

Investigation the antibacterial and photocatalytic properties of green synthesized manganese-ferrite based nanocomposite

Fatemeh Sadat Arghavan

Master, Student Research Committee, Department of Environmental Health, Engineering, Faculty of Health, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Hosein Alidadi

Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Negin Nasseh

Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

Assistant Professor, Department of Health Promotion and Education, School of Health, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

Behnam Barikbin

* Professor, Social Determinants of Health Research Center, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Received: 2022/12/11

Accepted: 2023/03/01

Document Type: Research article

Doi:10.22038/jreh.2023.64998.1510

ABSTRACT

Background and purpose: Removing pharmaceutical substances from wastewater is essential due to their high stability and toxic effects on humans and other living organisms before they enter the environment. Green-synthesized nanocomposites possess significant abilities to degrade pharmaceutical compounds and exhibit antibacterial effects. Therefore, this study aimed to investigate the photocatalytic and antibacterial effects of a green-synthesized magnetic nanocomposite.

Materials and Methods: In this experimental study, the photocatalytic process was conducted on a solution containing tetracycline to examine the photocatalytic capabilities of the synthesized nanocomposite. The antibacterial effect of the nanocomposite was also assessed on Gram-negative and Gram-positive bacteria using the broth dilution method.

Results: The results of the tetracycline antibiotic photocatalytic degradation test showed a removal rate of 87.95% under the following conditions: pH = 7, nanocomposite dose = 0.26 g/L, contact time = 54 min, and initial TC concentration of 10 mg/L. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the synthesized nanocomposite was determined to be 1.25 mg/mL for *Staphylococcus aureus* bacteria and 5 mg/mL for *Escherichia coli* and *Klebsiella* bacteria. The minimum bactericidal concentration (MBC) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria was found to be 5 mg/mL.

Conclusion: In addition to the inhibitory and bactericidal capabilities of the manganese-ferrite-based nanocomposite, it can be utilized as a powerful catalyst for the degradation of tetracycline antibiotics in aqueous solutions.

Keywords: Magnetic nanocomposite, Tetracycline, Minimum inhibitory concentration, Minimum bactericidal concentration

Citation: Arghavan FS, Alidadi H, Nasseh N, Barikbin B. Investigation the antibacterial and photocatalytic properties of green synthesized manganese-ferrite based nanocomposite. *Journal of Research in Environmental Health*. 2023; 9(1):23-33.

بررسی اثر ضد باکتریایی و فوتوکاتالیستی نانوکامپوزیت مغناطیسی سنتز شده به روش سبز بر پایه فریت منگنز

چکیده

زمینه و هدف: حذف مواد دارویی از فاضلاب به دلیل پایداری بالا و اثرات سمی آن‌ها بر انسان و دیگر موجودات زنده قبل از ورود به محیط زیست ضروری است. نانوکامپوزیت‌های سنتز شده به روش سنتز سبز علاوه بر قابلیت تجزیه بالای ترکیبات دارویی، دارای اثرات ضد باکتریایی نیز می‌باشند، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات فوتوکاتالیستی و ضد باکتریایی نانوکامپوزیت مغناطیسی سنتز شده به روش سبز انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی به منظور بررسی فعالیت فوتوکاتالیستی نانوکامپوزیت سنتز شده، فرآیند فوتوکاتالیستی بر روی محلول حاوی تتراسایکلین انجام شد. اثر ضد باکتریایی نانوکامپوزیت نیز بر روی باکتری‌های گرم منفی و مثبت به روش رقت‌سازی در محیط مایع انجام گردید.

یافته‌ها: راندمان تجزیه آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین در شرایط غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر آلاینده، دوز نانوکامپوزیت ۰/۲۶ گرم بر لیتر، pH برابر ۷ در مدت زمان ۵۴ دقیقه در برابر لامپ زنون به میزان ۸۷/۹۵٪ حاصل شد. حداقل غلظت بازدارندگی نانوکامپوزیت سنتز شده برای باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری‌های اشرشیاکلاهی و کلبسیلا ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. حداقل غلظت کشندگی در برابر باکتری‌های اشرشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشخص شد.

نتیجه‌گیری: نانوکامپوزیت سنتز شده به روش سبز بر پایه فریت منگنز علاوه بر خاصیت مهارکنندگی و کشندگی باکتری‌ها، توانست به‌عنوان کاتالیست مؤثری در تجزیه آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین از محلول‌های آبی مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: تتراسایکلین، حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظت کشندگی، نانوکامپوزیت مغناطیسی

فاطمه سادات ارغوان

کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مشهد،

مشهد، ایران.

حسین علی‌دادی

استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

نگین ناصح

استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

استادیار، گروه آموزش بهداشت و ارتقاء سلامت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

یهنام باریک‌بین

*استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. (نویسنده مسئول):

b_barikbin@yahoo.com
barikbinb@mums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵

نوع مقاله: پژوهشی

◀ **استناد:** ارغوان ف س، علی‌دادی ح، ناصح ن، باریک‌بین ب. بررسی اثر ضد باکتریایی و فوتوکاتالیستی

نانوکامپوزیت مغناطیسی سنتز شده به روش سبز بر پایه فریت منگنز. *فصلنامه پژوهش در بهداشت*

محیط. بهار ۱۴۰۲؛ ۹ (۱): (۳۳-۲۳).

