

ویژگی های نانوذرات دی اکسید زیر کونیم (ZrO_2) بیوستتز شده توسط عصاره گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) کشت شده تحت تیمار سالیسیلیک اسید در شرایط درون شیشه

مریم قنادنیا^{۱*} و معصومه باقری^۲

^{۱*} گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی، قزوین، ایران

^۲ فارغ التحصیل کارشناسی مهندسی کشاورزی: مدیریت و آبادانی، دانشگاه پیام نور، قم، ایران

چکیده

در سال های اخیر استفاده از سیستم های زیستی به عنوان یک روش کاملاً جدید و جالب توجه برای سنتز نانوذرات، مورد توجه زیادی قرار گرفته است. زیرکونیا به عنوان نوعی سرامیک زیستی، در سال های اخیر به دلیل ویژگی های خاصش، در ساختن ایمپلنت های دندان و اسکلتی کاربرد زیادی یافته است. هدف از این پژوهش بیوستتز نانوذرات زیرکونیا با استفاده از عصاره گیاه مرزه رشد یافته در شرایط درون شیشه تحت تیمار غلظت های صفر، ۴۰ و ۸۰ میکرومولار از اسید سالیسیلیک بوده است. تشکیل نانوذرات زیستی زیرکونیا در ۲۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV) تأیید شد. ماهیت، ساختار و مورفولوژی نانوذرات توسط دستگاه های پراش اشعه ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج XRD ساختار کریستالی نانوذرات با فاز مونوکلینیک و تترائگونال را نشان داد. اندازه نانوذرات با استفاده از FESEM در حدود ۶۷/۵۷-۱۲/۶۲ نانومتر مشاهده شد. نتایج حاصل از FTIR مهم ترین گروه های عاملی شیمیایی شرکت کننده در بیوستتز و ثبات نانوذرات را CO ، COO^- ، CH_2 ، OH مشخص کرد که در ترکیبات زیستی عصاره گیاه مرزه وجود دارند. در مجموع نتایج بیوستتز گیاهان شاهد نسبت به تیمارها بهتر بود. نتایج این تحقیق نشان داد که مولکول های زیستی موجود در عصاره گیاه، نانوذرات بیوستتز شده را احاطه کرده و در احیای یون های زیرکونیوم و ثبات نانوذرات تشکیل شده، نقش داشتند. این نتایج نشان می دهد که با تغییر شرایط کشت گیاهان می توان به نانوذراتی با ویژگی های مورد نظر دست یافت.

واژه های کلیدی: گیاه دارویی مرزه، سالیسیلیک اسید، مولکول های فعال زیستی، نانوذرات زیرکونیا

