Nanomeghyas
www.nanomeghyas.ir
نانومقیاس

# بهینه سازی فرمولاسیون سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ درخت گیلاس و بررسی پایداری آن

سروین محمدی اقدم[1*] و امید احمدی[2]

[1] گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[2] گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

**چکیده:** بسیاری از پژوهشگران، سنتز نانوذرات فلزی با عصاره‌های گیاهی و کاربردهای بالقوه آن‌ها را گزارش کرده‌اند، عصاره برگ درخت گیلاس از مواد موثر در سنتز نانوذرات نقره بوده که نتایج حاصل از آنالیز FTIR نیز تایید کرد. نانوذرات نقره طبق طراحی آزمایش انجام گرفته با روش Mixture Design از اختلاط سه ماده احیاکننده (برگ درخت گیلاس ۳-۰ میلی‌لیتر) ماده نمک پایه (محلول ۱ میلی‌مولار نیترات نقره ۹-۵ میلی‌لیتر) و ماده پایدارکننده (ژل آلوورا ۱-۰ میلی‌لیتر) به روش سبز سنتز شد. پس از بهینه‌سازی انجام گرفته نتایج نشان داد که مقادیر ۲/۵۱، ۵/۷۹ و ۰/۶۹ میلی‌لیتر به ترتیب برای ماده احیاکننده، محلول پایه و ماده پایدارکننده مناسب ترین حالت سنتز نانوذرات بوده که در این حالت بیشترین غلظت ppm ۱۶/۸۸، کمترین میانگین اندازه ذرات ۳۶ نانومتر، مناسب ترین شاخص پراکندگی ۰/۴۳ و بالاترین پتانسیل زتا ۲۵ میلی‌ولت بدست خواهد آمد. خواص نانوذرات سنتز شده در شرایط بهینه مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج حاصل از آنالیزهای UV-Vis و DLS نتایج بدست آمده را با اختلاف جزئی تایید کردند. نانوذرات نقره خواص مناسب آنتی‌اکسیدانی ۲۸/۴۵٪ و ضدباکتریایی در مقابل باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) و گرم منفی (*اشرشیا کولی*) از خود نشان داد. خاصیت ضدقارچی نیز مقدار ۶۵/۵۵٪ بدست آمد.

**واژگان کلیدی:** برگ درخت گیلاس، سنتز سبز، طراحی آزمایش، فرمولاسیون، نانوذرات نقره

*sarvin.s108@pnu.ac.ir*

## ۱- مقدمه

در سال‌های اخیر، فناوری نانو در زمینه‌های مختلف مانند الکترونیک، پزشکی، انتقال دارو، صنایع غذایی و بسته‌بندی و بسیاری از زمینه‌های دیگر مورد توجه قرار گرفته است. در تعریف علم نانو، نانوذره ذراتی با ابعاد ۱۰۰-۱ نانومتر را شامل می شود. نانوذرات فلزی خواص نوری، حرارتی، شیمیایی و فیزیکی غیر معمولی از خود نشان می‌دهند، که ناشی از اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالا در نانوذرات است. با افزایش سطح ویژه نانوذرات شدت ویژگی های آنها به دلیل افزایش انرژی سطحی افزایش می‌یابد [۱].

سنتز نانوذرات به دو روش عمده بالا به پایین و پایین به بالا انجام می‌شود. در روش بالا به پایین از فرم توده ای ماده استفاده می‌شود و با روش‌های مختلف اندازه آن تا محدوده نانو کاهش می‌یابد. اما در روش پایین به بالا، نانوذرات از کنار هم قرار گرفتن اتم ها و مولکول ها تشکیل می‌شوند [۲].

با یک تقسیم بندی از نظر دیگر، نانوذرات به روش های شیمیایی و فیزیکی و زیستی سنتز می شوند که از میان این روش ها روش بیولوژیکی (سنتز سبز) در سال های اخیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، چرا که استفاده از این عوامل سبز هیچ ماده شیمیایی سمی تولید نمی کند و نیازی به داشتن فشار، دما و انرژی بسیار بالا ندارد [۳]. با به کارگیری و ترکیب علم نانو و شیمی سبز می توان به بسیاری از مواد کاربردی دست یافت که هزینه کمتر و ایمنی بیشتری داشته باشند. در حال حاضر، نیاز رو به رشد برای توسعه یک فرایند سازگار با محیط زیست برای سنتز نانوذرات و از این رو تمرکز به سمت شیمی سبز و فرایند های زیستی وجود دارد. روش شیمی سبز شامل سه عامل اصلی یعنی عامل احیاکننده، عامل پایدارکننده و همچنین، حلال است [۴]. برای اینکه بتوان نام شیمی سبز را بر روش سنتز نامگذاری کرد، باید



تاریخ دریافت : ۱۴۰۱/۱۱/۰۴
تاریخ پذیرش : ۱۴۰۲/۰۴/۱۱

یکی از عوامل غیر شیمیایی باشد. در روش سبز سنتز نانوذرات، از باکتری ها، قارچ ها و مخمرها و گیاهان استفاده می شود که گاهی به عنوان عامل احیا کننده و همچنین عامل پایدار کننده به طور همزمان به کار برده شده‌اند. در مورد گیاهان از بخش های مختلف آنها مثل برگ، ساقه، ریشه و سایر بخش های آنان برای سنتز استفاده شده است. گیاهان کارخانه شیمیایی طبیعت هستند [۵]. نگه داری و سنتز نانوذرات با استفاده از گیاهان بسیار کم هزینه‌تر از سایر مواد است. مجموعه گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان باعث ظرفیت کاهندگی بسیار بالایی در آن‌ها می‌شود که می‌تواند برای سنتز نانوذرات مورد استفاده قرار گیرد. به دلیل همین گستردگی متابولیت‌های گیاهی نانوذرات تولیدی در گیاهان در مقایسه با سایر مواد بسیار پایدارتر بوده و در زمان کمتری سنتز می‌شوند. برخی گیاهان این قابلیت را دارند که نانوذرات تولیدی را با یک سری عامل‌های آلی پایدار مثلا یک سطح عامل‌دار پایدار پوشش دهند، در نتیجه نانوذرات برای مدت طولانی پایدار نگه داشته می‌شوند [۶].

نانوذرات نقره در بین نانوذرات فلزی به علت خاصیت ضد باکتریایی خود به طور گسترده ای بکار برده می شوند. از ویژگی های دیگر نانوذرات نقره به خاصیت ضد قارچی و ضد التهابی، سازگاری با محیط زیست، غیر حساسیت زا بودن و پایداری زیاد می توان اشاره کرد که باعث می شود در پوشش زخم ها و پانسمان‌ها، تشخیص و درمان بیماری ها، بسته بندی مواد غذایی و غیره مورد استفاده قرار گیرند [۷].

نانوذرات نقره به دلیل پایداری شیمیایی، هدایت الکتریکی بالا، خاصیت کاتالیزوری، خاصیت ضد میکروبی و خاصیت غیرقابل اشتعال بودن می‌تواند در طراحی و ساخت ابررساناها، فیبرهای کامپوزیتی، محصولات آرایشی و بهداشتی، صنایع غذایی، قطعات الکتریکی و دیگر صنایع به کار برده شود به علاوه نانوذرات نقره در پزشکی و بیوپزشکی در پانسمان زخم، کرم‌های موضعی، پارچه و اسپری‌های ضدعفونی کننده، به عنوان ماده میکروب‌کش از طریق ایجاد اختلال در غشای سلولی و اخلال در فعالیت‌های آنزیمی، ساخت مواد پیوندی در ارتوپدی و دندان‌پزشکی و همچنین، تشخیص و درمان سرطان و بیماری ایدز کاربرد می‌یابد [۸].

گیلاس با نام علمی ( از خانواده (Rosaceae) بوده و درختی بدون خار و دارای میوه گوشت دار و محتوی یک هسته است، برگ گیلاس برای سنگ کلیه و گرفتگی صدا بسیار مفید است، خوردن گیلاس و دمنوش دم و برگ آن، داروی مناسبی برای از بین بردن دیفتری، برونشیت گرم، ورم گرم و عفونت‌های حلق و گرفتگی صدا است [۹]. در پژوهشات گذشته از صمغ درخت گیلاس جهت سنتز نانوذرات نقره و مس استفاده شده ولی تابحال از عصاره برگ درخت آن با اینکه دارای عوامل احیاکننده نیز است، در این جهت استفاده نشده است.

افزون بر استفاده از نمک فلزی و ماده احیاکننده در سنتز نانوذرات از عوامل مهم دیگر میتوان به ماده پایدار کننده اشاره نمود که شامل مواد مختلف و متنوعی است

که یکی از اصلی ترین مواد ژل آلوورا است. این ماده خواص فوق العاده ای در مصارف درمانی نیز داشته و در سنتز نانوذرات فلزی به روش سبز به عنوان عامل پایدارکننده مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۰].

طراحی آزمایش یکی از بهترین روش‌ها جهت بهینه‌سازی یک فرآیند است که هدف از بهینه‌سازی، بهبود عملکرد سیستم یا فرآیند و بدست آوردن بالاترین میزان بازده از آن است. واژه بهینه سازی در تحلیل‌های شیمیایی، به عنوان یافتن شرایطی که در آن، آزمایش بهترین پاسخ را بدهد، به کار برده می‌شود [۱۱]. طراحی مختلط یا طراحی ترکیبی از طراحی فاکتوریل کسری متفاوت است چون نمی توان در طراحی مختلط سطوح فاکتورها در هر آزمایش به طور مستقل از فاکتور دیگر انتخاب کرد. تمایز اصلی روش های طراحی عاملی و طراحی مختلط، فضای طراحی آنهاست. فضای طراحی روش عاملی مجموعه ای از ترکیبات احتمالی متغیرهای مستقل است. در صورتی که در طراحی مختلط مجموعه ترکیبات احتمالی تناسب های نسبی متغیرهای مستقل است که معمولا تا یک مقدار مشخصی می تواند باشد. تمام سطوح فاکتورها باید قابل اندازه گیری باشند. هر فاکتوری باید مقدار بیشینه و کمینه را داشته باشد اما مجموع سطوح فاکتورها نباید کمتر یا بیشتر از مقدار مشخص و ثابتی باشد.

طراحی مختلط به طور کلی فرم خاصی از روش سطح پاسخ[1] بوده اما نقاط مرکزی ندارد و فقط برهم کنش های خطی با طراحی مختلط قابل تخمین هستند. یعنی عبارات AB, AC یا

[1] Response Surface Methodology

ABC تخمین زده می شوند و برهم کنش های بالاتر مانند $AB^2$, $A^2B^2$ و غیره قابل تخمین نیستند. روش های طراحی مختلط به دو روش کلی انجام می شوند. در روش طراحی مختلط استاندارد[1] محدودیت تناسب بین فاکتورها باید به گونه ای باشد که جمع آنها واحد باشد. در طراحی رئوس حدی[2] (پژوهش حاضر) یک یا چند فاکتور دارای محدودیت حداکثری یا حداقلی هستند یا رابطه خطی بین فاکتورها وجود دارد. در این حالت برای طراحی باید فضای فاکتور مور نظر به صورت جداگانه تعریف شود.