آنتی‌بیوتیک‌ها، گروه عمده‌ای از مواد دارویی هستند که به‌طور گسترده در درمان عفونت‌های پزشکی، دام پزشکی و ... مورد استفاده قرار می‌گیرند. کشف آنتی‌بیوتیک‌ها بزرگ‌ترین نقطه عطف علمی و پزشکی قرن بیستم بوده است؛ به‌طوری‌که مصرف این نوع از داروها توانسته است جان میلیون‌ها انسان را در دهه‌های گذشته نجات دهد (۱، ۲). اگرچه در گذشته این داروها به‌عنوان آلاینده‌های بالقوه خطرناک مطرح نبودند و داده‌های کافی در مورد اثرات سوء آنها بر انسان و محیط زیست موجود نبوده است، اما امروزه نتایج مطالعات نشان‌دهنده این موضوع است که مقادیر قابل توجهی از ترکیبات و متابولیت‌های ناشی از داروها وارد محیط‌های آبی و خاکی شده و اثرات سوئی بر روی موجودات زنده و محیط زیست دارند. به‌طور کلی، ترکیبات آنتی‌بیوتیکی از طریق فاضلاب‌های بیمارستانی، شهری و آزمایشگاه‌های فعال وارد منابع آبی می‌شوند؛ چراکه این ترکیبات پس از مصرف توسط انسان و حیوانات، به‌طور کامل در بدن متابولیزه نشده و حدود ۹۰-۳۰٪ آن‌ها از طریق ادرار و مدفوع، به‌صورت فعال وارد محیط زیست می‌شوند (۳، ۴). راه دیگر انتقال آنتی‌بیوتیک‌ها به محیط، انتقال از طریق پیشسازهای مواد دارویی است که به‌صورت عمدی و یا غیرعمدی از طریق کارخانه‌های تولید کننده این مواد دارویی و انتقال از طریق مصرف یا دفع این مواد دارویی انجام می‌گیرد (۵، ۶).

تتراسایکلین یکی از پرکاربردترین آنتی‌بیوتیک‌هاست که بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، برخی میکوپلاسماها و قارچ‌ها تأثیرگذار می‌باشد (۷، ۸) از این رو به‌طور گسترده برای درمان بیماری‌های عفونی و باکتریایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۹). وجود مواد دارویی در محیط‌های آبی، به‌دلیل پایداری بالا، نه‌تنها باعث اختلال در فرآیندهای متداول تصفیه فاضلاب می‌شود، بلکه حتی در سطوح پایین اثرات سمی بر انسان از جمله مقاومت دارویی بدن انسان و دیگر موجودات زنده می‌گذارد (۱۰). تاکنون به‌منظور حذف آلاینده‌هایی دارویی از محیط‌های آبی، فرآیندهای متفاوتی از جمله اکسیداسیون پیشرفته (۱۱)، تبادل یونی (۱۲)، جذب کربن فعال (۱۳)، فرآیندهای غشایی (۱۴)، تصفیه بیولوژیکی (۱۵) و از ناسیون (۱۱) به‌کار گرفته شده است. فرآیندهای فتوکاتالیستی، جزء فرآیندهای اکسیداسیون پیشرفته با استفاده از اکسیدهای فلزی هستند که در سال‌های اخیر

به‌دلیل کارایی بالا در حذف ترکیبات آلی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند. مکانیسم این فرآیند شامل تابش اشعه فرابنفش به ماده نیمه‌هادی و به‌دنبال آن برانگیختگی الکترون از باند ظرفیت به باند هدایت است که این برانگیختگی الکترون، باعث تولید رادیکال در محیط‌های آبی و باعث تجزیه آلاینده می‌شود. از طرفی مزیت دیگر این روش، استفاده از نور خورشید به‌عنوان منبع تابش، به‌عنوان یک منبع تجدیدپذیر و کسب انرژی در محیط آزاد می‌باشد (۱۶، ۱۷). در فرآیندهای فتوکاتالیستی، واکنش‌های تجزیه اکسایشی به فراهم بودن سه جزء اساسی نیاز دارند که شامل سطح کاتالیستی حساس به نور (معمولاً یک نیمه‌رسانا)، منبع انرژی فتون و عامل اکسید کننده می‌باشد (۱۷، ۱۸). کارایی فرآیندهای فتوکاتالیستی در تجزیه بسیاری از آلاینده‌های آلی از جمله کلروفنل‌ها (۱۹)، کتون‌ها (۲۰)، علف‌کش‌ها (۲۱) و ترکیبات دارویی (۷) اثبات شده است. تولید نانوذرات با استفاده از عصاره مواد طبیعی، به‌عنوان یک حوزه مهم و در حال پیشرفت در فناوری نانو مطرح می‌شود. استفاده از منابع طبیعی برای تولید نانوذرات روشی پایدار، سازگار با محیط زیست، ارزان و عاری از آلاینده‌های شیمیایی می‌باشد که در حوزه‌های بیولوژیکی و پزشکی کاربرد دارد. علاوه بر این، نانوذرات سنتز شده به روش سنتز سبز در مقایسه با نانوذرات تولید شده با روش‌های فیزیکی- شیمیایی پایدارتر و مؤثرتر هستند (۲۲).

تاکنون مطالعات متعددی بر روی تهیه متابولیت‌های ثانویه از عصاره محصولات طبیعی و استفاده از آن‌ها به‌عنوان عوامل کاهنده، تثبیت‌کننده و پوشاننده در فرآیند سنتز نانومواد استفاده شده است. عوامل پوشاننده و تثبیت‌کننده موجود در مواد بیولوژیکی به‌عنوان پایان‌دهنده رشد عمل می‌کنند و فرآیندهای گلومره شدن را مهار کرده و در نتیجه پایداری و ماندگاری نانوذرات را افزایش می‌دهند (۲۳).

در سال‌های اخیر سنتز نانوذرات فلزی به روش سنتز سبز به‌دلیل سمیت بسیار کم و استفاده از منابع تجدیدپذیر و سازگار با محیط زیست، جایگزین روش‌های متداول فیزیکی و شیمیایی شده است؛ چراکه استفاده از عصاره گیاهان مقرون به‌صرفه بوده و می‌تواند به‌عنوان یک گزینه اقتصادی و ارزشمند برای تولید نانوذرات در مقیاس وسیع مورد استفاده قرار گیرد. همچنین یکی

این صورت که در ابتدا به مقدار مناسب از پودر گیاه خشک شده در محلول متانول و در قیف جداکننده، غوطه‌ور شد؛ به طوری که محلول متانول به صورت کامل، گیاه خشک شده را دربرگرفت. سپس هر ۱۲ ساعت محلول متانول تخلیه و مجدد در قیف جدا کننده ریخته شد. این عمل به مدت ۳ شبانه‌روز ادامه یافت. بعد از گذشت ۳ شبانه‌روز، محلول به دست آمده از عصاره گیاه و متانول در دستگاه روتاری قرار گرفت که با خارج شدن متانول از محلول، عصاره مورد نظر از گیاه به دست آمد.