ایمیل نویسنده مسئول: ghannadnia@eng.ikiu.ac.ir

۱- مقدمه

بیونانوفناوری یکی از علوم جدید بین‌رشته‌ای است که نانوذرات تولیدشده توسط آن دارای خواص شیمیایی، فیزیکی و زیستی متفاوت از مواد با اندازه بزرگتر از حد نانو بوده و زیست سازگاری بیشتری دارند. در سال‌های اخیر رشد بسیار چشمگیری در علم نانو به دلیل توسعه تکنیک‌های جدید برای سنتز مواد و همچنین وجود امکانات جهت طبقه‌بندی و دست‌ورزی آن‌ها ایجاد شده است. روش‌های متفاوت مانند روش‌های فیزیکی و شیمیایی برای تولید نانوذرات استفاده می‌شوند ولی اخیراً استفاده از سیستم‌های زیستی به‌عنوان یک روش کاملاً جدید جهت این کار مورد استفاده قرار گرفته است [۱]. تولید نانوذرات از روش‌های شیمیایی و فیزیکی اگرچه چه به تولید نانوذرات با شکل و اندازه مورد نظر می‌انجامد، پرهزینه بودن این روش‌ها و همچنین، عدم سازگاری آن‌ها با موجودات زنده از موارد مشکل‌زای تولید این نانوذرات است [۲،۳]. نانوذرات بیوسنتزی از روش‌های زیستی به دلیل وجود مواد آلی موجود بر سطح آن‌ها، زیست سازگاری بیشتری داشته، ارزان قیمت و دوست‌دار محیط‌زیست بوده و کاربرد آن‌ها در علوم متفاوت مانند پزشکی، داروسازی، مواد بهداشتی-آرایشی را با سهولت بیشتری امکان‌پذیر می‌سازد [۴]. از جهت دیگر مکانیسم‌های سنتز زیستی نانوذرات به‌خوبی شناخته شده نبوده و دستیابی به روش‌هایی جهت بیوسنتز نانوذرات با اندازه، شکل و سایر مشخصات مورد نظر امکان‌پذیر نشده است [۵]. نانوذرات متفاوتی از جمله نقره و طلا از روش‌های زیستی، تولید شده‌اند [۵،۶]. در سال‌های اخیر، استفاده از گیاهان جهت سنتز سبز نانوذرات مورد توجه خاصی قرار گرفته است. متابولیت‌های اولیه و ثانویه موجود در گیاهان مانند انواع پروتئین‌ها، قندها، ترکیبات فنلی، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و... از عوامل احتمالی احیای یون‌ها و بیوسنتز نانوذرات به شمار می‌روند [۷]. مرزه بانام علمی *Satureja hortensis*، گیاهی علفی، دارویی و غنی از ترکیبات ثانویه مانند اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها و تانن‌ها است که از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی هستند [۸]. اسیدسالیسیلیک و مشتقات آن از ترکیباتی هستند که وظایف مهمی در گیاهان دارند. این ماده یک مولکول علامتی مهم برای میانجیگری پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش‌های محیطی بوده و برخی از گزارش‌ها تأثیر آن بر جوانه‌زنی بذر و رشد و نمو گیاهان در شرایط تنش را ثابت کرده است [۹]. دی‌اکسیدزیرکونیم یا زیرکونیا (ZrO_2) نوعی سرامیک با خواص جالب توجه از نظر استحکام بالا بوده، مقاومت زیادی در مقابل شکستگی داشته و امروزه در پزشکی برای ساخت ایمپلنت‌های دندان و اسکلتی مورد استفاده زیادی قرار می‌گیرد [۱۰]. سرامیک‌های زیستی گروه مهمی از مواد هستند که انواع فعال از لحاظ زیستی آن‌ها می‌توانند مستقیم با بافت‌های زنده مانند استخوان‌ها، پیوند شیمیایی تشکیل دهند [۱۱]. با توجه به اهمیت روزافزون زیرکونیا در علوم و صنایع متفاوت به‌ویژه علوم پزشکی، تاکنون پژوهش‌های محدودی در رابطه با بیوسنتز آن توسط موجودات زنده به‌ویژه گیاهان انجام شده

است [۱۲،۱۳]. با توجه به اهمیت این ماده و اینکه تاکنون بیوسنتز نانوذرات زیرکونیا توسط عصاره گیاهان تحت تأثیر تیمارهای محیطی انجام نشده است، هدف از این پژوهش تأثیر بیوشیمیایی اسیدسالیسیلیک بر گیاه دارویی مرزه و تغییرات کمی و کیفی متابولیت‌های آن و در نتیجه ویژگی‌های نانوذرات زیرکونیای بیوسنتز شده توسط عصاره گیاهان تحت تیمار برای اولین بار است. با بهینه‌سازی شرایط کشت گیاهان می‌توان به نانوذرات زیرکونیا با منشأ زیستی دست‌یافت که سازگاری بیشتر آن‌ها با موجودات زنده، می‌تواند کارایی بیشتر آن‌ها در کاربردهای پزشکی را به دنبال داشته باشد.

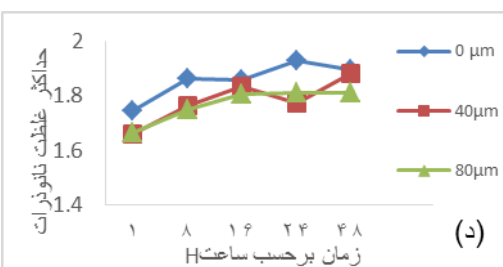
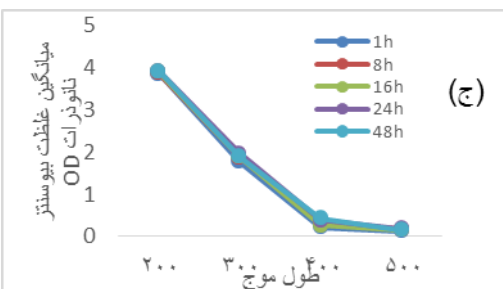
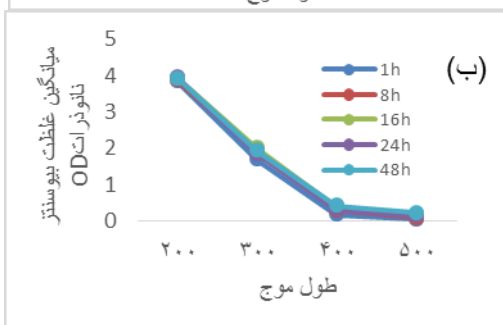
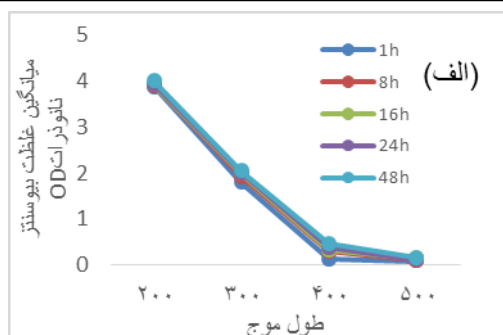
۲- بخش فعالیت‌های آزمایشگاهی (مواد و روش‌ها)