طراحی آزمایش مجموعه ای از تکنیک‌های آماری بوده که در بهبود فرآیندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. با کمک این طرح آماری، تعداد آزمایش‌ها کاهش یافته و کلیه ضرایب مدل رگراسیون با درجات مختلف قابل برآورد هستند. پژوهشگران مختلفی نیز از این تکنیک جهت بهینه‌سازی مقادیر و کاهش تعداد آزمایشات استفاده کرده اند [۱۲-۱۴]. در پژوهش هایی از قبیل پژوهش حاضر با توجه به حضور سه ماده نمک فلزی، عصاره برگ درخت گیلاس و ماده پایدارکننده ژل آلوورا استفاده از طراحی آزمایش و بهینه سازی مقادیر مصرفی امری اجتناب ناپذیر است.

در پژوهش حاضر پس از بررسی متون علمی و منابع معتبر مختلف در سه بخش اصلی پژوهش گزارش شده انجام گرفت که به صورت، ۱- استخراج عصاره برگ درخت گیلاس ۲- بهینه سازی مقادیر و فرمولاسیون ترکیب سه ماده نمک پایه نیترات نقره، عصاره استخراج شده برگ درخت گیلاس و ژل آلوورا جهت سنتز سبز نانوذرات نقره ۳- بررسی خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی نانوذرات بهینه سنتز شده است. نوآوری پژوهش حاضر ارتباط به عامل پایدارکننده، احیاکننده و نمک پایه نیترات نقره بوده که با استفاده از طراحی آزمایش به روش طراحی مختلط انجام گرفت.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- مواد

ماده اصلی بکار برده شده در پژوهش حاضر گیاه برگ درخت گیلاس بوده که از باغ های محلی مهاباد جمع‌آوری شد. با توجه به مطالعات انجام گرفته در بخش مقدمه پژوهش حاضر، برگ درخت گیلاس علاوه بر در دسترس بودن، دارای خواص مناسبی است، به همین علت از آن استفاده شد. جهت عصاره گیری از برگ درخت گیلاس، نیاز به آب مقطر بوده که از شرکت مروارید پارس تهیه شد. گیاه آلوورا که به عنوان ماده پایدارکننده در مرحله سنتز نانوذرات نقره مورد استفاده قرار میگیرد، از بازارهای محلی مهاباد خریداری شد. نمک پایه و اصلی در سنتز نانوذرات نقره در پژوهش حاضر نمک نیترات نقره ($AgNO_3$) بوده که از شرکت مرک[3] خریداری شد. جهت بررسی خواص باکتریایی از دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112) و *اشرشیا کولی* (PTCC 1270) و بررسی خاصیت ضد قارچی از قارچ *پنی سیلینیوم دیگیتاتوم* (PTCC 5251) که از بانک میکروبی ایران خریداری شد استفاده شد. محیط کشت های مورد استفاده در بررسی خواص ضد میکروبی (ضدباکتریایی و ضد قارچی) PCA[4] و PDA[5] بوده که از شرکت اوکسوید[6] (انگلستان) خریداری شد. برای بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی از ماده ۲و۲ دی فنیل-۲ پیکریل هیدرازیل[7] که از شرکت سیگما[8] خریداری شد استفاده شد.

### ۲-۲- روش ها

#### ۲-۲-۱ تهیه عصاره برگ درخت گیلاس و ژل آلوورا

برگ درخت گیلاس جمع‌آوری شده احتمال آلودگی و وجود گرد و غبار بر روی آن وجود داشته و به همین خاطر با آب مقطر شست و شو شده و به مدت یک هفته در دمای محیط بدون آلودگی قرار گرفت و کامل خشک شد. در ادامه پس از خشک شدن کامل برگ درخت گیلاس، مقدار ۳ گرم از برگ پودر شده به ۱۰۰ میلی لیتر آب در حال جوش افزوده شده و به مدت ۱۵ دقیقه (مطابق شکل ۱الف) این فرآیند طول کشیده تا عصاره گیری کامل انجام شود، سپس با فیلتر کردن آن با کاغذ واتمن شماره ۱ و جداسازی

[1] standard mixture designs
[2] extreme vertex design

[3] Merck
[4] Plate Count Agar
[5] Potato Dextrose Agar
[6] Oxoid
[7] DPPH
[8] Sigma

کامل ذرات برگ درخت گیلاس، عصاره آن بدست آمده و تا زمان استفاده برای سنتز نانوذرات نقره در دمای یخچال (۴ $^{o}C$) نگه‌داری شد.

برای آماده‌سازی ژل آلوورا، گیاه آلوورا خریداری شده با آب مقطر شست وشو شده و سپس با چاقویی تمیز سطح سبز رنگ گیاه جدا شده (شکل ۱ب) و در نهایت ژل داخلی آلوورا جمع آوری شده و در ظرفی در دمای یخچال جهت استفاده بعدی نگه داری شد.

الف)

ب)

شکل ۱: الف)آماده سازی عصاره برگ درخت گیلاس ب)آماده سازی ژل گیاه آلوورا

### ۲-۲-۲ طراحی آزمایش و آنالیز آماری داده ها جهت سنتز سبز نانوذرات نقره در دمای محیط

هدف اصلی در پژوهش حاضر، با توجه به مطالب بیان شده، بررسی آثار اصلی و اثر متقابل متغیرهای انتخاب شده و بهینه سازی شرایط سنتز سبز نانوذرات نقره و بدست آوردن فرمولاسیون بهینه است. از این رو، طرح آماری طراحی مختلط[1] برای بخش حاضر انتخاب شد. در بسیاری از مواقع هدف یا موضوع مورد نظر به صورت مختلط یا ترکیبی است. یعنی پارامتر موردنظر ترکیبی از متغیرهای دیگر بوده و به صورت تناسبی از اجزا یا متغیرهای دیگر تعریف می‌شود.

در پژوهش حاضر بهینه‌سازی و طراحی آزمایش جهت فرمولاسیون سنتز نانوذرات نقره با غلظت بالا، میانگین اندازه ذرات پایین و شاخص پراکندگی پایین و پتانسیل زتا (معیارت پایداری) بالا با شرایط زیر انجام گرفت.

با توجه به غلظت‌های مختلف مورد استفاده نمک نیترات نقره در مراجع مختلف، از جمله مقالات متعدد احمدی و همکارانش [۶]، بیشترین و متداول ترین غلظت برای نمک نیترات نقره ۱ میلی مولار بوده که در پژوهش حاضر، مقدار ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۱ میلی مولار نمک نیترات نقره تهیه شد. با توجه به در نظر گرفتن سه متغیر مقداری ۱- مقدار ماده احیاکننده-عصاره برگ درخت گیلاس (محدوده ۰ الی ۳ میلی لیتر) ۲- مقدار ماده پایه-محلول نمک نیترات نقره (محدوده ۵ الی ۹ میلی لیتر) ۳- مقدار ماده پایدارکننده- ژل آلوورا (محدوده ۰ الی ۱ میلی لیتر)، تعداد ۱۳ آزمایش انجام گرفت که در هر ظرف با توجه به فرمولاسیون طراحی شده با روش طراحی مختلط سه ماده احیاکننده، نمک پایه و ماده پایدار کننده مطابق شکل ۲الف مخلوط شده و در دمای محیط بدون نور (شکل ۲ب) به مدت ۲۴ ساعت نگه داری شد.

ب)

شکل ۲: الف)فرمولاسیون انجام گرفته طبق طراحی آزمایش ب) قرار دادن در محیط تاریک و دمای آزمایشگاه

برای تعیین خصوصیات نهایی نانوذرات نقره سنتز شده بررسی اثر فرمولاسیون انجام گرفته بر روی غلظت، میانگین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا آن مورد بررسی و تحلیل قرار گرفتند. برای سه متغیر (مقادیر مواد مختلف) تعداد آزمایش‌ها برای بهینه‌سازی با این روش ۱۳ آزمایش بود و برای طراحی آزمایش از سیستم غیرکد استفاده شد. 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 متغیر وابسته (غلظت نانوذرات، میانگین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا) به صورت رابطه (۱) است و مقادیر $X$ مربوط به متغیرهای مستقل ($X_1$: مقدار ماده احیاکننده (عصاره برگ میوه گیلاس و $X_2$: مقدار ماده پایه (محلول نمک نیترات نقره) $X_3$: مقدار ماده پایدار کننده (ژل آلوورا)) است.

[1] Mixture Design

$$Y_i = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

رابطه (۱)

در رابطه (۱)، ضرایب $\beta_1$، $\beta_2$ و $\beta_3$ اثرات خطی (درجه اول)، $\beta_{12}$، $\beta_{13}$ و $\beta_{23}$ اثرات متقابل یا برهمکنش دو ماده در ثابت بودن ماده سومی انتخاب شده است. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از روش آنالیز واریانس[1] (ANOVA) و از روش آماری t-test جهت مقایسه داده‌ها استفاده شد. در این مدل $P < ۰/۰۵$ به عنوان مقادیر آماری معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود و جملاتی که دارای $P > ۰/۰۵$ باشند به عنوان نتایج بی‌معنی و غیر اثرگذار تلقی شدند. مقدار $P < ۰/۰۵$ بدین معناست که مدل ارائه شده و استخراج شده با احتمال ۹۵٪ پذیرفته می‌شود. مقدار $R^2$ نیز معیار خوبی برای بررسی مناسب بودن یک مدل است که هرچه مقدار این عدد به یک نزدیک‌تر باشد دلالت بر دقیق بودن مدل در پیش‌بینی رفتار متغیرهای مستقل بر روی متغیر وابسته دارد. نتایج حاصل از هرکدام از آزمایش‌ها، تحلیل و همچنین اثر فرمولاسیون انجام گرفته بر روی خواص نانوذرات نقره سنتز شده در بخش بحث و نتایج گزارش شده است.

**۲- ۳ – آنالیزها**

پس از استخراج عصاره برگ درخت گیلاس با روش بیان شده، آنالیز طیف سنجی فروسرخ (FTIR[2]) با جهت مشخص نمودن گروه های عاملی عصاره استخراج شده با استفاده از دستگاه UNICAM 800 مدل Shimadzu بوسیله ماده بی اثر KBr در محدوده عدد موجی $cm^{-1}$ ۴۰۰ الی ۴۰۰۰ انجام گرفت.

برای شناسایی و بررسی تشکیل و سنتز نانوذرات نقره، میزان جذب آن در محدوده گزارش شده در پژوهشات پیشین (محدوده ۴۰۰ الی ۴۵۰ نانومتر) با روش تجزیه نور مرئی–فرابنفش[3] UV-Vis با استفاده از دستگاه Jenway مدل ۶۷۰۵ بررسی شد. در ادامه جهت محاسبه و تعیین میانگین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی (PDI[4]) و پتانسیل زتای فرمولاسیون های انجام گرفته جهت سنتز نانوذرات نقره، از تجزیه پراکندگی نور پویایی DLS[5] که روشی غیرمخرب و فیزیکی است با دستگاه Malvern ساخت انگلستان استفاده شد. در نهایت با بررسی کاربرد نانوذرات نقره سنتز شده خواص آنتی اکسیدانی با روش DPPH، خاصیت ضد باکتریایی با روش انتشار چاهک و خاصیت ضدقارچی به روش نفوذ با روش های شرح داده شده در پژوهش های احمدی و همکارانش انجام گرفت [۱۵, ۱۶].