به منظور سنتز نانوذرات $MnFe_2O_4$ ابتدا ۳ میلی‌مول نمک آهن ($FeN_3O_9 \cdot 9H_2O$) به ۳۰ میلی‌لیتر آب دیونایز شده اضافه شد و به مدت ۴۵ دقیقه در شرایط استیرر در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گازدایی شد. در ظرفی دیگر ۱/۵ میلی‌مول از نمک فلزی منگنز ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) در ۳۰ سی‌سی آب دیونایز حل شد و در نهایت محلول آبی نمک فلزی به سوسپانسیون آبی نمک آهن اضافه شد (نسبت آهن به منگنز ۲ به ۱ در نظر گرفته شد). ۱ گرم عصاره گیاه مورد نظر در ۳۰ سی‌سی آب دیونایز حل شد و به مدت ۱۵ دقیقه در اولتراسونیک قرار گرفت. سپس این محلول به محلول آبی نمک آهن اضافه شد. واکنش با رساندن pH به ۱۴ با اضافه نمودن سود ۲ مولار انجام شد و سوسپانسیون تشکیل شده به مدت ۱ ساعت تحت شرایط استیرر و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس سوسپانسیون به دست آمده با دور ۶۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و رسوب به دست آمده ۲ بار با متانول، ۲ بار با آب دیونایز شده و ۱ بار با اتانول شستشو داده شد. رسوب‌های به دست آمده طی ۲۴ ساعت در آن تحت دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و در نهایت پودر به دست آمده در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت کلسینه شد (۲۴).

در نهایت به منظور پوشش‌دار کردن نانوذرات مغناطیسی هسته با سولفید مس، ۰/۱۵ گرم از نانوذرات $MnFe_2O_4$ مرحله قبل در ۱۰ میلی‌لیتر اتیلن گلیکول به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک قرار داده شد و پراکنده گردید. مواد پراکنده شده سپس در یک بالن ژوژه ۵۰۰ میلی‌لیتر ریخته و درون حمام روغن با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از آن، ۰/۸ گرم سولفات مس ($CuSO_4$) به سوسپانسیون اضافه شد تا سولفات مس به طور کامل درون محتویات داخل بالن ژوژه حل شد. پس از این مرحله، ۱/۹ گرم تیوسولفات سدیم ($Na_2S_2O_3$).

دیگر از فواید استفاده از عصاره گیاهان در سنتز نانوذرات، حضور انواعی از متابولیت‌های ثانویه (پلی فنل‌ها، آلکالوئیدها، تریپنوییدها، کوئین‌ها و تان‌ها) می‌باشد که باعث احیاء زیستی یون‌ها می‌شوند. همچنین عصاره گیاه می‌تواند به عنوان عامل کاهنده و پوشش دهنده در سنتز نانوذرات دخیل باشد (۲۳). این مسئله در جایی قابل اهمیت است که برای مثال در سنتز نانوذرات نقره به روش شیمیایی استفاده از هیدرات هیدرازین، سدیم بورو هیدرید، دی‌متیل فرامید و اتیلن گلیکول می‌تواند باعث جذب مواد سمی روی سطوح نانوذرات و افزایش سمیت گردد. همچنین استفاده از گیاهان نسبت به سایر روش‌های سنتز بیولوژیکی نانوذرات از جمله استفاده از قارچ‌ها و باکتری‌ها دارای مزایای بیشتری است؛ چراکه پیچیدگی‌های مربوط به حفظ محیط‌های کشت سلول را ندارد.

در این مطالعه با استفاده از عصاره گیاه بارهنگ به عنوان یک گیاه خودرو در منطقه خراسان جنوبی، نانوکامپوزیت مغناطیسی $MnFe_2O_4@CuS$ سنتز شد و اثر آن به عنوان یک کاتالیست در فرآیند فوتوکاتالیستی تجزیه تتراسایکلین مورد بررسی قرار گرفت. همچنین خاصیت آنتی‌باکتریایی نانوکامپوزیت سنتز شده بر روی دو باکتری گرم منفی اشرشیاکلائی و کلبسیلا و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد.

روش کار

مواد

برای سنتز نانوکامپوزیت $MnFe_2O_4@CuS$ ، از مواد شیمیایی نیترات آهن سه ظرفیتی ($Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$)، سولفات مس ($CuSO_4$)، کلراید منگنز ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$)، تیوسولفات سدیم ($Na_2S_2O_3$) و اتیلن گلیکول ساخت شرکت مرک آلمان استفاده گردید. همچنین غلظت‌های مختلف محلول‌های حاوی آلاینده با حل کردن ۱ گرم پودر نمک تتراسایکلین هکلراید در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب دیونایز ساخت شرکت سیگما آلدریج (مونیک آلمان) تهیه شد. به علاوه از آب دیونایز جهت آماده‌سازی محلول‌ها در همه مراحل استفاده گردید.

عصاره‌گیری از برگ گیاه و سنتز سبز نانوکامپوزیت

مغناطیسی

پس از جمع‌آوری برگ‌های گیاه بارهنگ، برگ‌ها خشک شدند و سپس عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون با متانول انجام شد؛ به

اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و به‌عنوان غلظت ثانویه در نظر گرفته شد.

جهت محاسبه کارایی فرآیند فتوکاتالیستی در تجزیه آنتی-بیوتیک از معادله زیر استفاده شد.

(معادله ۲)

$$R TC \% = [(TC_0 - TC_t) / TC_0] \times 100$$

TC_0 و TC_t به ترتیب شامل غلظت اولیه و غلظت نهایی تتراسایکلین برحسب میلی‌گرم بر لیتر و R% برابر با درصد تجزیه تتراسایکلین است.

