌ها، تحلیل و همچنین اثر پارامترها و متغیرهای انتخاب شده بر روی سنتز نانوذرات نقره در بخش بحث و نتایج گزارش شده است.

۳-۲-۲- اندازه گیری غلظت نانوذرات نقره سنتز شده:

جهت ارزیابی و اندازه گیری میزان غلظت نانوذرات نقره سنتز شده از نانوذرات نقره استاندارد خریداری شده بدین صورت استفاده گردید که مقدار حجمی ۵ میلی لیتر از نانوذرات استاندارد با غلظت مشخص ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر به روش سریال رقیق‌سازی‌ها تا ۱۰ میلی گرم بر لیتر انجام گرفت و قرائت جذب هر نمونه با دستگاه UV-Vis در طول موج ۴۲۰ نانومتر میزان جذب بدست آمده و با رسم منحنی کالیبراسیون و مقایسه نتایج حاصل از تحقیق حاضر میتوان به غلظت نمونه های استخراج شده پی برد.

۴-۲-۲- ارزیابی خاصیت ضدقارچی و آنتی اکسیدانی نانوذرات نقره:

¹ Central Composite Design

² Analysis of Variance

به منظور بررسی خواص نانوذرات نقره سنتز شده، خواص آنتی اکسیدانی با روش DPPH و همچنین خاصیت ضد قارچی با روش شرح داده شده در پژوهش احمدی و جعفری زاده مالمیری و میرزاخانی و همکاران انجام گرفت [۲۰] [۲۱].

۳-۲- آنالیزها:

میزان جذب نمونه های استخراج شده با روش طیف سنجی نور مرئی-فرابنفش^۱ UV-Vis با دستگاه (UV-Vis T80+ شرکت PG) در طول موج ۴۲۰ نانومتر انجام گردید. همچنین برای ارزیابی میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز گردیده از آنالیز تجزیه پراکندگی نور پویایی^۲ DLS که روشی غیرمخرب و فیزیکی می باشد با دستگاه Malvern ساخت انگلستان استفاده گردید.

۳- بحث و نتایج:

۳-۲- استخراج معادله تبدیل میزان جذب به غلظت نانوذرات نقره سنتز شده:

پس از ارزیابی میزان جذب هر کدام از نمونه های مربوط به نانوذرات نقره استاندارد با غلظت ۱۰۰۰ الی ۱۰ میلی گرم بر لیتر توسط آنالیز UV-Vis و استفاده از خطی سازی با نرم افزار Excel معادله (۲) بدست آمد، که C غلظت نانوذرات نقره و A عدد جذب قرائت شده از آنالیز طیف سنجی UV-Vis می باشد.

$$C=32.501A-0.6947 \quad (2)$$

احمدی و همکاران در سال ۲۰۱۷ از روش حاضر استفاده نموده و نتایج مشابه با پژوهش حاضر بدست آوردند [۲۲].

۳-۴- مدل پاسخ سطح و بهینه سازی شرایط سنتز نانوذرات نقره:

در بخش حاضر نتایج حاصل از طراحی آزمایش، پاسخ های مربوط به هر کدام، تاثیر گذاری متغیرهای انتخاب شده گزارش شده است. با توجه به در نظر گرفتن دو متغیر مستقل در طراحی آزمایش بر اساس طرح مرکب مرکزی و پاسخ سطح شامل ۱- مقدار حجمی عصاره برگ درخت توت و ۲- زمان فرآیند سنتز نانوذرات نقره، ۱۳ آزمایش انجام گرفته به همراه نتایج آن به صورت عملی و مقایسه آن با نتایج بدست آمده از مدل پیش بینی شده در جدول

¹ Ultraviolet-Visible

² Dynamic Light Scattering

۱ گزارش شده است. در ادامه اثر هر کدام از متغیرهای مستقل در نظر گرفته شده بر روی متغیر وابسته که غلظت و میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز شده می باشد، به طور کامل شرح داده خواهد شد.

جدول ۱- نتایج مربوط به هر کدام از متغیرهای مستقل به همراه نتایج پیش بینی شده توسط مدل
Table 1 - Results for each of the independent variables along with the results predicted by the model

متغیرهای وابسته Dependent variables				متغیرهای مستقل Independent variables		
میانگین اندازه ذرات (nm) Average particle size (nm)		غلظت نانوذرات نقره (ppm) Concentration of silver nanoparticles (ppm)		زمان فرآیند سنتز (دقیقه) Synthesis process time (min)	مقدار حجمی عصاره برگ درخت توت (میلی لیتر) Amount of mulberry leaf extract (mL)	
مدل Model	آزمایشگاهی Laboratory	مدل Model	آزمایشگاهی Laboratory			
87.2	86	64.140	64.3	5.00	10.00	1
73.8	73	58.869	58.6	7.75	13.50	2
90.1	92	47.454	46.1	1.00	10.00	3
76.8	76	55.007	54.3	7.75	6.50	4
87.2	88	64.140	63.9	5.00	10.00	5
78.7	80	51.764	51.8	9.00	5.00	6
87.2 (nm)	87	64.140	64.2	5.00	10.00	7
80.6	79	50.1	50.1	2.25	6.50	8
87.7	89	54.185	53.6	5.00	15.00	9
87.2	87	64.140	64.1	5.00	10.00	10
87.2	88	64.140	64.2	5.00	10.00	11
71.5	72	58.395	59.4	9.00	10.00	12
96.6	95	48.842	50.1	2.25	13.50	13
0.001	0.032			مقدار عصاره (X ₁) Amount of Extract (X ₁)		اثرات درجه اول (خطی)
0.000	0.000			زمان (X ₂) Time (X ₂)		First-order (linear) effects
0.012	0.000			X ₁ ²		اثرات درجه دوم
0.001	0.000			X ₂ ²		Second-order effects
				X ₁ X ₂		اثرات متقابل (برهمکنش)
0.000	0.049					Interaction effects

جهت اعتبارسنجی متغیرهای مستقل در نظر گرفته شده مورد استفاده در طراحی آزمایش از اصطلاح p-value استفاده خواهد شد که مطابق با توضیحات ارائه شده در بخش طراحی آزمایش، این مقدار ۰/۰۵ در نظر گرفته شده که نتایج نشان داده شده در جدول ۲ نشان می دهد، برای متغیرهای مستقل (مقدار حجمی عصاره و زمان انجام فرآیند) در نظر گرفته شده اثرات درجه اول برای متغیر وابسته غلظت به ترتیب برای مقدار حجمی عصاره و زمان فرآیند سنتز ۰/۰۳۲ و ۰/۰۰۰ این اثرات (درجه اول) برای متغیر وابسته میانگین اندازه نانوذرات نقره برابر با ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰ بدست آمد، نتایج حاضر نشان می دهد متغیرهای در نظر گرفته شده به درستی انتخاب شده اند که همه آنها اثرگذاری خود را بر روی متغیر وابسته نشان دادند، اثرات درجه دوم در تمامی حالات معنی دار و اثرگذار بوده و کمتر از ۰/۰۵ بدست آمد. در نهایت اثرات متقابل با مقدار p-value نیز برای هر دو متغیر وابسته کمتر از ۰/۰۵ بوده و این اثر نیز معنی دار بود. این اثرات بر روی متغیرهای وابسته در نمودارهای مختلف دو بعدی به تفصیل توضیح داده شده که در ادامه پژوهش حاضر گزارش شده است.

