

## بررسی فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن در ترکیب با عصاره برگ لاواند (*Lavandula angustifolia*) از طریق روش سطح پاسخ

فوزیه مقدمی\*<sup>۱</sup>، مهدی کلانتری<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۰۸/۱۸ تاریخ پذیرش ۱۴۰۰/۰۷/۰۵

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** مقاومت باکتریایی در برابر درمان آنتی‌بیوتیکی معضلی است که محققان را به جستجوی جایگزین‌های مناسب سوق داده است. استفاده از گیاهان دارویی و نانوفناوری گزینه‌ای است که می‌تواند راه‌گشا باشد. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن در ترکیب با عصاره برگ لاواند با استفاده از روش سطح پاسخ بود.

**مواد و روش‌ها:** روش سطح پاسخ و یک طرح مرکب مرکزی برای ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند در دماهای مختلف در برابر باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده شد. از روش انتشار چاهک آگار برای تعیین فعالیت ضدباکتریایی استفاده شد.

**یافته‌ها:** یافته‌ها نشان دادند که اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن بیشتر از عصاره لاواند بود. پاسخ دو باکتری مورد آزمایش در مقابل ترکیب نانوذره اکسید آهن و عصاره لاواند نیز در دماهای مختلف یکسان نبود. تأثیر ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن در ترکیب با عصاره لاواند بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از تأثیر آن‌ها بر باکتری *اشریشیاکلی* بود. از طرفی افزایش دما هم سبب افزایش خواص ضد میکروبی ترکیب نانوذره اکسید آهن و عصاره لاواند در مقابل *اشریشیاکلی* شد ولی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* اثری نداشت.

**نتیجه‌گیری:** طبق نتایج به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نانوذرات اکسید آهن در ترکیب با عصاره لاواند می‌تواند به‌عنوان یک ماده ضد میکروبی در کاربردهای موضعی یا خوراکی گزینه مناسبی باشد اگرچه مطالعات جامع و آزمایش‌های بالینی بیشتری مورد نیاز هست. **کلیدواژه‌ها:** نانوذرات اکسید آهن، لاواند، روش سطح پاسخ، ضد میکروبی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره هفتم، ص ۴۹۹-۴۹۰، مهر ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: تهران، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی: ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تلفن: ۰۹۱۲۷۸۲۱۶۲۳

Email: fouzieh@yaho.com

### مقدمه

ضدباکتری نانوذرات اکسیدهای فلزی مانند اکسید روی، اکسید آلومینیوم، دی‌اکسید تیتانیوم و اکسیدهای آهن تاکنون موضوع مطالعات فراوانی بوده است (۴-۶). گزارش شده است که در میان انواع مختلف نانوذرات، نانوذرات مغناطیسی به دلیل سازگاری زیستی، پایداری شیمیایی و رفتار مغناطیسی به‌طور گسترده‌ای در علوم پزشکی، شیمی تجزیه، تشخیص پاتوژن‌ها، تشخیص آنتی‌ژن و ترمیم بافت استفاده می‌شود (۷-۹). اغلب یون‌های فلزات مانند آهن، کبالت، نیکل و ترکیبات آن‌ها متعلق به نانوذرات مغناطیسی هستند (۱۰). اکسیدهای آهن که جزء نانوذرات مغناطیسی هستند شامل مگنتیت ( $Fe_3O_4$ )، مگمیت ( $\gamma-Fe_2O_3$ )، هماتیت ( $\alpha-Fe_2O_3$ ) و گوئیتیت ( $FeO(OH)$ ) می‌باشند (۱۱).

استفاده روزافزون از آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت باکتریایی را به دنبال داشته است و محققان را بر آن داشته است تا به دنبال گزینه‌های مناسبی به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند (۱). نانوذرات موادی هستند که ابعادی به‌اندازه ۱ تا ۱۰۰ نانومتر دارند (۲) و به نظر می‌رسد که می‌توانند کاندیدای مناسبی جهت جایگزین شدن با آنتی‌بیوتیک‌ها باشند زیرا خواص سمی و کشندگی سلولی گسترده‌ای در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و حتی ویروس‌ها دارند (۳). تحقیقات بسیاری در مورد فعالیت ضد میکروبی نانوذرات انجام شده است و خواص

<sup>۱</sup> استادیار میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> استادیار آمار، گروه آمار، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

سوکسله (Soxhlet extractor) قرار داده و به مدت ۸ ساعت جوشانده شدند و در نهایت، حلال موجود، به آهستگی در ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد تا عصاره خشک‌شده لاواند به دست آید. جهت استفاده از عصاره در مراحل بعدی، عصاره خشک در دی متیل سولفوکسید ۱۰ درصد (DMSO) با نسبت ۱ گرم عصاره به ۴ میلی‌لیتر حلال، حل شد. (۱۷).

### تعیین کمینه غلظت مهارکنندگی نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند:

جهت انجام یک طرح مرکب مرکزی (Central Composite Designs) ابتدا مقادیر تقریبی کمینه غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration) نانوذرات اکسید آهن و عصاره برگ لاواند در برابر سویه‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به دست آمد. برای این منظور، از روش میکروتیتربلیت استفاده شد. نانوذرات اکسید آهن با غلظت‌های ۰/۶، ۰/۵، ۰/۴، ۰/۳، ۰/۲، ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (۶) و عصاره برگ لاواند با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (۱۹) برای هر دوسویه باکتری به صورت جداگانه مورد استفاده قرار گرفت. سوسپانسیون سویه‌های باکتریایی در سالین نرمال با غلظت ۰/۵ مک فارلند ( $10^8 \times 1/5$ ) تهیه شد.