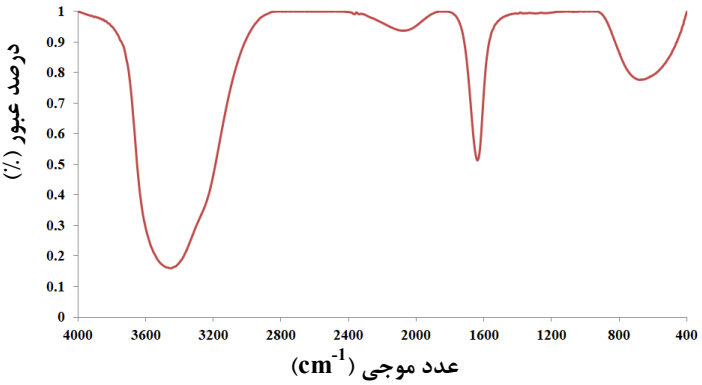
## ۳- نتایج و بحث

در پژوهش حاضر که سنتز به روش سبز انجام گرفته است، عصاره مورد استفاده و گروه های عاملی موجود در آن اهمیت بالایی داشته و به همین خاطر جهت پی بردن به وجود مواد احیاکننده در ساختار عصاره استخراج شده، نتایج بدست آمده از آنالیز FTIR در بخش زیر گزارش شده است، از اصلی ترین اهداف پژوهش حاضر یافتن فرمولاسیون مناسب و بدست آوردن بهترین ترکیب درصد سه ماده مرتبط با سنتز نانوذرات نقره بوده که با انجام بهینه سازی مقادیر مواد پایه، احیاکننده و پایدار کننده، خواص نانوذرات سنتز شده بررسی شده است، در بخش های زیر نتایج حاصل از طراحی آزمایش، پاسخ های مربوط به هر کدام، تاثیرگذاری متغیرهای انتخاب شده گزارش شده است. پس از بهینه سازی فرمولاسیون انجام گرفته و بدست آوردن نقطه مناسب جهت سنتز سبز نانوذرات نقره، کاربرد محصول تولید شده از جمله خاصیت آنتی اکسیدانی و خاصیت ضدمیکروبی (ضدباکتریایی و ضد قارچی) مورد بررسی قرار گرفته است.

### ۳-۱- آنالیز طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه FTIR عصاره برگ درخت گیلاس

جهت مشخص نمودن گروه های عاملی موجود در عصاره برگ درخت گیلاس از تجزیه طیف عبوری FTIR استفاده شد که نتایج آن در شکل ۳ نشان داده شده است. عصاره استخراج شده با توجه به اینکه درصد قابل توجهی از آن حلال آب می باشد، دارای پیک شاخص در عدد موجی $cm^{-1}$ ۳۴۵۰/۸۱ بوده که مربوط به گروه عاملی (OH-) بوده و همچنین دو پیک شاخص در اعداد موجی $cm^{-1}$ ۱۶۳۷/۴۹ و ۶۷۶/۴۰ بوده که به ترتیب مربوط به گروه های عاملی آمید و آروماتیکی می باشد. عوامل احیاکننده در عصاره برگ درخت گیلاس مربوط به دو گروه عاملی بیان شده بوده که توانایی احیای یون های فلز نقره را دارا هستند.

[1] Analysis of Variance
[2] Fourier-Transform Infrared
[3] Ultraviolet–visible
[4] Polydispersity Index
[5] Dynamic Light Scattering




شکل ۳- طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه FT-IR عصاره برگ درخت گیلاس

## ۳-۲- مدل پاسخ سطح

با توجه به توضیحات ارائه شده در بخش طراحی آزمایش و بر اساس روش طراحی مختلط (Mixture Desgin) تعداد آزمایش های در نظر گرفته شده ۱۳ آزمایش بوده که چهار پاسخ غلظت، میانگین اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتای هر نمونه در نظر گرفته شد که در جدول (۱) آزمایش ها و نتایج مربوط به هر کدام گزارش شده است. در بخش های بعدی تاثیر هر متغیر مستقل مربوط به فرمولاسیون (شامل مواد احیاکننده، پایدارکننده، و محلول نمک پایه) بر روی متغیرهای وابسته به طور کامل شرح داده خواهد شد.

جدول ۱- طراحی آزمایش انجام گرفته و نتایج حاصل

| شماره آزمایش | متغیرهای مستقل مقدار مواد (میلی لیتر) | | | متغیرهای وابسته (پاسخ) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ماده احیاکننده (عصاره برگ درخت گیلاس) | ماده پایه (محلول نیترات نقره) | ماده پایدار کننده (ژل گیاه آلوورا) | غلظت نانوذرات (ppm) | میانگین اندازه ذرات (نانومتر) | شاخص پراکندگی - PDI | پتانسیل زتا (mV) |
| ۱ | ۱/۵۰ | ۷/۰ | ۰/۵۰ | ۸/۸۲ | ۹۱ | ۰/۴۸۱ | ۱۸/۷ |
| ۲ | ۱/۵۰ | ۶/۵ | ۱/۰۰ | ۷/۷۰ | ۹۹ | ۰/۴۳۵ | ۲۳/۳ |
| ۳ | ۰/۷۵ | ۸/۰ | ۰/۲۵ | ۵/۸۸ | ۹۶ | ۰/۶۹۴ | ۱۶/۵۰ |
| ۴ | ۳/۰۰ | ۶/۰ | ۰/۰۰ | ۲۱/۸۳ | ۳۷ | /۶۸۴ | ۱۳/۴۰ |
| ۵ | ۳/۰۰ | ۵/۰ | ۱/۰۰ | ۱۹/۵۴ | ۶۹ | /۵۰۹ | ۲۵/۴۰ |
| ۶ | ۲/۲۵ | ۶/۵ | ۰/۲۵ | ۱۷/۷۷ | ۲۳ | ۰/۴۸۲ | ۱۷/۸۰ |
| ۷ | ۳/۰۰ | ۵/۵ | ۰/۵۰ | ۲۰/۴۸ | ۵۶ | ۰/۵۳۱ | ۲۰/۴۰ |
| ۸ | ۰/۷۵ | ۷/۵ | ۰/۷۵ | ۵/۱۰ | ۱۰۳ | ۰/۵۷۴ | ۲۲/۲۰ |
| ۹ | ۱/۵۰ | ۷/۵ | ۰/۰۰ | ۹/۸۴ | ۷۹ | ۰/۵۹۳ | ۱۲/۹۰ |
| ۱۰ | ۰/۰۰ | ۹/۰ | ۰/۰۰ | ۲/۸۲ | ۲۵۱ | ۱/۰۰۰ | ۲/۴۰ |
| ۱۱ | ۲/۲۵ | ۶/۰ | ۰/۷۵ | ۱۶/۴۵ | ۳۴ | ۰/۳۹۲ | ۲۷/۸۰ |
| ۱۲ | ۰/۰۰ | ۸/۵ | ۰/۵۰ | ۲/۳۰ | ۲۸۱ | ۰/۹۴۱ | ۱۱/۴۰ |
| ۱۳ | ۰/۰۰ | ۸/۰ | ۱/۰۰ | ۱/۷۴ | ۳۱۰ | ۰/۸۳۲ | ۱۰/۷۰ |

برای 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 است، که نتایج آن در جدول ۲ گزارش شده است، همان طور که در جدول قابل مشاهده می باشد، برای اثرات خطی مربوط به هر متغیر مستقل این اعداد معنی دار بوده و برای غلظت، میانگین اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا به ترتیب ۰/۰۰۴، ۰/۰۱۵، ۰/۰۰۰ و ۰/۰۱۹ بدست آمده که نشان دهنده انتخاب صحیح فرمولاسیون و بازه های در نظر گرفته شده است. همچنین با بررسی و بررسی مقادیر p-value برای اثرات درجه دوم به صورت دوبه دو برای ۱- مقدار ماده احیاکننده و مقدار محلول پایه ($x_1x_2$) ۲- مقدار ماده احیاکننده و پایدار کننده ($x_1x_3$) و ۳- مقدار محلول پایه و ماده پایدار کننده ($x_2x_3$) نتایج نشان داد.

در اثر برهمکنش بین ماده احیاکننده (عصاره برگ درخت گیلاس) و محلول نمک پایه (محلول نیترات نقره) بر روی تمامی متغیرهای وابسته با مقادیر p-value بدست آمده به صورت ۰/۰۴۴، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰ و ۰/۰۰۸ اثرگذار می باشند، این تاثیر برای برهمکنش بین ماده احیاکننده و پایدارکننده فقط در شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا مشاهده شده و به ترتیب با مقادیر p-value، ۰/۰۰۹ و ۰/۰۲۶ معنی دار بوده و بر روی غلظت و میانگین اندازه نانوذرات تاثیرگذار نیستند. در نهایت با بررسی برهمکنش بین مقدار محلول نمک نیترات نقره (ماده پایه) و مقدار ژل آلوورا مصرفی (ماده پایدار کننده)، نتایج نشان داد که این بر همکنش کمترین تاثیر را بر روی متغیرهای وابسته از خود نشان داده است. با نتایج بدست آمده بنظر می رسد از بین ترکیبات انتخاب شده جهت فرمولاسیون سنتز نانوذرات نقره، متغیر مقدار عصاره استخراج شده برگ درخت گیلاس بیشترین تاثیر را بر روی متغیرهای وابسته از خود نشان داده و مقدار ژل آلوورا به عنوان ماده پایدارکننده کمترین نقش را داشته و فقط به تنهایی تاثیرگذاری آن بر روی پتانسیل زتا می باشد که در نتایج بدست آمده با توجه به برهمکنش آن با محلول نمک نیترات نقره، با عدد بدست آمده برای مقدار p-value که تقریبا نزدیک به ۰/۰۵ است، این تفاسیر بیان شده هم پوشانی دارد.

جدول ۲- مقادیر p-value و F-value مربوط به نانوذرات نقره سنتز شده (اثرات خطی و برهن کنش بین متغیرهای مستقل)

| ضرایب | اثرات خطی | $X_1X_2$ | $X_1X_3$ | $X_2X_3$ |
|---|---|---|---|---|
| غلظت نانوذرات ($Y_1$ (ppm) | | | | |
| P-Value | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۴۴ | ۰/۶۸۵ | ۰/۴۴۴ |
| F-Value | ۱۲/۹۶ | ۵/۳۲ | ۰/۱۸ | ۰/۶۶ |
| میانگین اندازه ذرات ($Y_2$ (nm) | | | | |
| P-Value | ۰/۰۱۵ | ۰/۰۰۱ | ۰/۱۷۳ | ۰/۴۱۸ |
| F-Value | ۸/۰۶ | ۲۶/۳۴ | ۲/۳۰ | ۰/۷۴ |
| شاخص پراکندگی PDI, $Y_3$ | | | | |
| P-Value | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۹ | ۰/۰۹۶ |
| F-Value | ۸۳/۰۵ | ۲۳۴/۸۴ | ۱۲/۷۳ | ۳/۷۰ |
| پتانسیل زتا ($Y_4$ (mV | | | | |
| P-Value | ۰/۰۱۹ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۲۶ | ۰/۰۶۳ |
| F-Value | ۷/۴۴ | ۱۳/۴۸ | ۷/۹۴ | ۴/۸۶ |

یکی از اهداف کلی در بهینه سازی فرمولاسیون انجام گرفته، بدست آوردن رابطه کلی جهت ارتباط پاسخ در نظر گرفته شده (متغیر وابسته) با متیغرهای مستقل در نظر گرفته است. که تحت ثوابت معادله کلی درجه دوم بدست خواهد آمد که نتایج آن در جدول ۳ گزارش شده است.