جدول ۲- مقادیر p-value مربوط به سنتز سبز نانوذرات نقره (اثرات خطی، درجه دوم و برهم کنش)

Table 4 - p-values related to green synthesis of silver nanoparticles (linear, quadratic and interaction effects)
یکی از اهداف کلی در بهینه سازی انجام گرفته، بدست آوردن رابطه کلی جهت ارتباط پاسخ های در نظر گرفته شده متغیر وابسته با متغیرهای مستقل در نظر گرفته می باشد. که تحت ثوابت معادله کلی درجه دوم بدست خواهد آمد که نتایج آن در جدول ۳ گزارش شده است.

جدول ۳- ضرایب چندجمله ای درجه دوم همراه با ضرایب برازشی برای هر متغیر وابسته در سنتز نانوذرات نقره

Table 3 - Quadratic polynomial coefficients along with fitting coefficients for each dependent variable in the synthesis of silver nanoparticles

میانگین اندازه ذرات (nm) Average particle size (nm)	غلظت نانوذرات نقره (ppm) Concentration of silver nanoparticles (ppm)	ضرایب Coefficients
Y_2	Y_1	
126.40	158.29	ثابت (β_0) Constants
5.90	2.67	اثرات درجه اول
-12.21	12.29	خطی (β_1, β_2) First-order effects Linear
-3.38	-16.25	درجه دوم (β_{11}, β_{22})
-5.51	-16.18	Second-order
-6.16	2.37	اثرات متقابل (برهمکنش) (β_{12}) Interaction
97.37%	98.90%	R-square

پس
از

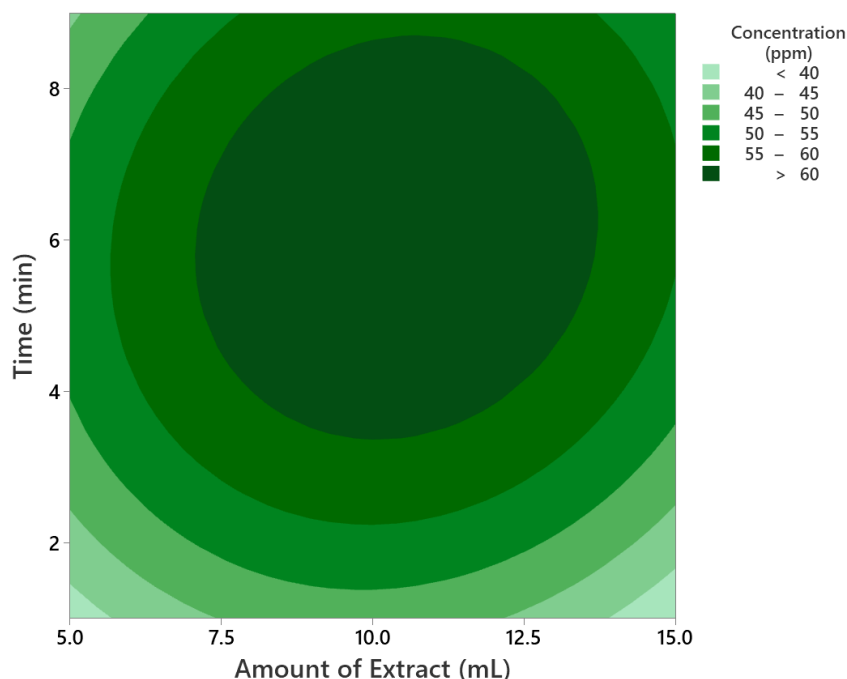
بدست آمدن ضرایب بدست آمده β (ضرایب ثابت، درجه اول، دوم و اثرات متقابل) و قرار دادن آنها در رابطه (۱)، به راحتی میتوان ارتباط بین متغیرهای مستقل و وابسته را ایجاد کرد و از طریق معادلات بدست آمده به پیش بینی خروجی و اعداد مربوط به متغیر وابسته دست یافت، اما اطمینان از نتایج بدست آمده وابسته به عبارت R^2 داشته که هرچه قدر این عبارت نزدیک به ۱ و یا به بیانی دیگر نزدیک به ۱۰۰٪ باشد، نتیجه حاصل شده اطمینان بیشتری خواهد داشت [۲۳، ۲۴]. عبارت مربوط به R^2 نیز در جدول ۳ گزارش شده است که برای مدل بدست آمده این عبارت عدد مناسبی بوده و برای متغیرهای وابسته غلظت و میانگین اندازه نانوذرات نقره به ترتیب برابر با ۹۸/۹۰٪ و ۹۷/۳۷٪ بدست آمد است که نشان می دهد مدل بدست آمده پیش بینی تقریباً دقیقی از خروجی خواهد داشت.

۵-۳- تأثیر دوتایی پارامترهای موثر و اثرگذار

پس از بدست آمدن نقاط و بازه های تأثیرگذار و یافتن ضریب تأثیر هر کدام به صورت جداگانه، نمودارهای خروجی مختلف که شامل متغیرهای تعیین شده در طراحی آزمایش به صورت جداگانه رسم شد و در ادامه به توضیحات آنها پرداخته شد.

۱-۵-۳- اثرات مقدار حجمی عصاره و زمان فرآیند سنتز بر روی غلظت نانوذرات نقره

با توجه به انتخاب متغیرهای مستقل مقدار حجمی عصاره استخراج شده و زمان فرآیند سنتز توسط حرارت دهی مایکروویو و اثر آنها بر روی متغیر وابسته غلظت نانوذرات نقره سنتز گردیده، هر کدام از متغیرهای مستقل به طور جداگانه اثرگذاری مختلفی داشته و در افزایش یا کاهش غلظت محصول تولید شده نقش خواهند داشت. با توجه به اینکه نانوذرات نقره سنتز گردیده هرچقدر غلظت بیشتری داشته باشد، بهتر و مناسب تر است، به همین خاطر در تحقیق حاضر به عنوان یکی از متغیرهای مهم و اثرگذار وابسته در نظر گرفته شد. در بخش حاضر اثرات دو متغیر مستقل به صورت همزمان بر روی متغیر وابسته گزارش شده است که نتایج آن در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- نمودار سطح پاسخ غلظت نانوذرات نقره سنتز گردیده بر اساس تغییرات مقدار حجمی عصاره برگ درخت توت و زمان فرآیند سنتز با حرارت دهی مایکروویو

Figure 1- Response surface of synthesized silver nanoparticles based on changes in the volume of mulberry leaf extract and the synthesis process time with microwave heating

