

The Antibacterial and Catalytic Activity of Iron Magnetite Nanoparticles in the Removal of Ciprofloxacin

Nima Firouzeh¹

Ali Pasban²

Hamed Ghasemzadeh-moghaddam¹

Mona Fani¹

Reza Besharati³

Seyedeh Nastaran Asadzadeh²

¹ Assistant Professor, Vector-borne Diseases Research Center, School of Health North, Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

² Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

³ Lecturer, Department of Pathobiology and Laboratory Science, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

(Received November 1, 2023; Accepted August 21, 2024)

Abstract

Background and purpose: Antibiotics are crucial in various scientific fields, including human and veterinary medicine, and are widely utilized medicinal compounds. Ciprofloxacin is a widely used antibiotic in the treatment of infections, most of which is excreted unmetabolized and finally enters water sources through the discharge of sewage and effluents. Even at low concentrations, ciprofloxacin in sewage and effluents can cause ecological harm and pose significant risks to human health. It is crucial to devise effective solutions for the removal of this antibiotic. Advanced Oxidation Processes (AOPs) are a promising method for the future removal of antibiotics, particularly in aquatic solutions, due to their potential to effectively remove ciprofloxacin. This study investigated the antibacterial and catalytic activity of synthesized magnetite nanoparticles (MNPs) (Fe₃O₄) in removing ciprofloxacin.

Materials and methods: In this experimental research, Fe₃O₄ magnetic nanoparticles (MNPs) were prepared using the co-precipitation method. The nanoparticles were then examined for their physical and structural characteristics using scanning electron microscopy (SEM), X-ray powder diffraction (XRD), transmission electron microscopy (TEM), and BET technique. Fe₃O₄ magnetic nanoparticles (MNPs) were initially synthesized, and their properties were determined. We performed separate investigations to assess the effectiveness of various methods for removing ciprofloxacin. This included evaluating ultrasound alone (US), hydrogen peroxide alone, magnetite nanoparticles alone (MNPs), and combinations such as ultrasound with hydrogen peroxide, hydrogen peroxide with magnetite nanoparticles, and magnetite nanoparticles with ultrasound. All tests were conducted under the same conditions. The first step assessed the catalytic activity of synthesized nanoparticles for ciprofloxacin through the Fenton process. In this study, experimental parameters such as Fe₃O₄ catalyst dosage, initial pH of the solution, Hydrogen peroxide concentration, reaction time, and initial antibiotic concentration were investigated. In the second step, the antibacterial efficacy of synthesized nanoparticles against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was determined via the Broth Macro dilution method.

Results: The examination of the characteristics of synthesized nanoparticles showed that the average size of magnetite nanoparticles is approximately 20-30 nm. TEM results confirmed that the synthesized nanoparticles have a uniform size and structure. The combined process of MNPs/hydrogen peroxide/US exhibited the highest removal efficiency at 88.36%. This high efficiency can be attributed to the direct effect of the reaction between Fenton agents and ultrasonic waves, leading to the generation of numerous hydroxyl radicals. The maximum removal of ciprofloxacin was achieved in 0.5 g/L catalyst, pH=3, five mM hydrogen peroxide concentration, 550 W ultrasonic power, and 60 min reaction time. For *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, the Minimum Inhibitory and Minimum bactericidal concentrations were 3.125, 6.25, and 1.56, 3.125 µg/mL, respectively.

Conclusion: Synthesized iron magnetite nanoparticles have high antibacterial properties against bacterial strains and many catalytic properties in the Sono Fenton process to remove ciprofloxacin, so this process can be an effective method for eliminating hospital and pharmaceutical wastewater.

Keywords: ultrasound, Fe₃O₄ nanoparticles, antibacterial properties, ciprofloxacin

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (236): 42-56 (Persian).

Corresponding Author: Seyedeh Nastaran Asadzadeh - School of Health, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran. (E-mail: snasadzadeh3@gmail.com)

بررسی فعالیت کاتالستی و ضدباکتریایی نانوذرات مگنتیت آهن در حذف سیروفلوکساسین

نیما فیروزه^۱
علی پاسبان^۲
حامد قاسم زاده^۱
مونا فانی^۲
رضا بشارتی^۳
سیده نسترن اسدزاده^۲

چکیده

سابقه و هدف: آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از پرمصرف‌ترین ترکیبات دارویی در علوم مختلف مانند پزشکی و دامپزشکی می‌باشند. در میان این دسته دارویی، سیروفلوکساسین آنتی‌بیوتیکی پرمصرف در درمان عفونت‌ها است که تقریباً بخش عمده آن به صورت غیرمتابولیزه دفع می‌شود و در نهایت از طریق تخلیه فاضلاب‌ها و پساب‌ها به منابع آبی وارد می‌شود. حضور حتی مقادیر بسیار پایین سیروفلوکساسین در فاضلاب و پساب‌ها می‌تواند آسیب‌های اکولوژیکی در پی داشته و عامل تهدید جدی برای سلامت انسان باشد، از این رو یافتن راهکارهای عملی جهت حذف این آنتی‌بیوتیک امری ضروری است. در بین روش‌های حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط‌های آبی، فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته جایگاه ویژه‌ای دارد. در این مطالعه خاصیت ضدباکتریایی و کاتالستی نانوذرات مگنتیت (Fe₃O₄) (MNP) سنتز شده در حذف سیروفلوکساسین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی نانوذرات مغناطیسی آهن (MNP) Fe₃O₄ به روش هم ترسیبی سنتز شدند. سپس بعد از تهیه نانو ذرات، مشخصات فیزیکی و ساختاری این نانوذرات با استفاده از روش‌های استاندارد میکروسکوپ الکترونی روییسی (SEM: Scanning Electron Microscope)، پراش اشعه ایکس (XRD: X-ray powder diffraction)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM: Transmission Electron Microscopy) و اندازه‌گیری سطح ویژه (Brunauer, Emmett and Teller: BET) مشخص گردید. در گام اول خاصیت کاتالستی نانوذرات برای سیروفلوکساسین طی فرایند سونو فتون مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه پارامترهای تجربی مانند دوز کاتالست Fe₃O₄، pH اولیه محلول و غلظت پراکسید هیدروژن، زمان واکنش و غلظت اولیه آنتی‌بیوتیک بررسی شدند. بررسی کارایی فرایندهای مختلف جهت حذف سیروفلوکساسین شامل اولتراسوند/پراکسید هیدروژن/نانوذرات مگنتیت در مقابل فرایندهای اولتراسوند به تنهایی (US)، پراکسید هیدروژن به تنهایی (hydrogen peroxide)، نانوذرات مگنتیت به تنهایی (MNP)، اولتراسوند/پراکسید هیدروژن (hydrogen peroxide/US)، پراکسید هیدروژن/نانوذرات مگنتیت (MNP/hydrogen peroxide) و نانوذرات مگنتیت/اولتراسوند (MNP/US) در شرایط مشابه آزمایشات جداگانه انجام شد. در گام دوم خاصیت ضدباکتریایی نانوذره به روش ماکرو دیلوژن بر روی باکتری اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس تعیین گردید. در انتها نتایج حاصل از این مطالعه با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: یافته‌های مشخصات نانوذرات سنتز شده مشخص کرد که میانگین اندازه نانوذرات مگنتیت تقریباً ۳۰-۲۰ نانومتر می‌باشد. یافته‌های TEM، یکنواخت بودن سایز و ساختار نانوذرات سنتز شده را تایید کرد. بالاترین راندمان حذف، مربوط به فرایند تلفیقی MNP/hydrogen peroxide/US با راندمان حذف ۸۸/۳۶ درصد بوده است که این راندمان بالا ناشی از اثر مستقیم واکنش بین عوامل فتون با امواج اولتراسونیک بوده که منجر به تولید رادیکال‌های هیدروکسیل بسیار زیادی می‌شود. حداکثر حذف سیروفلوکساسین در غلظت ۰/۵ گرم در لیتر کاتالست، pH=۳، غلظت ۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن، قدرت اولتراسونیک ۵۵۰ وات و زمان واکنش ۶۰ دقیقه به دست آمد. برای اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی به ترتیب ۳/۱۲۵، ۶/۲۵ و ۱/۵۶، ۳/۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

استنتاج: براساس یافته‌های مطالعه حاضر نانوذرات آهن مگنتیت سنتز شده دارای خواص ضدباکتریایی بالایی علیه سویه‌های باکتریایی می‌باشند و هم‌چنین دارای ویژگی کاتالستی بسیاری در فرایند سونو فتون برای حذف سیروفلوکساسین بودند، بنابراین این فرایند می‌تواند روشی موثر برای حذف فاضلاب بیمارستانی و دارویی باشد.

