รติมา จันธิมา : ชีวสังเคราะห์อนุภาคนาโนเหล็กและนิกเกิลโดยแหนแดง (*Azolla pinnata* R.Br.) (BIOSYNTHESIS OF IRON AND NICKEL NANOPARTICLES BY THE WATER VELVET (*AZOLLA PINNATA* R.BR.)) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. สินีนาฏ ศิริ, 69 หน้า.

อนุภาคนาโนโลหะได้รับความสนใจด้านวิจัยอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุภาคนาโนแม่เหล็กเนื่องจากคุณสมบัติและประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ แต่อย่างไรก็ดี ยังมีการศึกษาถึงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กในสิ่งมีชีวิตค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืช แม้ว่าพืชหลายชนิดจัดเป็นพืชสะสมโลหะ (metal-hyperaccumulators) ซึ่งสามารถดูดซึมและกักเก็บอิออนโลหะได้สูง ดังนั้นในการศึกษานี้จึงตรวจสอบความสามารถในการชีวสังเคราะห์อนุภาคนาโนเหล็กและนิกเกิลจากอิออนเหล็กและนิกเกิลที่ถูกดูดซึมโดยแหนแดง (*Azolla pinnata* R.Br.) ซึ่งเป็นเฟิร์นน้ำชนิดหนึ่งในกลุ่มพืชสะสมโลหะ ทั้งนี้จากการศึกษาความเป็นพิษของอิออนเหล็กและนิกเกิลทั้งแบบเดี่ยวและผสมโดยวิเคราะห์จากการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบ พบว่าโลหะทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อพืชแบบแปรผันตามความเข้มข้น และในพืชที่ได้รับโลหะทั้งสองชนิดร่วมกัน พบว่ามีผลความเป็นพิษแบบร่วมกัน จากการศึกษาด้วยเทคนิคการเรืองแสงของรังสีเอ็กซ์ในพืชที่ได้รับสารละลาย Fe^{3+} และ Ni^{2+} ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ซึ่งพบว่ามีการดูดซึมของโลหะทั้งสองในปริมาณสูงในรากและต้น จากการวิเคราะห์ระดับโมเลกุลด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในพืชที่ได้รับโลหะ พบการเปลี่ยนแปลงการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน ซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ที่เป็นการตอบสนองต่อโลหะของพืช นอกจากนี้ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส คะตะเลส และกลูต้าไธโอนรีดักเตส) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าว ซึ่งพบสูงที่สุดในพืชที่ได้รับเหล็ก รองลงมาคือเหล็กร่วมกับนิกเกิล และนิกเกิล จากการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ได้ภาพอนุภาคนาโนเหล็กที่เกิดขึ้นในรากพืช แต่ไม่พบอนุภาคนาโนนิกเกิล โดยอนุภาคนาโนเหล็กนี้ได้ถูกบ่งชี้ว่าอยู่ในรูปฮีมาไทต์ (α-Fe_2O_3) และแมกนีไทต์ (Fe_3O_4) อนุภาคนาโนเหล็กเหล่านี้ถูกพบในเวสิเคิลและมัลติเวสซิคิวลาร์ บอดี้ หรือกระจายตัวใกล้กับเยื่อหุ้มเซลล์ในเซลล์คอร์เทกซ์และเซลล์ท่อลำเลียง ทั้งนี้เนื่องจากไม่พบการเกิดอนุภาคนาโนนิกเกิล จึงได้ใช้เทคนิคสเปกโทรเมตรีรังสีเอกซ์แบบกระจายพลังงานวิเคราะห์ พบว่ามีปริมาณของนิกเกิลในรากที่ระดับต่ำ จึงคาดว่าการที่ไม่พบอนุภาคนาโนนิกเกิลในรากเนื่องจากความเข้มข้นของนิกเกิลที่ไม่เพียงพอต่อการชักนำให้สร้างอนุภาคนาโน ผลจากการศึกษานี้ทั้งหมดได้แสดงถึงการตอบสนองของแหนแดงต่อเหล็กและนิกเกิล และการผลิตอนุภาคนาโนเหล็กออกไซด์ในระดับ

เซลล์จากอิออนเหล็กที่ถูกดูดซึม นอกจากนี้ ผลการทดลองนี้ยังได้ให้ความกระจ่างในข้อมูลบางประการเกี่ยวกับการตอบสนองของพืชต่อสภาวะเครียดจากโลหะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดอนุภาคนาโนโลหะจากอิออนของโลหะสะสมในปริมาณสูง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาชีววิทยา ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2563 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

RATIMA JANTHIMA : BIOSYNTHESIS OF IRON AND NICKEL NANOPARTICLES BY THE WATER VELVET (*AZOLLA PINNATA* R.BR.) THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SINEENAT SIRI, Ph.D. 69 PP.

BIOSYNTHESIS/ IRON/NICKEL/NANOPARTICLES/WATER VELVET

Metal nanoparticles (MNPs), especially magnetic NPs, have received many research interests due to their outstanding properties and applications. Nevertheless, there are few studies in the biosynthesis of magnetic NPs in living organisms, especially in plants, even though several plant species are considered as metal-hyperaccumulators which can uptake and store metal ions. Therefore, in this work, the capability of water velvet (*Azolla pinnata* R.Br.), the metal-hyperaccumulator aquatic fern, was investigated for its biosynthesis of iron and nickel NPs via the uptake Fe^{3+} and Ni^{2+} ions. The toxicity of single and combination of Fe^{3+} and Ni^{2+} ions was analyzed by the morphological changes of leaves which suggested that both metals were toxic to the plant in a dose-dependent manner and the additive toxicity when both metal were combined in the treatment. At 50 mM of Fe^{3+} and Ni^{2+} ions, the metal-uptakes were investigated using energy dispersive X-ray fluorescence, which indicated the high uptake levels of each metal in roots and shoots. The molecular profiles of the metal-treated plants were analyzed by Fourier transform infrared (FTIR), which revealed the changes of functional group vibrations. The FTIR results suggested the modulations of some carbohydrates, proteins, and nucleic acids of the plants in response to metal treatments. Also, the activities of some antioxidant stress-related enzymes (superoxide dismutase, catalase, and glutathione reductase) were investigated. The results showed

the increases of these enzyme activities which were the highest in the Fe-treated plants, followed by Fe/Ni-treated and Ni-treated plants. Transmission electron microscopy images revealed the formation of FeNPs but not nickel nanoparticles (NiNPs) in the plant roots, which were identified as hematite (α-Fe_2O_3) and magnetite (Fe_3O_4) forms of FeNPs. In cortical and vascular cells, FeNPs were detected in vesicles and multivesicular bodies, or individually distributed in a vicinity of the cell membranes. Due to no observation of NiNPs, the energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) analysis was employed and the result revealed the low detected level of Ni in the plant roots. Thus, no formation of NiNPs was likely due to the insufficient Ni concentration to form nanoparticles in the plant roots. Taken these results together, this work demonstrated the responses of *A. pinnata* R.Br. to iron and nickel and the cellular production of iron oxide NPs from the uptake iron ions by *A. pinnata* R.Br. These results enlightened some information of the responses of the plants to metal stress, especially on the formation of metal nanoparticles from the high accumulated levels of the uptake metal ions.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Biology

Academic Year 2020

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____