### روش انتشار چاهک آگار:

فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن و عصاره برگ لاواند در برابر سویه‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از روش انتشار چاهک آگار مورد بررسی قرار گرفت. پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار با سوسپانسیون  $10^8$  CFU/ml  $\times 1/5$  از سویه‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* کشت شدند. سپس از غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند که توسط روش طرح مرکب مرکزی طراحی شده بودند و در جدول ۲ قابل مشاهده است در چاهک‌های با قطر ۶ میلی‌متر ریخته شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. فعالیت ضد میکروبی بر اساس قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۲۲).

به‌منظور بررسی اثر ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن و عصاره برگ لاواند بر *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، از روش سطح پاسخ (RSM) با طرح مرکب مرکزی شامل سه عامل استفاده شد. این عوامل که به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته می‌شوند، عبارت‌اند از نانوذرات اکسید آهن، عصاره برگ لاواند و دما که به ترتیب با نمادهای Extract، FeNPs و Temperature در بررسی آماری مورد استفاده قرار گرفتند. قطر هاله عدم رشد مربوط به *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز به‌عنوان متغیرهای

گیاهان دارویی به‌طور سنتی در سراسر جهان برای معالجه بسیاری از بیماری‌ها به‌ویژه بیماری‌های عفونی استفاده می‌شوند. این گیاهان حاوی مواد شیمیایی بالقوه مفیدی هستند که می‌توانند نه تنها در قالب داروها بلکه به‌عنوان یک مدل منحصربه‌فرد نقطه شروع ساخت آنالوگ‌های دارویی باشند (۱۲). یکی از این گیاهان، لاواند می‌باشد که با نام علمی *Lavandula angustifolia* شناخته می‌شود. لاواند متعلق به خانواده *Lamiaceae* بوده و بومی منطقه مدیترانه می‌باشد (۱۳). مزارع لاواند در ایران در سطح محدود وجود دارد ولی بیشتر به‌عنوان یک گیاه تزئینی در پارک‌ها و فضاهای سبز مورد استفاده قرار گرفته است. اسانس لاواند محبوب‌ترین و پرکاربردترین اسانس در رایحه‌درمانی است (۱۴، ۱۵). مشخص شده است که عصاره و اسانس لاواند دارای خواص ضد میکروبی برای بسیاری از عفونت‌ها مانند عفونت‌های پوستی و تنفسی می‌باشد (۱۶-۱۹). جهت افزایش فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی در حال حاضر تعدادی از مطالعات بر ترکیب اسانس‌ها یا عصاره‌های گیاهی با یکدیگر (۲۰) و یا ترکیب با عوامل ضد میکروبی دیگر مانند آنتی‌بیوتیک‌ها (۲۱) و نیز ترکیب با نانوذرات مختلف متمرکز شده‌اند (۲۲-۲۴).

باوجود اینکه فعالیت ضدباکتری نانوذرات اکسید آهن و عصاره گیاه لاواند به‌طور جداگانه مشخص شده است، ولی هیچ مطالعه‌ای در مورد پتانسیل ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن در ترکیب با عصاره لاواند وجود ندارد. از این‌رو در مطالعه حاضر، فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن در ترکیب با عصاره لاواند بر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی قرار گرفت و جهت تحلیل اثرات ضد میکروبی از روش آماری سطح پاسخ (Response Surface Methodology) استفاده شد.

### مواد و روش‌ها

نانوذرات اکسید آهن ( $Fe_3O_4$ ) با ابعاد ۳۰-۲۰ نانومتر از شرکت US Research Nanomaterials Co (آمریکا) خریداری شد. محیط کشت‌های مولر هینتون آگار و نوترینت آگار نیز از شرکت Merck تهیه شدند. فعالیت‌های ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن و عصاره برگ لاواند بر روی دو باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* که از نمونه‌های بالینی کودکان مبتلا به عفونت ادراری که از بیمارستان کودکان قدس شهرستان قزوین گرفته شده بودند انجام شد. این سویه‌ها در نوترینت آگار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جهت استخراج عصاره لاواند، مقدار ۶۰ گرم از پودر خشک‌شده از برگ گیاه لاواند با ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول به‌عنوان حلال مخلوط شد. سپس فلاسک‌های حاوی حلال و پودر لاواند، در دستگاه

میلی لیتر بود. بنابراین غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ میلی گرم در میلی لیتر از نانوذرات اکسید آهن به ترتیب به‌عنوان سطوح ۱- و ۱+ انتخاب شد و غلظت‌های ۲۰ و ۳۰ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره لاواند نیز به ترتیب به‌عنوان سطوح ۱- و ۱+ انتخاب شدند.

### بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید آهن و عصاره

#### لاواند:

در این مطالعه فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند در برابر سویه‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از طریق کشت این سویه‌ها بر روی پلیت‌های مولر هینتون آگار حاوی غلظت‌های مختلفی از نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند در دماهای مختلف که توسط طرح مرکب مرکزی طراحی شده بود مورد بررسی قرار گرفت. طبق آزمایش‌های طراحی شده، ۲۰ آزمایش انجام شد و نتایج آن‌ها در جدول ۲ قابل مشاهده است. همان‌طور که در جدول قابل مشاهده است بیشترین و کمترین هاله عدم رشد باکتری *اشریشیا کلی*، ۲۳/۴ و ۱۳/۵ میلی متر می‌باشد و برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* این مقدار برابر است با ۲۰/۳ و ۱۱/۲ میلی متر.

