

اثر سطوح مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم (TiO₂) بر دو ترکیب فنلی مهم در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)

مجاهد کمالی زاده^۱، محمدرضا بی همتا^{۲*}، سیدعلی پیغمبری^۳ و جواد هادیان^۴

۱- استادیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم

۲- نویسنده مسئول، استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

پست الکترونیک: mrghanad@ut.ac.ir

۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۴- استادیار، گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۲

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۲

چکیده

به منظور بررسی تأثیر نانوذره دی اکسید تیتانیوم بر میزان تولید رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید در جمعیت بومی گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)، این نانوذره در هشت غلظت مختلف (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی پی ام) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار با شروع مرحله گلدهی بر روی گیاهان بادرشبو توده ارومیه کشت شده در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، اسپری شد؛ در مرحله گلدهی کامل، اندام‌های هوایی گیاهان برداشت و به مدت یک هفته در سایه خشک شد و عصاره توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، از نظر میزان این دو ترکیب فنلی مهم، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از نرم افزارهای اکسل و SAS برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد. نتایج نشان داد که بین سطوح مختلف تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی دار وجود داشت. میزان تولید این دو ترکیب در غلظت‌های کم نانوذره تا تیمار ۳۰ پی پی ام افزایش یافت و در غلظت‌های بالاتر روند کاهشی بود. میانگین تولید رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید در این جمعیت به ترتیب ۱۲/۳۲ و ۵/۴ میکروگرم در گرم عصاره بود. بنابراین استفاده از نانوذره در سطوح کم، در افزایش میزان ترکیب‌های فنلی در گیاه بادرشبو، مؤثر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)، دی اکسید تیتانیوم، رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، نانوذره.

مقدمه

خانواده نعناعیان به فراوانی یافت می‌شوند. گیاه دارویی بادرشبو با نام علمی (*Dracocephalum moldavica* L.)، بومی آسیای مرکزی و اهلی شده در مرکز و شرق اروپاست که در مناطق شمال غرب و شمال ایران می‌روید (Dastmalchi et al., 2007). اندام‌های هوایی این گیاه علاوه بر ترکیب‌های اسانسی دارای اسیدهای فنلی مانند

فلانوئیدها و سایر ترکیب‌های فنلی انتشار وسیعی در گیاهان دارند و فعالیت بیولوژیک متنوع این ترکیب‌ها از جمله اثرات آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی و ضد التهاب آنها در بسیاری از بررسی‌ها گزارش شده است (Parejo et al., 2002؛ Kay & Holub., 2002). این ترکیب‌ها در گیاهان

نقشه راه وزارت کشاورزی آمریکا در سپتامبر ۲۰۰۳ مورد بحث قرار گرفت. فناوری نانو با کمک ابزارهای جدید، توانایی دگرگون‌سازی صنایع غذایی و کشاورزی را دارد و می‌تواند از این ابزارها برای تشخیص رفتارهای مولکولی بیماری‌ها، کشف سریع بیماری و افزایش توانایی گیاهان برای جذب مواد غذایی استفاده کند (Zhaobo et al., 2005). همچنین این فناوری می‌تواند راه‌هایی برای بالا بردن ارزش محصولات کشاورزی و رفع مشکلات محیطی ارائه دهد (Reynolds, 2002). در بین نانوذرات، نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم کاربرد بیشتری در صنعت دارد. برخی از ویژگی‌های این ماده که موجب برتری آن نسبت به سایر ذرات شده‌است شامل مقاومت شیمیایی بالا، غیرسمی بودن آن، طول عمر بالای این ماده، در دسترس بودن و هزینه کم آن است (Sungkaworn et al., 2007). در آزمایشی، ترکیبی از ذرات نانو SiO_2 و TiO_2 فعالیت نیترات ردوکتاز را در سویا افزایش داد و توانایی جذب و استفاده از آب و کود را تشدید نمود (Lu et al., 2002). Salehi و Tamaskani (۲۰۰۸) نشان دادند که تیمار نانو ذرات نقره (۵۰ پی‌پی‌ام) باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، طول ساقچه و ریشه‌چه و در نهایت بهبود استقرار گندم گردید. با وجود اینکه رزمارینیک اسید فراوان‌ترین ترکیب عصاره آبی بادرشبو است اما عملکرد عصاره این گیاه کم می‌باشد، بنابراین میزان تولید نهایی این ترکیب با ارزش ناچیز است (Dastmalchi et al., 2007). از طرف دیگر با توجه به خواص مطلوب نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم به‌عنوان یک محرک مناسب، در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف این نانوذره بر افزایش میزان تولید رزمارینیک اسید در گیاه بادرشبو مورد بررسی قرار گرفت و بهترین غلظت این نانوذره مشخص گردید.