۲-۱- کشت گیاهان، عصاره‌گیری و بیوسنتز نانوذرات: بذر گیاه مرزه از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شده و تمام مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت‌های Merck تهیه شدند. بذرها ابتدا با آب نیم گرم جاری به مدت ۱۰ دقیقه شستشو شده سپس با الکل (۷۰٪) به مدت ۱ دقیقه ضدعفونی و پس از سه مرتبه آبکشی با آب مقطر استریل به مدت ۵ دقیقه در آب‌ژاول ۵٪ رقیق شده، قرار داده شدند. پس از ۵ بار آبکشی، بذرها داخل شیشه‌های حاوی محیط کشت استریل شده موراشیگ و اسگوک (MS) دارای ۳ تیمار صفر، ۴۰ و ۸۰ میکرومولار اسیدسالیسیلیک قرار داده شده و به اتاق رشد با دمای $22 \pm 3^\circ C$ و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، منتقل شدند. گیاهان پس از رسیدن به مرحله ۸ برگ برداشت شدند. برگ نمونه‌ها در $50^\circ C$ به مدت ۴۸ ساعت خشک شده، سپس ۱/۵ گرم از وزن خشک آن‌ها در ۵۰ cc آب مقطر جوشانده شد. پس از سرد شدن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عصاره‌گیری انجام شد. جهت بیوسنتز نانوذرات زیرکونیا محلول یک میلی مولار از نمک K_2ZrF_6 و عصاره گیاهان در هر تیمار به شکل جداگانه به نسبت ۱:۹ مخلوط شده و pH بر روی ۵ تنظیم شد. محلول حاصل بر شیکر در ۱۲۰ rpm در دمای $26^\circ C$ به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شده و در نهایت با سانتریفیوژ 14000 rpm به مدت ۱۵ دقیقه، سانتریفیوژ شد.

۲-۲- بررسی تغییر رنگ محلول‌های حاصل از بیوسنتز نانوذرات: پس از تنظیم pH، تغییر رنگ و شفافیت عصاره‌های خالص و بیوسنتزی مورد بررسی قرار گرفته و با یکدیگر مقایسه شدند.

۲-۳- بررسی مقدار جذب نوری نانوذرات توسط اسپکتوفتومتر: از محلول بیوسنتزی نانوذرات با فواصل زمانی مشخص ۱، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آغاز واکنش، توسط دستگاه اسپکتوفتومتری (epoch- کمپانی بایوتک آمریکا) در طول‌موج‌های بین ۴۰۰-۲۰۰ نانومتر، مقدار جذب نوری اندازه‌گیری و نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم شدند.

۲-۴- تعیین ماهیت نانوذرات توسط XRD: گرم از پودر رسوب حاصل از سانتریفیوژ توسط دستگاه XRD (کمپانی فیلیپس)، مورد بررسی قرار گرفته و طول‌موج‌های انعکاس یافته بین ۸۰-۰ نانومتر اندازه‌گیری و نمودار آن‌ها توسط نرم‌افزار High Score Plus ترسیم شد.



شکل ۲. نمودارهای شدت جذب UV در عصاره‌های بیوسنتزی تیمارهای (الف) صفر، (ب) ۴۰ و (ج) ۸۰ میکرومولار از SA در ۵ زمان متفاوت. (د) سرعت بیوسنتز نانوذرات زیرکونیا با تیمارهای متفاوت در گیاه مرزه تحت تأثیر تیمارهای SA.