مدل‌های رگرسیونی برای قطر هاله عدم رشد مربوط به سویه‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌صورت زیر به دست آمدند:

$$S.aureus = 15/855 + 2/22 \text{ FeNPs} + 1/208 \text{ Extract}$$

$$E.coli = 19/053 + 2/093 \text{ FeNPs} + 1/094 \text{ Extract} + 1/284 \text{ Temperature} - 0/905 (\text{FeNPs})^2 \quad (2)$$

رگرسیونی (۱) نتیجه گرفته شد، در این نمودار به‌خوبی مشخص است که افزایش مقدار نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند، موجب افزایش قطر هاله عدم رشد مربوط به سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* شد. همچنین این شکل واکنش سویه *اشریشیا کلی* را نیز در برابر عوامل نانوذرات اکسید آهن، عصاره لاواند و دما نشان می‌دهند. همان‌طور که قبلاً از مدل رگرسیونی (۲) نتیجه گرفته شد، در این شکل نیز به‌خوبی مشخص است که افزایش مقدار نانوذرات اکسید آهن، عصاره لاواند و دما موجب افزایش قطر هاله عدم رشد مربوط به سویه *اشریشیا کلی* می‌شود.

پاسخ با نمادهای به ترتیب *S.aureus* و *E.coli* در نظر گرفته شدند. کلیه تحلیل‌های آماری مربوط به RSM از جمله انجام طرح مرکب مرکزی و تحلیل واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار Minitab ویرایش 18.1 انجام شد (۲۵). در جدول ۱، سطوح مختلف متغیرهای مستقل در طرح مرکب مرکزی نشان داده شده‌اند. جدول ۲ نیز، داده‌های مربوط به ۲۰ آزمایش انجام شده به کمک طرح مرکب مرکزی که برای تحلیل‌های آماری به کار برده شده‌اند را نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که کلیه آزمون‌های آماری مربوط به ANOVA و ضرایب رگرسیونی در سطح ۰/۰۵ انجام شده است.

### یافته‌ها

#### کمینه غلظت مهارکنندگی نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند:

نتایج کمینه غلظت مهارکنندگی نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* نشان داد که مقادیر کمینه غلظت مهارکنندگی نانوذرات اکسید آهن برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* به ترتیب برابر با ۰/۳ و ۰/۲ میلی گرم در میلی لیتر بود. مقادیر کمینه غلظت مهارکنندگی عصاره لاواند نیز برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* به ترتیب برابر با ۲۵ و ۲۰ میلی گرم در

(1)

به‌منظور بررسی معنی‌داری مدل آماری و ضرایب رگرسیونی می‌توان از نتایج ارائه شده در جدول ANOVA استفاده کرد. این جدول‌ها برای سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* به ترتیب در جدول ۳ و ۴ ارائه شده‌اند. با مقایسه آخرین ستون این جداول (P-Value) با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ می‌توان نتیجه گرفت که همه ضرایب مدل‌های رگرسیونی (۱) و (۲) از نظر آماری معنی‌دار هستند ( $P\text{-value} < 0.05$ ).

شکل ۱ نمودار سطح پاسخ برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی*، در برابر سه عامل نانوذرات اکسید آهن، عصاره لاواند و دما را نشان می‌دهد. همان‌طور که قبلاً از مدل

جدول (۱): سطوح مختلف متغیرهای مستقل در طرح مرکب مرکزی

متغیرها	۱/۶۸	۱	۰	-۱	-۱/۶۸
نانوذره آهن (میلی گرم در میلی لیتر)	۴/۶۸	۴	۳	۲	۱/۳۲
عصاره لاواند (میلی گرم در میلی لیتر)	۳۳/۴۱	۳۰	۲۵	۲۰	۱۶/۵۹
دما (درجه سانتی‌گراد)	۳۸/۶۸	۳۸	۳۷	۳۶	۳۵/۳۲

جدول (۲): مقادیر متغیرهای مستقل و پاسخ در طرح مرکب مرکزی

شماره اجرا	نانوذره اکسید آهن (میلی گرم در میلی لیتر)	عصاره لاواند (میلی گرم در میلی لیتر)	دما (درجه سانتی گراد)	E.coli (میلی متر)	S.aureus (میلی متر)
۱	۳/۰۰	۲۵/۰۰	۳۷/۰۰	۱۹/۵	۱۷/۶
۲	۱/۳۲	۲۵/۰۰	۳۷/۰۰	۱۳/۵	۱۱/۷
۳	۴/۰۰	۳۰/۰۰	۳۸/۰۰	۲۳/۴	۲۰/۳
۴	۲/۰۰	۳۰/۰۰	۳۶/۰۰	۱۵/۶	۱۳/۱
۵	۳/۰۰	۱۶/۵۹	۳۷/۰۰	۱۴/۹	۱۱/۸
۶	۳/۰۰	۳۳/۴۱	۳۷/۰۰	۲۰/۱	۱۸/۴
۷	۳/۰۰	۲۵/۰۰	۳۷/۰۰	۲۰/۳	۱۷/۹
۸	۳/۰۰	۲۵/۰۰	۳۷/۰۰	۱۹/۸	۱۷/۱
۹	۲/۰۰	۲۰/۰۰	۳۸/۰۰	۱۵/۹	۱۲/۴
۱۰	۲/۰۰	۳۰/۰۰	۳۸/۰۰	۱۶/۷	۱۲/۹
۱۱	۴/۰۰	۲۰/۰۰	۳۶/۰۰	۱۸/۹	۱۶/۲
۱۲	۴/۰۰	۲۰/۰۰	۳۸/۰۰	۱۹/۸	۱۷/۳
۱۳	۲/۰۰	۲۰/۰۰	۳۶/۰۰	۱۵/۳	۱۳/۵
۱۴	۴/۶۸	۲۵/۰۰	۳۷/۰۰	۱۹/۲	۱۷/۶
۱۵	۳/۰۰	۲۵/۰۰	۳۸/۶۸	۲۱/۷	۱۷/۷
۱۶	۳/۰۰	۲۵/۰۰	۳۷/۰۰	۱۹/۱	۱۶/۹
۱۷	۳/۰۰	۲۵/۰۰	۳۷/۰۰	۱۹/۹	۱۷/۷
۱۸	۳/۰۰	۲۵/۰۰	۳۵/۳۲	۱۴/۶	۱۱/۲
۱۹	۳/۰۰	۲۵/۰۰	۳۷/۰۰	۲۰/۱	۱۷/۳
۲۰	۴/۰۰	۳۰/۰۰	۳۶/۰۰	۲۰/۴	۱۸/۵