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

| ضرایب | غلظت نانوذرات (ppm) | میانگین اندازه ذرات (نانومتر) | شاخص پراکندگی PDI - | پتانسیل زتا (mV) |
|---|---|---|---|---|
| | $Y_1$ | $Y_2$ | $Y_3$ | $Y_4$ |
| درجه اول ($\beta_1$) | ۱۰۸/۰۰ | ۱۹۳۹/۰ | ۶/۰۴ | -۱۰۲/۹۰ |
| درجه اول ($\beta_2$) | ۲/۴۷ | ۲۵۳/۱ | ۱/۰۲ | ۳/۲۵ |
| درجه اول ($\beta_3$) | ۲۰۵/۰۰ | ۵۲۸۸/۰ | ۸/۶۴ | -۸۷۰/۰۰ |
| درجه دوم ($\beta_{12}$) | -۶۹/۸۰ | -۳۴۳۹/۰ | -۹/۱۳ | ۱۹۸/۲۰ |
| درجه دوم ($\beta_{13}$) | ۱۱۷/۰۰ | -۹۲۹۳/۰ | -۱۹/۴۵ | ۱۳۹۱/۰۰ |
| درجه دوم ($\beta_{23}$) | ۲۲۱/۰۰ | -۵۱۹۳/۰ | -۱۰/۳۳ | ۱۰۷۱/۰۰ |
| R-square | ٪۹۸/۲۲ | ٪۹۴/۸۹ | ٪۹۸/۹۸ | ٪۹۳/۵۵ |

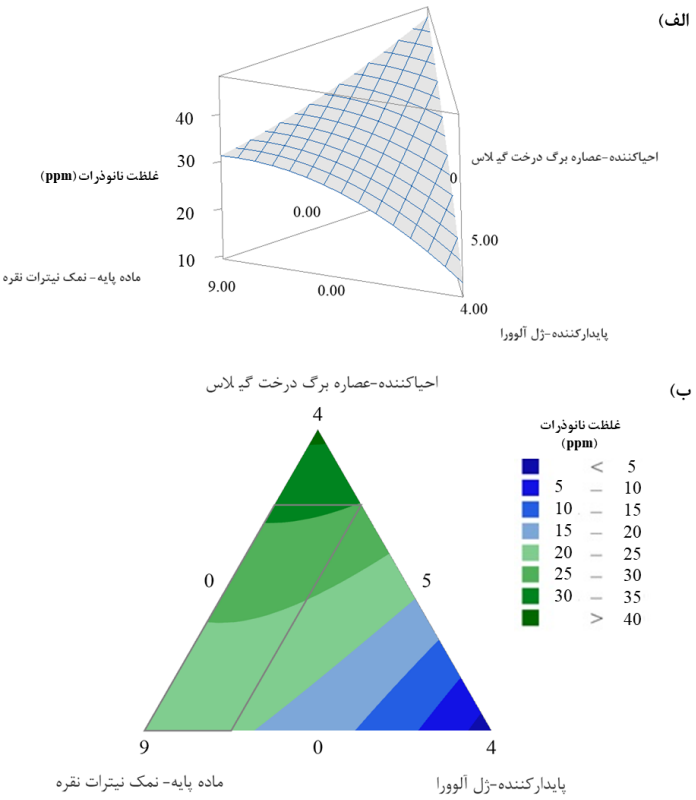
پس از گزارش ضرایب بدست آمده β (درجه اول و دوم)) و قرار دادن آنها در رابطه (۱)، به راحتی میتوان ارتباط بین متغیرهای مستقل و وابسته را ایجاد نموده و از طریق معادلات بدست آمده به پیش بینی خروجی و اعداد مربوط به هر کدام از متغیرهای وابسته به صورت جداگانه دست یافت، اما اطمینان از نتایج بدست آمده وابسته به عبارت $R^2$ داشته که هرچقدر این عبارت نزدیک به ۱ و یا به بیانی دیگر نزدیک به ۱۰۰٪ باشد، نتیجه حاصل شده اطمینان بیشتری خواهد داشت. عبارت مربوط به $R^2$ نیز در جدول ۳ گزارش شده است که برای هر چهار مدل بدست آمده شامل، غلظت، میانگین اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتای نانوذرات نقره سنتز شده، این عبارت عدد مناسبی بوده و به ترتیب ٪۹۸/۲۲، ٪۹۴/۸۹، ٪۹۸/۹۸ و ٪۹۳/۵۵ بدست آمده است که نشان می دهد مدل های بدست آمده پیش بینی نسبتا دقیقی از خروجی خواهند داشت.

### ۳-۳- تأثیر پارامترهای موثر در سنتز نانوذرات نقره بر پاسخ های غلظت، میانگین اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا

پس از بدست آمدن نقاط و بازه های تأثیرگذار و یافتن ضریب تأثیر هرکدام به‌صورت جداگانه، نمودارهای خروجی مختلف که شامل متغیرهای تعیین‌شده در طراحی آزمایش به‌صورت جداگانه و دوبه‌دو رسم شد و در ادامه به توضیحات آنها پرداخته شد.

- **اثرات فرمولاسیون مواد بر روی غلظت نانوذرات نقره سنتز شده**

غلظت نانوذرات سنتز شده یکی از متغیرهای وابسته بسیار مهم بوده که پس از فرمولاسیون انجام گرفته و بررسی نقش هر کدام از مواد احیاکننده، پایدارکننده و محلول نمک پایه در صورتی که غلظت نانوذرات مقدار بالایی داشته باشد، به عنوان متغیر مستقل موثر در نظر گرفته شده و هر کدام از متغیرهای مستقل که در راستای کاهش غلظت نانوذرات عمل نماید، اثرگذاری نامطلوبی خواهد داشت، در ادامه اثر متغیرهای مستقل فرمولاسیون مواد بر روی غلظت نانوذرات سنتز شده در شکل ۴ (الف و ب) نشان داده شده است.



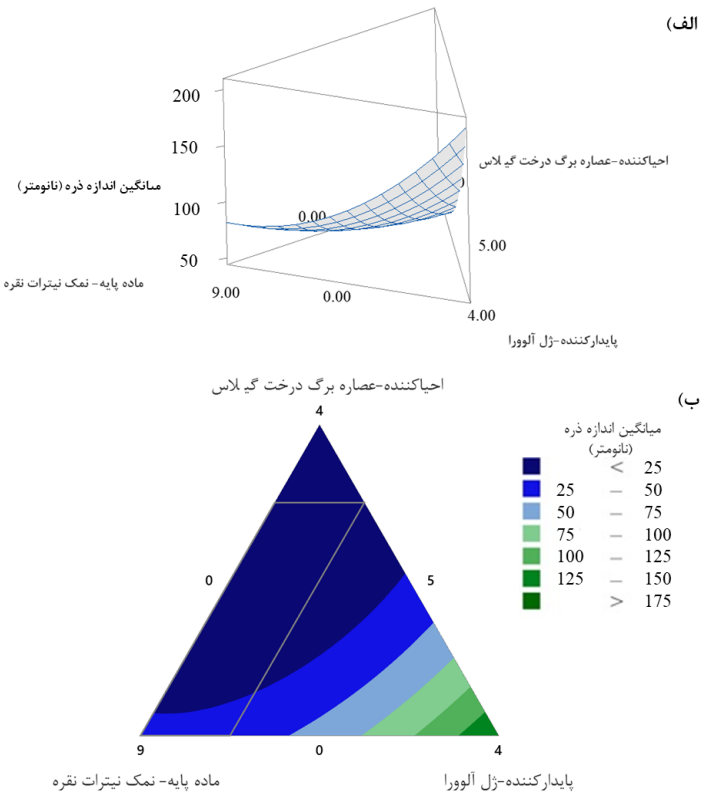

شکل ۴- الف) نمودار سه‌بعدی ب) نمودار دوبعدی تغییرات غلظت نانوذرات نقره سنتز شده بر اساس فرمولاسیون انجام گرفته

همانطور که در شکل ۴الف نشان داده شده است، در مقادیر پایین و ثابت مواد احیاکننده (مقدار ۰/۷۵ میلی لیتر)، با افزایش ماده محلول نمک پایه، میزان جذب و به عبارتی غلظت نانوذرات نقره افزایش پیدا خواهد کرد، این روند در مقادیر بالای ماده احیاکننده (۳ میلی لیتر) نیز مشاهده شده و افزایش ماده محلول پایه، در جهت افزایش میزان جذب (افزایش غلظت) عمل می نماید. اما روند حاضر برای اثر مواد پایدارکننده کاملا برعکس بوده و به عبارتی در مقادیر ثابت ماده احیاکننده با افزایش مواد پایدارکننده، جذب نانوذرات نقره کاهش پیدا خواهد کرد. بنظر می رسد با افزایش میزان محلول نمک پایه، مقدار یون های بیشتری در ظرف محتوی فرمولاسیون انتخاب شده وجود داشته و احتمال کاهیده شدن این ذرات و تبدیل آنها به نانوذرات توسط مواد احیاکننده بیشتر وجود دارد، در نتیجه با سنتز هرچه بیشتر یون ها و کاهیده شدن آنها به نانوذرات، غلظت افزایش پیدا خواهد کرد، در رابطه با تاثیر نامطلوب افزایش مواد پایدارکننده در جهت کاهش غلظت، میتوان بیان کرد که مواد پایدارکننده چون دارای اندازه های بزرگ مولکولی می باشند، با حضور خود در ظرف فرمولاسیون، باعث ممانعت از برخورد بین مواد احیاکننده و پایدارکننده شده و در نهایت منجر به کاهش غلظت نانوذرات سنتز شده هستند.

در شکل ۴ب، بازه کمترین و بیشترین مقدار غلظت نانوذرات نقره سنتز شده با طیف های مختلف رنگ آبی و سبز نشان داده شده است. بیشترین غلظت نانوذرات سنتز شده که در شکل حاضر با رنگ سبز پررنگ مشخص شده است مربوط به مقادیری از فرمولاسیون بوده که بیشترین ماده احیاکننده (۳ میلی لیتر) انتخاب شده و کمترین میزان غلظت با مقادیر کمتر از ۵ ppm مربوط به آزمایش‌هایی است که در فرمولاسیون انتخاب شده هیچگونه ماده احیاکننده ای وجود نداشته باشد. به این ترتیب نتایج بدست آمده به خوبی نشان می دهد که نقش ماده احیاکننده در غلظت نانوذرات سنتز شده بسیار موثر بوده و عصاره برگ درخت گیلاس توانایی مناسبی در کاهیدن یون های فلزی نقره داشته که در نهایت منجر به سنتز سبز نانوذرات نقره شده است.