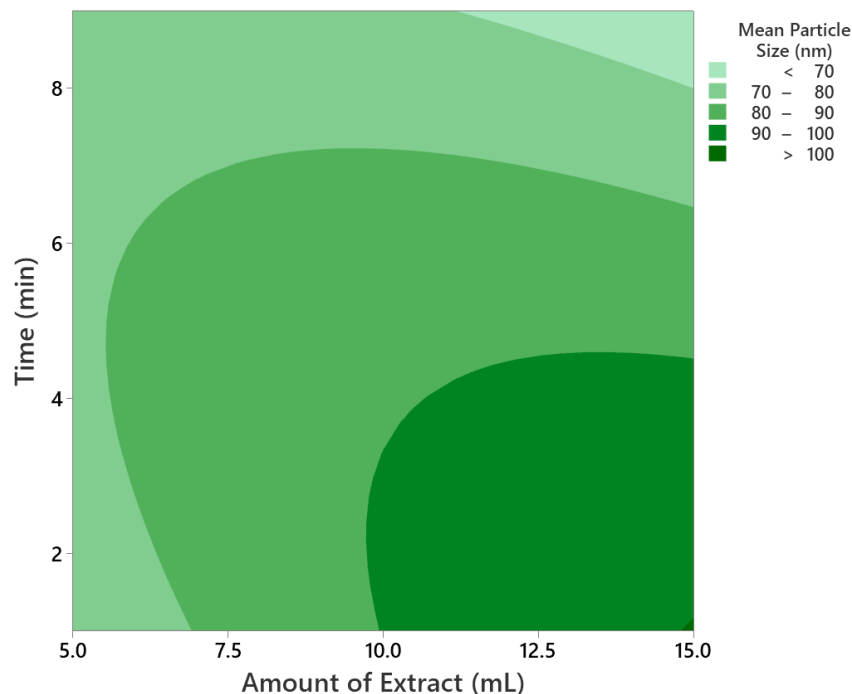
با توجه به نتایج حاصل از شکل ۱ در مقادیر حجمی پایین و ثابت عصاره برگ درخت توت استخراج گردیده، با افزایش زمان فرآیند حرارت دهی توسط مایکروویو، غلظت نانوذرات نقره سنتز گردیده در بازه ای افزایش یافته و در زمان های بالاتر روندی کاهشی دارد. تغییرات بیان شده در مقادیر حجمی بالا و ثابت عصاره نیز مشاهده می گردد، به عبارتی در این مقادیر با افزایش زمان فرآیند حرارت دهی توسط مایکروویو در بازه ای غلظت نانوذرات نقره افزایشی بوده و در زمان های بالاتر کاهش خواهد یافت. این رفتار دوگانه را می توان از منظر مکانیزم های زیستی و نانوساختاری به این شکل توضیح داد که در ابتدا، ترکیبات فعال بیولوژیک استخراج شده از عصاره به مقدار کافی صورت گرفته تا فعالیت کاهش یون های نقره انجام گیرد و همچنین از تجمع ذرات جلوگیری می نماید؛ اما با ادامه ی حرارت دهی، نرخ انرژی و کاتالیزهای فعال دیگر کاهش می یابد و تبدیل آنها به ترکیبات غیر فعال رخ می دهد که منجر به کاهش نرخ رشد نانوذرات و در نتیجه کاهش غلظت نانوذرات باقی مانده در محیط می شود. در مقادیر حجمی بالا و ثابت عصاره نیز پدیده ای مشابه مشاهده می شود با این تفاوت که حضور بیشتر ترکیبات زیستی در محیط موجب افزایش نرخ اولیه هسته زایی و رشد اولیه نانوذرات می شود.

از سوی دیگر با در نظر گرفتن پارامتر زمان به طور ثابت در زمان های پایین یا بالا نیز روند مشابه حالت قبل بوده و با افزایش مقدار حجمی عصاره برگ درخت توت استخراج شده، غلظت نانوذرات نقره سنتز شده افزایشی و سپس کاهشی می باشد. بنظر می رسد مقدار حجمی عصاره استخراج شده در مقادیر متوسط برابری و تعادل کافی با یون های فلز نقره موجود در محلول داشته و در نهایت منجر به نانوذرات با غلظت بالا گردیده اما در مقادیر حجمی بالایی از عصاره برگ درخت توت این توازن به هم خورده و ذرات احیا کننده موجود در محلول بیشتر از یون آزاد نقره بوده و غلظت نانوذرات به سمت کاهشی خواهد رفت.

پس همانطور که در شکل ۱ مشاهده می گردد بازه بهینه ای وجود داشته (با رنگ سبز پررنگ دیده می شود) که بهترین نسبت از زمان فرآیند سنتز و مقدار حجمی عصاره استخراجی بوده و بیشترین غلظت از نانوذرات را بدنبال خواهد داشت، در نقاط رئوس حدی (کمترین و بیشترین حجم عصاره) و (کمترین و بیشترین زمان فرآیند سنتز) کمترین غلظت نانوذرات نقره سنتز شده بدست خواهد آمد.

۲-۵-۳- اثرات مقدار حجمی عصاره و زمان فرآیند سنتز بر روی میانگین اندازه نانوذرات نقره

در بخش حاضر اثرات دو متغیر مستقل مقدار حجمی عصاره و زمان فرآیند سنتز به صورت همزمان بر روی متغیر وابسته میانگین اندازه ذرات گزارش شده است که نتایج آن در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲ - نمودار سطح پاسخ میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز گردیده بر اساس تغییرات مقدار حجمی عصاره برگ درخت توت و زمان فرآیند سنتز با حرارت دهی میکروویو

Figure 2 - Response surface diagram of the average size of synthesized silver nanoparticles based on changes in the volume of mulberry leaf extract and the synthesis process time with microwave heating