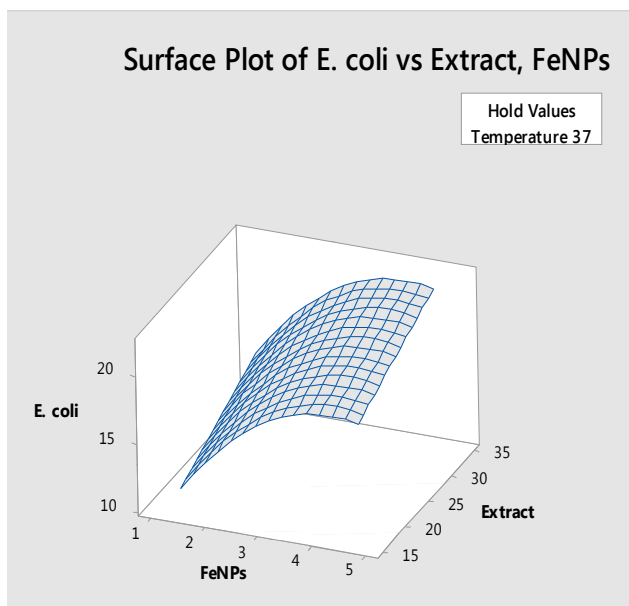
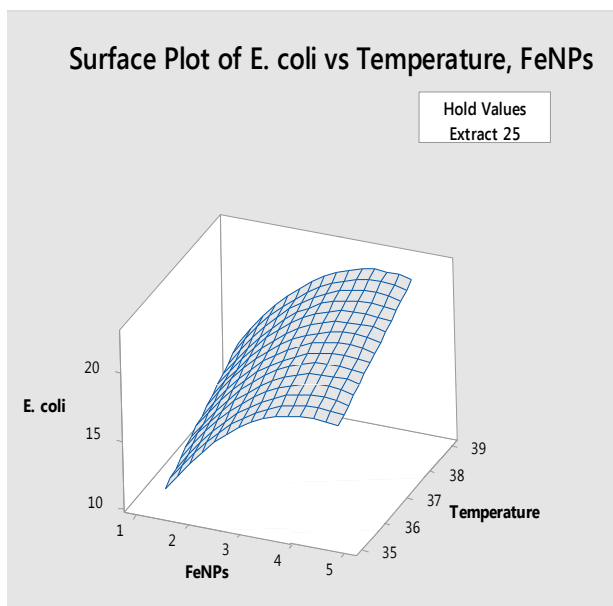
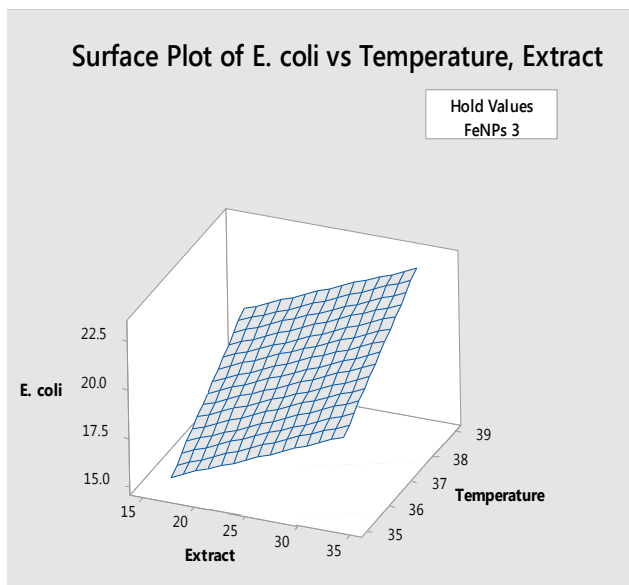
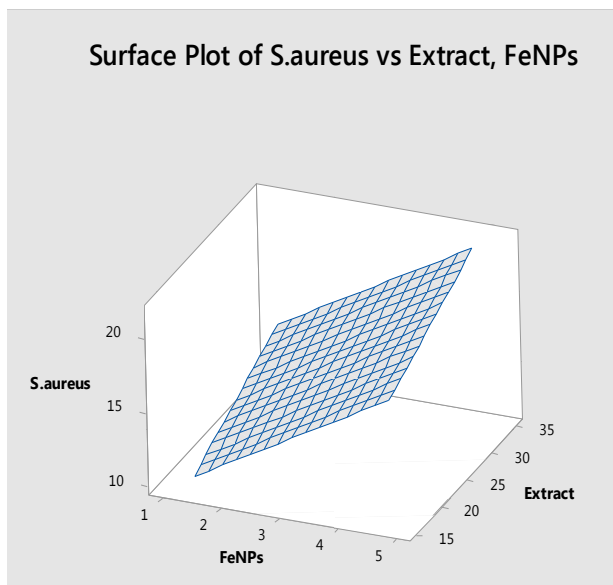
جدول (۳): جدول ANOVA برای سویه استافیلوکوکوس اورئوس (S.aureus)