- **اثرات فرمولاسیون مواد بر روی میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز شده**

در پژوهش حاضر یکی از اصلی ترین متغیرهای وابسته انتخاب شده، میانگین اندازه نانوذرات بوده که به عنوان اصل مهم و پایه در پژوهش حاضر بایستی مورد بررسی قرار گیرد، چراکه متغیر حاضر اگر مقدار آن بیشتر از ۱۰۰ نانومتر باشد، ماده سنتز شده طبق تعاریف موجود در مراجع از حالت نانوذره خارج بوده و در دسته این مواد قرار نمی گیرد. به همین خاطر با انجام فرمولاسیون انجام گرفته بین مواد احیاکننده، پایدارکننده و ماده محلول نمک پایه نیترات نقره اثرات فرمولاسیون حاضر بر روی میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز شده در شکل ۵ (الف و ب) نشان داده شده است.



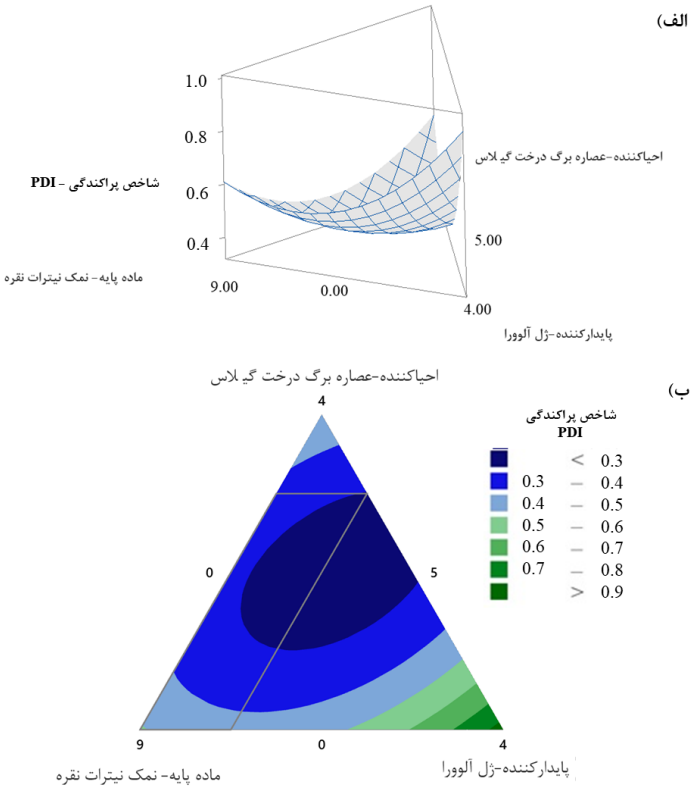

شکل ۵- الف) نمودار سه‌بعدی ب) نمودار دوبعدی تغییرات میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز شده بر اساس فرمولاسیون انجام گرفته

با توجه به شکل ۵الف، که اثرات فرمولاسیون انجام گرفته بر روی میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز شده را به صورت نمودار سه بعدی نشان می دهد، در مقادیر ثابت (۶، ۶/۵، ۷/۵ و یا ۸ میلی لیتر) محلول نیترات نقره، با افزایش ماده احیاکننده (عصاره برگ درخت گیلاس)، میانگین اندازه ذرات در تمامی نمونه کاهش پیدا نموده است، بنظر می رسد با افزایش ماده احیاکننده در ظرف واکنش، ارتباط موثری بین عصاره استخراج شده و یون های نقره موجود در محفظه بوجود آمده و در نهایت کاهیده شدن یون‌های حاضر بیشتر و بهتر اتفاق افتاده و در نهایت منجر به سنتز نانوذراتی با میانگین اندازه ذرات پایین شده است. همچنین با بررسی نمودار حاضر، در مقادیر ثابت (بالا و یا کم) ماده احیاکننده با افزایش ژل آلوورا به عنوان ماده پایدار کننده، بسته به مقدار حجمی افزوده شده به صورت رابطه مستقیم، افزایش پیدا خواهند کرد که کاملا طبیعی بوده چون اندازه مولکول های ژل آلوورا درشت مولکول بوده و حضور آنها در ظرف واکنش باعث افزایش میانگین اندازه ذرات خواهد شد.

در شکل ۵ب، مقادیر بیشینه و کمینه میانگین اندازه نانوذرات نقره سنتز شده قابل مشاهده بوده که مناسب ترین ناحیه و یا به عبارتی نواحی با کمترین میانگین اندازه ذرات مربوط به بخشی است که با رنگ آبی پررنگ نشان داده شده و نسبت بهینه ای از ماده احیاکننده (۳-۲/۲۵ میلی لیتر)، پایدارکننده (۰/۷۵-۰ میلی لیتر) و محلول پایه (۶/۵-۶ میلی لیتر) در ظرف واکنش وجود داشته باشند. در این حالت اگر مقادیر ماده احیاکننده، پایدارکننده محلول نمک پایه به ترتیب ۲/۲۵، ۰/۲۵ و ۶/۵ میلی لیتر باشد، پایین ترین میانگین اندازه ذرات بدست خواهد آمد. بنظر می رسد با افزایش بیشتر عصاره استخراج شده در فرمولاسیون، اثر منفی ایجاد شده بدلیل نسبت غیرمناسب و نامتوازن بین عصاره استخراج شده و یون های نقره بوده که در نهایت با توجه به اینکه احتمال باقیماندن برخی از ذرات عصاره استخراج شده در ظرف باعث افزایش میانگین اندازه ذرات شده است. همچنین نواحی با بیشترین میانگین اندازه ذره مربوط به بخشی است که ماده احیاکننده در ظرف واکنش وجود نداشته باشد که در این حالت مشخص است که اصلا هیچگونه نانوذراتی شکل نگرفته و میانگین اندازه ذرات بالا یا متاثر از وجود مواد پایدارکننده می باشد و یا نشاندهنده اندازه ذرات نمک نیترات نقره است.

- **اثرات فرمولاسیون مواد بر روی شاخص پراکندگی نانوذرات نقره سنتز شده**

متغیر شاخص پراکندگی یکی از پارامترهای کاربردی در بیان معیار یکنواختی ذرات یک محلول بوده که این مقدار عددی بین ۰ تا ۱ دارد، هر چقدر این شاخص به ۰ نزدیکتر باشد نشاندهنده وجود ذراتی با اندازه های برابر در محلول بوده و بالعکس هرچقدر این عدد به ۱ نزدیکتر باشد، پراکندگی محلول نامناسب بوده و ذرات موجود در محلول دارای اندازه های بسیار متفاوتی از هم است [۱۷]. در این بخش، مشابه با حالت های قبل، اثر فرمولاسیون بین متغیرهای حجمی انتخاب شده بر روی شاخص پراکندگی نانوذرات نقره سنتز شده در شکل ۶ (الف و ب) نشان داده شده است.




شکل ۶- الف) نمودار سه‌بعدی ب) نمودار دوبعدی تغییرات شاخص پراکندگی نانوذرات نقره سنتز شده بر اساس فرمولاسیون انجام گرفته

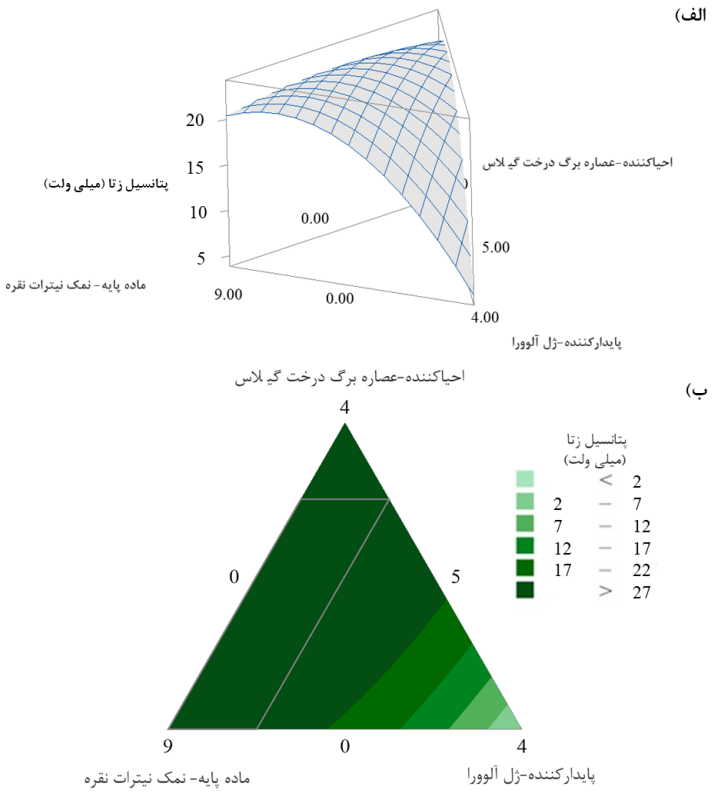
با توجه به شکل ۶الف برعکس حالت های قبلی که در مقادیر بالا و یا پایین یکی از اجزای فرمولاسیون، مقدار متغیر وابسته در بهترین و یا بدترین حالت قرار می گرفت. در بررسی اثرات متغیرهای مستقل یا فرمولاسیون اجزاء بر روی متغیر وابسته شاخص پراکندگی، برهمکنش محسوسی دیده شده و در شکل حاضر نیز با توجه به روند افزایشی و کاهشی نامنظم کاملا مشهود می باشد. اما به طور کلی در مقادیر ثابت ماده احیاکننده، با افزایش مقدار محلول نمک نیترات نقره، شاخص پراکندگی کاهش پیدا خواهد کرد. بنظر می رسد با افزایش محلول نمک نیترات نقره، نسبت ایجاد شده بین عصاره استخراج شده و محلول نیترات نقره به حد مناسبی رسیده و پس از سنتز نانوذرات، یکنواختی مناسبی در بین مولکول ها ایجاد خواهد شد، همچنین حالت بیان شده در مقادیر ثابت محلول نیترات نقره نیز مشاهده می شود، به عبارتی در مقادیر ثابت محلول نیترات نقره با افزایش ماده احیاکننده، شاخص پراکندگی کاهش پیدا خواهد کرد، که این امر با توجه به اینکه در شکل کاملا مشهود است، یکنواخت تر شدن ذرات را با توجه به سنتز کامل نانوذرات نقره نشان می دهد. روند تغییرات و افزایش ماده پایدارکننده در مقادیر ثابت محلول نیترات نقره کاملا برعکس حالت های قبلی می باشد، به طوریکه با افزایش ژل آلوورا به عنوان ماده پایدارکننده در مقادیر ثابت محلول نیترات نقره، شاخص پراکندگی افزایش چشم گیری خواهد داشت. بنظر می رسد با توجه به اینکه اندازه مولکول های ماده پایدارکننده درشت می باشد، در نتیجه وجود این مواد در سیستمی که حاوی نانوذرات سنتز شده می باشد، غیریکنواختی در ذرات ایجاد کرده و در نهایت شاخص پراکندگی آنالیز شده توسط دستگاه افزایش پیدا خواهد کرد.