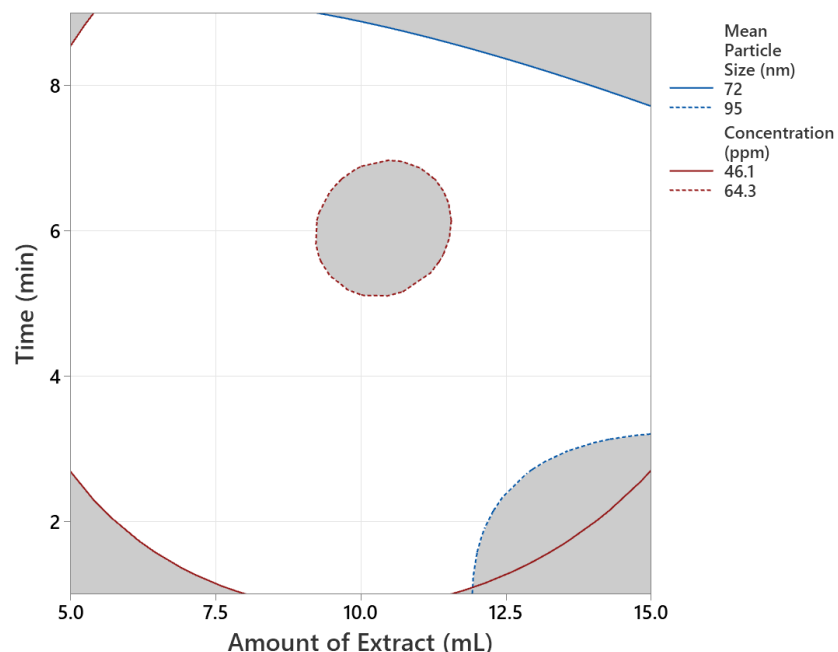
در شکل ۲ که اثرات دو متغیر مستقل مقدار حجمی عصاره و زمان فرآیند سنتز به طور همزمان بر روی میانگین اندازه نانوذرات را نشان می دهد، در مقادیر حجمی پایین و ثابت عصاره استخراجی، با افزایش زمان فرآیند سنتز، هیچگونه تغییری در میانگین اندازه ذرات دیده نشده و به طور ثابت باقی مانده است اما در مقادیر بالا و ثابت مقدار حجمی عصاره، با افزایش زمان فرآیند سنتز، میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز شده به طور پیوسته روندی کاهشی داشته است. بنظر می رسد در سطح های پایین و ثابت عصاره، افزایش زمان سنتز به دلیل کمبود منابع کاهنده و کافی بودن انرژی کاتالیستی، به طور کلی تاثیری بر فرآیند رشد نانوذرات نداشته و اندازه میانگین ذرات نسبتاً ثابت می ماند، زیرا نرخ هسته زایی اولیه محدود و نرخ رشد پس رشد برابر با نرخ تخریب ترکیبات فعال است. در مقابل، در سطوح بالای عصاره با حضور فراوانی ترکیبات زیستی کاهنده و پایدارکننده، افزایش زمان فرآیند به سمت ایجاد تعادل بین هسته زایی و رشد می انجامد: در این شرایط، فرآیندهای کوتاه تر منجر به تعداد بیشتری ذرات با اندازه متوسط کوچکتر می شود، اما با گذشت زمان و مصرف عوامل کاهنده/پایدارکننده، نرخ رشد ذرات کاهش یافته و به تدریج میانگین اندازه کاهش یا به تعادل می رسد. این رفتار را می توان به مکانیسم های زیر نسبت داد: (۱) در حضور مقدار بالای عصاره، کاتالیست های زیستی فعال تر و عوامل کاهش دهنده متعدد، نرخ هسته زایی

اولیه را بالا می‌برند و به تشکیل خوشه‌های کوچکتر منجر می‌شوند؛ (۲) با مصرف یا تخریب برخی ترکیبات کاهنده یا پایدارکننده در طول زمان، محیط به سمت محدوده‌ای با کاهش توانایی رشد ذرات می‌رود و رشد نانوذرات کند می‌شود یا متوقف می‌گردد؛ (۳) افزایش زمان، امکان تجمع ذرات کوچک به ذرات بزرگ‌تر را محدود کرده و منجر به نگرش تعادلی در اندازه ذرات می‌شود. بنابراین، در حالی که در مقادیر کم عصاره در بازه‌های زمانی مختلف تغییری دیده نمی‌شود، در مقادیر بالا یک روند بهینه زمانی وجود دارد که در آن افزایش زمان منجر به کاهش میانگین اندازه ذرات شده و به تعادل می‌رسد.

با بررسی اثر مقدار حجمی عصاره استخراج شده، در مقادیر ثابت و پایین زمان فرآیند سنتز با افزایش مقدار حجمی عصاره، میانگین اندازه ذرات به طور پیوسته روندی افزایشی داشته که این روند در زمان‌های بالا و ثابت کاملاً برعکس می‌باشد، به عبارتی در زمان‌های ثابت و بالای فرآیند سنتز نانوذرات، با افزایش مقدار حجمی عصاره استخراج شده، میانگین اندازه نانوذرات روندی کاهشی را تجربه نموده‌اند. در زمان‌های ثابت و کوتاه فرآیند سنتز، با افزایش مقدار حجمی عصاره توت، منابع کاهنده و پایدارکننده بیولوژیک بیشتری در محیط وجود دارد که منجر به افزایش نرخ هسته زایی می‌شود؛ اما چون هدف، کاهش میانگین اندازه ذرات است، در این بازه زمانی افزایش حجمی عصاره می‌تواند به ایجاد دسته‌ای از ذرات کوچکتر مرتبط با افزایش تعداد نقاط هسته زایی منجر شود و در نتیجه میانگین اندازه کاهش یابد. در مقابل، در زمان‌های کوتاه اما با مقدار حجمی پایین عصاره، نرخ هسته زایی احتمالاً کمتر است و رشد ذرات به نسبت محدود می‌شود که می‌تواند به تشکیل ذرات نسبتاً بزرگ‌تر منجر شود و میانگین اندازه را افزایش دهد. اما وقتی زمان فرآیند در مقادیر ثابت و بالا تنظیم می‌شود، حضور گسترده‌تر ترکیبات زیستی به عنوان کاهنده و پایدارکننده با گذشت زمان، به تدریج منجر به کاهش انرژی فعال برای رشد ذرات می‌شود و مصرف یا تخریب برخی ترکیبات کاهنده در طول زمان باعث کاهش ظرفیت رشد ذرات می‌شود. در این شرایط، با افزایش مقدار عصاره در زمان‌های طولانی، نرخ هسته زایی نسبتاً بالاتر می‌رود اما رشد ذرات با گذشت زمان محدودتر می‌شود و در نتیجه میانگین اندازه کاهش می‌یابد یا به تعادل نزدیک می‌شود.