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات تصحیح شده	میانگین مربعات تصحیح شده	F-Value	P-Value
مدل	۲	۸۷/۲۶۰	۴۳/۶۳۰۲	۱۲/۵۴	۰/۰۰۰
خطی	۲	۸۷/۲۶۰	۴۳/۶۳۰۲	۱۲/۵۴	۰/۰۰۰
نانو ذرات آهن	۱	۶۷/۳۲۶	۶۷/۳۲۵۸	۱۹/۳۴	۰/۰۰۰
عصاره	۱	۱۹/۹۳۵	۱۹/۹۳۴۶	۵/۷۳	۰/۰۲۹
خطا	۱۷	۵۹/۱۶۹	۳/۴۸۰۵		
عدم برازش	۱۲	۵۸/۴۴۱	۴/۸۷۰۱	۳۳/۴۳	۰/۰۰۱
خطای خالص	۵	۰/۷۲۸	۰/۱۴۵۷		
کل	۱۹	۱۴۶/۴۲۹			

جدول (۴): جدول ANOVA برای سویه اشریشیا کلی (E.coli)

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات تصحیح شده	میانگین مربعات تصحیح شده	F-Value	P-Value
مدل	۴	۱۱۰/۷۲۹	۲۷/۶۸۲۲	۱۶/۹۰	۰/۰۰۰
خطی	۳	۹۸/۷۲۱	۳۲/۹۰۶۸	۲۰/۰۸	۰/۰۰۰
نانو ذرات آهن	۱	۵۹/۸۳۶	۵۹/۸۳۶۰	۳۶/۵۲	۰/۰۰۰
عصاره	۱	۱۶/۳۵۵	۱۶/۳۵۵۴	۹/۹۸	۰/۰۰۶
دما	۱	۲۲/۵۲۹	۲۲/۵۲۹۱	۱۳/۷۵	۰/۰۰۲

۰/۰۱۶	۷/۳۳	۱۲/۰۰۸۱	۱۲/۰۰۸	۱	مربعی
۰/۰۱۶	۷/۳۳	۱۲/۰۰۸۱	۱۲/۰۰۸	۱	۲(نانو ذرات آهن)
		۱/۶۳۸۵	۲۴/۵۷۷	۱۵	خطا
۰/۰۰۶	۱۲/۷۴	۲/۳۶۴۹	۲۳/۶۴۹	۱۰	عدم برازش
		۰/۱۸۵۷	۰/۹۲۸	۵	خطای خالص
			۱۳۵/۳۰۵	۱۹	کل



شکل (۱): نمودار سطح پاسخ برای استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی در برابر سه عامل نانو ذرات آهن، عصاره لاواند و دما

### بحث و نتیجه‌گیری

روش سطح پاسخ یکی از متداول‌ترین روش‌های آماری برای بهینه‌سازی فرآیندهای میکروبی است که اخیراً توسط تعدادی از

محققان مورد توجه قرار گرفته است (۲۶-۲۸). فعالیت ضد باکتریایی آنتی‌بیوتیک‌ها، نانوذرات و عصاره‌های گیاهی نیز توسط برخی پژوهشگران از طریق روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفته است

(۲۹). تحقیقات زیادی در مورد فعالیت‌های ضد میکروبی نانوذرات و عصاره گیاهان به صورت جداگانه و یا ترکیب با سایر عوامل ضد میکروبی با کمک روش سطح پاسخ انجام شده است (۳۰-۳۲).

در این پژوهش، بررسی فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن در ترکیب با عصاره لاواند در دماهای مختلف با استفاده از روش سطح پاسخ در برابر دو باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد. یافته‌ها نشان دادند که اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن بیشتر از عصاره لاواند بود. در مطالعات مشابهی که اثر نانوذرات با عصاره‌ها مقایسه شده‌اند معلوم شده است که اثرات ضد میکروبی نانوذرات بیشتر از عصاره‌های گیاهی می‌باشد. به احتمال زیاد به دلیل اندازه کوچک نانوذرات در مقایسه با عصاره‌های گیاهی، آن‌ها می‌توانند بهتر در آگار و در نتیجه در سلول‌های باکتری نفوذ کنند (۳۳). در مورد مکانیسم ضد باکتری عصاره‌های گیاهی می‌توان گفت که سازوکار دقیق آن‌ها در مقابله با رشد میکروبی به طور واضح مشخص نشده است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد عصاره‌ها سبب تغییر ساختار غشاء میکروارگانیسم‌ها شده و نفوذپذیری غشا را افزایش می‌دهند. ترکیبات عصاره‌ها بعد از ورود به سلول، آن‌ها را متورم کرده که این امر نهایتاً منجر به مرگ سلول‌های باکتری می‌گردد (۳۴).

تأثیر ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن در ترکیب با عصاره لاواند بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از تأثیر آن‌ها بر باکتری *اشریشیا کلی* بود. هر سه متغیر نانوذرات اکسید آهن، عصاره لاواند و دما، اثر افزایشی روی قطر هاله عدم رشد *اشریشیا کلی* داشتند. از نظر میزان تأثیرگذاری نیز، نانوذرات اکسید آهن در رتبه اول، دما در رتبه دوم و عصاره لاواند در رتبه سوم قرار داشت. در حالی که فقط دو متغیر نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند بر *استافیلوکوکوس اورئوس* تأثیرگذار بودند و دما تأثیری نداشت و نانوذرات اکسید آهن نیز بیشتر از عصاره لاواند تأثیرگذار بود. بزرگ‌ترین هاله عدم رشد باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، به ترتیب برابر بودند با ۲۳/۴ و ۲۰/۳ که در حضور ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نانوذرات اکسید آهن و ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره لاواند در دمای ۳۸ درجه به دست آمد. در واقع می‌توان گفت این ترکیب از غلظت‌های نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند، تأثیرگذارترین ترکیب این دو ماده می‌باشد.