واژه‌های کلیدی: اولتراسوند، نانوذرات Fe₃O₄، خواص ضدباکتریایی، سیروفلوکساسین

E-mail: snasadzadeh3@gmail.com

مؤلف مسئول: سیده نسترن اسدزاده - بجنورد: دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، دانشکده بهداشت

۱. استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های منتقله بوسیله ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۲. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

۳. مربی، گروه پاتولوژی و علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۸/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۱۱/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۵/۳۱

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از بزرگ‌ترین گروه ترکیبات دارویی می‌باشند که در دامپزشکی و پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱). این ترکیبات به طور کامل در انسان و حیوانات متابولیزه نمی‌شوند (۲،۳). یکی از خانواده‌های اصلی آنتی‌بیوتیک‌ها فلور کینولون‌ها هستند (۴). در این خانواده آنتی‌بیوتیک‌های مهمی مانند سیپروفلوکساسین وجود دارد. وجود اتم فلئوئور در ترکیب آنتی‌بیوتیک باعث پایداری آن شده است (۵،۶). سیپروفلوکساسین برای درمان عفونت‌های ادراری، تنفسی و گوارشی استفاده می‌شود (۷). فرمول شیمیایی این دارو $C_{17}H_{18}FN_3O_3.HCl$ و وزن مولکولی آن $367/82$ گرم بر مول می‌باشد. غلظت آن در آب‌های سطحی، ۱ میکروگرم در لیتر تخمین زده می‌شود اما در آب با غلظت بیش از ۱۵۰ میکروگرم در لیتر نیز ردیابی شده است (۸،۹). حتی اگر مقدار آن در محیط‌های آبی کم باشد، اما تجمع مداوم آن می‌تواند خطرات بالقوه برای اکوسیستم‌های آبی و میکروارگانیسم‌ها و همچنین نگرانی در مورد آسیب‌های بیولوژیکی و ژنتیکی مرتبط با آن را افزایش دهد (۱۰).

وجود سیپروفلوکساسین می‌تواند منجر به ایجاد مقاومت، تأثیر بر پاتوژن‌های غیرهدف، تغییر در ساختار جلبک‌های آب، تداخل با فتوسنتز و ناهنجاری‌های ساختاری در گیاهان شود (۱۱-۱۳). وجود ترکیبات دارویی در محیط زیست به طور بالقوه عملکرد اکوسیستم و سلامت انسان را تهدید می‌نمایند، بنابراین نیاز به یک سیستم کارآمد برای حذف این ترکیبات از محیط‌های آبی احساس می‌شود (۱). فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته از جمله موثرترین فرایندها برای تجزیه و حذف آلاینده‌های آلی خطرناک، مقاوم و غیر قابل تجزیه بیولوژیکی در محیط‌های آبی می‌باشند (۱۴). مکانسیم اصلی این فرایندها بر اساس تولید رادیکال هیدروکسیل است و رادیکال هیدروکسیل معمولاً از طریق فعال‌سازی اکسیدان‌هایی از قبیل پراکسید هیدروژن با استفاده از حرارت، اشعه فرابنفش، امواج اولتراسونیک، یون‌های

فلزی واسطه و pH بالا تولید می‌شود (۱۵). رادیکال هیدروکسیل پس از فلوراین واکنش دهنده‌ترین ماده شناخته شده با قدرت اکسیداسیون نسبی $2/8$ است (۱۶). هم‌چنین فرایند فنتون به‌عنوان یکی از فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته به‌دلیل سادگی و پتانسیل اکسیداسیون بالا بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۷). نانو ذرات اکسید آهن به دلیل داشتن خواص کاتالیستی و هم‌چنین اندازه و مساحت بیش‌تر، با مولکول‌های زیستی مهم درون سلول باکتری‌ها برهم‌کنش داشته و اثرات ضدباکتریایی خوبی نشان می‌دهند (۱۸).

نانو ذرات اکسید آهن ممکن است سبب آسیب به غشای سلولی باکتری شود یا به‌طور مستقیم منجر به تغییر اجزای چربی غشا دیواره شود یا از طریق انتشار اکسیژن‌های فعال آسیب برساند که احتمال دارد در این صورت موجب آسیب‌های داخل سلولی شده که این امر منجر به خاصیت ضدباکتری قوی می‌شود (۱۹،۲۰). امواج فراصوت براساس تولید حباب‌های کوچک از طریق پدیده کاویتاسیون که در خلال بخش کم فشار صوت به‌وجود می‌آید منجر به تخریب مواد آلی می‌شود. دما و فشار زیاد که زمان آن ۲ میکروثانیه و اندازه آن ۲۰۰ میکرومتر است در خلال فروپاشی و فرو ریختن حباب‌ها ایجاد می‌شود و سبب پیرولیز مواد آلی و تولید رادیکال‌های بسیار واکنش‌پذیر نظیر HO_2° ، OH° ، H می‌گردد که در نهایت در واکنش‌های زنجیره‌ای شرکت کرده و سبب تجزیه مواد آلی می‌شود (۲۱،۲۲).

در فرآیند مذکور انرژی امواج فرا صوت برای تولید رادیکال هیدروکسیل به‌عنوان عامل اکسیدکننده فعال و به‌دنبال آن اکسیداسیون ترکیبات آلی مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این، H_2O_2 تولیدشده در نتیجه سونولیز آب همراه با حضور کاتالیست و نانوذرات آهن باعث افزایش تجزیه مواد آلی می‌شود (۲۳،۲۴). بنابراین هدف اصلی مطالعه حاضر سنتز و مشخصه‌یابی و تعیین خواص ضد باکتریایی نانوذرات مگنتیت آهن بود. این مطالعه با به‌کارگیری از

تشکیل شده (نانوذرات آهن) با قرار دادن یک آهنربای خارجی در لبه فلاسک جداسازی گردید. در نهایت نانوذرات Fe_3O_4 مغناطیسی چند بار با آب مقطر و اتانول شستشو داده شد و تحت شرایط خلا خشک گردید (۲۵). بعد از تهیه نانو ذرات، مشخصات فیزیکی و ساختاری این نانو ذرات با استفاده از روش های استاندارد میکروسکوپ الکترونی رویی (Scanning Electron Microscope: SEM)، پراش اشعه ایکس (X-ray powder diffraction: XRD)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (Transmission Electron Microscopy: TEM) و اندازه گیری سطح ویژه (Brunauer, Emmett and Teller: BET) مشخص گردید.

فرایند سونو فتون

در این مطالعه آزمایشی برای تعیین شرایط بهینه حذف سیروفلوکسازین در دمای اتاق ($25 \pm 1^\circ C$) صورت گرفت. در ابتدا با حل کردن سیروفلوکسازین با درجه خلوص بیش از ۹۵ درصد در آب مقطر، محلول استوک سیروفلوکسازین به صورت هفتگی تهیه شد. از اسید سولفوریک و سود با استفاده از دستگاه pH متر (مدل HANNA ساخت کشور رومانی) برای تنظیم pH محلول استفاده گردید. هم چنین امواج اولتراسوند توسط دستگاه اولتراسونیک با فرکانس 60 Hz و توان خروجی ۵۵۰ وات (Elma, Singen, Germany) تولید شد. سپس محلول های با غلظت های مورد نظر با استفاده از محلول استوک در یک ظرف شیشه ای به حجم ۲۰۰ میلی لیتر به عنوان راکتور تهیه شدند. به منظور تعیین اثر متغیرهای مستقل دوز نانو ذره مگنتیت (۰/۳، ۰/۵، ۰/۷ و ۱ گرم در لیتر)، پراکسید هیدروژن (۵، ۳، ۱، ۱۰ میلی مولار) و زمان تماس (۶۰-۰ دقیقه)، غلظت اولیه آنتی بیوتیک (۶۰، ۵۰، ۴۰، ۳۰، ۲۰ میلی گرم بر لیتر) و توان ۵۵۰ وات بر روی متغیر وابسته (تغییرات غلظت آنتی بیوتیک سیروفلوکسازین) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۲۶، ۲۷). برای انجام آزمایشات، ۱۰ میلی لیتر از نمونه در فواصل

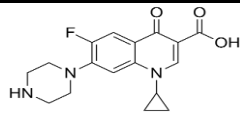
پراکسید هیدروژن، به عنوان منبع رادیکال هیدروکسیل و استفاده از امواج اولتراسونیک و کاتیون های فلزی (آهن)، به عنوان فعال کننده به منظور تجزیه و حذف آنتی بیوتیک سیروفلوکسازین از محیط های آبی انجام شد.