۶-۳- بهینه سازی پارامترهای انتخاب شده جهت سنتز سبز نانوذرات نقره

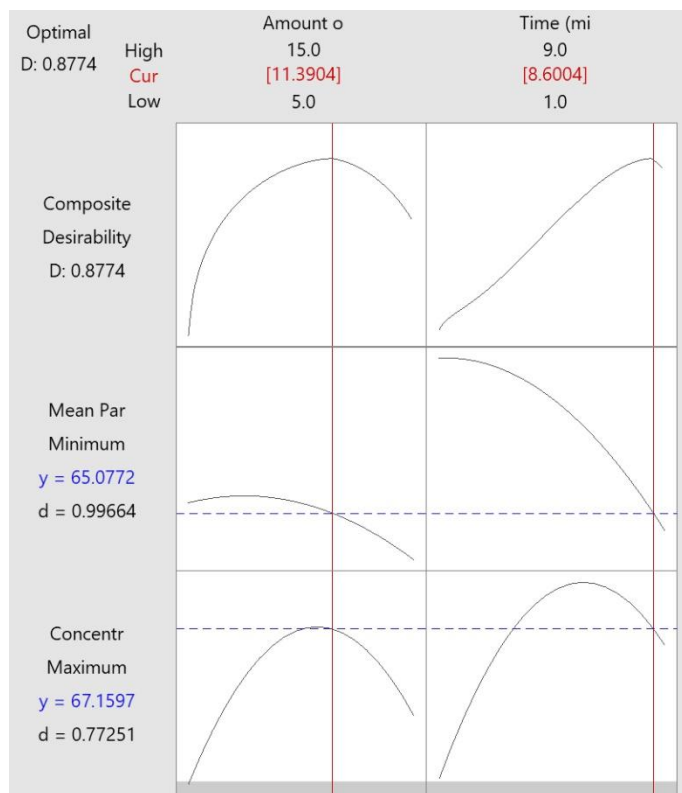
با توجه به نتایج حاصل از نمودارهای پاسخ سطح برای متغیرهای وابسته شامل (غلظت و میانگین اندازه نانوذرات) ناحیه‌های بهینه‌ای بدست آمد. با رسم و تحلیل نمودارهای پاسخ سطح و آنالیز آماری، حالت بهینه نهایی به صورت عددی و گرافیکی که متشکل از برآیند این دو پارامتر انتخاب شده می‌باشد به صورت شکل ۳ بدست آمد. در این نمودار ناحیه و بازه بهینه‌ای با حداقل و کمترین میانگین اندازه ذرات و همچنین بیشترین غلظت از نانوذرات نقره سنتز شده وجود دارد که با توجه به خطوط راهنمای شکل مشخص شده است.



شکل ۳ - نمودار نواحی بهینه در طراحی آزمایش جهت بهینه سازی مقادیر حجمی عصاره و زمان فرآیند سنتز

Figure 3 - Diagram of optimal regions in experimental design for optimizing extract volume values and synthesis process time

با توجه به اینکه در بهینه‌سازی گرافیکی محدوده و مقادیر به صورت دقیق مشخص نمی‌باشند، بهینه‌سازی عددی با ضریب اهمیت یکسان از پارامترهای خروجی شامل (بیشترین غلظت و کمترین میانگین اندازه نانوذرات) انجام گرفت پس از انجام طراحی آزمایش، بررسی آماری و تحلیل‌های انجام گرفته از اثرات متغیرهای مستقل (مقدار حجمی عصاره استخراج شده و زمان فرآیند سنتز) بر روی متغیرهای وابسته غلظت و میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز شده، بهینه‌سازی عددی انجام گرفت که در شکل ۴ نشان داده شده است.



شکل ۴- مقادیر بهینه (بهینه سازی عددی) شرایط سنتز سبز نانوذرات نقره با روش حرارت دهی مایکروویو
Figure 4- Optimal values (numerical optimization) of conditions for green synthesis of silver nanoparticles using microwave heating method

همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است، نقطه بهینه بدست آمده از طراحی آزمایش مذکور مربوط به مقدار حجمی غلظت تقریبی عصاره ۱۱/۳۹ میلی لیتر با مدت زمان فرآیند حرارت دهی ۸/۶ دقیقه می باشد که در این حالت اگر فرآیند سنتز نانوذرات نقره با حرارت دهی مایکروویو انجام شود منجر به نانوذرات نقره با غلظت ۶۷/۱۵ میلی گرم بر لیتر و میانگین اندازه ذرات تقریبی ۶۵ نانومتر خواهد شد که بایستی این نتایج راستی آزمایی شده و صحت سنجی شوند. با یافتن نقاط بهینه بدست آمده از بهینه سازی عددی که در بخش حاضر، فرآیند سنتز نانوذرات نقره انجام گردیده و مقادیر مربوط به متغیر وابسته مورد تحلیل و ارزیابی قرار گرفت که در بخش های زیر نتایج آن به همراه تحلیل و بررسی بیشتر گزارش گردیده است.

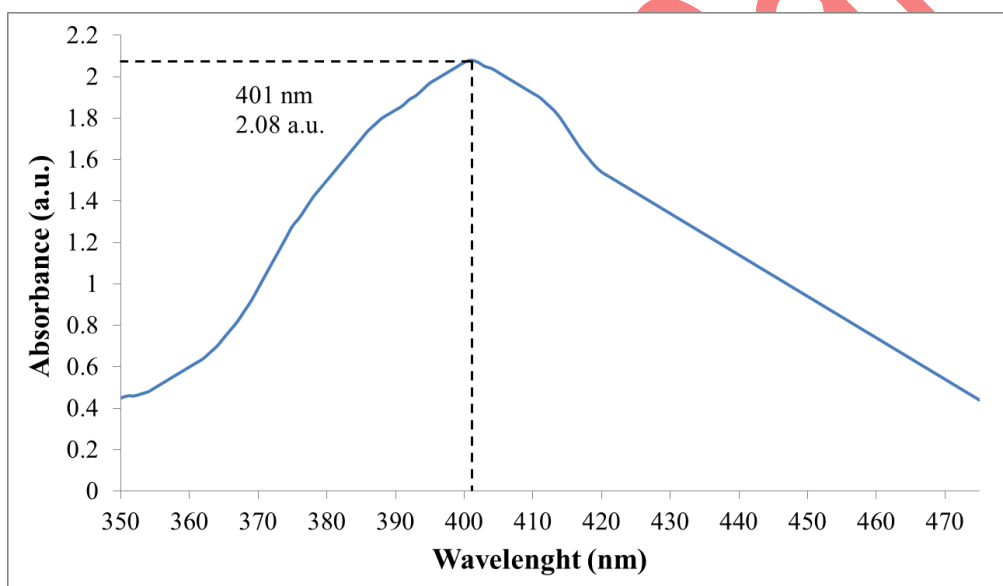
۷-۳- خواص فیزیکی و شیمیایی نانوذرات نقره سنتز شده در شرایط بهینه

در جهت تایید نتایج بدست آمده از مدل پیش بینی شده پس از بدست آمدن نقاط بهینه برای سنتز نانوذرات نقره، جهت صحت سنجی این شرایط و تعیین مشخصات نانوذرات نقره در شرایط بهینه با استفاده از روش حرارت دهی مایکروویو، آنالیزها و تعیین خواص توسط طیف سنجی نور مرئی-فرابنفش و آنالیز تجزیه پراکندگی نور پویایی انجام شد که به ترتیب در شکل های ۵ و ۶ گزارش شده است. همچنین پس از تائید نتایج حاصل از بهینه

سازی به روش پاسخ سطح، کاربرد نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمی سبز، شامل خاصیت ضدقارچی و آنتی اکسیدانی بررسی گردید که نتایج آن در شکل ۷ گزارش گردید.

۱-۷-۳- طیف سنجی نور مرئی-فرابنفش نانوذرات نقره سنتز شده در شرایط بهینه

نانوذرات نقره در بازه ۴۰۰ الی ۴۵۰ دارای بیشینه جذب (پیک) می باشند. در تحقیق حاضر پس از بررسی طیف سنجی نور مرئی-فرابنفش محصول تولید شده در نقطه بهینه، در طول موج ۴۰۱ نانومتر بیشینه جذب در مقدار ۲/۰۸ عدد جذب بدست آمد که با استفاده از رابطه ۲ به غلظت تبدیل گردیده و عددی معادل با ۶۷/۱۱ میلی گرم بر لیتر بدست آمد، با بررسی و تحلیل حاصل از آنالیز حاضر نتایج نشان می دهد پیک حاصل گردیده در محدوده مورد انتظار برای نانوذرات بسیار کوچک و با پوشش‌های سطحی نسبتاً کمینه، پایدار باقی مانده است و نتایج نشان می‌دهد که فرایند سنتز به تولید نانوذرات مطلوب با توزیع اندازه نسبتاً همگن انجامیده است.