نتایج بررسی‌های مربوط به تأثیر تیمارهای متفاوت بر روی سرعت بیوسنتز نانوذرات زیرکونیا در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس، مقدار جذب نوری نانوذرات زیرکونیا بیوسنتز شده توسط تیمارهای متفاوت SA در ۵ زمان متفاوت، ۱، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸ ساعت پس از آغاز واکنش (جدول ۱) نشان داد که تیمار شاهد با ۲ سطح تیمار ۴۰ و ۸۰ میکرومولار از SA از لحاظ حداکثر مقدار غلظت

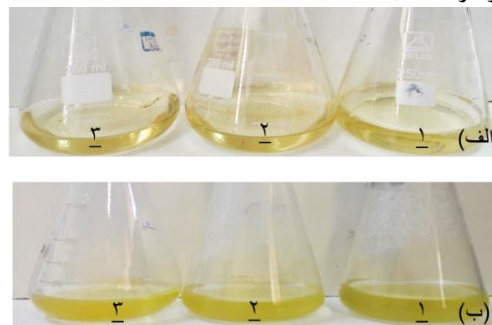
۵-۲- بررسی شکل و اندازه نانوذرات زیرکونیا بیوسنتزی با FESEM: رسوب حاصل از سانتریفیوژ پس از خشک شدن در دمای ۶۰ °C به مدت دو ساعت، توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی بررسی شده و عکس‌برداری انجام شد.

۶-۲- تعیین گروه‌های عاملی مؤثر در بیوسنتز و ثبات نانوذرات بیوسنتزی با FTIR: پودر نانوذرات بیوسنتزی به نسبت ۱:۱۰۰ با نمک پتاسیم برماید (KBr) مخلوط و توسط دستگاه FTIR (آلمان- Bruker) بین طول‌موج‌های ۴۰۰-۴۰۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفته و نمودار پیک جذبی آن توسط دستگاه رسم شد.

برای بررسی تأثیر سطوح متفاوت سالیسیک اسید (SA) بر سرعت بیوسنتز نانوذرات، نمونه‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی توسط تیمارهای متفاوت در ۵ زمان و با سه تکرار توسط دستگاه اسپکتروفتومتری برحسب حداکثر مقدار غلظت به دست آمده، بررسی شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن مقایسه و نمودارها در سطح اختلاف معنی‌دار ۵٪ با نرم افزار Excel رسم شدند.

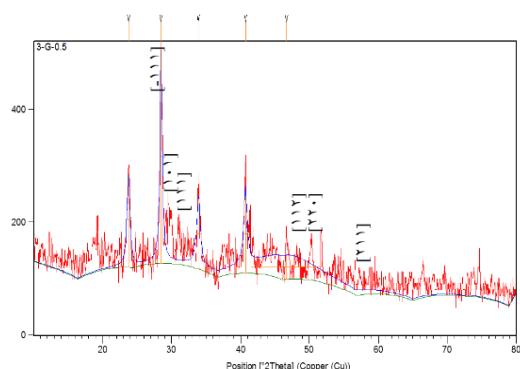
۳- تجزیه و تحلیل نتایج

۱-۳- تغییر رنگ و شفافیت عصاره‌های بیوسنتزی: عصاره خالص برگ گیاهان در هر سه تیمار ۴۰، ۸۰ و ۸۰ میکرومولار از SA زرد کم‌رنگ و شفاف بوده و حدود ۲۴ ساعت بعد از مخلوط سازی با یون زیرکونیم ۱ میلی مولار به رنگ زرد کدر تغییر کرد (شکل ۱).



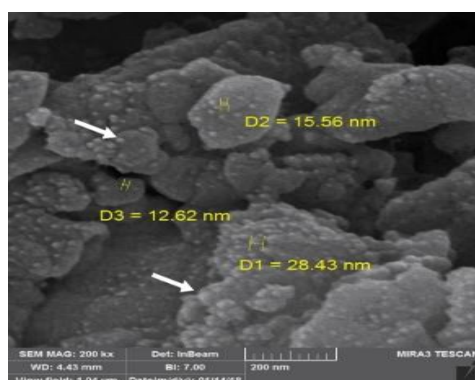
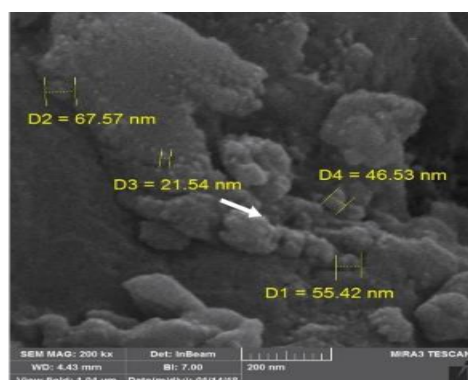
شکل ۱. تغییر رنگ و شفافیت محلول‌ها در نتیجه تشکیل نانوذرات زیرکونیا با استفاده از عصاره مرزه. (الف) شروع واکنش و (ب) ۲۴ ساعت پس از آغاز واکنش. شماره‌ها به ترتیب غلظت ۴۰، ۸۰ و ۸۰ میکرومولار از SA را نشان می‌دهد.