در شکل ۶ب، به صورت دوبعدی شاخص پراکندگی از مقادیر کمتر از ۰/۳ تا مقادیر بیشتر از ۰/۹ که به نواحی مختلفی با رنگ های متنوع تقسیم بندی شده است نشان داده شده است. نواحی سبز رنگ که نامناسب ترین شاخص پراکندگی را دارا می باشند مربوط به فرمولاسیونی بوده که ماده احیاکننده وجود نداشته و در نهایت نانوذراتی شکل نگرفته است. نمونه هایی که فرمولاسیون آنها حاوی عصاره برگ درخت گیلاس نمی باشد همانطور که در دو متغیر وابسته بخش های پیش ذکر شد (غلظت و میانگین اندازه نانوذرات) چون در ظرف محتوی مواد، احتمال کاهیدن یون های نقره بسیار پایین می باشد، پس در نهایت غلظت، میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی نامناسبی دارند. بهترین بازه شاخص پراکندگی که در شکل حاضر با آبی پررنگ مشخص شده است مربوط به فرمولاسیون متغیری از عصاره برگ درخت گیلاس، ژل آلوورا و همچنین محلول نمک نیترات نقره می باشد که هر کدام از متغیرهای مستقل بیان شده در سنتز نانوذرات نقش داشته و بنظر میرسد با کاهیدن یون های نقره به صورت یکنواخت باعث پایین آوردن شاخص پراکندگی شده اند.

- **اثرات فرمولاسیون مواد بر روی پتانسیل زتا نانوذرات نقره سنتز شده**

آخرین متغیر وابسته در نظر گرفته شده در پژوهش حاضر، پتانسیل زتا بوده که این خاصیت برای بررسی پایداری نانوذرات، نانوامولسیون ها و بسیاری دیگر از مواد حائز اهمیت است، در بررسی حاضر که بارهای سطحی نانوذرات مورد بررسی قرار خواهد گرفت معیاری از پایداری محصول تولید شده است که مقدار عددی پتانسیل زتا بدون توجه به علامت آن، هرچقدر بیشتر باشد، بار سطحی بیشتری داشته و قدرت دافعه بین ذرات در ظرف واکنش افزایش پیدا خواهد کرد و در نهایت از وقوع پدیده های نامطلوب احتمالی در نانوذرات از جمله آگلومره شدن،

فلوکوله شدن و سایر پدیده های نامطلوب جلوگیری خواهد شد. در این بخش اثر فرمولاسیون انجام گرفته بر روی پتانسیل زتای نانوذرات سنتز شده در شکل ۷ (الف و ب) نشان داده شده است.



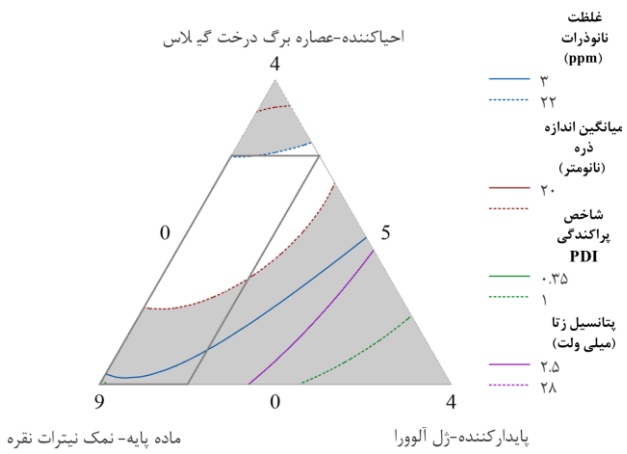

شکل ۷- الف) نمودار سه‌بعدی ب) نمودار دوبعدی تغییرات پتانسیل زتا نانوذرات نقره سنتز شده بر اساس فرمولاسیون انجام گرفته

با توجه به شکل ۷الف در مقادیر ثابت و پایین ماده پایدارکننده با افزایش ماده احیاکننده پتانسیل زتا افزایش پیدا خواهد کرد، روند حاضر در مقادیر ثابت و بالای ماده احیاکننده مشاهده می شود، در مقادیر میانه نیز همین روند تکرار شده است. بنظر می رسد در مقادیر بالای ماده احیاکننده با توجه به اینکه احتمال سنتز هرچه بیشتر ذرات وجود داشته و بارهای سطحی نانوذرات تشکیل شده در حد مناسبی قرار دارد، پتانسیل زتا افزایش پیدا کرده و در نهایت محصول تولید شده پایدار نسبی بهتری پیدا خواهد کرد. روند حاضر و تاثیرگذاری افزایش ماده پایدارکننده در مقادیر ثابت ماده احیاکننده بیشتر محسوس بوده و اثرگذاری بیشتری نسبت به سایر مواد موجود در ظرف دارد، به عبارتی افزایش ژل آلوورا در مقادیر ثابت عصاره برگ درخت گیلاس باعث افزایش پتانسیل زتا خواهد شد. بنظر می رسد هرچقدر ژل آلوورا در محفظه واکنش بیشتر باشد، با ایجاد پیوند مختلف بین ذرات تشکیل شده به تنهایی و تشکیل بارهای سطحی ایجاد شده بر روی سطح آن ها پتانسیل زتا را افزایش داده و با ممانعت فضایی بوجود آورده از اتصال بین نانوذرات جلوگیری به عمل آورده و در نهایت باعث پایداری هر چه بیشتر محصول تولید شده خواهد شد.

در شکل ۷ب که شامل مقادیر مختلف پتانسیل زتا بوده و با نواحی مختلف با طیف رنگی سبز رنگ مشخص شده است شامل بیشترین و کمترین مقادیر پتانسیل زتا است همانطور که در شکل حاضر نشان داده شده است، بیشترین پتانسیل زتا با مقادیر ۱۷ الی ۲۷ میلی ولت مربوط به مقادیر بالای ژل آلوورا در ظرف واکنش بوده و کمترین مقادیر بدست آمده مربوط به مقادیر پایین آن است، نتایج بدست آمده کاملا منطقی بوده چراکه در مقادیر پایین ژل آلوورا به علت وجود مقادیر پایینی از ماده پایدارکننده احتمال برخوردهای بیشتر نانوذرات تشکیل شده وجود داشته و در نهایت با برخوردهای ایجاد شده، احتمال وقوع پدیده های نامطلوب متداول بین نانوذرات بیشتر شده و در نهایت منجر به اتصال نانوذرات به یکدیگر وجود داشته و در نهایت بارسطحی کاهش پیدا خواهد کرد که منجر به عدم پایداری محصول تولید شده خواهد شد.

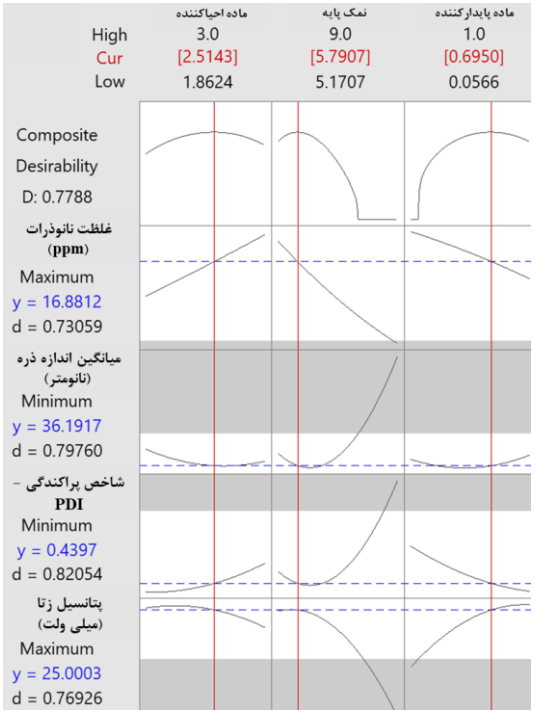
### ۳-۴- بهینه سازی پارامترهای انتخاب شده جهت سنتز نانوذرات نقره

با بررسی های انجام گرفته و نقش هر کدام از متغیرهای در نظر گرفته طراحی آزمایش، بررسی ها و بررسی های آماری و در نهایت تحلیل های انجام گرفته از اثرات متغیرهای مستقل (مقادیر عصاره برگ درخت گیلاس، محلول نمک نیترات نقره و ژل آلوورا) بر روی متغیرهای وابسته (غلظت، میانگین اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل نانوذرات نقره سنتز شده)، بهینه سازی در دو حالت گرافیکی و عددی انجام گرفت که به ترتیب در اشکال ۶ و ۷ نشان داده شده اند.




شکل ۸- بهینه سازی گرافیکی نانوذرات نقره سنتز شده

در شکل ۸، با بهینه سازی گرافیکی، برآیند ۴ نمودار سطح پاسخ دو بعدی در یک شکل نشان داده شده که دارای محدوده بهینه ای جهت سنتز سبز نانوذرات نقره که دارای بیشترین غلظت، کمترین میانگین اندازه ذره، مناسب ترین شاخص پراکندگی (کمترین) و بیشترین پتانسیل زتا است و با رنگ سفید که محدوده خاصی دارد، مشخص شده است. همچنین، محدوده نقاط مقابل سفید رنگ که با رنگ خاکستری مشخص شده است در شکل مشاهده می شود که خاصیت نانوذرات نقره سنتز شده در این ناحیه یا تمامی خواص نامطلوب را داراست و یا حداقل یکی از متغیرهای وابسته در این ناحیه بدترین خواص را خواهد داشت. اما با توجه به اینکه محدوده مشخص شده بازه بسیار زیادی را در بر گرفته و نمیتوان به قطعیت کامل در رابطه با بهینه‌سازی انجام گرفته رسید، بایستی بهینه‌سازی به صورت ریزتر بررسی شده و منجر به نقطه خاصی شود که در آن نقطه، نانوذرات نقره سنتز شده دارای بهترین خواص باشد، که در این صورت بایستی از بهینه‌سازی عددی استفاده کرد که در شکل ۹ این بهینه‌سازی گزارش شده است.




شکل ۹- مقادیر بهینه (بهینه سازی عددی) نانوذرات نقره سنتز شده

پس از بدست آوردن بهینه سازی عددی همانطور که در شکل ۹ نشان داده شده است، نقطه بهینه بدست آمده از طراحی آزمایش مذکور مربوط به فرمولاسیون به صورت: ۲/۵۱ میلی لیتر ماده احیاکننده (عصاره برگ درخت گیلاس)، ۵/۷۹ میلی لیتر ماده محلول نمک پایه (محلول ۱ میلی مولار نیترات نقره) و ۰/۶۹ میلی لیتر ماده پایدارکننده (ژل آلوور) است که در این مقادیر اگر نانوذرات نقره سنتز شود، دارای غلظت ppm ۱۶/۸۸ (عدد جذبی ۰/۵۳۷)، میانگین اندازه ذرات ۳۶ نانومتر، شاخص پراکندگی ۰/۴۳ و پتانسیل زتای ۲۵ میلی ولت خواهد شد که بایستی این نتایج راستی آزمایی شده و صحت سنجی شوند، در بخش بعد بررسی های انجام گرفته در نقطه بهینه انجام شده و به تفسیل در رابطه با نتایج بدست آمده بحث شده است.