مواد و روشها

شرایط کشت گلخانه‌ای

این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان تولید رزمارینیک اسید و کلروژنیک

رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید می‌باشد. این اسیدهای فنلی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدویروس، ضدآلرژی، ضدالتهاب و ضدسرطان هستند. Dastmalchi و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش کردند که فراوان‌ترین ترکیب عصاره آبی گیاه بادرشبو، رزمارینیک اسید می‌باشد و خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آزایمیری این گیاه را به رزمارینیک اسید نسبت دادند. در مورد خواص آرامش‌بخشی و ضد هلیوباکتریایی (Ghanndi et al., 2004)، ضد درد و زخم هلیوباکتریایی (Sultan et al., 2008) عصاره این گیاه گزارش‌های بسیاری وجود دارد. با وجود اهمیت این گیاه، تحقیقات بسیار محدودی بر روی شیمی ترکیب‌های غیرفرار این گیاه انجام شده‌است.

هدف از اصلاح گیاهان دارویی، افزایش کمیّت و کیفیت آن دسته از مواد مؤثره در این گیاهان است که در صنایع دارویی از اهمیت خاصی برخوردار هستند. از راهکارهای افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهی استفاده از محرک‌های (Elicitors) زنده و غیرزنده‌ای است که می‌توانند مسیرهای متابولیکی سنتز متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار داده و میزان تولید آنها را افزایش دهند. بکارگیری محرک‌ها که معمولاً یکی از موفق‌ترین راهکارها در افزایش متابولیت‌های ثانویه هستند، به‌صورت استرس‌های شیمیایی و فیزیکی در تولید متابولیت‌های ثانویه‌ای که در حالت معمولی در غلظت پایینی تولید می‌شوند و یا تولید نمی‌شوند، مورد استفاده قرار می‌گیرند. محرک‌ها به‌عنوان محرک‌های دفاعی و القاءکننده استرس در گیاه تعریف می‌شوند. محرک‌ها به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم با فعال کردن ژن‌های مرتبط با بیوسنتز ترکیب‌های ثانویه سبب افزایش تولید این ترکیب‌ها می‌گردند (Neumann et al., 2009). نانوتکنولوژی عبارت است از دستکاری دقیق و کنترل شده ساختار اتمی یا مولکولی مواد در مقیاس نانو به‌منظور تهیه ریزذراتی با خصوصیات نوظهور و کاربردهای خاص. ذرات نانو عبارتند از: ذرات اولیه‌ای که حداقل یکی از ابعاد آنها کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد (Karn et al., 2005). کاربرد فناوری نانو در کشاورزی و صنایع غذایی، اولین بار در

در داخل آب با گرمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از یک ساعت محلول بیرون برداشت شد و به آن دی‌متیل سولفوکسید (Dimethyl sulfoxide (DMSO)) برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها اضافه شد تا در مرحله بعد برای شناسایی و تعیین درصد رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید عصاره، از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC (High Performance Liquid chromatography)) استفاده شود.

تهیه استانداردها

محلول استوک ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از استانداردهای رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید (Sigma-Aldrich) در محلول اتانول/آب (حجمی/حجمی ۳۰:۷۰) تهیه شد. سپس غلظت‌های مختلف از ۵ تا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از این دو استاندارد تهیه و برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد.

شرایط دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا متصل به آرایه تشخیص نوری، کمپانی UNICAM مدل کریستال ۲۰۰، واقع در دانشگاه خوارزمی تهران استفاده شد. عصاره آبی توسط تزریق کننده اتوماتیک به ستون Discovery-C₁₈ به طول ۲۵ میلی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر و ذرات پرکننده (Packing) ستون به قطر ۵ میکرومتر، در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد متصل به آرایه تشخیص نوری با طول موج کارکردی ۲۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر، تزریق گردید. سرعت شستشو یک میلی‌متر در دقیقه بود. حلال شستشو شامل حلال A متشکل از متانول-آب-اسیداستیک (به ترتیب ۱۰: ۸۸: ۲ حجم به حجم) و حلال B (فاز متحرک) متشکل از متانول-آب-اسیداستیک (به ترتیب ۹۰: ۸: ۲ حجم به حجم) می‌باشد که از نسبت ۸۵/۱۵ به نسبت ۷۰/۳۰ طی ۱۵ دقیقه با شیب ملایم تبدیل می‌شود. پیک‌های خروجی براساس زمان بازداری با نمونه‌های استاندارد تعیین می‌گردد (Dastmalchi *et al.*, 2007). غلظت ترکیب‌های موجود در هر نمونه عصاره