آزمایش حساسیت میکروبی MIC و MBC

به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)^۴ نانوکامپوزیت سنتز شده از میکروپلیت ۹۶ چاهکی استریل و با روش براث میکرو دایلوژن استفاده شد. بدین منظور به چاهک اول هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نانوکامپوزیت سنتز شده با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول چاهک یک برداشته و به چاهک دوم اضافه شد. این کار تا چاهک دهم انجام شد و در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر حاصل از چاهک شماره دهم بیرون ریخته شد. به این ترتیب تمام چاهک‌ها حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محلول بود با این تفاوت که یک شیب غلظت از چاهک اول به سمت چاهک دهم ایجاد شد که رقت نانوکامپوزیت در آنها کاهش و هر چاهک حاوی نصف رقت آن در چاهک قبلی بود. سپس سوسپانسیون میکروبی از کشت ۲۴ ساعته با نیم مک فارلند با محیط کشت مولر هینتون براث به میزان ۱/۱۰۰ جهت به دست آوردن غلظت ۱۰^۶ کلنی در میلی لیتر رقیق شد و به ۱۰ چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از آن اضافه شد (۲۶).

چاهک یازدهم هر ردیف حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری برای بررسی رشد باکتری و کنترل مثبت در نظر گرفته شد. چاهک دوازدهم هر ردیف نیز حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و ۱۰۰ میکرولیتر نانوکامپوزیت به منظور بررسی عدم رشد باکتری و کنترل منفی

که قبلاً به ۱۰ میلی‌لیتر اتیلن گلیکول اضافه شده بود، در سیستم تعلیق حاوی نانوذرات $MnFe_2O_4$ و سولفات مس ریخته شد و عمل رفلاکس نمونه در ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه انجام شد. پس از این مدت و پس از خنک شدن بالن ژوژه، نانوکامپوزیت ترسیب شده توسط آهنربای N42 از سوسپانسیون جدا شد و یک بار با اتانول و چندین بار با آب دیونایز شسته شد و در نهایت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون به مدت ۵ ساعت خشک گردید (۲۵).

مشخصه یابی نانوکامپوزیت سنتز شده

اندازه ذرات، مورفولوژی و ترکیبات ساختاری نانوذره با استفاده از میکروسکوپ الکترونی رویشی گسیل میدانی (FESEM)^۱ مدل SIGMA VP-500 ساخت ZEISS آلمان تعیین شد. آنالیز طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)^۲ نانوکامپوزیت مغناطیسی سنتز شده در این پژوهش با کمک دستگاه FT-IR مدل AVATAR 370 انجام شد تا به بررسی گروه‌های عاملی و نانوکامپوزیت سنتز شده پرداخته شد. از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)^۳، مدل Zeiss-EM10C-100 KV ساخت کشور آلمان نیز جهت بررسی نمونه با توان تفکیک بالا و بزرگنمایی بیشتر استفاده شد.

بررسی خاصیت فتوکاتالیستی نانوکامپوزیت

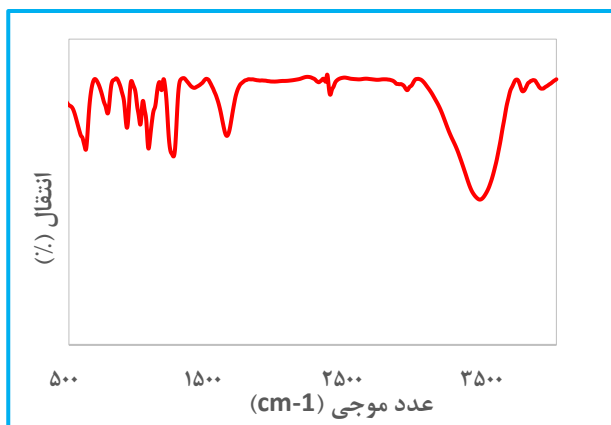
به منظور بررسی خاصیت فتوکاتالیستی نانوکامپوزیت سنتز شده، آزمایشی در یک سیستم ناپیوسته و در دمای محیط (۲۴±۲ درجه سلسیوس) بر روی نمونه ۱۰۰ میلی‌لیتری تتراسایکلین با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر و pH برابر ۷، با سرعت اختلاط ۲۵۰ دور در دقیقه (rpm) در حضور لامپ زنون ۵۰۰ وات با فیلتر ۴۲۰ نانومتر صورت پذیرفت. ابتدا نمونه به مدت ۲۰ دقیقه در مرحله تاریکی قرار گرفت و پس از آن غلظت تتراسایکلین محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (T80+UV/Visible) در طول موج ۳۵۸ نانومتر اندازه‌گیری شد و به‌عنوان غلظت اولیه در نظر گرفت شد. پس از نمونه تحت تابش لامپ زنون لامپ زنون ۵۰۰ وات با فیلتر ۴۲۰ نانومتر در مدت زمان ۲۰ دقیقه قرار گرفت و غلظت تتراسایکلین مجدداً توسط دستگاه

³ Transmission electron microscope

⁴ Minimum inhibitory concentration

¹ Field emission scanning electron microscopy

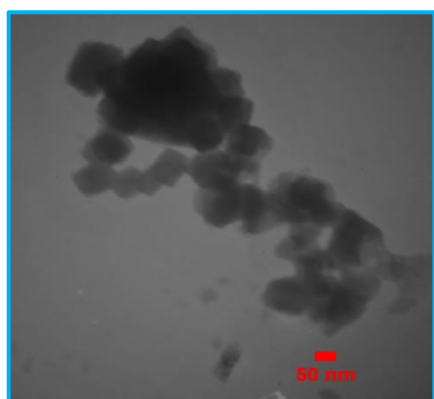
² Fourier transform infrared spectrometer



شکل ۱. طیف FTIR نانوکامپوزیت $MnFe_2O_4@CuS$

آنالیز FESEM و TEM

آنالیزهای FESEM و TEM به منظور بررسی مورفولوژی، ویژگی‌های سطحی و ساختار نانوذرات انجام گرفتند. در شکل ۲ تصاویر TEM گرفته شده از نانوکامپوزیت $MnFe_2O_4@CuS$ نشان می‌دهد که اندازه نانوکامپوزیت سنتز شده در محدوده ۵۰-۴۰ نانومتر می‌باشد. در شکل ۳ تصاویر FESEM نانوذرات مغناطیسی $MnFe_2O_4$ سنتز شده با عصاره گیاه بارهنگ با بزرگ‌نمایی ۵۰ kx و نانوکامپوزیت $MnFe_2O_4@CuS$ نشان داده شده است که به ترتیب اندازه آن‌ها حدود ۱۰۰-۸۰ و ۵۰-۴۰ نانومتر می‌باشد.