۲-۳- نتایج طیف‌سنجی: حداکثر شدت جذب نور UV بین ۲۰۰-۴۰۰ نانومتر و در حدود ۲۳۰ نانومتر مشاهده شد (شکل ۲). کمترین غلظت جذب یک ساعت پس از آغاز واکنش مشاهده شد. شدت جذب در عصاره بیوسنتزی نمونه شاهد (فاقد تیمار SA) بیشتر از تیمارهای ۴۰ و ۸۰ میکرومولار از تیمار SA بود.



شکل ۴. نمودار الگوی XRD نانوذرات بیوسنتز شده توسط عصاره گیاه مرزه در غلظت شاهد

۳-۴ نتایج FESEM: تصاویر حاصل از FESEM در شکل ۵ نشان داده شده است. اندازه نانوذرات زیرکونیای مشاهده شده بین ۶۷/۵۷-۱۲/۶۲ نانومتر قابل مشاهده بودند. ذرات مونوکلوئال و تتراگونال در برخی نواحی دارای هاله سفیدرنگ در اطراف خود بودند.



شکل ۵. تصاویر FESEM از نانوذرات زیرکونیای بیوستز شده. فلش‌ها هاله سفیدرنگ ترکیبات زیستی فعال احتمالی شرکت‌کننده در فرایند احیا و تثبیت نانوذرات زیرکونیا، موجود در عصاره گیاه را نشان می‌دهد.

۳-۵-نتایج FTIR: نتایج آنالیز FTIR برای تشخیص گروه‌های عاملی شیمیایی از عصاره گیاهان که احتمالاً در فرایند بیوسنتز

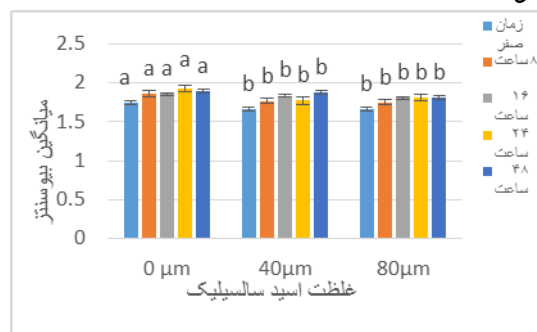
نانوذرات بیوسنتز شده در زمان‌های یکسان باهم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵% داشتند.

جدول ۱. تجزیه واریانس مقدار جذب نوری نانوذرات زیرکونیای بیوسنتز شده توسط تیمارهای متفاوت اسیدسالسیلیک با استفاده از عصاره برگ گیاه مرزه

میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
مقدار بویستز		
۰/۲۲۱۳*	۲	تیمار
۰/۰۰۳*	۴	زمان
۰/۰۴۸*	۸	تیمار × زمان
۰/۰۰۴	۲۲	خطا
%/۳۵۷۷۳		ضریب تغییرات

* اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵% را نشان می‌دهد.

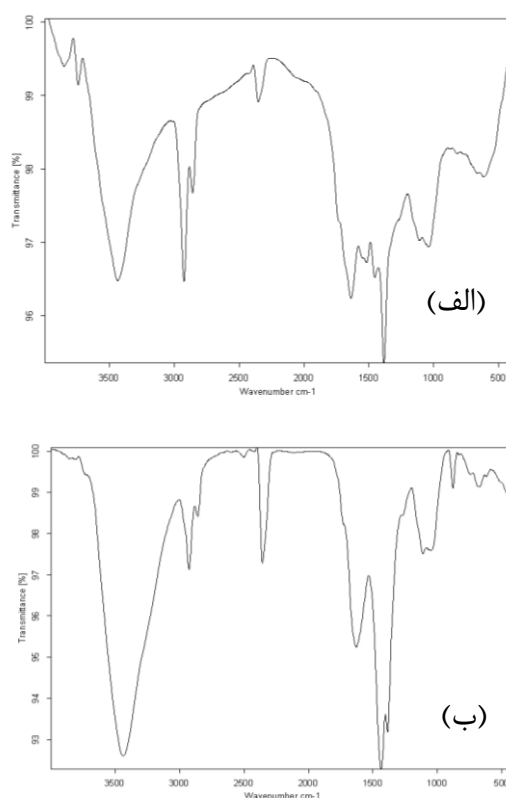
مقایسه میانگین جذب نوری در تیمارهای متفاوت (شکل ۳) نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار غلظت نانوذرات ۱/۹۲ و ۱/۶۶، به ترتیب ۲۴ ساعت پس از آغاز واکنش در نمونه شاهد و یک ساعت پس از آغاز واکنش در تیمار ۸۰ میکرومولار بود. در این رابطه نمونه شاهد در همه زمان‌های آزمایش شده با تیمارهای ۴۰ و ۸۰ میکرومولار اختلاف معنی‌دار نشان دادند.