مواد و روش ها

مواد مصرفی

در این مطالعه تجربی سیروفلوکسازین از شرکت داروسازی تماد دارا تهران (خلوص ۹۹ درصد) خریداری شد. جدول شماره ۱ ساختار شیمیایی سیروفلوکسازین را نشان می دهد (۷). تمام مواد شیمیایی بکار گرفته در این مطالعه دارای گرید آزمایشگاهی و بدون خلوص سازی بیش تر مورد استفاده قرار گرفتند. پراکسید هیدروژن (H_2O_2 ۳۰ درصد)، کلرید آهن ($FeCl_2 \cdot 4H_2O$ ۹۹/۹ درصد)، کلرید فریک ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ۹۸ درصد)، اسید سولفوریک (H_2SO_4 ۹۸ درصد) و سود (NaOH) نیز از شرکت مرک، آلمان خریداری شد.

جدول شماره ۱: ساختار شیمیایی سیروفلوکسازین

ویژگی ها	Ciprofloxacin (CIP)
ساختار	
فرمول شیمیایی	$C_{17}H_{18}O_3N_3F$
وزن مولکولی (g/mol)	۳۳۱٫۳۴۶
حداکثر طول موج	۲۷۵ nm
حلالیت (mol/L)	۱۰ mg/mL

سنتز و مشخصه یابی نانوذرات Fe_3O_4

نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 براساس روش هم ترسیبی سنتز شد. بدین صورت که ۰/۰۴ مول کلرید آهن ۶ آبه ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) و ۰/۰۲ مول کلرید آهن چهار آبه ($FeCl_2 \cdot 4H_2O$) در ۵۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال حل شد. به طور همزمان ۵۰۰ میلی لیتر محلول ۱/۵ مولار هیدروکسید سدیم در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به صورت قطره ای اضافه شده و با گاز نیتروژن جابجایی می شوند. بعد از گذشت ۶۰ دقیقه، رسوب

زمانی معین از راکتور برداشته و به منظور حذف نانو ذرات، محلول با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید (۲۸). طبق استاندارد متد آزمایشات آب و فاضلاب از مایع رویی برای تعیین TOC استفاده گردید (۲۵).

تعیین خواص ضد باکتریایی نانوذرات مگنتیت آهن تعیین MIC و MBC

در این مطالعه، فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات آهن مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات سنتز شده از روش ماکرودیلوشن برات، طبق استاندارد مؤسسه استاندارد بالینی و آزمایشگاهی (CLSI)، استفاده شد (۲۹). بدین منظور، سویه های میکروبی استاندارد اشریشیا کلی (Escherichia coli) و استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus) از سازمان پژوهش های علمی صنعتی ایران (IROST) تهیه شدند (جدول شماره ۲).

ابتدا برای هر سویه باکتری، سوسپانسیون سلولی با کدورت نیم مک فارلند تهیه شد. در چاهک های پلیت الایزا ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینگتون برات اضافه شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذرات اکسید آهن به اولین چاهک حاوی محیط کشت اضافه شد. پس از مخلوط کردن نانوذرات با محیط کشت در چاهک اول، ۱۰۰ میکرولیتر از این مخلوط (محیط کشت + نانوذرات) را برداشته و به چاهک بعدی منتقل شد. این کار را تا آخرین چاهک تا پایان سری در غلظت های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۵۶ و ۰/۷۸ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمده در چاهک ادامه دادیم. در نهایت سوسپانسیون سلولی باکتریایی به طور جداگانه به چاهک ها اضافه شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای بهینه رشد باکتری قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد به عنوان شاخص خاصیت ضد باکتریایی نمونه ها براساس میلی متر اندازه گیری و ثبت شد. جهت جلوگیری از احتمال وقوع خطا در کلیه مراحل کار، این آزمایش ها

۲ بار تکرار گردید و نتایج با یکدیگر مقایسه شد. کم ترین غلظت نانوذراتی که باکتری ها را رشد می دهند به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum inhibitory concentration: MIC) و کم ترین غلظتی که تمام سلول های باکتری را از بین می برد، حداقل غلظت کشندگی (Minimum bactericidal concentration: MBC) را محاسبه می کند.

جدول شماره ۲: مشخصات سویه ای میکروبی استاندارد استفاده شده در مطالعه

شماره	نوع باکتری	گرم	شماره کلکسیون کشت های میکروبی نوع فارسی
۱	اشریشیا کلی	منفی	ATCC 1552
۲	استافیلوکوکوس اورئوس	مثبت	ATCC 1431

روش تجزیه و تحلیل

از اسپکتروفتومتر UV (مدل Shimadzu ساخت کشور ژاپن) برای اندازه گیری غلظت آنتی سیپروفلوکساسین در محلول (طول موج ۲۷۵ نانومتر) استفاده شد. از معادله شماره ۱ برای تعیین راندمان حذف استفاده شد.

$$\text{Removal (\%)} = (C_0 - C_t) / C_0 \times 100 \quad \text{معادله شماره ۱:}$$

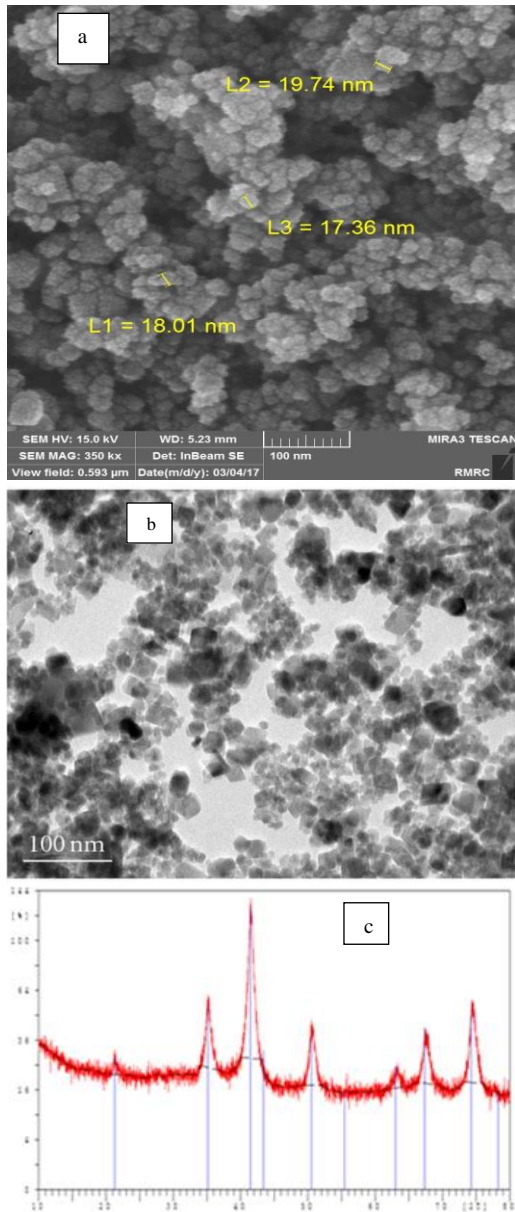
C_0 و C_t به ترتیب غلظت اولیه و غلظت باقیمانده سیپروفلوکساسین می باشد (۱۵).

pH محلول با pH متر (مدل HANN ساخت کشور رومانی) اندازه گیری شد. از ترازوی (مدل Shimadzu Libror ساخت کشور ژاپن) برای وزن کردن مواد استفاده شد.

