

Original Article

Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Mentha pulegium* Plant Extract: Optimization of Synthesis Conditions and Characterization

Tahereh Sadat Tabatabaei¹, Vahid Shirshahi^{2*}

¹ M.Sc. Student, Student Research Committee, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran

² Assistant Professor, Department of Basic Sciences, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran

***Corresponding author:** Vahid Shirshahi, Department of Basic Sciences, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran. Email: shirshahi@gmail.com

DOI: [10.66224/nkums.18.1.25](https://doi.org/10.66224/nkums.18.1.25)

How to Cite this Article:

Sadat Tabatabaei T, Shirshahi V. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Mentha pulegium* Plant Extract: Optimization of Synthesis Conditions and Characterization. J North Khorasan Univ Med Sci. 2026;18(1): 25-33
DOI: 10.66224/nkums.18.1.25

Received: 05 September 2025

Accepted: 20 August 2025

Keywords:

Green synthesis
Mentha pulegium extract
Silver nanoparticles

Abstract

Introduction: Silver nanoparticles (AgNPs) have gained significant attention due to their antimicrobial properties and wide-ranging applications in medical and industrial fields. The objective of this study was to synthesize and investigate the effect of various synthesis parameters on the size and morphology of silver nanoparticles using *Mentha pulegium* plant extract.

Methods: Silver nanoparticles were synthesized via a green approach using *Mentha pulegium* extract as both reducing and stabilizing agent. Parameters, such as pH, temperature, extract concentration, and silver nitrate concentration, were systematically varied. The impact of these parameters on the size and uniformity of nanoparticles was evaluated using techniques including SEM, DLS, EDX, and UV-VIS spectroscopy.

Results: The results indicated that lower pH, room temperature (25°C), optimal extract concentration of 5%, and silver nitrate concentration of 1 mM led to the synthesis of smaller, spherical, and uniformly dispersed silver nanoparticles. Additionally, UV-VIS spectroscopy revealed a characteristic absorption peak at approximately 430 nm, confirming the successful synthesis of AgNPs.

Conclusions: The green synthesis of silver nanoparticles using *Mentha pulegium* extract offers a simple, rapid, and environmentally friendly method for producing nanoparticles with desirable size and distribution. These nanoparticles hold great potential for various biological and industrial applications.



سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه پونه: بهینه‌سازی شرایط سنتز و

مشخصه‌یابی

طاهره سادات طباطبایی^۱، وحید شیرشاهی^{۲*} 

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

^۲ استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

*نویسنده مسئول: وحید شیرشاهی، گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران. ایمیل:

shirshahi@gmail.com

DOI: 10.66224/nkums.18.1.25

چکیده مقدمه: نانوذرات نقره به دلیل خواص ضد میکروبی و کاربردهای گسترده در حوزه پزشکی و صنعتی، مورد توجه فراوان قرار گرفته‌اند. هدف از این پژوهش سنتز و بررسی تأثیر عوامل مختلف سنتز در اندازه و مورفولوژی نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاهی پونه کوهی است. روش کار: نانوذرات نقره با روش زیستی و استفاده از عصاره پونه کوهی، عامل احیاکننده و تثبیت‌کننده سنتز شدند. عوامل مانند pH، دما، غلظت عصاره و غلظت نیترات نقره به صورت کنترل‌شده تغییر داده شدند و تأثیر آن‌ها در اندازه و یکنواختی نانوذرات با استفاده از روش‌های SEM، DLS، EDX، UV-Vis بررسی شد. یافته‌ها: نتایج نشان داد که کاهش pH، استفاده از دمای پایین (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، غلظت بهینه عصاره ۵ درصد و غلظت نیترات نقره ۱ میلی‌مولار به سنتز نانوذرات نقره با اندازه کوچک‌تر، مورفولوژی کروی و پراکندگی یکنواخت منجر شدند. همچنین، طیف‌سنجی UV-Vis باند جذب مشخص در حدود ۴۳۰ نانومتر را نشان داد که تأییدی بر سنتز موفق نانوذرات است. نتیجه‌گیری: سنتز زیستی نانوذرات نقره با عصاره پونه کوهی، به عنوان روشی ساده، سریع و سازگار با محیط زیست، قادر است نانوذراتی با اندازه و توزیع مطلوب تولید کند که می‌تواند در کاربردهای مختلف بیولوژیکی و صنعتی استفاده شوند.	تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۰ واژگان کلیدی: نانوذرات نقره سنتز زیستی عصاره پونه کوهی
--	--

مقدمه

است و در مناطق مرطوبی مانند ایران و چین رشد می‌کند. این گیاه به عنوان داروی سنتی در درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند سرماخوردگی، سینه‌زیت، وبا، مسمومیت غذایی و برونشیت استفاده می‌شود. به دلیل وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، از این گیاه به عنوان نوعی منبع طبیعی مناسب برای سنتز نانوذرات نقره استفاده می‌شود [۶]. این ترکیبات نه تنها به عنوان عوامل احیاکننده عمل می‌کنند، بلکه می‌توانند نانوذرات را تثبیت و از تجمع آن‌ها جلوگیری کنند [۷]. در مطالعات پیشین، از گیاهان مشابهی نظیر بارهنگ (*Plantago lanceolata*)، برگ مستار (*Sclerorhachis*)، شکوفه بادام کوهی (*leptoclada*)، و ... به عنوان عوامل احیاکننده و تثبیت‌کننده در سنتز نانوذرات نقره استفاده شده است. با این حال، شرایط بهینه سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره پونه کوهی هنوز به طور کامل بررسی نشده است و به مطالعه بیشتر نیاز دارد. بر این اساس، در این مطالعه، اثر چهار عامل کلیدی شامل دما، pH، غلظت عصاره و غلظت نیترات نقره در اندازه، مورفولوژی و بازده سنتز نانوذرات نقره بررسی و شرایط بهینه تعیین شد. نتایج به دست آمده می‌تواند مبنایی برای تولید کارآمد و دوستدار محیط زیست این نانوذرات در مقیاس صنعتی باشد.