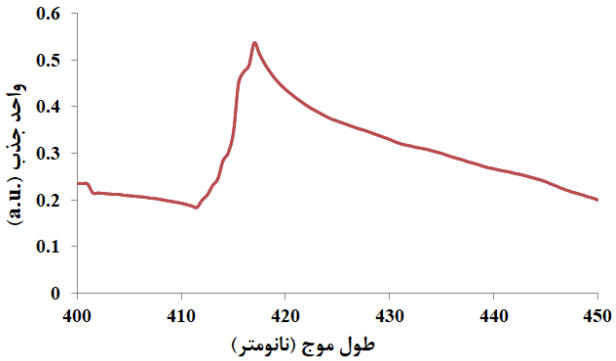
### ۳-۵- بررسی خواص نانوذرات نقره سنتز شده در شرایط بهینه

با یافتن نقاط بهینه بدست آمده از بهینه‌سازی عددی، در شرایط بدست آمده از طراحی آزمایش بایستی صحت سنجی نتایج بدست آمده انجام شود که در بخش حاضر، برای نمونه بهینه و در شرایط بدست آمده سنتز نانوذرات نقره در دمای محیط انجام گرفته و بررسی‌های طیف سنجی فرابنفش UV-Vis، میانگین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا با آنالیز DLS انجام شده و در نهایت کاربرد نانوذرات سنتز در دو بخش کلی خاصیت

ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بررسی شده و نتایج آن گزارش شده است.

### ۳-۵-۱- آنالیز طیف سنجی مرئی-فرابنفش UV-Vis نانوذرات نقره

جهت میزان جذب نور عبوری از نمونه سنتز شده در نقطه بهینه، از آنالیز حاضر استفاده شد که یکی از پاسخ های اصلی طراحی آزمایش میزان غلظت نانوذرات نقره (میزان جذب) نیز بود. با توجه به رابطه بدست آمده توسط احمدی و همکاران، ارتباط خطی بین میزان جذب و غلظت میتوان ایجاد کرد که در بخش حاضر میزان جذب نانوذرات نقره سنتز شده در نقطه بهینه پس از ۳ بار تکرار انجام گرفت و نتیجه آن در شکل ۱۰ گزارش شده است.

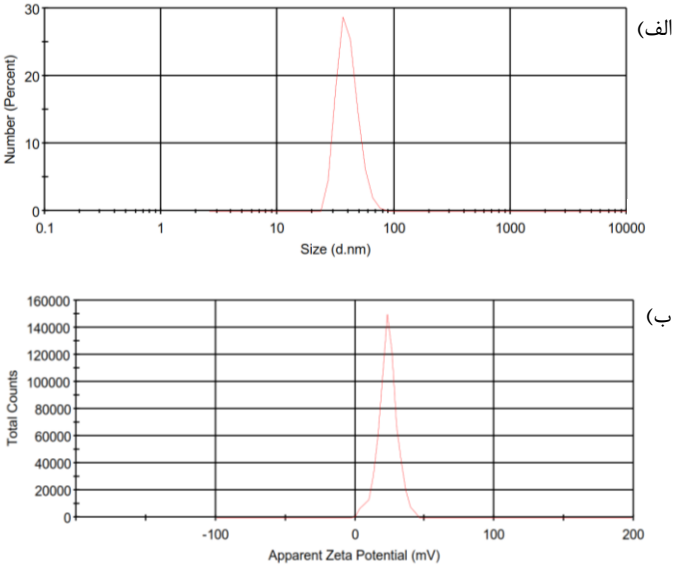



شکل ۱۰- طیف سنجی مرئی-فرابنفش UV-Vis نانوذرات نقره سنتز شده در نقطه بهینه

همانطور که در شکل حاضر مشاهده می‌شود، بیشینه جذب در بازه ۴۰۰ الی ۴۵۰ نانومتر بدست آمده و برابر با ۰/۰۳±۰/۵۲۹ واحد جذب است. با تبدیل میزان جذب به غلظت، توسط رابطه بدست آمده توسط احمدی و همکارانش [۴]، غلظت بدست آمده ۱۶/۵۹ ppm بدست آمد که اختلاف معناداری با نتایج بدست آمده از بهینه‌سازی نداشته و بنظر می رسد، مدل های ارائه شده از طراحی آزمایش، به خوبی نتایج بدست آمده را پیش‌بینی کرده و صحت طراحی آزمایش را تایید می‌کنند.

### ۳-۵-۲- آنالیز پراکندگی نور دینامیکی DLS جهت بررسی میانگین اندازه ذره، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا نانوذرات نقره

آنالیز مهم دیگر که ۳ متغیر وابسته انتخاب شده در طراحی آزمایش مربوط به آنالیز حاضر است. در آنالیز پراکندگی نور دینامیکی همزمان میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی را میتوان بررسی نموده و در نهایت به طور جداگانه امکان بررسی میزان پتانسیل زتا نیز امکان پذیر است نتایج بدست آمده بررسی میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی در شکل ۱۱الف و میزان پتانسیل زتا (بار سطحی ذرات) در شکل ۱۱ب نشان داده شده است.




شکل ۱۱ – الف) پراکندگی نور دینامیکی DLS و ب) پتانسیل زتا نانوذرات نقره سنتز شده در نقطه بهینه

همانطور که در شکل ۱۱الف مشاهده می شود، نانوذرات سنتز شده کمتر از ۱۰۰ نانومتر بوده و پس از سه بار تکرار دارای میانگین اندازه ذرات ۲±۳۸ نانومتر است، نتیجه بدست آمده برای میانگین اندازه ذرات اختلاف جزئی با نتایج پیش بینی شده با بهینه‌سازی دارد. شاخص پراکندگی محصول تولید شده با اختلاف جزئی با نتایج مدلسازی دارای مقدار ۰/۰۱±۰/۴۸۱ بوده که قابل قبول است. در نهایت نتایج مربوط به پتانسیل زتا که در شکل ۱۱ب نشان داده شده است، دارای مقدار ۱±۲۶ بوده که به صورت جزئی با نتایج مدل اختلاف داشته و بیشتر از آن است که بنظر می رسد نتیجه بدست آمده که به صورت جزئی بیشتر می باشد خطای آزمایشگاهی دخیل باشد. با جمع بندی بخش حاضر نتیجه می‌شود که آنالیز آماری و طراحی آزمایش انجام گرفته برای بهینه‌سازی فرمولاسیون بکار برده شده جهت سنتز سبز نانوذرات به درستی در پیش بینی نتایج عمل کرده و نتایج بدست آمده قابل قبول هستند.

### ۳-۶-خاصیت آنتی اکسیدانی نانوذرات نقره

خاصیت آنتی اکسیدانی مواد از اهمیت بالایی برخوردار بوده و در صورتی که ماده ای این خاصیت را داشته باشد، در مهار رادیکال های آزاد مناسب عمل خواهد کرد [۱۸]، با بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی نانوذرات نقره سنتز شده در حالت بهینه با روش DPPH، مقدار ۲۸/۴۵٪ بدست آمد که به طور نسبی خاصیت قابل قبولی در مهار رادیکال های آزاد محسوب خواهد شد. جهت بررسی اثر و خاصیت آنتی اکسیدانی محصول سنتز شده، خاصیت آنتی اکسیدانی محلول ۱ میلی مولار نیترات نقره و عصاره برگ درخت گیلاس نیز بررسی انجام گرفته و این خاصیت برای عصاره ۸/۷۴٪ و محلول نیترات نقره ۵/۵۴٪ بدست آمد، با مقایسه نتایج بدست آمده برای نانوذرات نقره، عصاره استخراج شده و محلول نیترات نقره، نتیجه گیری می شود که خاصیت آنتی اکسیدانی بدست آمده نانوذرات نقره به دلیل ابعاد ریز و نانومتری تولید شده که در نهایت منجر به مهار هرچه بهتر رادیکال های آزاد شده است.

### ۳-۷- خاصیت ضد میکروبی نانوذرات نقره

یکی از کاربردهای اصلی و ویژه نانوذرات علی الخصوص نانوذرات نقره، خاصیت ضد باکتریایی آن در برابر طیف‌های مختلف باکتریایی بوده [۱۹] که از دو گونه باکتریایی گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) و گرم منفی (*اشرشیا کولی*) جهت بررسی خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره، عصاره برگ درخت گیلاس و محلول نیترات نقره استفاده شده و نتایج بدست آمده با یکدیگر مقایسه شدند بررسی با توجه که به قطر هاله تشکیل شده در اطراف چاهک ایجاد شده اندازه گیری شده که نتایج آن در جدول ۴ گزارش شده است. تمامی مواد اعم از نانوذرات، عصاره و محلول نیترات نقره مانع از رشد باکتری گرم مثبت و گرم منفی شدند اما این اثر به طور قابل توجهی برای نانوذرات نقره (۴۰ میلی متر برای گرم مثبت و ۳۲ میلی متر برای گرم منفی) بیشتر از عصاره (۱۲ میلی متر برای گرم مثبت و ۱۰ میلی متر برای گرم منفی) و محلول نیترات نقره (۸ میلی متر برای گرم مثبت و ۷ میلی متر برای گرم منفی) است. بنظر میرسد در سنتز نانوذرات با توجه به اینکه نسبت سطح به حجم کاهش چشمگیری داشته، نفوذ این ذرات به درون سلول و یا چسپیدن به دیواره سلولی آنها به عنوان عامل مختل کننده رشد عمل نموده و در نهایت خاصیت ضدباکتریایی بالایی از خود نشان خواهد داد.

جدول ۳- خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره، عصاره برگ درخت گیلاس و محلول نمک نیترات نقره

| ضرایب | قطر هاله تشکیل شده اطراف محیط کشت حاوی باکتری گرم مثبت | قطر هاله تشکیل شده اطراف محیط کشت حاوی باکتری گرم منفی |
|---|---|---|
| | میلی متر | میلی متر |
| عصاره برگ درخت گیلاس | ۱۲±۲ | ۱۰±۲ |
| محلول نمک نیترات نقره | ۸±۱ | ۷±۱ |
| نانوذرات نقره | ۴۰±۴ | ۳۲±۴ |

در مقایسه با اثر ضدباکتریایی بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی، این اثر در باکتری گرم مثبت بیشتر بوده و ممانعت بهتری در برابر رشد این نوع باکتری از خود نشان داد، به نحوی که قطر هاله ایجاد شده در اطراف چاهک در باکتری گرم مثبت برابر با ۴۰ میلی متر بوده و این پارامتر در برابر باکتری گرم منفی ۳۲ میلی متر بود، بنظر میرسد دلیل این تفاوت در ممانعت از رشد، مربوط به ساختار فیزیکی این نوع باکتری‌ها است، به‌طوری‌که تقریباً ۹۵-۹۰٪ دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت از پپتیدوگلیکان تشکیل‌شده است [۲۰]. در حالی‌که دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی از یک‌لایه نازک پپتیدوگلیکان و یک غشای بیرونی و یک‌لایه مستحکم لیپوپلی ساکارید[1] تشکیل‌شده است.