یافته ها

مشخصات نانوذرات مگنتیت Fe_3O_4

نانوذره مغناطیسی آهن یک ترکیب آهنی با یک ساختار مکعبی است که خصوصیات الکتریکی و



تصویر شماره ۱: تصویر SEM (a)، TEM (b) و XRD (c) نانوذرات مگنتیت آهن

بررسی تاثیر دوزاز کاتالیست

نمودار شماره ۲ نشان می دهد با افزایش غلظت اولیه نانو کاتالیست ها تا مقدار معینی، کارایی حذف افزایش یافت. کارایی تجزیه فرایند از ۳۹/۵۸ درصد به ۵۸/۱۹ با تغییر غلظت کاتالیست از ۰/۳ تا ۰/۷ گرم بر لیتر افزایش یافت. اما در غلظت بالاتر از ۰/۷ تجزیه آنتی بیوتیک کاهش یافت، لذا غلظت ۰/۷ گرم بر لیتر به عنوان غلظت بهینه انتخاب گردید.

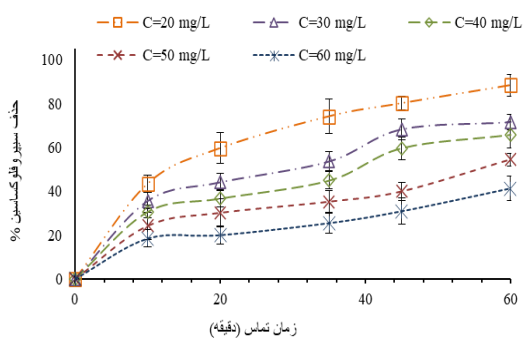
مغناطیسی آن سبب انتقال الکتریکی Fe^{+2} و Fe^{+3} در ساختار هشت وجهی آن می شود. هم چنین دارای یک ترکیب غیرسمی، آبدوست، از لحاظ شیمیایی پایدار و خاصیت مغناطیسی دارد. Fe_3O_4 در مقایسه با دیگر اکسیدهای آهن به دلیل وجود Fe^{+2} در ساختار آن، یک کاتالیست موثر است که می تواند نرخ تولید رادیکال هیدروکسیل را افزایش دهد (۳۱،۳۰). آنالیز میکروسکوپ روبشی الکترونی (SEM) جهت تصویربرداری از نمونه و تعیین ویژگی های سطحی و مورفولوژی آن استفاده می شود. تصویر شماره ۱(a) تصاویر SEM نانوذره با ساختار مکعبی را نشان می دهد که میانگین اندازه نانو ذرات مگنتیت تقریباً ۲۰-۳۰ نانومتر می باشد. تصویر شماره ۱(b) نشان دهنده تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نانو ذرات سنتز شده Fe_3O_4 است و همان طور که در شکل نیز دیده می شود سایز نانوذرات تقریباً یکنواخت است.

آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD) برای تعیین ساختار کریستالی مواد سنتز شده مورد استفاده قرار می گیرد. در تصویر شماره ۱(c) نتایج حاصل از آنالیز XRD با استفاده از پرتو $Cu\ K\alpha$ نشان می دهد که پیک های ایجاد شده در زوایای $\theta = 21.3^\circ, 35.2^\circ, 41.5^\circ, 50.7^\circ, 63.24^\circ, 67.49^\circ$ و 74.5° درجه طبق استاندارد JCPDS-190629، NO_2 مربوط به کریستال های مکعبی Fe_3O_4 است. همه پیک ها بر اساس استانداردهای JCPDS جاگذاری شده اند و این نشان می دهد که سنتز نانوذرات به درستی انجام گرفته است.

آنالیز اندازه گیری سطح ویژه BET: به منظور اندازه گیری مساحت سطح، اندازه منافذ نانوذرات، آنالیز BET با استفاده از روش جذب نیتروژن به کار گرفته شد. آنالیز عمل آمده بر روی نانوذرات سنتز شده، نشان داد که متوسط سطح ویژه ۰/۸۹ مترمربع بر گرم و اندازه متوسط حفرات ۹/۲۵ نانومتر است. سطح بالای نانوذرات سنتز شده گواه بر بالا بودن راندمان حذف ترکیبات توسط آن می باشد.

بررسی تاثیر غلظت آنتی بیوتیک

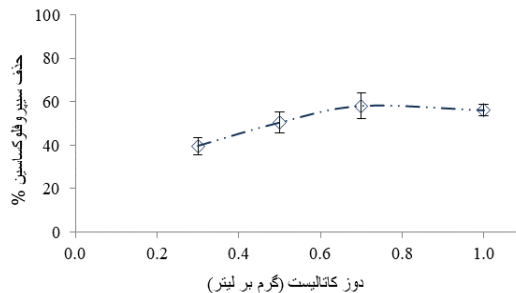
نتایج حاصل از تغییرات غلظت اولیه آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین بر کارایی فرایند در نمودار شماره ۴ نشان داده شده است. با افزایش غلظت آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین کارایی حذف کاهش می یابد، به طوری که در غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین حداکثر کارایی حذف در مدت زمان ۶۰ دقیقه برابر ۸۸/۳۶ درصد بوده است و با افزایش غلظت آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین به ۶۰ میلی گرم بر لیتر کارایی فرآیند به ۴۱/۲۸ درصد کاهش یافته است، بنابراین غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر به عنوان غلظت بهینه انتخاب گردید.



تصویر شماره ۴: اثر غلظت اولیه سیپروفلوکساسین

بررسی تاثیر pH

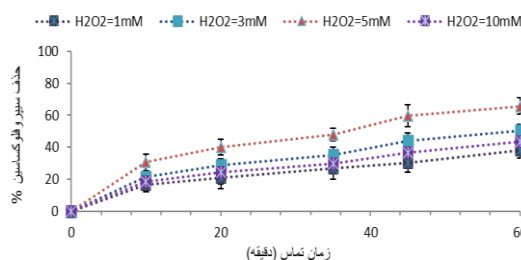
اثر pH اولیه بر روی تجزیه آنتی بیوتیک با متغیر بودن pH از ۳ تا ۹ در غلظت اولیه آنتی بیوتیک ۲۰ میلی گرم بر لیتر، غلظت اکسیدان ۵ میلی مولار و غلظت کاتالیست ۰/۷ گرم بر لیتر زمان تماس ۶۰ دقیقه بررسی شد. نمودار شماره ۵ نشان می دهد کارایی تجزیه از ۸۸/۳۶ درصد به ۵۴/۳۸ درصد به ترتیب از pH=۳ به ۵ کاهش یافت. بر این اساس بیشترین کارایی در حذف آنتی بیوتیک مربوط به pH=۳ و به میزان ۸۸/۳۶ درصد به دست آمد و به عنوان pH بهینه انتخاب گردید.



تصویر شماره ۲: اثر دوز کاتالیست

بررسی تاثیر غلظت اکسیدان

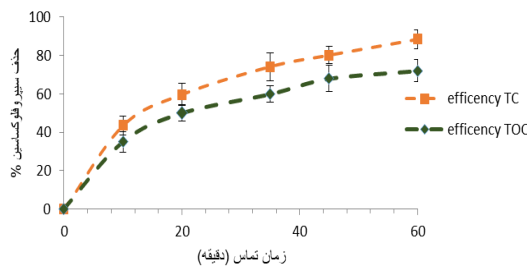
به منظور بررسی غلظت های مختلف پراکسید هیدروژن و تعیین دوز بهینه، این ماده در غلظت های ۱ تا ۱۰ میلی مولار مورد بررسی قرار گرفت (نمودار شماره ۳). افزودن پراکسید هیدروژن به محلول، باعث افزایش سرعت واکنش در فرایند سونوکاتالیستی گردید. همان طور که نتایج نشان داد افزودن پراکسید هیدروژن از غلظت ۱ به ۵ میلی مولار باعث افزایش راندمان از ۳۸/۱۱ به ۶۵/۷۲ درصد می شود. در حالی که افزودن بیش از ۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن باعث کاهش کارایی راندمان حذف می گردد. قابل ذکر است که پراکسید هیدروژن در غلظت های بالاتر از ۵ میلی مولار به عنوان یک مداخله گر عمل کرده و با رادیکال های هیدروکسیل در محیط مایع وارد واکنش شده و از حمله آن ها به مولکول های سیپروفلوکساسین جلوگیری می کند، در نتیجه میزان ۵ میلی مولار از پراکسید هیدروژن به عنوان غلظت بهینه در نظر گرفته شد.