شکل ۳. مقایسه میانگین جذب نوری در تیمارهای متفاوت اسید سالیسیلیک در گیاه مرزه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با ذکر خطای استاندارد میانگین. حروف متفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهند.

۳-۳- نتایج XRD: نتایج پراش پرتو ایکس در نمونه شاهد در شکل ۴ نشان داده شده است. پیک‌های XRD در 2θ تقریبی برابر با $28/3^\circ$ ، $29/76^\circ$ ، $31/69^\circ$ ، $49/46^\circ$ و $50/5^\circ$ و $58/64^\circ$ ایجاد شدند.

و ثبات نانوذرات زیرکونیا شرکت کرده‌اند، در شکل ۶ نشان داده شده‌اند. نوارهای قوی در گستره ۳۶۵۰-۳۲۰۰، ۲۹۰۰-۲۳۶۶/۶۳-۲۳۵۱/۵۸، ۱۶۳۰/۳۰-۱۶۳۸/۱۱، ۱۶۳۰/۱۴-۱۳۸۶/۱۴، ۱۳۸۳/۹۶-۱۱۱۳/۱۷-۱۰۳۹/۴۷ و ۶۷۹/۳۷-۶۱۵/۶۷ بر سانتی‌متر قابل مشاهده بودند.



شکل ۶. نمودارهای طیف FTIR عصاره خالص (الف) و عصاره بیوسنتزی (ب).

۳-۶- بحث

تغییر رنگ و شفافیت تدریجی عصاره‌های بیوسنتزی یکی از دلایل تشکیل نانوذرات است که در اثر احیای یون توسط متابولیت‌های گیاه و تغییر پلاسمون سطحی نانوذرات ایجاد شده و معمولاً تأییدکننده تشکیل نانوذرات است [۱۴، ۱۵]. پیک موجود در طول موج ۲۳۰ nm در نتایج طیف-سنجی تأیید کننده نانوذرات زیرکونیای بیوسنتز شده بود [۱۶]. برخی از پژوهش‌های تأثیر SA بر ترکیبات شیمیایی گیاهان را مشخص نموده است. کاربرد این ماده می‌تواند باعث کاهش ترکیبات فنلی در ریشه خرما شود [۱۷]. همچنین نتایج پژوهشات دیگری تجزیه پروتئین‌ها به هنگام کاربرد SA خارجی در برگ گیاهان و ایجاد پیری زودرس در آن‌ها را تأیید کرده است [۱۸]. در نتیجه با توجه به عملکرد متابولیت‌های اولیه و ثانویه گیاهان در بیوسنتز نانوذرات، تغییرات ایجاد شده در این ترکیبات تحت تأثیر تیمارهای بیرونی (مانند SA) می‌تواند نقش مهمی در غلظت و سرعت بیوسنتز نانوذرات شود. نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد SA در غلظت‌های ۴۰ و

۸۰ میکرومولار سبب کاهش غلظت و سرعت بیوسنتز نانوذرات نسبت به گروه شاهد شد که می‌تواند با کاهش ترکیبات فنلی و پروتئینی در آن مرتبط باشد. نتایج حاصل از پراش پرتو X دو نوع نانوذره زیرکونیای بیوسنتز شده را نشان داد. زاویه‌های θ برابر با ۲۸/۳، ۳۱/۶۹ و ۵۰/۵ درجه مربوط به صفحات کریستالی [۱۱۱]، [۱۱۱] و [۲۲۰] بوده و نانوذرات مونوکینال را نشان می‌دهد. زاویه‌های θ برابر با ۲۹/۷۶، ۴۹/۴۶ و ۵۸/۶۴ که سطوح کریستالی [۱۰۱]، [۱۱۲] و [۲۱۱] را نشان می‌دهند مربوط به نانوذرات زیرکونیای بیوسنتزی به شکل تتراگونال بوده (۱۱۶۴-۲۶۰۰) و پایدارتر نسبت به ذرات مونوکینال (۹۶۶-۸۰۰-۰۱) است [۱۲].

نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی اشکال مونوکینال با حداقل اندازه ۱۲/۶۲ nm را نشان دادند. متابولیت‌های اولیه و ثانویه موجود در عصاره گیاهان که دارای گروه‌های عاملی منفی هستند، می‌توانند در تبدیل یون Zr^{+} به نانوذره Zr^0 نقش داشته باشند [۱]. هاله سفید رنگ در اطراف برخی از نانوذرات مشاهده شده، نشان‌دهنده متابولیت‌های گیاهی است که در بیوسنتز و تثبیت نانوذرات زیرکونیا نقش داشته‌اند [۱۹].