در سال ۲۰۱۶ Rapper و همکارانش فعالیت ضد میکروبی اسانس لاواند را در ترکیب با چهار آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل، سیپرواکساسین، نیستاتین و اسید فوزیدیک علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس ائروجنوزا* و *کاندیدا البیکنس* مطالعه کردند و نتایج نشان داد که اسانس لاواند در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده خاصیت ضد میکروبی بیشتری داشت (۲۱). مطالعه‌ای

دیگری که در سال ۲۰۱۴ انجام شد نشان داد که اسانس لاواند در ترکیب با پیپراسیلین بیشترین میزان فعالیت ضد میکروبی را در برابر *اشریشیا کلی* داشته است (۳۵). در مورد ترکیب نانوذرات و عصاره‌های گیاهی نیز، گزارش شد که مخلوط عصاره گزنه و موسیر با نانوذرات نقره دارای اثر ضد میکروبی بیشتری در برابر سویه‌ای از *اسنتیوباکتر* بودند (۲۲). جعفری و همکاران نشان دادند که عصاره متانولی گل همیشه بهار و نانوذرات نقره از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *باسیلوس سرئوس* به طور جداگانه جلوگیری می‌کند. در حالی که اثر ترکیب عصاره گل همیشه بهار و نانوذرات نقره بیشتر از اثر هر یک از آن‌ها بود (۲۴). در تحقیقی دیگر، ترکیب عصاره *Drosera binata* با نانوذرات نقره در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم بررسی شد و نتایج نشان داد که ترکیب آن‌ها دارای فعالیت ضد باکتری بیشتری در مقایسه با استفاده از نانوذرات نقره یا عصاره به تنهایی بود (۳۶). مطالعات نشان داده است که نانوذرات اکسید آهن در ایجاد استرس اکسیداتیو و تولید انواع مختلف اکسیژن فعال در باکتری‌ها نقش دارد (۳۷) و معلوم شده است که نانوذرات اکسید آهن با مهار زنجیره تنفسی اثرات کشنده‌ای بر باکتری‌ها دارند. با این حال، مکانیسم‌های ضد باکتریایی دقیق نانوذرات هنوز اثبات نشده است، و مشاهده شده است که انواع مشابهی از نانوذرات اثرات متضادی از خود نشان داده‌اند (۳۸).

در این پژوهش تأثیر دما بر پتانسیل ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند نیز با کمک روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که دما تأثیری بر فعالیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نداشت. در حالی که در مورد باکتری *اشریشیا کلی*، افزایش دما سبب افزایش فعالیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند شد. مهم‌ترین ترکیبات موجود در عصاره لاواند، لینالول و سینئول می‌باشند که در پژوهش قبلی مشخص شده است (۱۹). Ammer و همکارانش فعالیت ضد میکروبی عصاره اکالیپتوس را بر باکتری *اشریشیا کلی* از طریق روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار داد. آن‌ها ترکیبات مختلف عصاره مانند لیونن، ترپینول و سینئول را در دماهای مختلف بررسی کردند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که می‌توان از عصاره‌های گیاهی در دماهای بالاتری بهره برد زیرا دما بر روی فعالیت عصاره‌ها بی تأثیر است و در خواص ضد میکروبی آن‌ها تداخلی ایجاد نمی‌کند (۲۸). Doughari نیز گزارش کرد که دما بر خواص ضد میکروبی عصاره‌ها بی تأثیر است (۳۹). Mahfuzul Hoque و همکاران نیز اظهار داشتند که تغییر دما بر فعالیت‌های ضد میکروبی عصاره‌های برگ درخت چریش و میوه گواوا علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا منوسیتوجنز* اثر معنی‌داری نداشت (۴۰). به طور مشابه، Adeshina و همکاران مشخص کردند

در نهایت می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نانوذرات اکسید آهن در ترکیب با عصاره لاواند می‌تواند اثر ضد میکروبی بیشتری بر باکتریها داشته باشد و ترکیب این دو می‌تواند به‌عنوان یک ماده ضد میکروبی در کاربردهای موضعی یا خوراکی گزینه مناسبی باشد اگرچه که مطالعات جامع و آزمایشات بالینی بیشتری مورد نیاز می‌باشد.

### سپاسگزاری:

با سپاس فراوان از دانشگاه پیام نور

### تعارض منافع:

نویسندگان اعلام می‌دارند که تعارض منافع وجود ندارد.

که فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی برگ انجیر سیکامور علیه میکروبها در دماهای مختلف تغییری نکرد ولی عصاره برگ گز روغنی در دماهای پایین موثرتر بود. آن‌ها پیشنهاد کردند که با بالا رفتن دما، ساختار پروتئینی ترکیبات ضد میکروبی دناتوره شده و نتیجتاً خواص ضد میکروبی عصاره کاهش می‌یابد (۴۱). طبق یافته‌های این پژوهش شاید بتوان گفت که دما مستقیماً بر ساختار نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند تأثیر گذار نیست و می‌تواند از طریق تأثیر بر سوبه‌های باکتری، بر فعالیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن و عصاره لاواند تأثیر گزار باشد. ولی برای اظهار نظر قطعی، آزمایش‌های بیشتری با استفاده از باکتری‌های مختلف مورد نیاز می‌باشد.