شکل ۵- طیف سنجی نور مرئی-فرابنفش نانوذرات نقره در شرایط بهینه

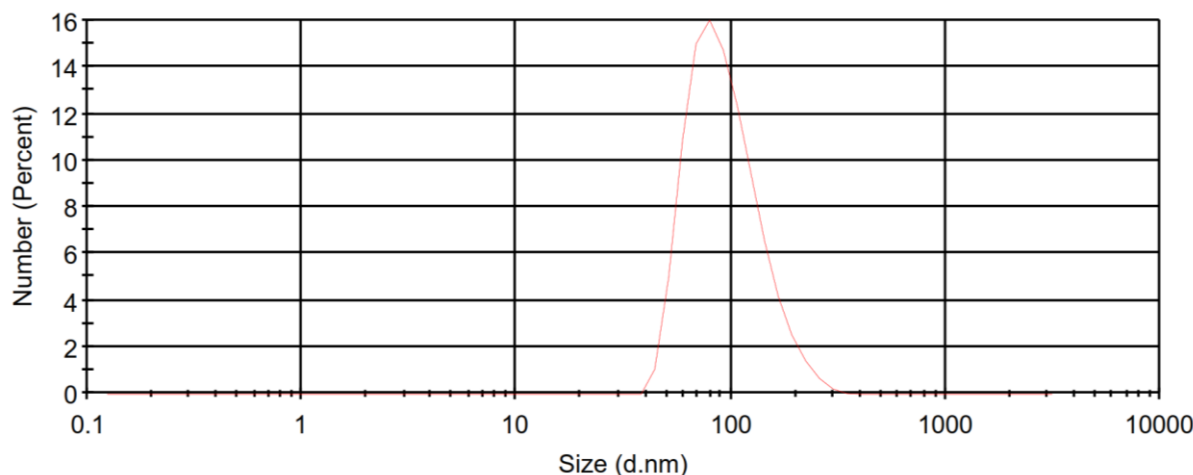
Figure 5- UV-Vis of silver nanoparticles under optimal conditions

با مقایسه نتیجه بدست آمده از آنالیز حاضر، اختلاف اندکی با نتایج حاصل از بهینه سازی عددی حاصل گردیده که نشان دهنده صحت نتایج و همچنین تأیید نتایج حاصل از بهینه سازی به روش پاسخ سطح می باشد.

۲-۷-۳- آنالیز تجزیه پراکندگی نور پویایی نانوذرات نقره سنتز شده در شرایط بهینه

با یافتن نقاط بهینه بدست آمده از بهینه‌سازی عددی، در شرایط بدست آمده از طراحی آزمایش صحت سنجی نتایج بدست آمده انجام شود که در بخش حاضر جهت بررسی میانگین اندازه نانوذرات انجام گرفت که پس از

انجام آزمایشات مربوط به صحت سنجی طراحی آزمایش، نتایج حاکی از آن بود که با مقایسه نتایج پیش‌بینی شده و نتایج بدست آمده از انجام آزمایشات، اختلاف معناداری بین داده‌های مدل پیش‌بینی با نتایج آزمایشگاهی وجود نداشت و مدل‌های بدست آمده تأیید شده و به‌درستی توانسته‌اند اثرات متغیرهای مستقل (مقدار حجمی عصاره و زمان فرآیند سنتز) را بر روی متغیر وابسته میانگین اندازه نانوذرات در محدوده موردنظر مشخص نمایند. در شکل ۶ توزیع اندازه نانوذرات سنتز شده در نقطه بهینه گزارش گردیده است.



شکل ۶- توزیع اندازه نانوذرات نقره سنتز شده در شرایط بهینه

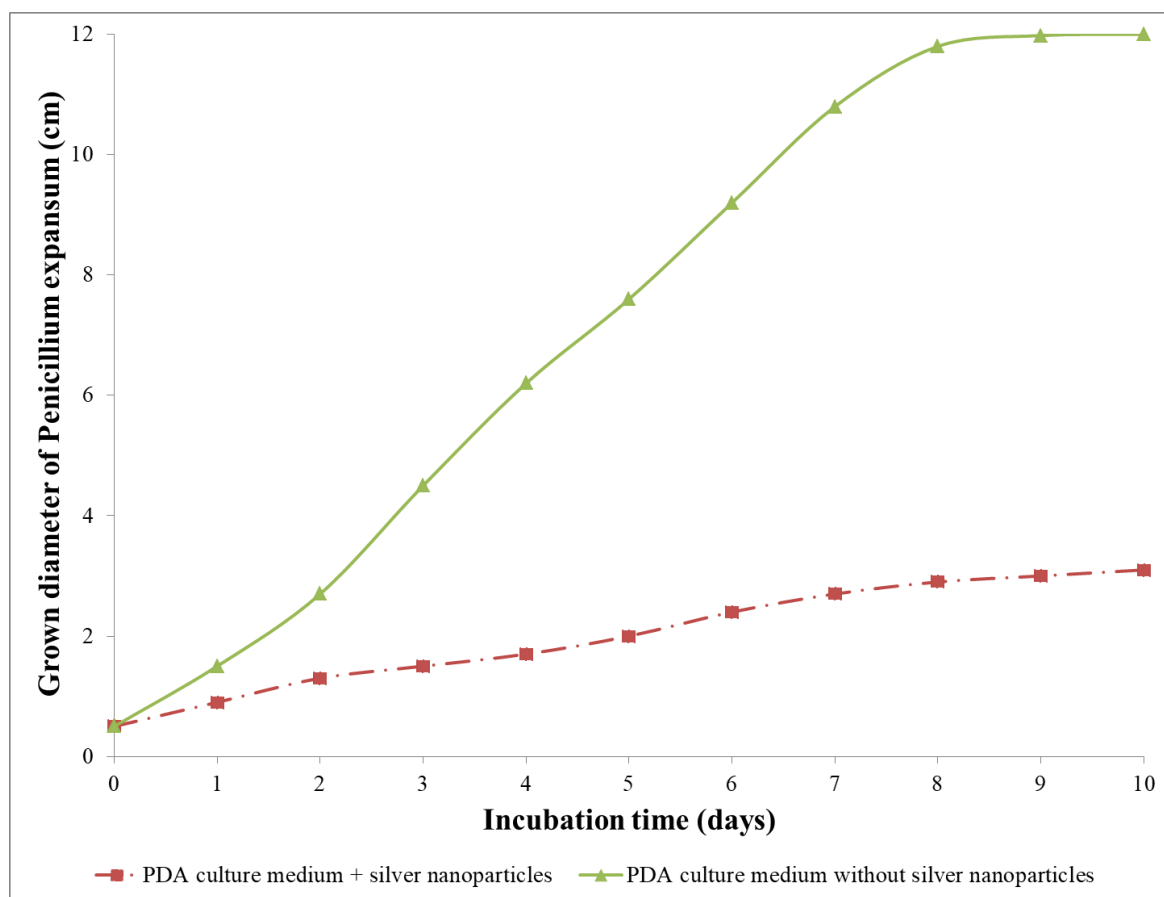
Figure 6- Size distribution of synthesized silver nanoparticles under optimal conditions