اسید در گیاه دارویی بادرشبو در شرایط گلخانه در سال ۱۳۹۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران واقع در کرج (طول جغرافیایی ۵۱° ۰' شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵° ۴۹' شمالی و ارتفاع ۱۳۱۲ متر از سطح دریا) انجام شد. دمای روز و شب به ترتیب ۲۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. بذره‌های گیاه بادرشبو جمعیت ارومیه از سازمان جنگلها و مراتع تهیه شد. بذره‌های سالم و یکنواخت پس از شستشوی اولیه به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ سترون و بعد چندین بار با آب مقطر استریل شستشو و آنگاه در سینی‌های کشت (بستر کشت ترکیبی از پرلیت و کوکوبیت به صورت مساوی) خزان و بعد گیاهچه‌ها در مرحله سه برگی، به گلدان‌هایی پلاستیکی با ترکیب خاک به صورت ۱۰٪ ماسه، ۳۵٪ کوکوبیت، ۳۵٪ پرلیت و ۱۰٪ خاک منتقل شدند.

اسپری نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم

در این تحقیق از نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم (TiO₂) با اندازه حدود ۲۵ نانومتر و به شکل آاناتاز استفاده شد. این نانوذره از دانشگاه تهران خریداری شد. ذرات به مدت ۱۵ دقیقه قبل از آزمایش به صورت سوسپانسیون در آب استریل آماده شد. بعد از ظهور اولین جوانه گل در گیاهان، سطوح مختلف (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام) این نانوذره در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی گیاهان اسپری شد. بعد از تهیه غلظت‌های مذکور از این نانوذره، برای دقت کار در موقع اسپری گیاهان اطراف با پوشش پلاستیکی پوشانده شدند.

برداشت نمونه

در مرحله گلدهی کامل، کل اندام‌های هوایی گیاهان در تیمارهای مختلف، برداشت و در سایه به مدت یک هفته خشک شدند.

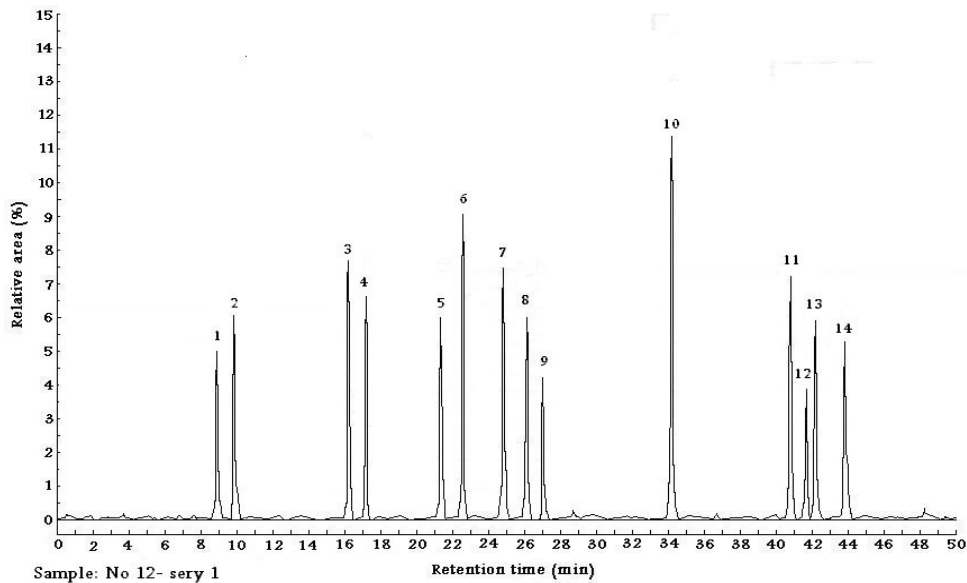
استخراج عصاره

به منظور عصاره‌گیری ۱/۵ گرم بافت گیاهی داخل کیسه‌ای از جنس سلولز قرار گرفته و درب آن بسته شد و

نتایج

نتایج حاصل از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا و اطلاعات مربوط به سطح زیر منحنی‌های نمونه و زمان بازداری هر یک در شکل ۱ دیده می‌شود.