نوارهای مشاهده شده در نتایج FTIR گروه‌های عاملی شیمیایی ترکیبات احتمالی شرکت‌کننده در فرایند بیوسنتز و تثبیت نانوذرات را تا حدودی مشخص کرد. تغییر مکان جزئی پیک‌ها در نمونه‌های عصاره خالص و عصاره بیوسنتزی نشان‌دهنده شرکت آن گروه‌های عاملی در فرایند بیوسنتز است. نوارهای قوی در گستره $3650-3200\text{ cm}^{-1}$ می‌تواند نشان‌دهنده گروه OH الکل و فنول‌ها و همچنین، NH به علت پیوند کششی کربونیل در پروتئین‌ها باشد [۲۰]. تغییر مکان جزئی نوارها در گستره $2900-3000\text{ cm}^{-1}$ نشان‌دهنده شرکت عامل CH_2 آلکان‌ها در لیپید و اسیدهای چرب شرکت‌کننده در فرایند بیوسنتزی نانوذرات است. وجود پیک‌ها در گستره $2500-2800\text{ cm}^{-1}$ نشان‌دهنده گروه‌های عاملی شیمیایی $\text{C}\equiv\text{N}$ و $\text{C}\equiv\text{C}$ است که می‌توانند در ترکیبات سیانیدی و نیترونی وجود داشته باشند. وجود پیک در گستره $1700-1800\text{ cm}^{-1}$ می‌تواند نشانه گروه COO^- باشد که در ترکیباتی مانند پروتئین‌ها وجود دارند. همچنین وجود پیک در گستره $1300-1400\text{ cm}^{-1}$ نشان‌دهنده گروه شیمیایی CO موجود در الکل‌ها، اترها، استرها، اسید کربوکسیلیک و آلکالوئیدها است. وجود نوارها در گستره $800-600\text{ cm}^{-1}$ نشان‌دهنده گروه عاملی $\text{CH}=\text{CH}$ در مونوترپن‌های دوحلقه‌ای معطر در موادی مانند آلفاپینن‌ها، بتائین‌ها و سابین‌ها است [21]. با توجه به اینکه گیاه مرزه گیاهی دارویی و معطر بوده و دارای انواع ترکیبات ترپنی، فنلی، الکی و سایر متابولیت‌های ثانویه مشابه است [۲۲] و همچنین، متابولیت‌های اولیه موجود در آن مانند پروتئین‌ها و لیپیدها، گروه‌های عاملی این ترکیبات در احیای یون زیرکونیم Zr^{+} به نانوذره زیرکونیا Zr^0 نقش عمده‌ای داشته و سبب ثبات نانوذرات نیز

- [3] Zielinska, A, et al, *Procedia Chemistry*, 1, 1560-1566, (2012).
- [4] Pirtarighat, S, et al, *Materials Science and Engineering C*, 98, 250-255, (2019).
- [5] Aritonang, H.F, et al, *International Journal of Microbiology*, 1-8, (2019)
- [6] Aljabali, A.A.A, et al, *Nanomaterials*, 8, 1-15, (2018)
- [7] Kavitha, K. S, et al, *International Research Journal of Biological Sciences*, 2, 66-76, (2013).
- [8] Sefidkon, F, et al, *Food Chemistry*, 1, 19-23, (2006).
- [9] Hayat, S. and Ahmad, A, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 137-145, (2007).
- [10] Hulbert, S.F, L.L. Hench, J. Wilson (Eds.), *Word Scientific*, Singapore, pp, 25-40, (1993).
- [11] Hench, L.L, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2, 117-141, (1971).
- [12] Bansal, V, et al, *Journal of Materials Chemistry*, 14, 3303-3305, (2004).
- [13] Sathishkumar, M, et al, *Materials Letters*, 98, 242-245, (2013).
- [14] Fayaz, M, et al, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75: 175-178, (2015).
- [15] Kumar, P., Selvi, S.S. and Govindaraju, M, *Applied Nanoscience*, 3, 495-500, (2013).
- [16] Gurushantha, K, et al, *Journal of Alloys and Compounds*, 685, 761-773, (2016).
- [17] Dihazi, A, et al, *Phytopathologia Mediterranea*, 4, 9-16, (2003).
- [18] Zhang, Q, et al, *Journal of Plant Growth Regulation*, 5, 1-6, (2015).
- [19] Rasaei, I, et al, *Microporous and Mesoporous Materials*, 264, 240-247, (2018).
- [20] Kumar, K, et al *Nano Biomedicine and Engineering*, 4, 12-16, (2012).
- [21] Pavia, D.L, et al, *Introduction to Spectroscopy*, Cengage Learning, USA, 752pp, (2008).
- [22] Mihajlov-Krstev, T, et al, *Central European Journal of Biology*, 4, 411-416, (2009).