همانطور که در شکل ۶ قابل مشاهده می باشد، نانوذرات نقره سنتز شده در نقطه بهینه دارای توزیع مناسبی بوده و میانگین اندازه نانوذرات بدست آمده مقدار ۶۶ نانومتر می باشد. مقایسه مقدار عددی میانگین اندازه نانوذرات حاصل شده در نقطه بهینه اختلاف بسیار کمی با نتایج حاصل از بهینه سازی عددی (۶۵ نانومتر) با روش پاسخ سطح از خود نشان داد. پس بنابراین مدل‌های بدست آمده تأیید شده و به‌درستی توانسته‌اند اثرات متغیرهای مستقل را بر روی متغیر وابسته در محدوده موردنظر مشخص نمایند.

۳-۷-۳- بررسی خواص و کاربرد نانوذرات نقره سنتز شده در شرایط بهینه

با بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات نقره نتایج نشان داد محصول تولیدشده مقدار ۵۲/۳۱٪ در مهار رادیکال‌های آزاد مؤثر عمل نموده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌قبولی از خود نشان داد. همچنین خاصیت ضدقارچی در نقطه بهینه مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج آن در شکل ۷ گزارش شده است. جهت مقایسه اثر و خاصیت نانوذرات سنتز شده تولیدشده نسبت به نمونه محیط کشت بدون محصول، نتایج در یک نمودار رسم

گردید. بررسی و ارزیابی خاصیت ضدقارچی نانوذرات نقره سنتز گردیده به مدت ۱۰ روز به طور دقیق اندازه گیری گردید.



شکل ۷- میزان رشد قارچ پنی سیلینیوم اکسپانسونم در دو حالت، حضور نانوذرات نقره و عدم حضور آن
Figure 7- Growth rate of *Penicillium expansum* in two conditions, presence and absence of silver nanoparticles

همان طور که در شکل ۷ نشان داده شده است، نمونه محیط کشت حاوی نانوذرات نقره پس از ۱۰ روز رشد نسبی داشته و به طور تقریبی از رشد قارچ پنی سیلینیوم/اکسپانسونم جلوگیری نموده است، درحالی که نمونه محیط کشت PDA بدون نانوذرات نقره پس از ۱۰ روز، تمامی سطح پلیت را پر نموده و کاملاً رشد کرده است. با در نظر گرفتن کل قطر پلیت حاوی محیط کشت به اندازه ۱۲ سانتیمتر و بیشترین رشد قارچ بر روی محیط کشت حاوی نانوذره نقره به اندازه قطری معادل با ۳/۱ سانتیمتر، بازده خاصیت ضدقارچی نانوذرات نقره سنتز گردیده در تحقیق حاضر، ۷۴/۱۷٪ می باشد.

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش، روش سطح پاسخ به عنوان یک رویکرد آماری کارآمد برای بهینه سازی همزمان عوامل مؤثر در سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ درخت توت و اعمال حرارت مایکروویو به کار گرفته شد. یافته ها به وضوح نشان داد که تغییرات در دو عامل اصلی در نظر گرفته شده، یعنی حجم عصاره گیاهی و مدت زمان اعمال حرارت، تأثیری معناداری بر ویژگی های محصول نهایی شامل میانگین اندازه ذرات و غلظت نانوذرات تولید شده دارد. مدل های ریاضی استخراج شده از طراحی آزمایش، با دقت و اطمینان آماری بالا، توانستند رفتار سیستم را توصیف کرده و همخوانی بسیار خوبی بین مقادیر پیش بینی شده توسط مدل و داده های تجربی مشاهده گردید. تحلیل سطوح پاسخ نشان داد که با تنظیم دقیق شرایط فرآیند (یعنی انتخاب تعادل بهینه بین مقدار عصاره و زمان تابش مایکروویو)، می توان به نقطه مناسبی در سنتز دست یافت که در آن هم توزیع اندازه ذرات یکنواخت و هم بازده سنتز در بالاترین میزان خود قرار دارد. این بهینه سازی نه تنها منجر به کاهش چشمگیر زمان انجام واکنش در مقایسه با روش های حرارتی مرسوم شد، بلکه ماهیت سبز و غیرسمی فرآیند را نیز به طور کامل حفظ نمود. در نهایت، نانوذرات سنتز شده تحت شرایط بهینه، از خواص ضدقارچی قابل توجهی برخوردار بودند که برای کاربردهای صنعتی و زیست پزشکی این نانومواد به ویژه در زمینه تولید فرآورده های پایدار و کم خطر با رویکرد حفاظت از محیط زیست حائز اهمیت بوده و چهارچوبی مرجع برای پژوهش های آتی در حوزه سنتز سبز فراهم می آورد.

۵- تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه کردستان با شماره اعتبار ۰۳/۹/۲۳۶۹۹ به دلیل حمایت مالی از این پژوهش و در اختیار گذاشتن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می شود.