تصویر شماره ۳: بررسی اثر غلظت پراکسید هیدروژن

تعیین میزان معدنی سازی

جهت بررسی میزان معدنی شدن سیروفلوکساسین توسط فرایند اولتراسوند/پراکسید هیدروژن/نانوذرات مگنتیت تحت شرایط بهینه به دست آمده pH اولیه ۳، دوز کاتالیست ۰/۷ گرم برلیتر، غلظت پراکسید هیدروژن ۵ میلی مولار، غلظت سیروفلوکساسین ۲۰ میلی گرم در لیتر، توان امواج اولتراسونیک ۵۵۰ وات آزمایش TOC انجام گرفت (تصویر شماره ۸)، نتایج آزمایش نشان داد که با وجود حذف بیش از ۸۸/۳۶ درصد سیروفلوکساسین، میزان حذف TOC در حدود ۴۷/۷۸ درصد بود و این امر بیانگر آن است که ترکیب سیروفلوکساسین در خلال فرایند به طور کامل به ماده معدنی (دی اکسید کربن و آب) تبدیل نمی شود.

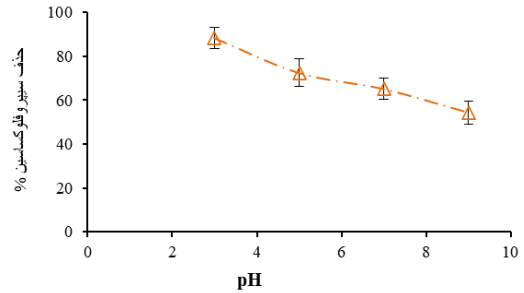


تصویر شماره ۸: میزان معدنی سازی و تجزیه سیروفلوکساسین

بررسی کارایی فرایندهای مختلف به منظور حذف

سیروفلوکساسین

به منظور بررسی کارایی فرایند اولتراسوند/پراکسید هیدروژن/نانوذرات مگنتیت در مقابل فرایندهای اولتراسوند به تنهایی (US)، پراکسید هیدروژن به تنهایی (hydrogen peroxide)، نانوذرات مگنتیت به تنهایی (MNPs)، اولتراسوند/پراکسید هیدروژن (hydrogen peroxide/US)، پراکسید هیدروژن/نانوذرات مگنتیت (MNPs/hydrogen peroxide) و نانوذرات مگنتیت/ اولتراسوند (MNPs/US) برای حذف آنتی بیوتیک سیروفلوکساسین تحت شرایط مشابه، آزمایشات صورت گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد به تنهایی اولتراسوند، پراکسید هیدروژن و مگنتیت تاثیر



تصویر شماره ۵: اثر pH اولیه محلول

مطالعات سینتیکی حذف سیروفلوکساسین

نتایج حاصل از بررسی مدل های سینتیک درجه صفر، اول و دوم در زمان واکنش های مختلف قابل تعیین است. برای توصیف رفتار تخریب سیروفلوکساسین توسط فرایند مدل های سینتیکی صفر، درجه اول و درجه دوم تحت شرایط بهینه بررسی و انجام گردید. معادلات غیر خطی این مدل ها را می توان به صورت زیر بیان کرد:

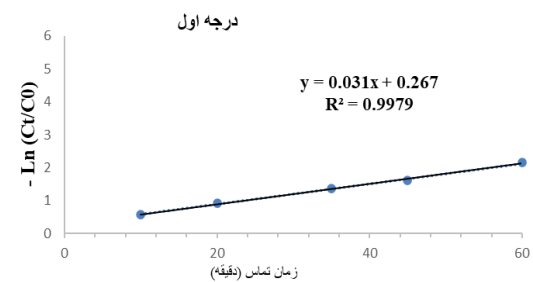
$$C_t = C_0 - k_0 t \quad (4)$$

$$\ln C_t / C_0 = -k_1 t \quad (5)$$

$$1/C_t - 1/C_0 = k_2 t \quad (6)$$

C_0 غلظت اولیه آنتی بیوتیک (میلی گرم بر لیتر)، C_t غلظت آنتی بیوتیک در زمان t (میلی گرم بر لیتر)، t زمان تماس (دقیقه) و k ثابت سرعت تجزیه (یک بر دقیقه).

نتایج نشان داد حذف سیروفلوکساسین طی فرایند سینتیک درجه اول با وابستگی خوب ($R^2 > 0.96$) پیروی می کند. همبستگی بین داده های تجربی با مدل های کینتیکی در تصویر شماره ۶ نشان داده شده است. مدل صفر و درجه دوم یک همبستگی ضعیف با داده های تجربی دارند.



تصویر شماره ۶: مدل کینتیکی مرتبه اول حذف سیروفلوکساسین

رادیکال هیدروکسیل، مانع افزایش راندمان حذف آنتی بیوتیک به وسیله رادیکال هیدروکسیل می شود (۳۲). حضور نانو ذرات مگنتیت در فرایند کاتالیستی، هسته ها و سطوح اضافی برای کاویتاسیون فراهم می آورند که متعاقب آن تعداد حباب ها و رادیکال ها افزایش خواهند یافت (معادله شماره ۵-۲) (۳۴،۳۳).

نتایج مطالعه Katsumata و همکاران که به وسیله فرایند سونوفوتون انجام شد، نشان داد که راندمان حذف علف کش لینورین با افزایش غلظت یون فرو از غلظت ۰/۵ تا ۱ میلی مول در لیتر افزایش یافته ولی بعد از آن راندمان کم شده است (۳۵).

در مطالعه ای Zhou و همکاران، مشاهده کردند که غلظت یون فرو باعث افزایش راندمان حذف تا یک غلظت مشخص شده است و بعد از آن راندمان کاهش یافته است (۳۶).

رابطه شماره ۲: $Fe^{3+} + H_2O_2 \rightarrow Fe - O_2H^{2+} + H^+$

رابطه شماره ۳: $Fe - O_2H^{2+} + US\ waves \rightarrow Fe^{2+} + HO_2$

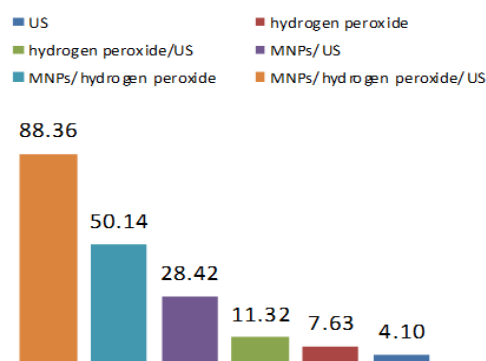
رابطه شماره ۴: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^{\cdot}$

رابطه شماره ۵: $Fe^{3+} + HO_2^{\cdot} \rightarrow Fe^{2+} + O_2 + H$

بررسی تاثیر غلظت پراکسید هیدروژن

در فرآیند اکسیداسیون سونوفوتون، هیدروژن پراکسید به عنوان منبع تولید رادیکال هیدروکسیل است که طبق رابطه شماره ۴ با انجام واکنش با یون های دو ظرفیتی آهن باعث تولید رادیکال هیدروکسیل می گردد که یکی از رادیکال های با عدد اکسیداسیون و احیای بالا می باشد. با افزایش غلظت هیدروژن پراکسید تا حد خاصی، باعث افزایش تولید رادیکال هیدروکسیل و در نتیجه افزایش کارایی فرآیند می شود. نتایج نشان داد که افزایش بیش از حد غلظت هیدروژن پراکسید کاهش کارایی فرایند را در پی خواهد داشت (۳۷). در غلظت های بالا، هیدروژن پراکسید به عنوان اسکاونجر رادیکال هیدروکسیل عمل خواهد نمود. هم چنین در غلظت های بالای هیدروژن

ناچیزی بر حذف سیپروفلوکساسین داشته است که می تواند با عدم تولید رادیکال هیدروکسیل مرتبط باشد. بالاترین راندمان حذف مربوط به فرایند تلفیقی با راندمان حذف ۸۸/۳۶ درصد بوده است که این راندمان بالا ناشی از اثر مستقیم واکنش بین عوامل فوتون با امواج اولتراسونیک بوده که منجر به تولید رادیکال های هیدروکسیل بسیار زیادی می شود.