شده‌اند. نتایج این پژوهش هم‌راستا با پژوهش‌های انجام‌شده برای بیوسنتز نانوذرات زیرکونیا توسط عصاره گیاه زردچوبه [۱۲] و قارچ فوزاریوم است [۱۳] که نشان‌دهنده تأثیر مولکول‌های فعال زیستی این ارگانسیم‌ها بر فرایند بیوسنتز ثبات نانوذرات زیرکونیا است. همچنین، این نتایج در تأیید تأثیر مولکول‌های فعال زیستی عصاره گیاه مرزه بر بیوسنتز نانوذرات البته از نوع نقره در پژوهش پیشین ما است [۱۹]. با توجه به جدید بودن پژوهش تأثیر تیمار بر ارگانسیم بیوسنتز کننده نانوذرات (زیرکونیا) با عصاره آن، امکان مقایسه تأثیر تیمارها بر فرایند بیوسنتز نانوذرات با سایر پژوهش‌ها امکان‌پذیر نبوده و مطالعات تکمیلی در دست انجام است.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره گیاه مرزه کشت‌شده در شرایط *In vitro* تحت تیمارهای متفاوت SA به دلیل وجود ترکیبات فعال زیستی می‌تواند یون‌های زیرکونیم را به نانوذرات زیرکونیا احیا کند. نانوذرات تتراگونال با نسبت بیشتری بیوسنتز شده و نسبت به انواع مونوکلونال از پایداری بیشتری برخوردار هستند. همچنین نتایج مشخص نمود که تیمارهای سالیسیک اسید در غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میکرومولار بر کمیت و کیفیت متابولیت‌های اولیه و ثانویه عصاره گیاه مرزه تأثیر منفی گذاشته و این تیمارها نسبت به نوع شاهد از قدرت بیوسنتزی کمتری برخوردار بودند. با توجه به اهمیت روزافزون نانوذرات به‌ویژه نوع زیرکونیا در صنایع و علوم متفاوت به‌ویژه پزشکی، پژوهشات تکمیلی جهت بیوسنتز انواعی از آن‌ها با شکل، اندازه و مورفولوژی لازم جهت استفاده در ساخت ایمپلنت‌های دندانی و اسکلتی در دست انجام است.

۵- سپاسگزاری

از همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی، قزوین، جهت فراهم نمودن بخشی از تسهیلات لازم جهت انجام این پژوهش، سپاسگزاری می‌شود.

۶. منابع

- [1] Naidoo, Y, et al, *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 15, 57-61, (2016).
- [2] Thakkar, K. N, et al, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6, 257-262, (2010).

Characterization of zirconium dioxide (ZrO₂) nanoparticles biosynthesized using *Satureja hortensis* extract grown *in vitro* condition under salicylic acid treatments

Ghannadnia M.^{1*} and Bagheri M.²

^{1*} Department of Horticultural Sciences Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, I. R. of Iran.

² Bachelor of Science Degree in Agricultural Engineering, Management and Development, Qom Payame Noor University, Qom, I. R. of Iran.

Abstract

Recently, the utilization of biological systems has emerged as a novel method for the synthesis of nanoparticles. The aim of this investigation was to study zirconia biosynthesis using *Satureja hortensis* L. extract treated with different concentration of salicylic acid (0, 40 and 80 μ M) under *In vitro* condition. UV-Vis spectrum exhibit an absorption band at around 230 nm suggestion the formation of biological zirconia nanoparticles. The character, size and morphological properties of the nanoparticles have been investigated by facility of: X-ray Diffraction and FESEM. The nanoparticles were crystalline in nature with monoclinic and tetragonal phases. The size of the zirconia nanoparticles was found to be in the range 12.62-67.57 nm. FTIR results expounded some of the functional groups of the plant extract (such as OH, CH₂, COO⁻ and CO) responsible for the bio-reduction of zirconia ions. Overall, the biosynthetic results of the control samples were better than the treatments. Our results revealed that the biomolecules which were present in the plant extract, capped the nanoparticles and acted as reducing and stabilizing agents. These results suggest that with change in culture condition of the plants, it may be possible to biosynthesis optimal nanoparticles.

Keywords: Medicinal plant (Savory), Salicylic acid, Active biomolecules, Zirconia