نانوتکنولوژی، به عنوان «طراحی، شناسایی، ساخت و کاربرد مواد در مقیاس نانو»، علمی بین‌رشته‌ای است که در آن، پدیده‌ها در مقیاس ۱ تا ۱۰۰ نانومتر مطالعه می‌شوند. در این مقیاس، ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی مواد به طور قابل توجهی با ویژگی‌های آن‌ها در حالت توده‌ای متفاوت است. نانوذرات، به عنوان مجموعه‌ای از اتم‌ها با شعاع میانگین بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر، ویژگی‌های عملکردی منحصربه‌فردی دارند که آن‌ها را برای کاربرد در صنایع مختلف ایدئال می‌کند [۱]. نانوذرات نقره (AgNPs) به دلیل خواص ضد میکروبی، هدایت الکتریکی بالا و کاربردهای گسترده، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند [۲]. به طور کلی، روش‌های مختلفی مانند کاهش الکتروشیمیایی [۳]، تبخیر حرارتی [۴] و ... برای سنتز نانوذرات نقره استفاده می‌شوند. اگرچه این روش‌ها کارآمد هستند، اغلب با استفاده از مواد شیمیایی سمی و تولید پسماندهای مضر همراه هستند. در مقابل، روش‌های سبز سنتز نانوذرات با استفاده از گیاهان و عصاره‌های گیاهی به عنوان عامل کاهنده، به دلیل استفاده از مواد طبیعی، دوستدار محیط زیست و مقرون به صرفه بودن، به عنوان جایگزینی مناسب مطرح شده‌اند [۵]. گیاه پونه کوهی (*Mentha pulegium*) به خانواده نعنائیان متعلق



آبی به دست آمد که برای سنتز نانوذرات استفاده شد.

روش کار

در این پژوهش، نیترات نقره (AgNO_3)، شرکت Sigma-Aldrich، آلمان) به عنوان منبع یون نقره و اتانول ۹۶ درصد (شرکت Merk، آلمان) به عنوان حلال استفاده شد. برگ‌های تازه پونه کوهی (*Mentha pulegium*) از منطقه کوهستانی مچن واقع در شهرستان شاهرود، استان سمنان تهیه شد. نمونه گیاهی، پس از شناسایی و تأیید، در مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (IBRC: Iranian Biological Resource Center) با شماره دسترسی IBRC P1006968 ثبت شد. تمامی مواد شیمیایی استفاده شده گرید آزمایشگاهی داشتند و بدون خالص سازی مجدد استفاده شدند. آب مقطر دو بار تقطیر نیز برای تمامی مراحل آزمایش به کار رفت.

تهیه عصاره پونه کوهی

پس از جمع آوری گیاه پونه کوهی، نمونه‌ها کاملاً با آب شسته و در سایه و دمای محیط خشک شدند. برای تهیه عصاره، دو روش مختلف به کار گرفته شد:

۱. تهیه عصاره هیدروالکلی

یک گرم از پونه کوهی خشک شده با دقت وزن و با ۷ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد و ۳ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و با تکان دادن متناوب نگهداری شد. سپس، محلول حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد و عصاره هیدروالکلی به دست آمده تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. از هر گرم گیاه خشک تقریباً ۵ میلی لیتر عصاره هیدروالکلی به دست آمد که برای سنتز نانوذرات استفاده شد.

۲. تهیه عصاره آبی

یک گرم از پونه کوهی خشک شده با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از خنک شدن محلول تا دمای اتاق، عصاره با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد ذخیره شد. از هر گرم گیاه خشک تقریباً ۵ میلی لیتر عصاره

سنتز نانوذرات نقره

برای سنتز نانوذرات نقره، محلول نیترات نقره ۱ میلی مولار (AgNO_3) با حل کردن پودر AgNO_3 (شرکت Sigma-Aldrich، آلمان) در آب مقطر تهیه شد. سپس، عصاره‌های هیدروالکلی و آبی به طور جداگانه به محلول AgNO_3 تحت هم زدن مداوم اضافه شدند. واکنش‌ها در دمای اتاق (یا دمای بهینه) ادامه یافت تا تغییر رنگ محلول به زرد مایل به قهوه‌ای، به عنوان شاخص تشکیل نانوذرات نقره، مشاهده شد.

مشخصه یابی نانوذرات نقره

ریز ساختار و ترکیب عنصری نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM: Scanning Electron Microscopy, Quanta 250 FEG, FEI, USA) مجهز به طیف سنج پراکندگی انرژی (EDS: Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy) بررسی شد. برای تأیید تشکیل نانوذرات و بررسی جذب نوری، طیف جذب در محدوده طول موج ۴۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر Shimadzu UV-2550 (Shimadzu, Japan) ثبت شد. اندازه ذرات و توزیع آن‌ها با استفاده از دستگاه (Beckman Coulter, USA) و توزیع آن‌ها به روش پراکندگی نور پویا (DLS: Dynamic Light Scattering) اندازه گیری شد.

یافته‌ها

شرایط بهینه سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه پونه در این مطالعه، نانوذرات نقره در شرایط مختلف با استفاده از عصاره‌های گیاهی هیدروالکلی سنتز شدند. براساس اطلاعات جدول ۱ (سنتز شماره ۱ تا ۴)، افزودن عامل کاهنده (عصاره) به محلول حاوی نیترات نقره باید به صورت قطره‌ای انجام شود. این موضوع باعث می شود واکنش به صورت کنترل شده انجام شود و از تجمع ذرات جلوگیری شود. همچنین، از تغییرات ناگهانی pH در محیط واکنش جلوگیری می کند. از سوی دیگر، با افزودن قطره‌ای عامل کاهنده، تغییرات در واکنش و سنتز نانوذرات به وضوح قابل مشاهده است، درحالی که با افزودن یک باره عامل

کاهنده، هیچ تغییر رنگی مشاهده نمی‌شود و حتی واکنش نیز رخ نمی‌دهد. براساس سنتز شماره ۵ و ۶، با تغییر pH از اسیدی به بازی (با استفاده از محلول ۰/۱ مولار هیدروکسید سدیم)، تغییر رنگ فوری در محیط واکنش مشاهده می‌شود و نانوذرات کوچک‌تر (۱۹۱ تا ۲۰۰ نانومتر) در محیط دیده می‌شوند. همچنین، استفاده از عصاره تازه تأثیر قابل توجهی در کاهش اندازه نانوذرات دارد. این موضوع به‌وضوح در سنتزهای ۷ و ۸ مشاهده می‌شود؛ جایی که استفاده از عصاره‌های قدیمی در شرایط مشابه، به سنتز ذرات به‌طور قابل توجهی بزرگ‌تر (تا ۷۰۰۰ نانومتر) منجر شده که نشان‌دهنده اهمیت تازگی عصاره است. براساس نتایج، سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروالکلی

گیاه (مطابق جدول ۱)، مشخص شد که عواملی مانند روش افزودن عصاره، pH محیط واکنش و تازگی عصاره، تأثیر قابل توجهی در فرایند سنتز و اندازه نانوذرات دارند. با این حال، وجود اتانول در عصاره هیدروالکلی ممکن است در برخی از مراحل واکنش، مانند کاهش یون‌های نقره یا پایداری نانوذرات، اختلال ایجاد کند و نتایج را تحت تأثیر قرار دهد. به همین دلیل، برای بررسی دقیق‌تر تأثیر ترکیبات گیاهی و کنترل بهتر شرایط واکنش، از عصاره آبی گیاه (بدون الکلی) در سنتز استفاده شد. در این بخش، تمرکز بر بررسی رفتار عصاره آبی در واکنش با نیترات نقره و نحوه تنظیم pH برای دستیابی به شرایط بهینه سنتز بود.

جدول ۱. تأثیر pH، نحوه افزودن عصاره و عمر عصاره در اندازه نانوذرات نقره

شماره سنتز	عمر عصاره	نحوه اضافه کردن عصاره	زمان (ساعت)	دما (درجه سانتی‌گراد)	pH محیط واکنش	میانگین اندازه (نانومتر)	زمان مشاهده تغییر رنگ	نسبت عصاره به نیترات	غلظت عصاره (وزنی/حجمی)	غلظت نیترات نقره (میلی‌مولار)
۱	تازه	یک‌دفعه	۰/۵	۶۰	اسیدی	-	-	۱/۱۰	۱۰	۱
۲	تازه	یک‌دفعه	۰/۵	۶۰	اسیدی	-	-	۱/۱۰	۱۰	۱
۳	تازه	قطره‌ای	۰/۵	۶۰	اسیدی	۳۷۰	بعد از نیم ساعت	۱/۱۰	۱۰	۱
۴	تازه	قطره‌ای	۰/۵	۶۰	اسیدی	۳۷۰	بعد از نیم ساعت	۱/۱۰	۱۰	۱
۵	تازه	قطره‌ای	۰/۵	۶۰	بازی	۲۰۰	بلافاصله	۱/۱۰	۱۰	۱
۶	تازه	قطره‌ای	۰/۵	۶۰	بازی	۱۹۱	بلافاصله	۱/۱۰	۱۰	۱
۷	قدیمی	قطره‌ای	۰/۵	۶۰	بازی	۱۰۰۰	بلافاصله	۱/۱۰	۱۰	۱
۸	قدیمی	قطره‌ای	۰/۵	۶۰	بازی	۷۰۰۰	بلافاصله	۱/۱۰	۱۰	۱

براساس مشاهدات، عصاره گیاهی استخراج‌شده دارای pH حدود ۵ بود. این مقدار pH در عصاره‌های تازه و قدیمی تفاوتی نداشت و در هر دو مورد به‌عنوان یک مقدار مشابه ثبت شد. تنظیم pH عصاره با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم دشوار است؛ زیرا عصاره در برابر تغییرات pH بسیار مقاوم است. علاوه بر این، تغییر pH عصاره به تغییرات رنگ و تشکیل ذرات ناخالصی منجر می‌شود که در این صورت، فیلتراسیون مجدد برای حذف ذرات ضروری است. از سوی دیگر، اگر pH عصاره در محدوده بازی تنظیم شود و عصاره در دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود، pH آن با گذشت زمان دوباره تغییر می‌کند و به محدوده اسیدی بازمی‌گردد.

با توجه به نکات فوق، در سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی، رعایت شرایط خاصی برای پایداری واکنش ضروری است. ازجمله مهم‌ترین نکات، تنظیم دقیق pH محیط واکنش به‌گونه‌ای است که از تغییر رنگ عصاره یا کاهش پایداری نیترات نقره جلوگیری شود. برای دستیابی به این هدف، تنظیم pH با استفاده از محلول هیدروکسید

سدیم ۱ مولار انجام شد. به‌منظور تعیین مقدار دقیق محلول هیدروکسید سدیم مورد نیاز برای رسیدن به pH مناسب واکنش، مقادیر مختلفی از NaOH (از ۱ تا ۵۰ میکرولیتر) به مخلوط عصاره و نیترات نقره اضافه شد و تغییرات pH ثبت شد. نتایج این قسمت در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس داده‌های جدول ۲، مشاهده شد که افزودن بیش از ۱۰ میکرولیتر محلول هیدروکسید سدیم ۱ مولار، به افزایش شدید pH (تا ۱۰) منجر می‌شود که می‌تواند پایداری واکنش را مختل کند و باعث ناپایداری و تغییر رنگ عصاره شود. در مقابل، مقادیر بین ۸ تا ۴ میکرولیتر، pH را به محدوده خنثی و نزدیک به بازی (حدود ۷/۸ تا ۸/۴) افزایش می‌دهد.

به‌منظور یافتن بهترین pH برای سنتز این ذرات، مقادیر مختلفی از NaOH به محیط واکنش اضافه شد (جدول ۳). در تمام سنتزها، عصاره به‌صورت قطره‌قطره و در مدت زمان کوتاهی (نیم ساعت) به محلول نیترات نقره اضافه شد.