تصویر شماره ۷: تخریب سیپروفلوکساسین در فرایندهای مختلف

بررسی خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات مگنتیت سنتز شده جدول شماره ۳ نتایج حاصل تأثیر خاصیت آنتی باکتریال نانوذرات مگنتیت آهن رابر سویه باکتری گرم منفی و گرم مثبت را با مقادیر MIC و MBC نشان می دهد.

جدول شماره ۳: نتایج تست های ضدباکتریایی نانوذرات مگنتیت آهن

سویه باکتری	حداقل غلظت مهارکننده (µg/mL)	حداقل غلظت کشندگی (µg/mL)
اشرشیاکلی	۳/۱۲۵	۶/۲۵
استافیلوکوکوس ائوروس	۱/۵۶	۳/۱۲۵

بحث

اثر غلظت نانوذرات مگنتیت

نتایج نشان داد که با افزایش دوز نانو ذره از ۰/۳ به ۰/۷ g/L تجزیه آنتی بیوتیک افزایش می یابد. راندمان کم تر در غلظت های بالاتر نانو ذره (بیش تر از ۰/۷ g/L) ناشی از تولید کم تر رادیکال های هیدروکسیل می باشد. هم چنین افزایش بیش تر یون فرو به دلیل ترکیب این یون با رادیکال هیدروکسیل و از دسترس خارج شدن

پراکساید، دو مولکول رادیکال هیدروکسیل باهم واکنش داده و باعث تولید مجدد هیدروژن پراکساید خواهد شد (۳۹،۳۸).

در مطالعه‌ای که Zhang و همکاران با استفاده از فرایند سونوفتون بر روی حذف زنگ انجام دادند، مشاهده کردند که افزایش غلظت پراکسید هیدروژن از ۰/۸ به ۱/۹۴ باعث افزایش راندمان می‌شود و بعد از آن، با افزایش غلظت راندمان کاهش می‌یابد (۴۰). نتایج مطالعه Monteagudo و همکاران نیز نشان داد افزایش غلظت پراکسید هیدروژن تا یک غلظت مشخص باعث افزایش راندمان حذف می‌شود و بعد از آن باعث کاهش می‌شود (۴۱).

بررسی تاثیر غلظت سیپروفلوکساسین

نتایج حاصل از تغییرات غلظت اولیه آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین در نمودار شماره ۴ نشان داده شده است. با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین کارایی حذف کاهش می‌یابد، به طوری که در غلظت ۲۰ میلی‌گرم برلیتر آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین حداکثر کارایی حذف در مدت زمان ۶۰ دقیقه برابر ۸۸/۳۶ درصد بوده است و با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین به ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر کارایی حذف فرآیند به ۴۱/۲۸ درصد کاهش یافته است. با افزایش مقدار آلاینده میزان مصرف رقابتی رادیکال‌های هیدروکسیل به وسیله محصولات میانی افزایش یافته و این امر کاهش کارایی حذف را به دنبال داشته است (۴۲). در مطالعه‌ای حکیمی و همکاران در سال ۲۰۲۰ تجزیه سیپروفلوکساسین را با استفاده از فرایند فتوکاتالیستی بررسی کردند و نتایج نشان داد که سرعت تجزیه به غلظت اولیه سیپروفلوکساسین وابسته است (۴۳).

بررسی تاثیر pH

نتایج حاصل از تاثیر pH در حذف سیپروفلوکساسین در نمودار شماره ۵ نشان داده شده است. بر این اساس

بیشترین کارایی فرایند سونوفتون در حذف آنتی‌بیوتیک مربوط به pH اسیدی می‌باشد. در فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته، pH تاثیر مستقیم در مدت پایداری پراکسید هیدروژن، میزان تولید رادیکال هیدروکسیل و تعیین گونه و حالت آهن موجود در محلول دارد. با افزایش pH محیط و ایجاد شرایط قلیایی محلولیت یون فرو کاهش یافته و آهن به شکل کلویدی تشکیل شده که این امر باعث تولید گونه‌های فریک شده که خود باعث تجزیه سریع پراکسید هیدروژن به اکسیژن و آب شده، در نتیجه کاهش کارایی حذف را به دنبال خواهد داشت (۴۵،۴۴).

در فرایندهای مشابه، در pH‌های بالای ۵، پراکسید هیدروژن به دلیل ناپایداری در ساختار، سریع به آب تجزیه می‌شود. Elmolla و Chaudhuri نیز در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که در pH پایین به علت تشکیل یون‌های اکسونیم، پراکسید هیدروژن ثابت‌تر است و یون‌های اکسونیم پایداری پراکسید هیدروژن را بهبود می‌بخشد (۴۶).

بررسی مدل سینتیکی

جهت بررسی میزان حذف سیپروفلوکساسین در غلظت‌های مختلف و مقایسه آن‌ها با یکدیگر، سینتیک واکنش تعیین گردید (تصویر شماره ۶). سینتیک واکنش‌ها بیان‌کننده سرعت واکنش هستند. از نظر تئوری، سرعت واکنش، سرعت کاهش واکنشگرها یا سرعت افزایش محصولات را بیان می‌کند و با غلظت مواد واکنش دهنده که به توان‌های گوناگونی رسیده باشد تناسب مستقیم دارد. نتایج حاصل از آزمایش‌ها حاکی از آن بود که روند حذف سیپروفلوکساسین در همه غلظت‌ها از سینتیک درجه اول پیروی می‌کند (۴۷،۴۸).

Giri و همکاران بر روی تجزیه سیپروفلوکساسین با استفاده از فرایند فتون مطالعه‌ای انجام دادند، نتایج نشان داد که سینتیک واکنش تجزیه سیپروفلوکساسین از نوع درجه اول بوده است (۴۹).

میزان معدنی سازی

نتایج حاصل از آنالیز COD در نمودار شماره ۷ نشان داد که در تصفیه آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین با استفاده از فرایند سونوفتوتون میزان معدنی سازی حدود ۷۹/۸۵ درصد بود. عدم معدنی سازی کامل سیپروفلوکساسین توسط این فرایند نشان دهنده تشکیل فراورده های جانبی ناشی از تجزیه سیپروفلوکساسین طی فرایند و پایداری ساختاری اکثر آنتی بیوتیک ها می باشد و همچنین بیانگر آن است که ترکیب سیپروفلوکساسین در خلال فرایند به طور کامل به ماده معدنی تبدیل نمی شود (۵۱،۵۰). بنابراین فرایند اکسیداسیون پیشرفته یا ترکیبات آلی را به طور کامل به ماده معدنی تبدیل نموده یا این که ساختار ترکیب آلی را به ساختاری که حداقل مقاومت را در مقابل تجزیه پذیری بیولوژیکی داشته باشند، تبدیل می نماید (۵۲). هیدروژن پراکسید یک اکسیدکننده قوی می باشد و به دلیل هزینه کم و کارایی بالا می تواند برای تجزیه و معدنی سازی پساب های حاوی بالای سیپروفلوکساسین مورد استفاده قرار بگیرد (۵۳،۴۹).

در مطالعه ای که توسط Bremner و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی کارایی حذف ۴،۲ کلروفونوکسی استیک اسید به وسیله سونوفتوتون انجام شد، راندمان حذف TOC به وسیله اولتراسونیک بعد از مدت زمان ۶۰ دقیقه ۱۱ درصد بود اما زمانی که از فرآیند سونوفتوتون استفاده شد راندمان به ۶۴ درصد افزایش یافت (۵۴).

منفی اشرفیاکلی با میزان حداقل غلظت مهاری بیش تر، مقاومت بیش تری نسبت به نانوذرات آهن در مقایسه با باکتری استافیلوکوکوس اوروس دارد.