با توجه به منحنی استاندارد و زمان بازداری (دقیقه ۱۰ برای کلروژنیک اسید و دقیقه ۳۴ برای رزمارینیک اسید) محاسبه شد و نتایج حاصل با کمک نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفت و میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شدند.

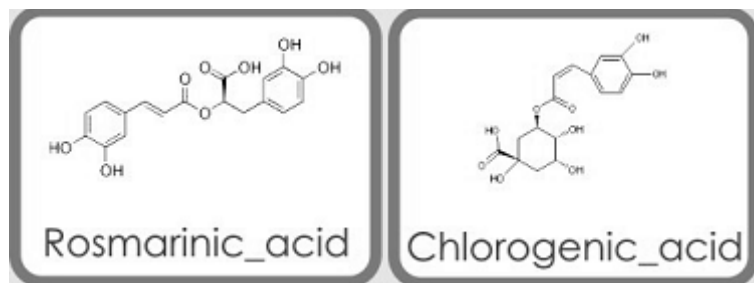


شکل ۱- نتایج کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا در یک نمونه عصاره گیاه بادرشبو

(پیک‌های شماره ۲ و ۱۰ به ترتیب مربوط به کلروژنیک اسید و رزمارینیک اسید، حداکثر طول موج کارکردی ۳۳۰ نانومتر)

میانگین تولید رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید با فرمول شیمیایی فوق (شکل ۲) در تیمارهای مختلف به ترتیب ۱۲/۳۱ و ۵/۴ میکروگرم در گرم عصاره آبی بود.

در عصاره گیاه دارویی بادرشبو فراوان‌ترین ترکیب رزمارینیک اسید (شکل ۲) بود. غلظت این ترکیب مهم، در نمونه‌های مختلف با مقایسه با نمونه استاندارد، توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا تعیین گردید.



شکل ۲- فرمول شیمیایی رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید (Dastmalchi et al., 2007)

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم (TiO_2)
بر تولید رزمارینیک اسید در گیاه بادرشبو

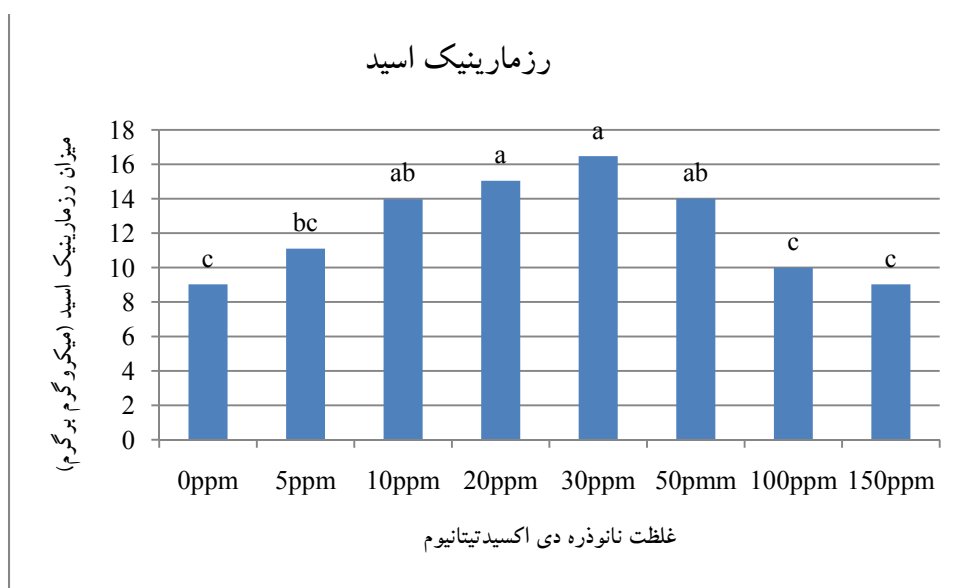
منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F	سطح معنی داری
تیمار (نانوذره)	۷	۱۷۷۷۲/۷۲	۲۵۳۸/۹۶	۱۳/۸	<۰/۰۰۰۱
خطای آزمایش	۱۶	۲۹۴۳/۲۱	۱۸۳/۹۵		
کل	۲۳	۲۰۷۱۵/۹۲			