جدول ۲. تغییرات pH با افزودن مقادیر مختلف NaOH

pH ترکیب	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم
pH آب مقطر	۶/۶۶	۶/۶۷	۶/۶۶
pH عصاره آبی	۵/۸۷	۵/۸۷	۵/۹۰
pH نیترات نقره	۵/۹۷	۵/۹۶	۵/۹۷
pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۵۰ میکرولیتر NaOH	۱۰/۹۹	۱۰/۹۳	۱۰/۸۳
pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۳۰ میکرولیتر NaOH	۹/۶۵	۹/۶۶	۹/۷۲
pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۱۰ میکرولیتر NaOH	۸/۴۶	۸/۴۵	۸/۴۰
pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۸ میکرولیتر NaOH	۸/۶۳	۸/۴۵	۸/۴۰
pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۷ میکرولیتر NaOH	۸/۰۲	۸/۰۱	۸/۰۳

۷/۹۱	۷/۹۱	۷/۸۳	pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۶ میکرولیتر NaOH
۷/۶۱	۷/۶۴	۷/۶۲	pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۵ میکرولیتر NaOH
۷/۳۸	۷/۴۰	۷/۳۵	pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۴ میکرولیتر NaOH
۶/۸۳	۶/۸۸	۶/۱۷	pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۳ میکرولیتر NaOH
۶/۵۰	۶/۴۹	۶/۴۸	pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۲ میکرولیتر NaOH
۶/۱۰	۶/۹	۶/۱۵	pH عصاره و نیترات نقره با افزودن ۱ میکرولیتر NaOH

جدول ۳. تأثیر pH در اندازه نانوذرات نقره

شماره ستنز	عمر عصاره	نحوه اضافه کردن عصاره	زمان (ساعت)	دما (درجه سانتی گراد)	میزان NaOH اضافه شده	pH محیط واکنش	میانگین اندازه (نانومتر)	زمان مشاهده تغییر رنگ	نسبت عصاره به نیترات	غلظت عصاره (وزنی/حجمی)	غلظت نیترات نقره (میلی مولار)
۹	تازه	قطره ای	۰/۵	۶۰	۸ لاند	۸	۳۷۱	هم زمان	۱/۱۰	۱۰	۱
۱۰	تازه	قطره ای	۰/۵	۶۰	۶ لاند	۷/۹۱	۳۲۵	هم زمان	۱/۱۰	۱۰	۱
۱۱	تازه	قطره ای	۰/۵	۶۰	۵ لاند	۷/۶۱	۳۵۳	هم زمان	۱/۱۰	۱۰	۱
۱۲	تازه	قطره ای	۰/۵	۶۰	۴ لاند	۷/۳۸	۳۱۵	هم زمان	۱/۱۰	۱۰	۱
۱۳	تازه	قطره ای	۰/۵	۶۰	۳ لاند	۶/۸۳	۲۸۷	هم زمان	۱/۱۰	۱۰	۱
۱۴	تازه	قطره ای	۰/۵	۶۰	۲ لاند	۶/۵۰	۲۵۶	هم زمان	۱/۱۰	۱۰	۱

نانوذراتی با اندازه های کوچکتر و یکنواخت تر تشکیل شدند، در حالی که افزایش دما باعث افزایش قابل توجه اندازه متوسط ذرات شد. این داده ها تأیید می کنند که دمای واکنش یکی از عوامل کلیدی در کنترل اندازه نانوذرات نقره است و افزایش دما با افزایش سرعت واکنش و احتمالاً تسریع تجمع ذرات، اندازه نهایی ذرات را افزایش می دهد.

در مرحله بعد، به منظور بررسی تأثیر غلظت عصاره گیاهی در سنتز نانوذرات نقره، مجموعه ای از سنتزها با غلظت های مختلف عصاره شامل ۵، ۱۰، ۱۲ و ۱۵ درصد وزنی/حجمی انجام شد. دیگر شرایط واکنش شامل دما، روش افزودن عصاره (قطره ای)، pH محیط واکنش و نسبت عصاره به نیترات نقره (۱۰:۱) در تمام سنتزها ثابت نگه داشته شدند (جدول ۵). نتایج نشان داد که افزایش غلظت عصاره به کاهش اندازه متوسط نانوذرات منجر می شود. این موضوع می تواند به دلیل افزایش مقدار ترکیبات کاهنده و پایدارکننده موجود در عصاره باشد که باعث کاهش اندازه ذرات و بهبود پایداری آن ها در محیط واکنش می شود. البته باید توجه کرد که در غلظت های بسیار زیاد، احتمال اختلال در کنترل واکنش وجود دارد. بنابراین، انتخاب غلظت بهینه اهمیت زیادی داشت.

بررسی نتایج جدول ۳ نشان داد که با کاهش مقدار NaOH اضافه شده، اندازه نانوذرات به طور مداوم کاهش می یابد. به عبارت دیگر، تغییر pH از بازی به اسیدی باعث کاهش اندازه نانوذرات می شود؛ این روند در اکثر سنتزها به وضوح مشاهده شد. با این حال، در سنتز شماره ۱۱، این روند مشاهده نشد و اندازه ذرات در مقایسه با سنتز شماره ۱۰ افزایش یافت. دلیل این موضوع را می توان ناپایداری حرارتی دانست؛ در طول سنتز شماره ۱۱، دمای محیط واکنش به طور موقت از ۶۰ به ۶۵ درجه سانتی گراد افزایش یافت. این نشان می دهد که افزایش دمای واکنش، حتی برای مدت کوتاه، می تواند به افزایش اندازه نانوذرات منجر شود. بنابراین، کنترل دقیق دما در طول فرایند سنتز در دستیابی به نانوذرات با اندازه کوچکتر و توزیع یکنواخت تر، نقش مهمی دارد.

به منظور بررسی دقیق تر تأثیر دما در فرایند سنتز، سه سنتز جدید تحت شرایط یکسان، اما در دماهای مختلف (۶۰، ۴۰ و ۲۵ درجه سانتی گراد) انجام شد. دیگر پارامترها شامل غلظت نیترات نقره، عصاره، روش افزودن، pH و نسبت ها برای ارزیابی اثر خالص دما ثابت نگه داشته شدند (جدول ۴).