## References

- 1- Makhfian M, Pishgar E. Inhibitory effect of Stevia and Rosa extracts against bacterial Quorum sensing. *Stud Med Sci* 2019; 30 (6):443-53. (Persian)
- 2- Nagy A, Harrison A, Sabbani S, Munson RS Jr, Dutta PK. Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: release of silver ions and mechanism of antibacterial action. *Int J Nanomedicine* 2011;6: 1833–52.
- 3- Sanchooli N, Saidi S, Khandan H, Sanchooli E. In vitro antibacterial effects of silver nanoparticles synthesized using Verbena officinalis leaf extract on *Yersinia ruckeri*, *Vibrio cholera* and *Listeria monocytogenes*. *Iran J Microbiol* 2018; 10(6): 400–8.
- 4- Gahremani M, Sharifi Y, Vahedi M, Hosseini Jazani N. Evaluation of the antibacterial effects of nicle nanoparticles on biofilm production of Mupirocin resistant isolates of *S.aureus*. *Stud Med Sci* 2016; 26 (12):1063-70. (Persian)
- 5- Sajadian M, Teimouri M. Effects of synthesized iron oxide nanoparticles from *Ziziphora clinopodioides* on expression of the efflux pump genes of *Staphylococcus aureus*. *Koomesh* 2020; 22(3): 542-9. (Persian)
- 6- Moghadami F, Hosseini R. Effect of iron and silver nanoparticles on coenzyme Q10 production by *Gluconobacter japonicus* FM10. *Iran J Microbiol* 2020;12(6):592-600.
- 7- Mahdavi M, Ahmad MB, Haron MJ, Namvar F, Nadi B, Rahman MZ, et al. Synthesis, surface modification and characterisation of biocompatible magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Molecul* 2013; 18(7): 7533-48.
- 8- Berry CC, Wells S, Charles S, Curtis AS. Dextran and albumin derivatised iron oxide nanoparticles: influence on fibroblasts in vitro. *Biomaterial* 2003; 24(25): 4551-7.
- 9- Gupta AK, Curtis AS. Lactoferrin and ceruloplasmin derivatized superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeting cell surface receptors. *Biomaterial* 2004; 25(15): 3029-40.
- 10- Prijic S, Sersa G. Magnetic nanoparticles as targeted delivery systems in oncology. *Radiol Oncol* 2011; 45: 1–16.
- 11-Xu C, Akakuru O, Zheng J, Wu A. Applications of Iron Oxide-Based Magnetic Nanoparticles in the Diagnosis and Treatment of Bacterial Infections. *Front Bioeng Biotechnol* 2019; 7: 1-15.
- 12- Hui L, He L, Huan L, Xiaolan L, Aiguo Z. Chemical composition of lavender oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria. *Afr J Microbiol Res* 2010; 4: 309-13
- 13- Sienkiewicz M, Lysakowska M, wierz J, Denys P, Kowalczyk E. Antibacterial activity of thyme and lavender essential oils. *Med Chem* 2011; 7: 674-89.
- 14- Cassella S, Cassella JP, Smith I. Synergistic antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and

- lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils against dermatophyte infection. *Int J Aroma* 2002; 12(1): 2–15.
- 15- Cavanagh MHA, Wilkinson JM. Biological activities of lavender essential oil. *Phytother Res* 2002; 16(4): 301–8.
- 16- Behnam S, Farzaneh M, Ahmadzadeh M, Tehrani AS. Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavandula angustifolia* on post-harvest phytopathogens. *Com Agri Appl Biol Sci* 2006; 71(3): 1321–6.
- 17- Roller S, Ernest N, Buckle J. The antimicrobial activity of high-necrodane and other lavender oils on methicillin-sensitive and -resistant *Staphylococcus aureus* (MSSA and MRSA). *J Alter Compl Med* 2009; 15(3): 275–9.
- 18- Rasuli A, Rezaei M. Study of antimicrobial activity and chemical composition of essential oils of *L. angustifolia*. *J Kerman Univ Med Sci* 2000; 7: 173–81.
- 19- Moghadami F, Dolatabadi S, Nazem H. Antimicrobial Activity of Alcohol and Aqueous Extract of *Lavandula angustifolia* Leaves and Flowers on *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus*. *J Zanjan Medical Uni* 2012; 20: 56–63.
- 20- Masoumipour F, Hassanshahian M, Jafarinasab T. Antimicrobial Activity of Combined Extracts of *Trachyspermum*, *Thymus* and *Pistachio* against Some Pathogenic Bacteria. *J Kerman Uni Medi Sci* 2018; 25 (2): 153–63.
- 21- Rapper S, Viljoen A, Vuuren S. The In Vitro Antimicrobial Effects of *Lavandula angustifolia* Essential Oil in Combination with Conventional Antimicrobial Agents. *Evid Based Complement Alternat Med* 2016; 2016.
- 22- Zeynali-Aghdam S, Minaeian S, Sadeghpour Karimi M, Tabatabaee Bafroee A. The Antibacterial Effects of the Mixture of Silver Nanoparticles With the Shallot and Nettle Alcoholic Extracts. *J Appl Biotechnol Rep* 2019; 6(4):158–64.
- 23- Ahmad A, Khan A, Samber N, Manzoor N. Antimicrobial activity of *Mentha piperita* essential oil in combination with silver ions. *Synergy* 2014;1(2):92–8.
- 24- Jafari B, Monadi A. Comparative study on the effects of silver nanoparticles and methanolic extracts of *Calendula officinalis* on pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* under laboratory conditions. *J Sabzevar Medical Uni* 2020; 27(2):163–71.
- 25- Minitab. Designing an Experiment [Internet]. 2017 [cited 2021 Nov 4]. Available from: <https://support.minitab.com/en-us/minitab/18/getting-started/designing-an-experiment/>
- 26- Quintero-Quiroz C, Acevedo N, Zapata-Giraldo J, Botero L. Optimization of Silver Nanoparticle Synthesis by Chemical Reduction and Evaluation of its Antimicrobial and Toxic Activity. *Biomaterial Res* 2019; 23(27):1–5.
- 27- Moghadami F, Fooladi J, Hosseini R, Kalantari M. Optimization of coenzyme Q10 production by *Gluconobacter japonicus* FM10 using response surface methodology. *J Appl Biotechnol Rep* 2020;7(4): 65–71.
- 28- Ammer MR, Zaman S, Khalid M, Bilal M, Erum S. Optimization of antibacterial activity of *Eucalyptus tereticornis* leaf extracts against *Escherichia coli* through response surface methodology. *J Rad Research Appl Sci* 2016; 9: 376–85.
- 29- Maghsoudy N, Aberoomand-Azar P, Tehrani MS, Husain SW, Larijani K. Biosynthesis of Ag and Fe nanoparticles using *Erodium cicutarium*; study, optimization, and modeling of the antibacterial properties using response surface methodology. *J Nano Chem* 2019; 9:203–16.
- 30- Hajipour M, Fromm K, Ashkarran A, Aberasturi D, Larramendi I, Rojo T, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends Biotechnol* 2012;30(10):499–511.