خاصیت ضدقارچی نانوذرات نقره سنتز شده در نقطه بهینه مورد بررسی قرار گرفت نتایج آن بر حسب قطر تشکیل شده در اطراف نمونه قارچی مورد بررسی شد که در این میان جهت مقایسه اثر و خاصیت نانوذرات نقره سنتز شده در نقطه بهینه نسبت به نمونه محیط کشت بدون نانوذرات، نتایج به مدت ۱۰ روز به طور دقیق اندازه گیری شده و مورد بررسی قرار گرفت.

در بررسی خاصیت ضدقارچی با روش حاضر، برعکس روش خاصیت ضدباکتریایی هرچقدر قطر تشکیل شده در اطراف نمونه قارچی بیشتر باشد، نشان از خاصیت کمتر ماده و اثر کمتر آن بر ممانعت از رشد میکروارگانیسم دارد.

[1] LPS: Lipo Poly Saccharide

با بررسی و بررسی خاصیت حاضر، نمونه محیط کشت حاوی نانونوذرات نقره پس از ۱۰ روز رشد آنچنانی نداشته و به خوبی از رشد قارچ *پنی سیلینیوم دیگیتاتوم* جلوگیری کرده است، در حالیکه نمونه محیط کشت PDA بدون نانوذره پس از ۱۰ روز، تمامی سطح پلیت را پر کرده و کاملا رشد کرد. با در نظر گرفتن کل قطر پلیت حاوی محیط کشت به اندازه ۹۰ میلی لیتر و بیشترین رشد قارچ بر روی محیط کشت حاوی نانوذرات نقره به اندازه قطر ۳۱ میلی متر، بازده خاصیت ضدقارچی نانوذرات نقره سنتز شده حاضر، ۶۵/۵۵٪ است.

## ۴- نتیجه‌گیری

پس از اتمام بررسی ها و بررسی های نهایی پژوهش حاضر نتایج متعددی بدست آمد که منجر به نتیجه گیری کلی در این زمینه خواهد شد که سنتز سبز نانوذرات نقره، روشی سریع، ایمن و از لحاظ مصرف مواد و انرژی کم هزینه است. در میان استفاده از مواد احیاکننده گیاهی، عصاره برگ درخت گیلاس خاصیت احیاکنندگی بالایی داشته و توانایی سنتز نانوذرات نقره را به خوبی دارای است. استفاده از مباحث آماری و انجام طراحی آزمایش که روش طراحی مختلط به عنوان یکی از روش های مناسب عمل نموده و منجر به پیدا کردن فرمولاسیون بهینه در تولید و یا سنتز مواد خواهد شد. یکی از موارد مهم در نانوذرات سنتز شده با روش های مختلف بحث پایداری محصول است که استفاده از ژل آلوورا توانایی خوبی در جلوگیری از پدیده های نامطلوب نانوذرات داشته و منجر به افزایش پایداری نانوذرات خواهد شد. در نهایت نانوذرات سنتز شده در نقطه بهینه خواص مناسبی در زمینه های مختلف از جمله خاصیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد (آنتی اکسیدانی) بالا و یا مهار رشد میکروارگانیسم ها از جمله باکتری ها و قارچ ها (خاصیت ضدمیکروبی) را نشان داد. پیشنهادی که برای سایر پژوهشگرانی که پژوهش حاضر را ادامه خواهند داد این است که دیگر خواص نانوذرات سنتز شده مورد بررسی قرار گرفته و همچنین نتایج بدست آمده پژوهش حاضر را با سایر روش های ممکن مقایسه کنند.

## مراجع


[1] Alshahrani SH, Alameri AA, Zabibah RS, Jalil ATJ, Ahmadi O, Behbudi G. Screening Method Synthesis of AgNPs Using Petroselinum crispum (parsley) Leaf: Spectral Analysis of the Particles and Antibacterial Study. Journal of the Mexican Chemical Society. 2022; 66(4): 480-487. https://doi.org/10.29356/jmcs.v66i4.1803.

[2] Eshghi M, Kamali-Shojaei A, Vaghari H, Najian Y, Mohebian Z, Ahmadi O, et al. Corylus avellana leaf extract-mediated green synthesis of antifungal silver nanoparticles using microwave irradiation and assessment of their properties. Green Processing Synthesis. 2021;10 (1):606-613. https://doi.org/10.1515/gps-2021-0062.

[3] Khalilnejad A, Lashkari R, Iravani M, Ahmadi O, editors. Application of Synthesized Silver Nanofluid for Reduction of Oil-Water Interfacial Tension. Saint Petersburg 2020; 2020: European Association of Geoscientists & Engineers.

[4] Ahmadi O, Jafarizadeh-Malmiri H, Jodeiri N. Eco-friendly microwave-enhanced green synthesis of silver nanoparticles using Aloe vera leaf extract and their physico-chemical and antibacterial studies. Green Processing Synthesis. 2018;7(3):231-240. https://doi.org/10.1515/gps-2017-0039.

[5] Nguyen DH, Lee JS, Park KD, Ching YC, Nguyen XT, Phan VG, et al. Green silver nanoparticles formed by Phyllanthus urinaria, Pouzolzia zeylanica, and Scoparia dulcis leaf extracts and the antifungal activity. Nanomaterials. 2020;10(3):542.

[6] Ahmadi O, Jafarizadeh-Malmiri H, Jodeiri N. Optimization of processing parameters for hydrothermal silver nanoparticles synthesis using Aloe vera leaf extract and estimation of their physico-chemical and antifungal properties. Zeitschrift für Physikalische Chemie. 2019;233(5):651-667.https://doi.org/10.1515/zpch-2017-1089.

[7] Ahmad S, Munir S, Zeb N, Ullah A, Khan B, Ali J, et al. Green nanotechnology: A review on green synthesis of silver nanoparticles—An ecofriendly approach. International journal of nanomedicine.2019;14:5087. https://doi.org/10.2147/IJN.S200254

[8] Yaqoob AA, Umar K, Ibrahim MNM. Silver nanoparticles: various methods of synthesis,

size affecting factors and their potential applications–a review. Applied Nanoscience. 2020;10(5):1369-1378.
[9] Nunes AR, Gonçalves AC, Falcão A, Alves G, Silva LR. Prunus avium L.(Sweet Cherry) By-Products: A Source of Phenolic Compounds with Antioxidant and Anti-Hyperglycemic Properties—A Review. Applied Sciences. 2021;11(18):8516. https://doi.org/10.3390/app11188516.
[10] Ahmadi O, Seifi M, Jafarizadeh-Malmiri H. Simulation of Silver Nanoparticles Green Synthesis Using Aloe Vera leaf Extract and Microwave Heating, and Evaluation of their Characteristics. Iranian Chemical Engineering Journal. 2021;20(114):82-96. 10.22034/ijche.2021.251261.1054. [In Persian].
[11] Eghbalifam N, Shojaosadati SA, Hashemi-Najafabadi S, Khorasani AC. Synthesis and characterization of antimicrobial wound dressing material based on silver nanoparticles loaded gum Arabic nanofibers. International journal of biological macromolecules. 2020;155:119-130. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.194.
[12] Fardsadegh B, Jafarizadeh-Malmiri H. Aloe vera leaf extract mediated green synthesis of selenium nanoparticles and assessment of their in vitro antimicrobial activity against spoilage fungi and pathogenic bacteria strains. Green Processing Synthesis. 2019;8(1):399-407. https://doi.org/10.1515/gps-2019-0007.
[13] Anvarinezhad M, Javadi A, Jafarizadeh-Malmiri H. Green approach in fabrication of photocatalytic, antimicrobial, and antioxidant zinc oxide nanoparticles–hydrothermal synthesis using clove hydroalcoholic extract and optimization of the process. Green Processing Synthesis. 2020;9(1):375-385. https://doi.org/10.1515/gps-2020-0040.
[14] Najjar-Tabrizi R, Javadi A, Sharifan A, Chew KW, Lay C-H, Show PL, et al. Hydrothermally extraction of saponin from Acanthophyllum glandulosum root–Physico-chemical characteristics and antibacterial activity evaluation. 2020;27:e00507.
[15] Ahmadi O, Jafarizadeh-Malmiri H. Intensification process in thyme essential oil nanoemulsion preparation based on subcritical water as green solvent and six different emulsifiers. Green Processing Synthesis. 2021;10(1):430-439. https://doi.org/10.1515/gps-2021-0040.
[16] Ahmadi O, Jafarizadeh-Malmiri H. Intensification and optimization of the process for thyme oil in water nanoemulsions preparation using subcritical water and xanthan gum. Zeitschrift für Physikalische Chemie. 2021;235(5):629-648. https://doi.org/10.1515/zpch-2020-0001.
[17] Ahmadi O, Jafarizadeh-Malmiri H. Simulation of the Preparation of Thyme Essential Oil Nanoemulsion Process Using Sub-critical Water and Evaluation of Its Properties. Iranian Journal of Biosystems Engineering. 2021;51(4):705-714. 10.22059/ijbse.2019.285553.665203. [In Persian].
[18] Bedlovičová Z, Strapáč I, Baláž M, Salayová A. A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. Molecules. 2020;25(14):3191. https://doi.org/10.3390/molecules25143191.
[19] Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. International journal of nanomedicine. 2020;15:2555. https://doi.org/10.2147/IJN.S246764
[20] Anwer MK, Jamil S, Ibnouf EO, Shakeel F. Enhanced antibacterial effects of clove essential oil by nanoemulsion. Journal of Oleo Science. 2014;63(4):347-354. https://doi.org/ 10.5650/jos.ess13213

Nanomeghyas
www.nanomeghyas.ir
نانومقیاس

# Optimizing the green synthesis formulation of silver nanoparticles using Cherry tree leaf extract and evaluation its stability

**Sarvin Mohammadi-Aghdam[1]*, Omid Ahmadi[2]**

[1] Department of Chemistry, Payam Noor University Tehran, Iran
[2]Department of Food Engineering, Faculty of Chemical Engineering, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran

**Abstract:** Many researchers have reported the synthesis of metal nanoparticles by plant extracts and their potential applications. Cherry tree leaf extract is one of the effective materials in the synthesis of AgNPs, which is confirmed by the results of FTIR analysis. Did AgNPs according to the design of the experiment carried out by the Mixture Design method by mixing three regenerating substances (cherry tree leaves 0-3 ml), basic salt substance (1 mM solution of $AgNO_3$ 5-9 ml) and stabilizing agent (AloeVera gel) (0-1 ml) was synthesized by green method. After the optimization, the results showed that the amounts of 2.51, 5.79 and 0.69 mL respectively for reducing agent, basic solution and stabilizing agent were the most suitable mode of synthesis of nanoparticles, and in this mode, the highest concentration of 16.88 ppm, the lowest average particle size of 36 nm, the most appropriate PDI of 0.43 and the highest zeta potential of 25 mV will be obtained. The properties of synthesized AgNPs were evaluated in optimal conditions and the results of UV-Vis and DLS analyzes confirmed the obtained results with slight differences. AgNPs showed good antioxidant properties of 28.45% and antibacterial properties against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*) bacteria. Antifungal properties were also found to be 65.55%.

**Key words**: Cherry tree leaves, Experimental design, Formulation, Green synthesis, Silver nanoparticles

*Correspondent Author Email: *sarvin.s108@pnu.ac.ir*