Subhi و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطالعه ای بر روی اثرات ضد باکتریایی نانوذرات آهن بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشرفیاکلی انجام دادند و نتایج نشان داد که نانوذرات آهن بر روی استافیلوکوکوس اورئوس تاثیر داشته ولی بر اشرفیاکلی اثر کمتری داشته است (۵۵). هم چنین در مطالعه Wang در سال ۲۰۱۷ اثرات ضد قارچی و در مطالعه Brahmchari در سال ۲۰۲۳ اثر ضدانگلی نانوذرات آهن اثبات شدند (۵۶،۵۷).

نانو کاتالیست Fe_3O_4 به عنوان یک کاتالیست فعال برای حذف آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین از محلول های آبی تهیه شد. شرایط بهینه انجام آزمایش عبارتند از $pH=3$ ، غلظت پراکسید هیدروژن ۵ میلی مول بر لیتر، غلظت کاتالیست ۰/۷ گرم بر لیتر، در زمان واکنش ۶۰ دقیقه و غلظت آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین ۲۰ میلی گرم بر لیتر. نانوذرات سنتز شده، علاوه بر خاصیت سونوکاتالیستی برای حذف آلاینده، دارای خاصیت ضد باکتریایی بالایی نیز می باشند. این نانوذرات می توانند برای مهار و از بین بردن باکتری های گرم مثبت و منفی و دیگر سویه های مقاوم باکتری ها استفاده شود.

سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی با کد طرح IR.NKUMS.REC.1402.155 و کد اخلاق ۴۰۲۰۱۴۲ تحت حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری آن دانشگاه به انجام رسیده است.

ارزیابی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات مگنتیت آهن

حداقل غلظت مهاری در برابر استافیلوکوکوس اورئوس ۱/۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس ۳/۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود. این مقادیر برای برای باکتری اشرفیاکلی به ترتیب ۳/۱۲۵ و ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد و به طور کلی نتایج نشان داد که باکتری گرم

References

- Al-Buriahi AK, Al-shaibani MM, Mohamed RMSR, Al-Gheethi AA, Sharma A, Ismail N. Ciprofloxacin removal from non-clinical environment: A critical review of current methods and future trend prospects. *J Water Process Eng* 2022; 47(6): 102725.
- Halling-Sørensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhøft HC, Jørgensen SE. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere* 1998; 36(2): 357-393.
- Tolls J. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environ Sci Technol* 2001; 35(17): 3397-3406.
- Gilliver MA, Bennett M, Begon M, Hazel SM, Hart CA. Antibiotic resistance found in wild rodents. *Nature* 1999; 401(6750): 233-234.
- Sarmah AK, Meyer MT, Boxall ABA. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 2006; 65(5): 725-759.
- Boxall ABA, Kolpin DW, Halling-Sørensen B, Tolls J. Are veterinary medicines causing environmental risks? *Environ Sci Technol* 2003; 37(15): 286A-294A.
- Elmolla ES, Chaudhuri M. Comparison of different advanced oxidation processes for treatment of antibiotic aqueous solution. *Desalination* 2010; 256(1-3): 43-47.
- Ericson JF, Laenge R, Sullivan DE. Comment on "Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance". *Environ Sci Technol* 2002; 36(18): 1202-1211.
- Halling-Sørensen B, Holten Lützhøft HC, Andersen HR, Ingerslev F. Environmental risk assessment of antibiotics: Comparison of mecillinam, trimethoprim and ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46(SUPPL 1): 53-58; discussion 63-65.
- Javan F, Zazouli MA, Babanezhad E, Gholami-Borujeni F. Removal efficiency of enzyme horseradish peroxidase in removal of tetracycline and ciprofloxacin from synthetic wastewater. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2020; 30(189): 95-106 (Persian).
- Martins AF, Vasconcelos TG, Henriques DM, Frank C da S, König A, Kümmerer K. Concentration of ciprofloxacin in Brazilian hospital effluent and preliminary risk assessment: A case study. *Clean - Soil, Air, Water* 2008; 36(3): 264-269.
- Hayes A, May Murray L, Catherine Stanton I, Zhang L, Snape J, Hugo Gaze W, et al. Predicting selection for antimicrobial resistance in UK wastewater and aquatic environments: Ciprofloxacin poses a significant risk. *Environ Int* 2022; 169: 107488.
- Kelly KR, Brooks BW. Global Aquatic Hazard Assessment of Ciprofloxacin: Exceedances of Antibiotic Resistance Development and Ecotoxicological Thresholds. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2018; 159: 59-77.
- Lima VB, Goulart LA, Rocha RS, Steter JR, Lanza MRV. Degradation of antibiotic ciprofloxacin by different AOP systems using electrochemically generated hydrogen peroxide. *Chemosphere* 2020; 247: 125807.
- Igwegbe CA, Ahmadi S, Rahdar S, Ramazani A, Mollazehi AR. Efficiency comparison of advanced oxidation processes for ciprofloxacin removal from aqueous solutions: Sonochemical,

- sono-nano-chemical and sono-nano-chemical/persulfate processes. *Environ Eng Res* 2020; 25(2): 178-185.
16. Jun LZ, Quan WJ, Cheng YZ, Wang Y, Wen MY. Efficient removal of ciprofloxacin by heterogeneous electro-Fenton using natural air-cathode. *Chem Eng J* 2022; 433: 133767.
 17. Yao B, Luo Z, Yang J, Zhi D, Zhou Y. FeII/FeIII layered double hydroxide modified carbon felt cathode for removal of ciprofloxacin in electro-Fenton process. *Environ Res* 2021; 197: 111144.
 18. Santhosh C, Kollu P, Doshi S, Sharma M, Bahadur D, Vanchinathan MT, et al. Adsorption, photodegradation and antibacterial study of graphene-Fe₃O₄ nanocomposite for multipurpose water purification application. *RSC Adv* 2014; 4(54): 28300-28308.
 19. Shahzeidi ZS, Amiri G. Antibacterial activity of Fe₃O₄ nanoparticles. *Int J Bio-Inorg Hybrid Nanomater* 2015; 4(3): 135-140.
 20. Zaman MM, Karal MAS, Khan MNI, Tareq ARM, Ahammed S, Akter M, et al. Eco-Friendly Synthesis of Fe₃O₄ Nanoparticles Based on Natural Stabilizers and Their Antibacterial Applications. *Chemistry Select* 2019; 4(27): 7824-7831.
 21. González Labrada K, Alcorta Cuello DR, Saborit Sánchez I, García Batle M, Manero MH, Barthe L, et al. Optimization of ciprofloxacin degradation in wastewater by homogeneous sono-Fenton process at high frequency. *J Environ Sci Heal-Part A Toxic/Hazardous Subst Environ Eng* 2018; 53(13): 1139-1148.
 22. Pirsahab M, Moradi S, Shahlaei M, Wang X, Farhadian N. Ultrasonic Enhanced Zero-Valent Iron-Based Fenton Reaction for Ciprofloxacin Removal under Aerobic Condition. *Environ Process* 2020; 7(1): 227-241.
 23. Abdili T, Fazlzadeh M, Alighadri M, Rahmani K. Efficiency of sonofenton degradation in removal of sulfacetamide from aqueous solutions using nanoscale zerovalent iron particles. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2017; 27(154): 130-146 (Persian).
 24. Hu Y, Wang G, Huang M, Lin K, Yi Y, Fang Z, et al. Enhanced degradation of metronidazole by heterogeneous sono-Fenton reaction coupled ultrasound using Fe₃O₄ magnetic nanoparticles. *Environ Technol* 2017; (just-accepted): 1-22.
 25. Wang J, Zheng S, Shao Y, Liu J, Xu Z, Zhu D. Amino-functionalized Fe₃O₄@SiO₂ core-shell magnetic nanomaterial as a novel adsorbent for aqueous heavy metals removal. *J Colloid Interface Sci* 2010; 349(1): 293-299.
 26. Firouzeh N, Malakootian M, Asadzadeh SN, Khatami M, Makarem Z. Degradation of Ciprofloxacin Using Ultrasound/ZnO/Oxone Process from Aqueous Solution-Lab-Scale Analysis and Optimization. *Bionanoscience* 2021; 11(2): 306-313.
 27. Pourshaban-Mazandarani M, Ahmadian M, Nasiri A, Poormohammadi A. CuCoFe₂O₄@AC magnetic nanocomposite as a novel heterogeneous Fenton-like nanocatalyst for Ciprofloxacin degradation from aqueous solutions. *Appl Water Sci* 2023; 13(179).
 28. Jaafarzadeh N, Takdastan A, Jorfi S, Ghanbari F, Ahmadi M, Barzegar G. The performance study on ultrasonic/Fe₃O₄/H₂O₂ for degradation of azo dye and real textile wastewater treatment. *J Mol Liq* 2018; 256: 462-470.
 29. Khatami M, Aflatoonian MR, Azizi H, Mosazade F, Hooshmand A, Lima Nobre MA, et al. Evaluation of Antibacterial Activity of Iron Oxide Nanoparticles Against *Escherichia coli*. *Int J Basic Sci Med* 2017; 2(4): 166-169.