نتایج این سه سنتز نشان داد که در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد،

جدول ۴. تأثیر دما در اندازه نانوذرات نقره

شماره ستنز	عمر عصاره	نحوه اضافه کردن عصاره	زمان (ساعت)	دما (درجه سانتی گراد)	میزان NaOH اضافه شده	pH محیط واکنش	میانگین اندازه (نانومتر)	زمان مشاهده تغییر رنگ	نسبت عصاره به نیترات	غلظت عصاره (وزنی/حجمی)	غلظت نیترات نقره (میلی مولار)
۱۵	تازه	قطره ای	۰/۵	۶۰	۲ لاند	۶/۵	۲۵۶	هم زمان	۱/۱۰	۱۰	۱
۱۶	تازه	قطره ای	۰/۵	۴۰	۲ لاند	۶/۵	۱۸۷	هم زمان	۱/۱۰	۱۰	۱
۱۷	تازه	قطره ای	۰/۵	۲۵	۲ لاند	۶/۵	۱۳۹	هم زمان	۱/۱۰	۱۰	۱

جدول ۵. تأثیر غلظت عصاره در اندازه نانوذرات نقره

شماره ستنز	عمر عصاره	نحوه اضافه کردن عصاره	زمان (ساعت)	دما (درجه سانتی گراد)	میزان NaOH اضافه شده	PH محیط واکنش	میانگین اندازه (نانومتر)	زمان مشاهده تغییر رنگ	نسبت عصاره به نیترات	غلظت عصاره (وزنی/حجمی)	غلظت نیترات نقره (میلی مولار)
۱۸	تازه	قطره ای	۰/۵	۲۵	۲ لاند	۶/۵	۱۲۴	هم زمان	۱/۱۰	۳	۱
۱۹	تازه	قطره ای	۰/۵	۲۵	۲ لاند	۶/۵	۱۱۰	هم زمان	۱/۱۰	۵	۱

۲۰	تازه	قطره‌ای	۰/۵	۲۵	۲ لاندا	۶/۵	۱۳۹	هم‌زمان	۱/۱۰	۱۰	۱
۲۱	تازه	قطره‌ای	۰/۵	۲۵	۲ لاندا	۶/۵	۱۱۷	هم‌زمان	۱/۱۰	۱۲	۱
۲۲	تازه	قطره‌ای	۰/۵	۲۵	۲ لاندا	۶/۵	۴۰۸	هم‌زمان	۱/۱۰	۱۵	۱

سنتر نانوذرات نقره با استفاده از غلظت بهینه عصاره (۵ درصد W/V) انجام شد و دو غلظت مختلف نیترات نقره شامل ۱ میلی‌مولار و ۰/۵ میلی‌مولار در نظر گرفته شد (جدول ۶).

براساس نتایج مشاهده‌شده، بهترین غلظت عامل کاهنده (عصاره) ۵ درصد است. در مرحله نهایی بهینه‌سازی شرایط سنتر، تأثیر غلظت نیترات نقره به‌عنوان پیش‌ساز اصلی نقره بررسی شد. برای این منظور،

جدول ۶. تأثیر غلظت نیترات نقره در اندازه نانوذرات نقره

شماره سنتر	عمر عصاره	نحوه اضافه کردن عصاره	زمان (ساعت)	دما (درجه سانتی‌گراد)	میزان NaOH اضافه‌شده	pH محیط واکنش	میانگین اندازه (نانومتر)	زمان مشاهده تغییر رنگ	نسبت عصاره به نیترات	غلظت عصاره (وزنی/حجمی)	غلظت نیترات نقره (میلی‌مولار)
۲۳	تازه	قطره‌ای	۰/۵	۲۵	۲ لاندا	۶/۵	۱۳۳	هم‌زمان	۱/۱۰	۵	۱
۲۴	تازه	قطره‌ای	۰/۵	۲۵	۲ لاندا	۶/۵	۵۳	هم‌زمان	۱/۱۰	۵	۰/۵

DLS مطابقت دارد. این یافته‌ها نشان‌دهنده موفقیت در سنتر نانوذرات نقره با اندازه کنترل‌شده است.

بالین‌حال، در برخی مناطق تصویر، ویژگی‌های نامنظم یا غیریکنواخت در پس‌زمینه مشاهده می‌شود. این ناهمواری‌ها ممکن است ناشی از بقایای آلی گیاهی باشد که به دلیل خالص‌سازی ناقص عصاره در نمونه باقی مانده‌اند. چنین ناخالصی‌هایی می‌توانند به تجمع جزئی ذرات یا پوشش برخی از نانوذرات منجر شوند که در نتیجه، در وضوح و یکنواختی مورفولوژی سطح مشاهده‌شده تأثیر می‌گذارند. باوجوداین، ظاهر کلی تصویر از تشکیل موفقیت‌آمیز نانوذرات نقره پشتیبانی می‌کند و نشان‌دهنده قابلیت عصاره پونه کوهی به‌عنوان عامل احیاکننده و تثبیت‌کننده در سنتر نانوذرات است.

آنالیز ایدکس (EDX) نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره پونه

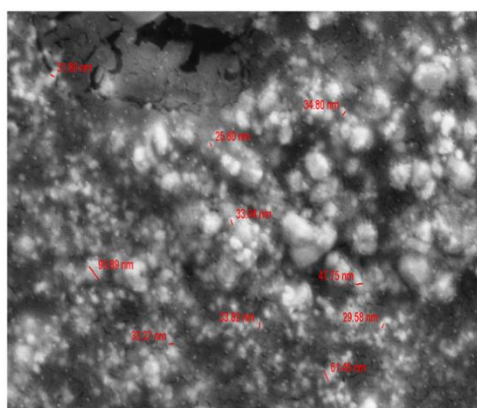
شکل ۱ (ب) نتایج آنالیز EDX نانوذرات نقره سنتز شده را نشان می‌دهد. در این طیف، پیک‌های مشخص‌شده مربوط به عنصر نقره (Ag) به‌وضوح قابل مشاهده هستند که تأییدکننده موفقیت سنتر نانوذرات نقره است. علاوه بر این، وجود پیک‌های مربوط به عنصر اکسیژن (O) نیز مشاهده می‌شود.