تیمار در سطح ۱٪ معنی دار است. $R^2=0.86$

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم (TiO_2)
بر تولید کلروژنیک اسید در گیاه بادرشبو

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F	سطح معنی داری
تیمار (نانوذره)	۷	۳۶۴۴۴/۳	۵۲۰۶/۳	۱۷/۰۸	<۰/۰۰۰۱
خطای آزمایش	۱۶	۴۸۷۸/۲	۳۰۴/۸		
کل	۲۳	۴۱۳۲۲/۵			

تیمار در سطح ۱٪ معنی دار است. $R^2=0.88$

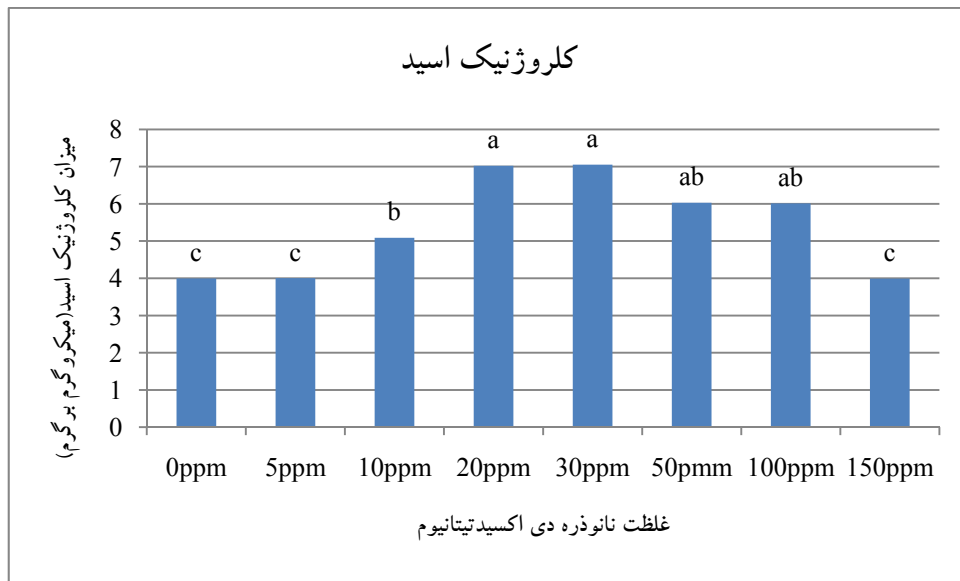


شکل ۳- مقایسات میانگین اثر سطوح مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) بر تولید رزمارینیک اسید در گیاه دارویی بادرشبو

بحث

پیشین Dastmalchi و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گیاه بادرشبو و تجزیه کمی و کیفی بر روی خانواده نعناعیان مطابق می باشد (Shan et al., 2005; Triantaphyllou et al., 2001).

میانگین تولید رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید در گیاه بادرشبو در تیمارهای مختلف به ترتیب ۱۲/۳۱ و ۵/۴ میکروگرم در گرم عصاره آبی بود که با تحقیقات



شکل ۴- مقایسات میانگین اثر سطوح مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) بر تولید کلروژنیک اسید در گیاه دارویی بادرشبو

منابع مورد استفاده

- Dastmalchi, K., Dorman, H.G., Kosar, M. and Hiltunen, R., 2007. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. Food Science and Technology, 40: 239-248.
- Ghanndi, A., Sajjadi, S.E., Abedi, D., Yousefi, J. and Daraei-Ardekami, R., 2004. The invitro activity of seven Iranian plants of the Lamiaceae family against *Helicobacter pylori*. Nigerian Journal of Natural Products and Medicine, 8: 40-42.
- Karn, B., Masciangioli, T., Zhang, W., Colvin, V. and Alivisatos, P., 2005. Nanotechnology and the Environment; Applications and Implications. American Chemical Society, Washington, 416p.
- Kay, C.D. and Holub, B.J., 2002. The effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects. British Journal of Nutrition, 88: 389-97.
- Lu, C.M., Zhang, C.Y., Wu, J.Q. and Tao, M.X., 2002. Research of the effect of nanometer on germination and growth enhancement of glycine max and its mechanism. Soybean Science, 21: 168-172.
- Neumann, K.H., Kumar, A. and Imani, J., 2009. Plant Cell and Tissue Culture. A Tool in Biotechnology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 333p.

جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱ و ۲) نشان داد که بین غلظت‌های مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم در سطح ۱٪ از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد. مقایسات میانگین تیمارهای مختلف (شکل‌های ۳ و ۴) با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. به طوری که تا غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام نانوذره، میزان تولید این دو ترکیب فنلی روندی افزایشی داشته و به ۱۶/۴۷ و ۷/۰۳ میکروگرم بر گرم عصاره به ترتیب برای رزمارینیک اسید و کلروژنیک اسید رسید. در غلظت‌های بالاتر، میزان تولید رو به کاهش است. بنابراین تأثیر این نانوذره بر میزان تولید این دو ترکیب فنلی دو جانبه می‌باشد و تا غلظت‌های مشخص باعث افزایش و تحریک تولید این دو متابولیت ثانویه مهم می‌شود ولی در غلظت‌های بالاتر اثر منفی بر تولید این مواد دارد و باعث کاهش تولید این دو ترکیب می‌شود.

بنابراین با تحقیقات بیشتر بر روی غلظت‌های مختلف این نانوذره و همچنین توجه بیشتر به علت مولکولی افزایش متابولیت‌های ثانویه، می‌توان به یافتن راهکارهای جدید برای افزایش ترکیب‌های ارزشمند امیدوار بود.

- TiO₂ nanoparticles on tumor cell colonies: fractal dimension and morphological properties. *International Journal of Biomedical Science*, 2(1): 67-74.
- Triantaphyllou, K., Blekas, G. and Boskou, D., 2001. Antioxidant properties of water extracts obtained from herbs of the spices Lamiaceae. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52(4): 313-317.
 - Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M. and Corke, H., 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterisation of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20): 7749-7759.
 - Zhaobo, W., Sondi, I. and Salopek-Sondi, B., 2005. Study on novel antibacterial high-impact polystyrene/TiO₂ nanocomposites. *Journal of Materials Science*, 40(2): 6433-6438.
 - Parejo, I., Viladoma, F., Jaume, B., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J.S. and Codina, A., 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23): 6882-6890.
 - Reynolds, G.H., 2002. *Forward to the Future Nanotechnology And Regulatory Policy*. Pacific Research Institute, 20p.
 - Salehi, M. and Tamaskani, F., 2008. Pretreatment effect of nanosilver on germination and seedling growth of wheat under salt stress. *Proceeding of 1th Iranian Congress in Seed Sciences and Technology*, Gorgan, Iran, 12-13 November: 358.
 - Sultan, A., Bahang, H., Aisa, H.A. and Eshbakova, K.A., 2008. Flavonoids from *Dracocephalum moldavica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 44: 366-367.
 - Sungkaworn, T., Triampo, W., Nalakarn, P., Triampo, D., Tang, I.M. and Lenbury, Y., 2007. The effects of

Archive of SID

The effect of different levels of titanium dioxide nanoparticle on production of two major phenolic compounds in dragonhead herb (*Dracocephalum moldavica* L.)

M. Kamalizadeh¹, M.R. Bihanta^{2*}, S.A. peyghambari³ and J. Hadian⁴

1- Department of Biotechnology, Jahrom University, Jahrom, Iran

2*- Corresponding author, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, Karaj, Iran,
E-mail: mrghanad@ut.ac.ir

3. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, Karaj, Iran

4- Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: November 2013

Revised: February 2014

Accepted: February 2014

Abstract

In order to evaluate the effect of titanium dioxide nanoparticles on the production of rosmarinic acid and chlorogenic acid, this nanoparticle with eight different concentrations (0, 5, 10, 20, 30, 50, 100 and 15 ppm) in a completely randomized design with three replications at flowering stage was sprayed on Urmia genotype of Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) planted in the greenhouse, college of agriculture, Tehran university. At full flowering stage, plant shoots were harvested and dried in the shade for a week and then the amount of two major phenolic compounds of extraction were analyzed by high-performance liquid chromatography. Excel and SAS software were used for statistical analysis. Results showed statistically significant differences among different treatments. The production of these two compounds raised in low concentration of nanoparticle treatment up to 30 ppm extract, whereas rosmarinic acid content was decreased in high concentration of nanoparticle treatment. Average content of rosmarinic acid and chlorogenic acid in Urmia genotypes was 123.2 and 54µg/g extract, respectively. Therefore, nanoparticle induced the production rate of phenolic compounds in low concentration.

Keywords: Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.), titanium dioxide, rosmarinic acid, chlorogenic acid, nanoparticle.