شکل ۲. آنالیز TEM و اندازه نانوکامپوزیت مغناطیسی $MnFe_2O_4@CuS$

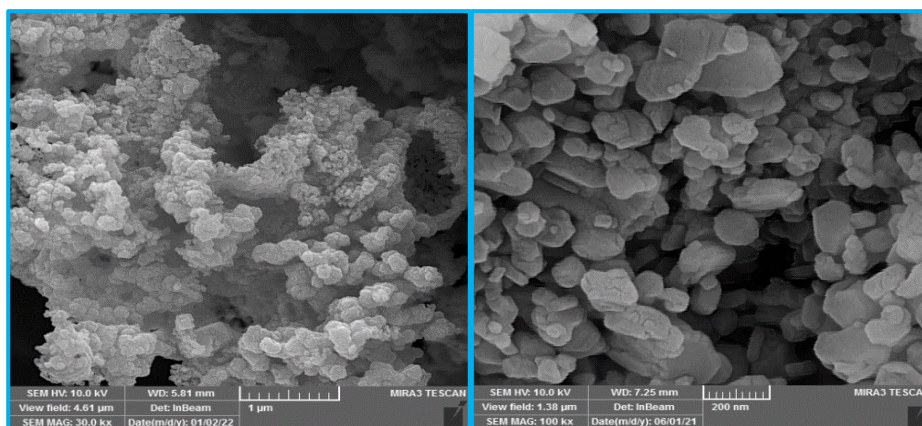
در نظر گرفته شد. پس از تلقیح باکتری‌ها، میکروپلیت بر روی شیکر به مدت ۳۰ ثانیه قرار داده شد. در مرحله آخر، میکروپلیت در انکوباتور با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت قرار داده شد و بعد از اتمام انکوباسیون، کدورت یا عدم کدورت در چاهک‌ها به صورت چشمی مشاهده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد، کمترین غلظتی که کدورتی نداشت و به عبارت دیگر رشد باکتری در آن مشاهده نشد، به عنوان عدد MIC مشخص شد. کدورت چاهک‌ها با کدورت چاهک کنترل مثبت و شفافیت و وضوح چاهک‌ها با چاهک کنترل منفی مقایسه شدند (۲۴).

به منظور مشخص کردن حداقل غلظت کشندگی (MBC)^۱، محتویات چاهکی که به عنوان MIC تعیین شد، به همراه دو چاهک بعدی که غلظت بیشتری از نانوکامپوزیت را داشتند، به روی محیط مولر هینتون آگار تلقیح شدند و بعد از ۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، کمترین غلظتی که میکروارگانیسم در آن رشد نکرد، به عنوان کمترین غلظت کشندگی یا MBC در نظر گرفته شد (۲۴).

یافته‌ها

آنالیز FTIR، یکی از تکنیک‌های مورد استفاده جهت بررسی ساختار مولکولی مواد می‌باشد که در این مطالعه، طیف‌سنجی مادون قرمز نانوکامپوزیت سنتز شده $MnFe_2O_4@CuS$ در طول موج‌های $400-4000\text{ cm}^{-1}$ در شکل ۱ نشان داده شده است. نوارهای جذبی موجود در محدوده ۳۴۰۰ و ۱۵۸۹ مربوط به ارتعاشات گروه عاملی هیدروکسیل (O-H) موجود در نمونه می‌باشند. نوار جذبی موجود در 1071 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات پیوند کربن-هیدروژن (C-H) و ارتعاشات موجود در 1640 و 3449 cm^{-1} مربوط به پیوندهای CH_2 و CH_3 می‌باشد (۲۷). پیک جذبی قوی موجود در 619 cm^{-1} مربوط به CuS موجود در نانوکامپوزیت است (۲۸).

¹ Minimum bactericidal concentration



شکل ۳. آنالیز SEM و اندازه نانوذرات $MnFe_2O_4$ (الف) و نانوکامپوزیت $MnFe_2O_4@CuS$ (ب)

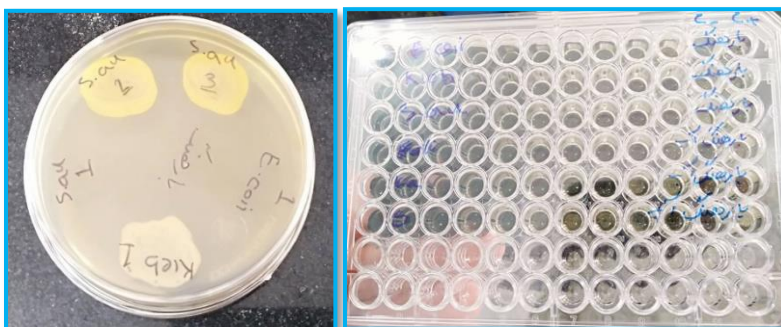
بیشتر بوده است؛ چراکه غلظت کمتری از نانوکامپوزیت توانسته است باعث مهار رشد باکتری شود.

پس از مشخص شدن مقدار MIC، برای هر باکتری غلظت چاهک MIC و بالاتر از آن به روی محیط مولر هینتون آگار تلقیح شد که مطابق شکل ۴، نانوکامپوزیت با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر در نظر گرفته نتوانست باعث از بین بردن باکتری کلبسیلا شود، در حالی که در غلظت برابر ۵ میلی گرم بر لیتر، باعث از بین بردن باکتری‌های اشرشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس شد.