نتایج نشان داد که غلظت ۱ میلی‌مولار $AgNO_3$ از نظر اندازه نانوذرات، بهترین نتیجه را می‌دهد. اگرچه این اندازه نسبتاً کوچک است، مطالعه ما نشان داد که ۱ میلی‌مولار $AgNO_3$ نانوذرات حتی کوچک‌تر و یکنواخت‌تری تولید می‌کند که برتری این غلظت را در شرایط آزمایشگاهی ما برجسته می‌کند. در مطالعه ما، در غلظت‌های پایین‌تر نیترات نقره، یعنی ۰/۵ میلی‌مولار، اندازه نانوذرات به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. این نشان می‌دهد که کاهش بیش از حد یون‌های نقره در محیط واکنش، به کاهش سرعت هسته‌زایی اولیه و در نتیجه تشکیل ذرات کمتر، اما بزرگ‌تر منجر می‌شود. در مقابل، غلظت ۱ میلی‌مولار تعادل مناسبی بین عوامل کاهنده موجود در عصاره و یون‌های نقره ایجاد کرد و به سنتر نانوذرات با اندازه‌های کوچک‌تر و یکنواخت‌تر منجر شد. بنابراین، حفظ غلظت $AgNO_3$ در حدود ۱ میلی‌مولار برای دستیابی به نانوذرات با کیفیت خوب ضروری است.

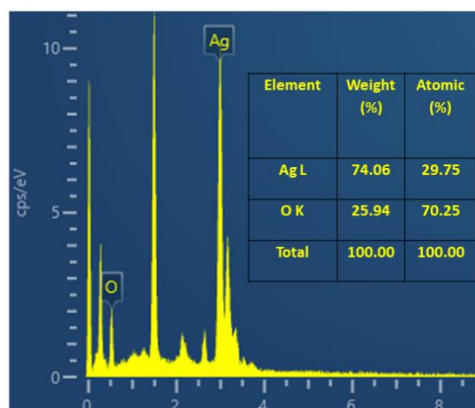
آنالیز SEM نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره پونه

شکل ۱ (الف) تصویر SEM نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره پونه کوهی را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از آن است که ذرات عمدتاً مورفولوژی کروی و پراکندگی یکنواخت دارند. اندازه نانوذرات در محدوده زیر ۱۰۰ نانومتر مشاهده شد که با نتایج حاصل از اندازه‌گیری

الف

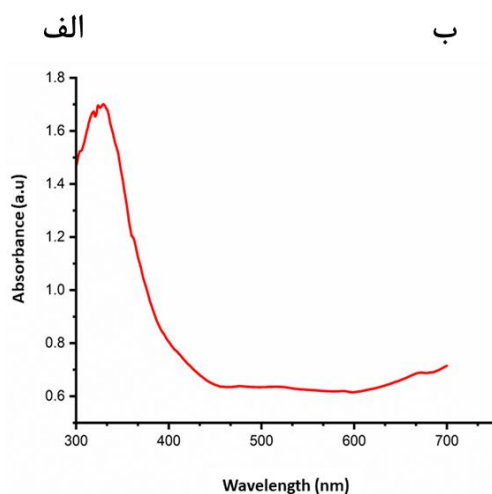


ب



شکل ۱. (الف) تصویر SEM نانوذرات نقره؛ (ب) تصویر آنالیز EDX نانوذرات نقره

تابش الکترومغناطیسی است؛ این پدیده به عنوان رزونانس پلاسمون سطحی (SPR: Surface Plasmon Resonance) شناخته می‌شود. این نوسانات باعث تغییر در ضریب شکست نزدیک به سطح نانوذرات می‌شود و ویژگی‌های نوری متمایزی ایجاد می‌کند. بنابراین، نانوذرات را می‌توان با استفاده از طیف‌سنجی فرابنفش - مرئی بررسی کرد که روشی برای اندازه‌گیری جذب یا عبور نور در محدوده طول‌موج‌های فرابنفش و مرئی است. مطالعات نشان می‌دهند که پیک جذب در طول‌موج حدود ۴۰۰ تا ۴۵۰ نانومتر، شاخصی قابل اعتماد برای وجود نانوذرات نقره سنتز شده است. تشکیل باند جذب واحد و مشخص در این ناحیه معمولاً نشانه‌ای از شکل کروی نانوذرات است. همان‌طور که در شکل ۲ (الف) مشاهده می‌شود، پیک جذب در حدود ۴۳۰ نانومتر تشکیل شده است که تأییدی بر سنتز موفق نانوذرات نقره است.

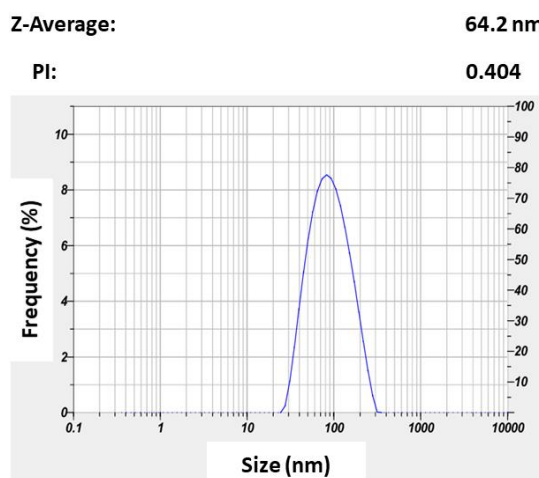


شکل ۲. (الف) طیف UV-Vis نانوذرات نقره؛ (ب) پراکندگی نانوذرات نقره

وجود اکسیژن می‌تواند به دلیل حضور گروه‌های عملکردی مانند هیدروکسیل (OH^-) یا کربوکسیل (COOH^-) در ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره باشد که در فرایند تثبیت و احیا نانوذرات مشارکت داشته‌اند. همچنین، این ناخالصی‌ها ممکن است ناشی از خالص‌سازی ناقص عصاره یا واکنش‌های جانبی در حین سنتز باشند. با وجود این ناخالصی‌ها، حضور پیک‌های قوی نقره نشان‌دهنده خلوص نسبی نانوذرات و تشکیل موفقیت‌آمیز آن‌هاست.