1. Sati, A., Ranade, T.N., Mali, S.N., Ahmad Yasin, H.K., and Pratap, A. (2025). Silver nanoparticles (AgNPs): comprehensive insights into bio/synthesis, key influencing factors, multifaceted applications, and toxicity— a 2024 update. *ACS omega*. 10(8): 7549-7582.
2. Abbas, R., Luo, J., Qi, X., Naz, A., Khan, I.A., Liu, H., Yu, S., and Wei, J. (2024). Silver nanoparticles: Synthesis, structure, properties and applications. *Nanomaterials*. 14(17): 1425.
3. Kalakonda, P., Thodeti, M., Ganneboina, C., Ankathi, K., Kathri, S., Begari, K., Kante, H.S., Jupalli, V., Khaderabad, Y., and Vijaylaxmi, S. (2024). Eco-Friendly fabrication of silver nanoparticles for sustainable water purification and antibacterial synergy. *Plasmonics*. 19(6): 2857-2869.
4. Yoosefian, M. and Sabaghian, H. (2024). Silver nanoparticle-based drug delivery systems in the fight against COVID-19: enhancing efficacy, reducing toxicity and improving drug bioavailability. *Journal of Drug Targeting*. 32(7): 794-806.
5. Shahzadi, S., Fatima, S., Shafiq, Z., and Janjua, M.R.S.A. (2025). A review on green synthesis of silver nanoparticles (SNPs) using plant extracts: a multifaceted approach in photocatalysis, environmental remediation, and biomedicine. *RSC advances*. 15(5): 3858-3903.
6. Jeon, Y.-N., Ryu, S.-J., Lee, H.-Y., Kim, J.-O., and Baek, J.-S. (2024). Green synthesis of silver nanoparticle using black mulberry and characterization, phytochemical, and bioactivity. *Antibiotics*. 13(8): 686.
7. Azizan, N.S. and Baharudin, N.H.A. (2025). Eco-Friendly Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Using Mulberry Leaves Extract for Heavy Metal Removal from Water: Mulberry Leaves Extract for Heavy Metal (Zinc) Removal from Water. *Bioresources Environment, Development Sustainability*. 3(3): 34-43.
8. Edo, G.I., Mafe, A.N., Ali, A.B., Akpogheli, P.O., Yousif, E., Isoje, E.F., Igbuku, U.A., Ismael, S.A., Essaghah, A.E.A., and Ahmed, D.S. (2025). Green Biosynthesis of Nanoparticles Using Plant Extracts: Mechanisms, Advances, Challenges, and Applications. *BioNanoScience*. 15(2): 267.
9. Ghareeb, A., Fouda, A., Kishk, R.M., and El Kazzaz, W.M. (2024). Unlocking the potential of titanium dioxide nanoparticles: an insight into green synthesis, optimizations, characterizations, and multifunctional applications. *Microbial Cell Factories*. 23(1): 341.
10. Becerra-Paniagua, D.K., Díaz-Cruz, E.B., Baray-Calderón, A., Garcia-Angelmo, A.R., Regalado-Pérez, E., del Pilar Rodríguez-Torres, M., and Martínez-Alonso, C. (2022). Nanostructured metal sulphides synthesized by microwave-assisted heating: A review. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*. 33(29): 22631-22667.
11. Kaur, N., Singh, A., and Ahmad, W. (2023). Microwave assisted green synthesis of silver nanoparticles and its application: a review. *Journal of Inorganic Organometallic Polymers Materials*. 33(3): 663-672.
12. Gupta, P.C., Sharma, N., Rai, S., and Mishra, P., *Use of smart silver nanoparticles in drug delivery system*, in *Metal and metal-oxide based nanomaterials: Synthesis, agricultural, biomedical and environmental interventions*. 2024, Springer. p. 213-241.
13. Alavi, M. and Ashengroph, M. (2023). Mycosynthesis of AgNPs: mechanisms of nanoparticle formation and antimicrobial activities. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 21(4): 355-363.
14. Singh, P. and Mijakovic, I. (2022). Strong antimicrobial activity of silver nanoparticles obtained by the green synthesis in *Viridibacillus* sp. extracts. *Frontiers in microbiology*. 13: 820048.
15. Anis, S.N.S., Liew, W.C., Marsin, A.M., Muhamad, I.I., Teh, S.H., and Khudzari, A.Z.M. (2023). Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using pineapple leaves waste. *Cleaner Engineering Technology*. 15: 100660.

16. Akdaşçi, E., Eker, F., Duman, H., Bechelany, M., and Karav, S.J.I.J.o.M.S. (2025). Microbial-Based Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Comparative Review of Bacteria-and Fungi-Mediated Approaches. 26(20): 10163.
17. Shayan, S., Hajihajikolai, D., Ghazale, F., Gharahdaghigharahtappeh, F., Faghih, A., Ahmadi, O., and Behbudi, G. (2024). Optimization of green synthesis formulation of selenium nanoparticles (SeNPs) using Peach tree leaf extract and investigating its properties and stability. *Iranian Journal of Biotechnology*. 22(3): e3786.
18. Ahmadi, O., Sayyar, Z., and Jafarizadeh Malmiri, H. (2023). Optimization of Processing Time, Temperature, and Stirring Rate to Synthesize the Ag Nanoparticles Using Oregano Extract. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* 42(10).
19. Eshghi, M., Kamali-Shojaei, A., Vaghari, H., Najian, Y., Mohebian, Z., Ahmadi, O., and Jafarizadeh-Malmiri, H. (2021). Corylus avellana leaf extract-mediated green synthesis of antifungal silver nanoparticles using microwave irradiation and assessment of their properties. *Green Processing and Synthesis*. 10(1): 606-613.
20. Ahmadi, O. and Jafarizadeh-Malmiri, H. (2020). Green approach in food nanotechnology based on subcritical water: effects of thyme oil and saponin on characteristics of the prepared oil in water nanoemulsions. *Food Science Biotechnology*. 29(6): 783-792.
21. Mirzakhani, L., Jafarizadeh-Malmiri, H., Ahmadi, O.J.N.-S., and Nano-Objects. (2024). Three accelerated methods based on microwave, hydrothermal and conventional heating in the green synthesis of selenium nanoparticles using garlic aqueous extract: Screening and characterization. 38: 101162.
22. Ahmadi, O., Jafarizadeh-Malmiri, H., and Jodeiri, N. (2018). Eco-friendly microwave-enhanced green synthesis of silver nanoparticles using Aloe vera leaf extract and their physico-chemical and antibacterial studies. *Green Processing and Synthesis*. 7(3): 231-240.
23. Ahmadi, O. (2025). Optimizing the operating conditions of temperature and time of whey desalination process using cationic resins by response surface method. *Food Engineering Research*. 24(1): 1-14.
24. Beigzadeh, R. and Ahmadi, O. (2025). Comparison of modeling with fuzzy logic method and mixture design in predicting the formulation of ziziphora essential oil nanoemulsion production. *Innovative Food Technologies*. 12(2): 114-135.

Green synthesis of silver nanoparticles using mulberry leaf extract under microwave irradiation: Optimization and antifungal properties

Farhad Rahmani ^{*1}, Omid Ahmadi²

1- Associate Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

2- Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

*Corresponding author: f.rahmanichiyane@uok.ac.ir

Abstract:

Silver nanoparticles hold a special place in various branches of nanotechnology due to their high antifungal efficacy and biological stability. The use of green methods, such as synthesis with plant extracts and microwave heating, can simultaneously improve both the performance and biocompatibility. Optimizing the production conditions leads to a balance between physical characteristics and biological effects. In the present study, mulberry leaf extract was used as a reducing agent for the green synthesis of silver nanoparticles. Using response surface methodology (RSM) for experimental design, the synthesis process was optimized within an extract volume range of 5 to 15 mL and a microwave heating duration of 1 to 5 minutes. The optimization results indicated that an extract volume of 11.39 mL and a heating time of 8.6 minutes were the most suitable conditions for the synthesis process. Under these optimal conditions, the highest concentration and the smallest average nanoparticle size were achieved at 67.11 ppm and 66 nm, respectively. Finally, evaluation of the nanoparticles synthesized under the optimal conditions revealed antioxidant and antifungal activities of 52.31% and 74.17%, respectively.

Keywords: Antioxidant, Green synthesis, silver nanoparticles, Optimization, Antifungal

ACCEPTED