- 31- Smekalova M, Aragon V, Panacek A, Pucek R, Zboril R, Kvittek L. Enhanced antibacterial effect of antibiotics in combination with silver nanoparticles against animal pathogens. *Vet J* 2016; 209:174-9.
- 32- Huang L, Dai T, Xuan Y, Tegos GP, Hamblin MR. Synergistic combination of chitosan acetate with nanoparticle silver as a topical antimicrobial: efficacy against bacterial burn infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(7): 3432-8.
- 33- Javan Bakht Dalir S, Djahaniani H, Nabati F, Hekmati M. Characterization and the evaluation of antimicrobial activities of silver nanoparticles biosynthesized from *Carya illinoensis* leaf extract. *Heliyon* 2020; 6: e03624.
- 34- Heydari S, Jooyandeh H, Alizadeh behbahani B, Noshad M. In vitro Determination of Chemical Compounds and Antibacterial Activity of Lavandula Essential oil against some Pathogenic Microorganisms. *J Ilam Univ Med Sci* 2019; 27 (4):77-89.
- 35- Yap P, Lim S, Hu C, Yiap B. Combination of Essential Oils and Antibiotics Reduce Antibiotic Resistance in Plasmid-conferred Multidrug Resistant Bacteria. *Phytomed* 2013; 20(8): 710-3.
- 36- Krychowiak M, Grinholc M, Banasiuk R, Krauze-Baranowska M, Głód D, Kawiak A, et al. Combination of silver nanoparticles and *Drosera binata* extract as a possible alternative for antibiotic treatment of burn wound infections caused by resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS One* 2014; 9(12): e115727.
- 37- Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *BioMed Res Int* 2013; 942916.
- 38- Costa CS, Vieira Ronconi JV, Felipe Daufenbach J, Gonçalves CL, Tezza Rezin G. In vitro effects of silver nanoparticles on the mitochondrial respiratory chain. *Molecula Cellula Biochem* 2010; 342(1): 51-6.
- 39- Doughari J. Antimicrobial activity of *Tamarindus indica* Linn. *Trop J Pharma Res* 2007; 5(2): 597e603.
- 40- Mahfuzul Hoque MD, Bari ML, Inatsu Y, Vijay K. Antibacterial Activity of Guava (*Psidium guajava* L.) and Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) Extracts Against Foodborne Pathogens and Spoilage Bacteria. *Foodborn Path Dis* 2007; 4 (4):481-8.
- 41- Adeshina G, Okeke C, Onwuegbuchulam N, Ehinmidu J. Preliminary studies on antimicrobial activities of ethanolic extracts of *Ficus sycomorus* Linn. and *Ficus platyphylla* Del. *Int J Biol Chem Sci* 2009; 3(5): 147-51.

# INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF IRON OXIDE NANOPARTICLES IN COMBINATION WITH LAVENDER (*LAVANDULA ANGUSTIFOLIA*) LEAF EXTRACT BY RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Foozieh Moghadami<sup>1\*</sup>, Mahdi Kalantari<sup>2</sup>

Received: 08 November, 2020; Accepted: 27 September, 2021

## Abstract

**Background & Aims:** Bacterial resistance to antibiotic treatment is a dilemma that has led researchers to search for suitable alternatives. The use of herbs and nanotechnology can be a solution. This study aimed to investigate the antimicrobial activity of iron oxide nanoparticles in combination with lavender leaf extract using response surface methodology.

**Materials & Methods:** The response surface methodology and a central composite design were employed to evaluate the iron oxide nanoparticle and lavender extract's antibacterial activity at different temperatures against *E.coli* and *S.aureus*. The agar well diffusion method was used to determine the antibacterial activity.

**Results:** The results showed that the antimicrobial effect of iron oxide nanoparticles was greater than lavender extract. The response of the two tested bacteria to the combination of iron oxide nanoparticles and lavender extract was not the same at different temperatures. The antimicrobial effect of iron oxide nanoparticles in combination with lavender extract on the growth of *S.aureus* was greater than their effect on *E.coli*. On the other hand, increasing the temperature increased the antimicrobial properties of the combination of iron oxide nanoparticles and lavender extract against *E.coli*, but did not affect *S.aureus*.

**Conclusion:** According to the results, it can be concluded that iron oxide nanoparticles in combination with lavender extract can be a suitable option as an antimicrobial agent in topical or oral applications. However, more comprehensive studies and clinical trials are needed.

**Keywords:** Iron oxide nanoparticles, Lavender, Response Surface Methodology, Antimicrobial

**Address:** Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

**Tel:** +989127821623

**Email:** fouziehm@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(7): 499 ISSN: 2717-008X

<sup>1</sup> Assistant Professor of Microbiology, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran (Corresponding Author)

<sup>2</sup> Assistant Professor of Statistics, Department of Statistics, Payame Noor University, Tehran, Iran