نتایج طیف‌سنجی فرابنفش - مرئی

نانوذرات فلزی، از جمله نانوذرات نقره، خواص نوری منحصر به فردی دارند که ناشی از نوسانات جمعی الکترون‌های رسانش برانگیخته شده با



نتایج DLS

پراکندگی نور پویا (DLS) نوعی روش اندازه‌گیری نوری برای توصیف سیستم‌های پراکنده است که نوسانات بالای نور پراکنده را ارزیابی می‌کند. این روش اغلب برای تعیین کمیت حرکت براونی ذرات منفرد در مایعات به منظور تجزیه و تحلیل اندازه ذرات استفاده می‌شود. در این مطالعه، براساس نتایج آزمایش DLS و همان‌طور که در شکل ۲ (ب) نشان داده شده است، اندازه متوسط نانوذرات نقره حدود ۶۴ نانومتر است. این مقدار در محدوده مورد انتظار برای این نانوذرات قرار دارد و سنتز موفقیت‌آمیز آن‌ها را تأیید می‌کند.

بحث

در این پژوهش، سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه پونه به عنوان روش سبز و دوستدار محیط زیست بررسی شد و اثر عوامل مختلف واکنش شامل نوع عصاره، pH، دما، غلظت عصاره و غلظت نیترات نقره بر اندازه، شکل و پایداری نانوذرات ارزیابی شد. نتایج نشان داد که استفاده از عصاره آبی گیاه در مقایسه با عصاره هیدروالکلی در کاهش یون‌های نقره و پایداری نانوذرات کارایی بیشتری دارد؛ زیرا حضور اتانول می‌تواند به اختلال در فرایند کاهش و ناپایداری ذرات منجر شود [۸، ۹].

همچنین، تنظیم pH شرایط مناسبی را برای هسته‌زایی و جلوگیری از تجمع ذرات فراهم کرد و پایداری نانوذرات را افزایش داد؛ این یافته با مطالعات قبلی، از جمله هومیرا رضوانا و نامراتا بودیراجا، هم‌خوانی دارد [۱۰، ۱۱]. بررسی اثر دما نشان داد که نوسانات دما، حتی کوتاه‌مدت، می‌تواند اندازه ذرات را تحت تأثیر قرار دهد و کنترل دقیق آن برای دستیابی به ذرات کوچک و یکنواخت ضروری است. نتایج حاکی از آن بود که دماهای پایین‌تر (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) در مقایسه با دماهای بالاتر، نانوذراتی با اندازه کوچک‌تر و توزیع یکنواخت‌تر تولید می‌کنند. این نتایج تا حدی با مطالعه رنو سانکار و همکاران [۱۲]، که سنتز نانوذرات نقره را در دماهای بالاتر گزارش کرده‌اند، متفاوت است که احتمالاً ناشی از تفاوت در نوع عصاره و شرایط سنتز است. تأثیر غلظت عصاره نیز قابل توجه بود؛ افزایش غلظت عصاره تا حد بهینه (۵ درصد وزنی/حجمی) موجب کاهش اندازه متوسط ذرات و افزایش یکنواختی شد، در حالی که غلظت‌های بیش از حد بالا احتمال تجمع و تشکیل ناخالصی را افزایش داد.

بررسی غلظت‌های مختلف نیترات نقره نشان داد که غلظت ۱ میلی‌مولار بهترین شرایط را برای سنتز نانوذرات پایدار و یکنواخت فراهم می‌آورد. در مطالعات پیشین نیز مشاهده شده است که غلظت ۱ میلی‌مولار مناسب‌ترین مقدار برای سنتز نانوذرات با کیفیت و اندازه مطلوب است؛ به‌طور خاص، این نتیجه در تحقیقات Johnson و

واکنش، به‌ویژه دما و غلظت مواد اولیه، در بهبود ویژگی‌های فیزیکی و مورفولوژیکی نانوذرات نقش کلیدی داشت. این روش زیستی و ساده سنتز، روشی مؤثر و سازگار با محیط زیست برای تولید نانوذرات نقره با خواص مطلوب است که قابلیت استفاده در کاربردهای پزشکی، دارویی و ضدمیکروبی را دارد. پژوهش‌های آینده می‌توانند بر بهینه‌سازی بیشتر و ارزیابی کاربردهای بیولوژیکی این نانوذرات متمرکز شوند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شاهرود و تمامی همکاران محترم آزمایشگاه، که در اجرای این پروژه همکاری کردند، صمیمانه قدردانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر پس از تأیید شورای پژوهشی و کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شاهرود با کد IR.SHMU.REC.1403.100 انجام شد.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منفعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

طاهره سادات طباطبایی: نگارش اولیه مقاله و انجام مطالعات آزمایشگاهی؛ وحید شیرشاهی: ایده‌پردازی و اصلاحات اولیه مقاله.

حمایت مالی

معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شاهرود از این پژوهش (کد پایان‌نامه: ۲۰۲۰۴) حمایت مالی کرده است.

همکاران [۱۳]، Perumalsamy و همکاران [۱۴]، Yassin و همکاران [۱۵] و Ahmadi و همکاران [۱۶] تأیید شده است. در مقابل، Vijapur و همکاران [۱۷] با استفاده از غلظت بالاتر ۲ میلی‌مولار، نانوذراتی با اندازه متوسط ۱۷۰ نانومتر سنتز کرده‌اند که با نتایج این پژوهش مغایرت دارد.

نتایج آزمون‌های مشخصه‌یابی شامل SEM، DLS و EDX نیز سنتز موفق نانوذرات نقره را تأیید کردند. تصاویر SEM ذرات کروی با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر را نشان داد و نتایج DLS اندازه متوسط حدود ۶۴ نانومتر را گزارش کرد. طیف EDX حضور نقره خالص همراه با مقادیر کمی ترکیبات آلی عصاره را نشان داد که در سنتز سبز رایج است [۱۸]. علاوه بر این، طیف‌سنجی UV-Vis با مشاهده پیک SPR در حدود ۴۳۰ نانومتر، تشکیل نانوذرات کروی و پایدار را تأیید کرد. در مجموع، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که کنترل دقیق شرایط واکنش، به‌ویژه نوع عصاره، pH و دما، در سنتز نانوذرات نقره نقش اساسی دارد و بهینه‌سازی این عوامل می‌تواند نانوذراتی با اندازه کوچک، توزیع یکنواخت و پایداری زیاد تولید کند. چنین نانوذراتی به دلیل خواص فیزیوشیمیایی مطلوب، قابلیت کاربرد گسترده‌ای در حوزه‌های زیست‌پزشکی، کاتالیز و زیست‌محیطی دارند.