بر اساس نتایج تست MIC برای باکتری‌های اشرشیاکلاهی و کلبسیلا، کدورت فقط در چاهک اول (غلظت ۰/۵ برابر غلظت استوک نانوکامپوزیت) مشاهده نشد. در نتیجه مقدار MIC با در نظر گرفتن غلظت اولیه نانوکامپوزیت (۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، ۵ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد، در حالی که برای استافیلوکوکوس اورئوس تا چاهک چهارم کدورتی مشاهده نشد و در نتیجه میزان MIC برابر ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد. در واقع نتایج نشان داد که خاصیت مهارکنندگی نانوکامپوزیت سنتز شده در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

جدول ۲. میزان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نانوکامپوزیت سنتز شده در برابر باکتری‌ها

گونه باکتری	MIC (میلی گرم بر میلی لیتر)	MBC (میلی گرم بر میلی لیتر)
اشرشیاکلاهی	۵	۵
کلبسیلا	۵	-
استافیلوکوکوس اورئوس	۱/۲۵	۵



شکل ۴. نتایج تست‌های MIC و MBC نانوکامپوزیت سنتز شده در برابر باکتری‌ها

بحث

استفاده از روش‌های بیولوژیک در سنتز نانوذرات می‌تواند به‌عنوان جایگزینی مقرون به‌صرفه و کارآمد برای روش‌های شیمیایی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین استفاده از عصاره گیاهان به‌عنوان عامل احیاء کننده در مقایسه با سورفکتانت‌ها، باعث کمتر گلومره شدن نانوذرات سنتز شده و تشکیل ذرات کوچک‌تر با اندازه یکسان می‌شود (۲۹). در این مطالعه بر اساس نتایج آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی، استفاده از عصاره برگ‌های گیاه بارهنگ به‌عنوان عامل احیاء کننده و پوشاننده باعث تشکیل نانوذرات MnFe_2O_4 و نانوکامپوزیت $\text{MnFe}_2\text{O}_4 @ \text{CuS}$ با اندازه ۸۰-۱۰۰ و ۵۰-۴۰ نانومتر شد که دارای مورفولوژی کروی و هم‌اندازه بودند. بر اساس مطالعات مشابه نیز مشخص شده است که استفاده از عصاره گیاه در سنتز نانوذرات باعث تولید نانوذرات با سایز کوچک‌تر و اندازه‌های یکنواخت می‌شود که موجب انتقال سریع حامل‌های برانگیخته با نور به سطح ذره شده و به‌طور مؤثری نرخ نوترکیبی^۱ حامل‌ها را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث تسریع واکنش‌های فوتوکاتالیستی می‌شود (۳۰). اندازه نانوذرات، نقش مهمی در خصوصیات نیمه‌هادی‌ها در فرآیند جذب و فوتوکاتالیستی دارد؛ چراکه هرچه اندازه نانوذرات کوچک‌تر باشد، سطح در دسترس ماده نیمه‌هادی افزایش پیدا می‌کند. طیف‌های FTIR مربوط به هسته مغناطیسی و نانوکامپوزیت سنتز شده در شکل ۱ نشان داد که پیک موجود در طول موج 580 cm^{-1} نانوذرات مغناطیسی مربوط به ارتعاشات کششی Fe-O می‌باشد که بعد از فرآیند پوشش‌دار کردن با کاتالیست، شدت آن افزایش پیدا کرد که علت آن را می‌توان هم‌پوشانی با پیک مربوط به گروه عاملی Cu-S دانست (۲۸). نوارهای جذبی موجود در محدوده ۳۴۰۰ و ۱۵۸۹ مربوط به ارتعاشات گروه عاملی هیدروکسیل (O-H) موجود در نمونه می‌باشند. نوار جذبی موجود در 1071 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات پیوند کربن-هیدروژن (C-H) و ارتعاشات موجود در 1640 cm^{-1} و 3449 cm^{-1} مربوط به پیوندهای CH_2 و CH_3 هستند (۲۷). همچنین باندهای جذبی موجود در محدوده ۲۹۱۳، ۲۸۳۰، ۱۳۲۱ و ۱۰۱۵ به ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی C-H، O-H و ارتعاشات خمشی C-O و O-H می‌باشند (۲۹).

اثر ضد میکروبی نانوکامپوزیت سنتز شده به روش میکروبراث دایلوژن و بر روی یک باکتری گرم منفی و دو باکتری گرم مثبت انجام شد. نتایج تست MIC برای اشرشیاکلاهی و کلبسیلا نشان داد که کدورت فقط در چاهک اول مشاهده نشد و با توجه به اینکه غلظت اولیه نانوکامپوزیت سنتز شده ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در نظر گرفته شده بود، مقدار آن ۵ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد، در حالی که برای استافیلوکوکوس اورئوس تا چاهک چهارم کدورتی مشاهده نشد و در نتیجه میزان MIC برابر ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. در واقع نتایج نشان داد که خاصیت مهارکنندگی نانوکامپوزیت سنتز شده در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر بوده است؛ چراکه با غلظت کمتری از نانوکامپوزیت رشد این باکتری مهار شد. پس از مشخص شدن مقدار MIC، برای هر باکتری چاهک MIC و بالاتر از آن به روی محیط مولر هینتون آگار تلقیح شد که بر اساس نتایج شکل ۵، نانوکامپوزیت با غلظت در نظر گرفته نتوانست باعث از بین بردن باکتری کلبسیلا شود، در حالی که در غلظت برابر ۵ میلی‌گرم بر لیتر باعث از بین بردن باکتری‌های اشرشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس شد. نتایج بخش آنتی‌باکتریایی مطالعه نشان داد که خواص ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری گرم منفی بود که علت را می‌توان در ساختار متفاوت باکتری‌های مثبت و منفی دانست. مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های مثبت در برابر مواد آنتی‌باکتریایی و آنتی‌بیوتیک‌ها به‌علت وجود غشای خارجی در اطراف آن‌ها می‌باشد که می‌تواند باعث ایجاد مقاومت در صورت هرگونه تغییر در خصوصیات هیدروفوبیک یا جهش در پورین‌ها شود (۳۱). در مطالعه شارما و همکاران نیز که بر روی خواص ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی بر روی گروهی از باکتری‌های کلبسیال پونومونیه، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونال تیفی و باسیلوس سوبتیلیس انجام شد، نتایج مشابهی با مطالعه حاضر گزارش شد؛ به‌طوری‌که باکتری‌های گرم منفی مقاوم بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در برابر نانوذرات اکسید روی نشان دادند (۳۲). اما در مطالعه نقی‌زاده و همکاران که بر روی

¹ Recombination

بر روی محلول حاوی آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین نشان داد که می‌توان از این نانوکامپوزیت به‌عنوان یک کاتالیست مناسب برای تجزیه آلاینده‌ها از محلول‌های آبی استفاده کرد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمام نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند. همچنین هرگونه تضاد منافع حقیقی یا مادی که ممکن است بر نتایج یا تفسیر مقاله تأثیر بگذارد را رد می‌کنند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد با کد ۹۹۱۹۵۵ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. بدین‌وسیله از حمایت‌های معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و آزمایشگاه‌های دانشکده بهداشت علوم پزشکی مشهد و آزمایشگاه جامع تحقیقات علوم پزشکی بیرجند، تشکر و قدردانی می‌شود.