30. Kumari M, Pittman CU, Mohan D. Heavy metals [chromium (VI) and lead (II)] removal from water using mesoporous magnetite (Fe₃O₄) nanospheres. *J Colloid Interface Sci* 2015; 442: 120-132.
31. Hou B, Han H, Jia S, Zhuang H, Xu P, Wang D. Heterogeneous electro-Fenton oxidation of catechol catalyzed by nano-Fe₃O₄: Kinetics with the Fermi's equation. *J Taiwan Inst Chem Eng* 2015; 56: 138-147.
32. Wei H, Hu D, Su J, Li K. Intensification of levofloxacin sono-degradation in a US/H₂O₂ system with Fe₃O₄ magnetic nanoparticles. *Chinese J Chem Eng* 2015; 23(1): 296-302.
33. Özdemir C, Öden MK, Şahinkaya S, Güçlü D. The sonochemical decolorisation of textile azo dye CI Reactive Orange 127. *Color Technol* 2011; 127(4): 268-273.
34. Wang N, Zheng T, Zhang G, Wang P. A review on Fenton-like processes for organic wastewater treatment. *J Environ Chem Eng* 2016; 4(1): 762-787.
35. Katsumata H, Kobayashi T, Kaneco S, Suzuki T, Ohta K. Degradation of linuron by ultrasound combined with photo-Fenton treatment. *Chem Eng J* 2011; 166(2): 468-473.
36. Zhou T, Zou X, Wu X, Mao J, Wang J. Synergistic degradation of antibiotic norfloxacin in a novel heterogeneous sonochemical Fe₀/tetrphosphate Fenton-like system. *Ultrason Sonochem* 2017; 37: 320-327.
37. Wang N, Zhu L, Wang M, Wang D, Tang H. Sono-enhanced degradation of dye pollutants with the use of H₂O₂ activated by Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as peroxidase mimetic. *Ultrasonics Sonochemistry* 2010; 17(1): 78-83.
38. Munoz M, de Pedro ZM, Casas JA, Rodriguez JJ. Preparation of magnetite-based catalysts and their application in heterogeneous Fenton oxidation- A review. *Appl Catal B Environ* 2015; 176-177: 249-265.
39. Khataee A, Gholami P, Vahid B. Heterogeneous sono-Fenton-like process using nanostructured pyrite prepared by Ar glow discharge plasma for treatment of a textile dye *Ultrasonics Sonochemistry* 2016; 29: 213-225.
40. Zhang Z, Zheng H. Optimization for decolorization of azo dye acid green 20 by ultrasound and H₂O₂ using response surface methodology. *J Hazard Mater* 2009; 172(2-3): 1388-1393.
41. Monteagudo JM, Durán A, San Martín I. Mineralization of wastewater from the pharmaceutical industry containing chloride ions by UV photolysis of H₂O₂/Fe(II) and ultrasonic irradiation. *J Environ Manage* 2014; 141: 61-69.
42. Basturk I, Varank G, Murat-Hocaoglu S, Yazici-Guvenc S, Can-Güven E, Oktem-Olgun EE, et al. Simultaneous degradation of cephalexin, ciprofloxacin, and clarithromycin from medical laboratory wastewater by electro-Fenton process. *J Environ Chem Eng* 2021; 9(1): 104666.
43. Hakimi M, Alikhani M. Characterization of α -Fe₂O₃ Nanoparticles Prepared from a New [Fe(Ofloxacin)₂Cl₂] Precursor: A Heterogeneous Photocatalyst for Removal of Methylene Blue and Ciprofloxacin in Water. *J Inorg Organomet Polym Mater* 2020; 30(2): 504-512.
44. Liu Z, Wan J, Ma Y, Wang Y. In situ synthesis of FeOCl@MoS₂ on graphite felt as novel electro-Fenton cathode for efficient degradation of antibiotic ciprofloxacin at mild pH. *Chemosphere* 2021; 273: 129747.
45. Aseman-Bashiz E, Rezaee A, Moussavi G. Ciprofloxacin removal from aqueous solutions

- using modified electrochemical Fenton processes with iron green catalysts. *Journal of Molecular Liquids* 2021; 324: 114694.
46. Elmolla E, Chaudhuri M. Optimization of Fenton process for treatment of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution. *J Hazard Mater* 2009; 170(2-3): 666-672.
47. De Lima Perini JA, Perez-Moya M, Nogueira RFP. Photo-Fenton degradation kinetics of low ciprofloxacin concentration using different iron sources and pH. *J Photochem Photobiol A Chem* 2013; 259: 53-58.
48. Mondal SK, Saha AK, Sinha A. Removal of ciprofloxacin using modified advanced oxidation processes: Kinetics, pathways and process optimization. *J Clean Prod* 2018; 171: 1203-1214.
49. Giri AS, Golder AK. Ciprofloxacin degradation from aqueous solution by Fenton oxidation: Reaction kinetics and degradation mechanisms. *RSC Adv* 2014; 4(13): 6738-6745.
50. Shoorangiz M, Nikoo MR, Salari M, Rakhshandehroo GR, Sadegh M. Optimized electro-Fenton process with sacrificial stainless steel anode for degradation/mineralization of ciprofloxacin. *Process Saf Environ Prot* 2019; 132: 340-350.
51. Wang A, Zhang Y, Zhong H, Chen Y, Tian X, Li D, et al. Efficient mineralization of antibiotic ciprofloxacin in acid aqueous medium by a novel photoelectro-Fenton process using a microwave discharge electrodeless lamp irradiation. *J Hazard Mater* 2018; 342: 364-374.
52. Ji R, Dong Y, Zhao H, Pan C, Wang G, Zhu Y, Li J. Z-scheme cobalt-iron oxide/perylene diimide supermolecule heterojunction for high-efficiency ciprofloxacin removal in a photocatalysis-self-Fenton system. *J Colloid Interface Sci* 2023; 648: 623-632.
53. Salari M, Nikoo MR, Al-Mamun A, Rakhshandehroo GR, Mooselu MG. Optimizing Fenton-like process, homogeneous at neutral pH for ciprofloxacin degradation: Comparing RSM-CCD and ANN-GA. *J Environ Manage* 2022; 317: 115469.
54. Bremner DH, Carlo S Di, Chakinala AG, Cravotto G. Mineralisation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by acoustic or hydrodynamic cavitation in conjunction with the advanced Fenton process. *Ultrasonics Sonochemistry* 2008; 15(4): 416-419.
55. Subhi H. Activity of Iron Oxide Nanoparticles-Chitosan Composite on Bacterial Biofilm Formation. *International Conference on Pure and Applied Sciences* 2018: 7-10.
56. Wang X, Cai A, Wen X, Jing D, Qi H, Yuan H. Graphene oxide-Fe₃O₄ nanocomposites as high-performance antifungal agents against *Plasmopara viticola*. *Sci China Mater* 2017; 60(3): 258-268.
57. Brahmchari RK, Kumari P, Kumar S, Sharma R, Pani Prasad K, Srivastava PP, et al. Antiparasitic effect of biogenic iron nanoparticles against the ish ectoparasite *Argulus siamensis*: In vitro study. *Indian J Fish* 2023; 70(3): 107-115.