نتیجه‌گیری

سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره پونه کوهی به‌عنوان عامل کاهنده و تثبیت‌کننده، در دمای پایین (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و با غلظت بهینه عصاره (۵ درصد w/v) و نیترات نقره (۱ میلی‌مولار)، به تولید نانوذراتی کروی، یکنواخت و با اندازه متوسط زیر ۱۰۰ نانومتر منجر شد. نتایج SEM، DLS و طیف‌سنجی UV-Vis نشان‌دهنده موفقیت سنتز و کیفیت بالای نانوذرات بودند. همچنین، آنالیز EDX وجود نقره خالص را تأیید کرد و حضور عناصر اکسیژن به‌عنوان نشانه ترکیبات آلی عصاره در تثبیت نانوذرات مطرح شد. کنترل دقیق شرایط

References

- Nasrollahzadeh M, Sajadi S, Sajjadi M, Issaabadi Z. An introduction to nanotechnology. Interface Sci Technol. 2019;28:1-27. [DOI: 10.1016/B978-0-12-813586-0.00001-8]
- Kalwar K, Shan D. Antimicrobial effect of silver nanoparticles (AgNPs) and their mechanism: a mini review. Micro Nano Lett. 2017;13(3):277-280. [DOI: 10.1049/mnl.2017.0648]
- Kuntyi O, Mazur A, Kytsya A, Karpenko O, Bazylyak L, Mertsalo I, et al. Electrochemical synthesis of silver nanoparticles in solutions of rhamnolipid. Micro Nano Lett. 2020;15(12):802-807. [DOI: 10.1049/mnl.2020.0195]
- Zhou Z, Xie A, Tan Y, Zhang J, Xue C. Vacuum-assisted thermal evaporation deposition for the preparation of AgNPs/NF 3D SERS substrates and their applications. Eur J Med Chem Rep. 2023;47(46):21225-21231. [DOI: 10.1039/D3NJ03752E]
- Asif M, Yasmin R, Asif R, Ambreen A, Mustafa M, et al. Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs), structural characterization, and their antibacterial potential. ACS Med Chem Lett. 2022;20(2):15593258221088709. [DOI: 10.1177/15593258221088709] [PMID: 35592270]
- El Hassani FZ. Characterization, activities, and ethnobotanical uses of Mentha species in Morocco. Heliyon. 2020;6(11):e05480. [DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e05480] [PMID: 33294657]
- Wang Y, Wei S. Green fabrication of bioactive silver nanoparticles using Mentha pulegium extract under alkaline conditions: enhanced anticancer activity. ACS Omega. 2021;7(1):1494-1504. [DOI: 10.1021/acsomega.1c06267]
- Rafique M, Sadaf I, Rafique MS, Tahir MB. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2017;45(7):1272-1291. [DOI: 10.1080/21691401.2016.1241792]
- Alshameri AW, Owais M. Antibacterial and cytotoxic potency of the plant-mediated synthesis of metallic nanoparticles AgNPs and ZnO NPs: a review. OpenNano. 2022;8:100077. [DOI: 10.1016/j.onano.2022.100077]
- Rizwana H, Alwhibi MS. Biosynthesis of silver nanoparticles using leaves of Mentha pulegium, their characterization, and antifungal properties. J Green Process Synth. 2021;10(1):824-834. [DOI: 10.1515/gps-2021-0079]
- Budhiraja N, Peta S, Singh D. Antibacterial, antioxidant, and cytotoxicity analysis of green synthesis silver nanoparticles from oregano, rosemary, and thyme leaf extract. Lipids Health Dis. 2024;30:102-106. [DOI: 10.53550/EEC.2024.v30i06s.016]
- Sankar R, Karthik A, Prabu A, Karthik S, Shivashangari KS, Ravikumar VJ, et al. Origanum vulgare-mediated biosynthesis of silver nanoparticles for its antibacterial and anticancer activity. Colloids Surf B Biointerfaces. 2013;108:80-84. [DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.02.033] [PMID: 23537829]

13. Antonysamy Johnson MA, Shibila T, Amutha S, Menezes IR, da Costa JG, Sampaio NF, et al. Synthesis of silver nanoparticles using *Odontosoria chinensis* (L.) J Sm and evaluation of their biological potentials. *Pharmaceuticals* (Basel). 2020;13(4):66. [DOI: [10.3390/ph13040066](https://doi.org/10.3390/ph13040066)] [PMID: [32295048](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32295048/)]
14. Perumalsamy R, Krishnadhas L. Anti-diabetic activity of silver nanoparticles synthesized from the hydroethanolic extract of *Myristica fragrans* seeds. *Appl Biochem Biotechnol*. 2022;194(3):1136-1148. [DOI: [10.1007/s12010-022-03825-8](https://doi.org/10.1007/s12010-022-03825-8)] [PMID: [35091876](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35091876/)]
15. Yassin MT, Mostafa AAF, Al-Askar AA, Al-Otibi FO. Facile green synthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Origanum majorana* with potential bioactivity against multidrug-resistant bacterial strains. *Crystals*. 2022;12(5):603. [DOI: [10.3390/cryst12050603](https://doi.org/10.3390/cryst12050603)]
16. Ahmadi O, Sayyar Z, Jafarizadeh Malmiri H. Optimization of processing time, temperature, and stirring rate to synthesize Ag nanoparticles using oregano extract. *Iran J Chem Eng*. 2023;42(10):3235-3248. [DOI: [10.30492/ijcce.2023.1971456.5676](https://doi.org/10.30492/ijcce.2023.1971456.5676)]
17. Vijapur LS, Hiremath JN, Bonageri NN, Desai AR. Murraya koenigii: biogenic synthesis of silver nanoparticles and their cytotoxic effects against MDA-MB-231 human breast cancer cell lines. *World J Pharm Med Res*. 2019;5(6):206-211. [Link]
18. Zhang J, Usman KAS, Judicpa MAN, Hegh D, Lynch PA, Razal JMJS, et al. Applications of X-ray-based characterization in MXene research. *Small Methods*. 2023;7(8):e2201527. [DOI: [10.1002/smtd.202201527](https://doi.org/10.1002/smtd.202201527)] [PMID: [36808897](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36808897/)]