خواص آنتی‌باکتریایی نانوکامپوزیت $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{ZnO}-\text{CeO}_2$ سنتز شده با عصاره میوه زالک انجام شد، مقاومت باکتری گرم منفی آئروژنوزا با $\text{MIC } 1/25$ و $\text{MBC } 10$ نسبت به دو باکتری اشرشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس با $\text{MIC } 5$ و $\text{MBC } 40$ در برابر نانوکامپوزیت کمتر بود (۲۹). از مهم‌ترین مکانیسم‌های اثر ضد میکروبی نانوذرات می‌توان به آسیب دیواره سلولی، آسیب غشاء یا تولید رادیکال‌های آزاد که منجر به اکسیداتیو، تخریب DNA یا زنجیره انتقال الکترون و منجر به مرگ باکتریایی می‌شوند، اشاره کرد. علاوه بر این، القای استرس اکسیداتیو باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که برای ارگانسیم‌ها بسیار مخرب می‌باشند؛ به‌طوری‌که باعث پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و آسیب به اسیدهای نوکلئیک، مهار آنزیم و در نهایت منجر به مرگ سلول‌ها می‌شوند (۳۲، ۳۳). لیو و همکاران نیز در مطالعه خود که بر روی بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات بر پایه گرافن انجام دادند، فعالیت ضد میکروبی را ناشی از استرس غشایی و اکسیداسیون بیان کردند و مکانیسم ضد میکروبی را در سه مرحله شامل رسوب سلولی اولیه روی نانومواد، تنش غشایی ایجاد شده از تماس مستقیم با نانومواد و در نهایت تولید گونه‌های فعال اکسیژن که استرس اکسیداتیو را از طریق مسیر انتقال الکترون تحریک می‌کنند، گزارش کردند (۳۴). فعالیت فتوکاتالیستی نانوکامپوزیت سنتز شده نیز در برابر تابش لامپ زنون که دارای مشابهت بالایی با نور خورشید می‌باشد، بر روی محلول آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر و pH برابر ۷، دوز نانوکامپوزیت ۰/۲۶ انجام شد که توانست حدود ۸۸٪ آلاینده را در مدت زمان ۵۴ دقیقه حذف کند.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش از عصاره برگ‌های گیاه بارهنگ به‌عنوان عامل احیاء کننده در سنتز نانوکامپوزیت $\text{MnFe}_2\text{O}_4@\text{CuS}$ استفاده شد. نتایج مشخصه‌یابی نشان داد که نانوکامپوزیت‌های سنتز شده دارای ساختار، مورفولوژی و اندازه مناسبی بودند. اثرات ضدباکتریایی نانوکامپوزیت بر روی سه باکتری اشرشیاکلاهی، استافیلوکوکوس اورئوس و کلبسیلا انجام گرفت. کمترین اثر ضد میکروبی نانوکامپوزیت علیه باکتری گرم منفی کلبسیلا و بیشترین اثر آن علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد. همچنین بررسی خواص فتوکاتالیستی نانوکامپوزیت

References

1. Iravani S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem.* 2011;13(10):2638-50.
2. Yazdani M. Najafpoor AA. Dehghan AA. Alidadi H. Dankoob M. Zangi R. Nourbakhsh S. Ataei R. Navaei fezabady A. Performance evaluation of combined Ultrasonic/UV process in Removal of Tetracycline Antibiotic from Aqueous Solutions using Response surface Methodology. *J Res. Environ Health.* 2017;3(1):11-20.
3. Eniola JO. Kumar R. Mohamed OA. Al-Rashdi A. Barakat M. Synthesis and characterization of $\text{CuFe}_2\text{O}_4/\text{NiMgAl-LDH}$ composite for the efficient removal of oxytetracycline antibiotic. *J Saudi Chem Soc.* 2020;24(1):139-50.
4. Hemmati M. Ghaemi A. Tavakkoli H. Removal of Cephalexin from Aqueous Solutions by Activated Carbon Adsorbent. *J Res. Environ Health.* 2019;5(1):11-20.
5. Nasseh N. Panahi AH. Esmati M. Daglioglu N. Asadi A. Rajati H. Khodadoost F. Enhanced photocatalytic degradation of tetracycline from aqueous solution by a novel magnetically separable $\text{FeNi}_3/\text{SiO}_2/\text{ZnO}$ nano-composite under simulated sunlight: Efficiency, stability, and kinetic studies. *J Mol Liq.* 2020;301:112434.
6. Zhang X-G. Guan D-L. Niu C-G. Cao Z. Liang C. Tang N. Zhang L. Wen X-J. Zeng G-M. Constructing magnetic and high-efficiency $\text{AgI}/\text{CuFe}_2\text{O}_4$ photocatalysts for inactivation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* under visible light: Inactivation performance and mechanism analysis. *Sci. Total Environ.* 2019;668:730-42.
7. Nasseh N. Taghavi L. Barikbin B. Nasser MA. Synthesis and characterizations of a novel $\text{FeNi}_3/\text{SiO}_2/\text{CuS}$ magnetic nanocomposite for photocatalytic degradation of tetracycline in simulated wastewater. *J Clean Prod.* 2018;179:42-54.
8. Elayakumar K. Manikandan A. Dinesh A. Thanrasu K. Raja KK. Kumar RT. Slimani Y. Jaganathan S.K. Baykal A. Enhanced magnetic property and antibacterial biomedical activity of Ce^{3+} doped CuFe_2O_4 spinel nanoparticles synthesized by sol-gel method. *J Magn Magn.* 2019;478:140-7.
9. Deng F. Zhao L. Luo X. Luo S. Dionysiou DD. Highly efficient visible-light photocatalytic performance of $\text{Ag}/\text{AgIn}_5\text{S}_8$ for degradation of tetracycline hydrochloride and treatment of real pharmaceutical industry wastewater. *Chem Eng J.* 2018;333:423-33.
10. Erşan M. Removal of tetracycline using new biocomposites from aqueous solutions. *Desalin Water Treat.* 2016;57(21):9982-92.
11. Pouretedal H. Sadegh N. Effective removal of amoxicillin, cephalexin, tetracycline and penicillin G from aqueous solutions using activated carbon nanoparticles prepared from vine wood. *J Water Process Eng.* 2014;1:64-73.
12. Zhu X-D. Wang Y-J. Sun R-J. Zhou D-M. Photocatalytic degradation of tetracycline in aqueous solution by nanosized TiO_2 . *Chemosphere.* 2013;92(8):925-32.
13. Gao Y. Li Y. Zhang L. Huang H. Hu J. Shah SM. Su X. Adsorption and removal of tetracycline antibiotics from aqueous solution by graphene oxide. *J Colloid Interface Sci.* 2012;368(1):540-6.
14. Liu H. Yang Y. Kang J. Fan M. Qu J. Removal of tetracycline from water by Fe-Mn binary oxide. *J Environ Sci.* 2012;24(2):242-7.
15. Teixidó M. Granados M. Prat M. Beltrán J. Sorption of tetracyclines onto natural soils: data analysis and prediction. *Environ Sci Pollut Res.* 2012;19(8):3087-95.
16. Mirhosseini M. Houshmand Marvasti S. Antibacterial Activities of Copper Oxide (CuO) Nanoparticles in Combination With Nisin and Ultrasound Against Foodborne Pathogens. *Iran J Microbiol.* 2017;11(5):125-35.
17. Mirhosseini H. Mostafavi A. Shamspur T. Highly efficient $\text{LaFeO}_3/\text{Bi}_2\text{WO}_6$ Z-scheme nanocomposite for photodegradation of tetracycline under visible light irradiation: Statistical modeling and optimization of process by CCD-RSM. *Mater Sci Semicond Process.* 2023;160:107413.
18. NooriSepehr M. Mohebi S. AbdollahiVahed S. Zarrabi M. Removal of tetracycline from synthetic solution by natural LECA. *Int J Environ Health Eng.* 2014;1(4):301-11.
19. Pirzada BM. Pushpendra. Kunchala RK. Naidu BS. Synthesis of $\text{LaFeO}_3/\text{Ag}_2\text{CO}_3$ nanocomposites for photocatalytic degradation of Rhodamine B and p-Chlorophenol under natural sunlight. *Acs Omega.* 2019;4(2):2618-29.
20. Quintavalla A. Veronesi R. Carboni D. Martinelli A. Zaccheroni N. Mummolo L, et al. Chemodivergent Photocatalytic Synthesis of Dihydrofurans and β , γ -Unsaturated Ketones. *Adv Synth Catal.* 2021;363(13):3267-82.
21. Shamsedini N. Dehghani M. Nasser S. Baghapour MA. Photocatalytic degradation of atrazine herbicide

- with Illuminated Fe³⁺-TiO₂ Nanoparticles. *J Environ Health Sci Eng.* 2017;15(1):1-10.
22. Shah M. Fawcett D. Sharma S. Tripathy SK. Poinern GEJ. Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials.* 2015;8(11):7278-308.
 23. Hussain I. Singh N. Singh A. Singh H. Singh S. Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnol Lett.* 2016;38(4):545-60.
 24. Naghizadeh A. Mohammadi-Aghdam S. Mortazavi-Derazkola S. Novel CoFe₂O₄@ ZnO-CeO₂ ternary nanocomposite: Sonochemical green synthesis using Crataegus microphylla extract, characterization and their application in catalytic and antibacterial activities. *Bioorg Chem.* 2020;103:104194.
 25. Beyki MH. Shirkhodaie M. Shemirani F. Polyol route synthesis of a Fe₃O₄@CuS nanohybrid for fast preconcentration of gold ions. *Anal. Methods.* 2016;8(6):1351-8.
 26. Loo YY. Rukayadi Y. Nor-Khaizura M-A-R. Kuan CH. Chieng BW. Nishibuchi M. Radu S. In Vitro Antimicrobial Activity of Green Synthesized Silver Nanoparticles Against Selected Gram-negative Foodborne Pathogens. *Front Microbiol.* 2018;9.
 27. Zipare K. Dhumal J. Bandgar S. Mathe V. Shahane G. Superparamagnetic manganese ferrite nanoparticles: synthesis and magnetic properties. *J Nanosci Nanotechnol.* 2015;1(3):178-82.
 28. Ramesan M. Synthesis, characterization, and properties of new conducting polyaniline/copper sulfide nanocomposites. *Polym Eng Sci.* 2014;54(2):438-45.
 29. Naghizadeh A, Mohammadi-Aghdam S, Mortazavi-Derazkola S. Novel CoFe₂O₄@ZnO-CeO₂ ternary nanocomposite: Sonochemical green synthesis using Crataegus microphylla extract, characterization and their application in catalytic and antibacterial activities. *Bioorg Chem.* 2020;103:104194.
 30. Lu D. Zelekew OA. Abay AK. Huang Q. Chen X. Zheng Y. Synthesis and photocatalytic activities of a CuO/TiO₂ composite catalyst using aquatic plants with accumulated copper as a template. *RSC Advances.* 2019;9(4):2018-25.
 31. Breijyeh Z. Jubeh B. Karaman R. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules.* 2020;25(6).
 32. Sharma N. Jandaik S. Kumar S. Synergistic activity of doped zinc oxide nanoparticles with antibiotics: ciprofloxacin, ampicillin, fluconazole and amphotericin B against pathogenic microorganisms. *An Acad Bras Cienc.* 2016;88(3 Suppl):1689-98.
 33. Díez-Pascual AM. Luceño-Sánchez JA. Antibacterial Activity of Polymer Nanocomposites Incorporating Graphene and Its Derivatives: A State of Art. *Polymers.* 2021;13(13).
 34. Liu S. Zeng TH. Hofmann M. Burcombe E. Wei J. Jiang R. Kong J. Chen Y. Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: membrane and oxidative stress. *ACS nano.* 2011;5(9):6971-8.