



Available online: <http://ijhe.tums.ac.ir>

مقاله پژوهشی

## کارایی تصفیه خانه متداول فاضلاب در حذف آنتی بیوتیک و تعیین غلظت آن، تصفیه خانه فاضلاب اکباتان و جنوب تهران: مطالعه موردی

رویا میرزایی<sup>۱</sup>، مسعود یونسیان<sup>۲،۳\*</sup>، علیرضا مصداقی نیا<sup>۲،۱</sup>، سیمین ناصری<sup>۲،۱</sup>، میترا غلامی<sup>۴</sup>، اسفندیار جلیل زاده<sup>۵</sup>، شهرام شعبی<sup>۶</sup>  
۱- مرکز تحقیقات کیفیت آب، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
۲- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
۳- گروه روش شناسی و تحلیل اطلاعات، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
۴- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران  
۵- آزمایشگاه کنترل کیفیت، شرکت آب و فاضلاب استان تهران، تهران، ایران  
۶- آزمایشگاه کنترل کیفیت غذا و دارو، سازمان غذا و دارو وزارت بهداشت، تهران، ایران

### اطلاعات مقاله: چکیده

**زمینه و هدف:** آنتی بیوتیک‌ها بخشی از آلاینده‌های نوظهور در محیط‌های آبی هستند، که در غلظت‌های محیطی بسیار کم سلامت انسان و محیط زیست را تهدید می‌کنند. از این رو، این مطالعه با هدف بررسی تفاوت آماری بین غلظت و کارایی حذف هفت آنتی بیوتیک پر تجویز در ایران از جمله آموکسی سیلین، بنی سیلین جی، سفیکسیم، سفالکسین، سیپروفلوکساسین، اریترومايسين و آزیترومایسین اندازه گیری شده در دو تصفیه خانه فاضلاب شهر تهران، انجام یافت.

**روش بررسی:** مطالعه حاضر یک مطالعه کاربردی بوده است که در سال ۱۳۹۵ و براساس دستورالعمل ۱۶۹۴ سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا برای اندازه گیری ترکیبات دارویی در آب به روش کروماتوگرافی مایع - طیف سنجی جرمی (HPLC/MS/MS) انجام شده است. تفاوت بین داده‌های غلظت آنتی بیوتیک‌ها در فاضلاب ورودی و خروجی از نظر آماری بررسی شد. پس از محاسبه کارایی حذف در دو تصفیه خانه، توزیع داده‌های کارایی حذف از نظر نرمال بودن، مورد مطالعه قرار گرفت. سپس از آزمون‌های پارامتریک و ناپارامتریک برای بررسی اختلاف بین داده‌های کارایی حذف استفاده شد.

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۴/۱۸  
تاریخ ویرایش: ۹۷/۰۶/۰۵  
تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۶/۱۰  
تاریخ انتشار: ۹۷/۰۹/۲۸

**واژگان کلیدی:** آنتی بیوتیک، آلاینده‌های نوظهور، تصفیه خانه فاضلاب

**یافته‌ها:** تفاوت غلظت در ورودی و خروجی برای آنتی بیوتیک‌های سفیکسیم و آزیترومایسین در تصفیه خانه اکباتان و سفیکسیم در تصفیه خانه جنوب معنی دار نبود. تفاوت معنی داری بین کارایی حذف برای دو آنتی بیوتیک سفالکسین ( $P=0/05$ ) و اریترومايسين ( $P=0/02$ ) در دو تصفیه خانه اکباتان و جنوب تهران مشاهده شد. براساس آزمون یو من ویتنی میزان حذف سفالکسین در دو تصفیه خانه اکباتان و جنوب تهران با میانه حذف ۹۴/۴۱ و ۹۹/۴۷ به ترتیب، بیشترین میزان حذف آنتی بیوتیک را در بین آنتی بیوتیک‌های دیگر داشت.

**نتیجه‌گیری:** علاوه بر نوع فرایند تصفیه در این تصفیه خانه‌ها، خصوصیات فیزیکی شیمیایی هر کلاس آنتی بیوتیک تاثیر به‌سزایی در سرنوشت این آنتی بیوتیک‌ها در تصفیه خانه‌های فاضلاب و منابع آبی دارد.

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

yunesian@tums.ac.ir

## مقدمه

نگرانی از حضور ترکیبات دارویی به عنوان بخشی از آلاینده‌های نوظهور در سه دهه اخیر در حال افزایش است. انواع مختلفی از باقیمانده‌های ترکیبات دارویی در آب‌های محیطی از جمله فاضلاب، آب سطحی و آب آشامیدنی در غلظت‌های نسبتاً کم و به‌طور مداوم یافت می‌شوند. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که برخی از ترکیبات دارویی و از این میان آنتی بیوتیک‌ها اثرات نامطلوبی را بر سلامتی انسان و محیط زیست حتی در غلظت‌های نسبتاً کم محیطی ایجاد می‌کنند (۱). علاوه بر این، برخی ترکیبات فعال دارویی مانند آنتی بیوتیک‌ها قادر به تغلیظ یا تجمع زیستی در بدن جانداران آبی بویژه ماهی‌ها هستند (۲).

پس از تجویز آنتی بیوتیک‌ها، بخشی از آنها متابولیزه شده (معمولاً ۸۰-۵۵ درصد)، و بخشی دیگر به صورت مخلوطی از متابولیت‌ها و کونژوگه‌های حاصل از ماده اولیه از طریق ادرار و مدفوع از بدن دفع می‌شوند و به همراه فاضلاب بهداشتی به تصفیه خانه‌های فاضلاب شهری می‌رسند. بدلیل عدم کارایی فرایندهای متداول تصفیه در حذف کامل این نوع آلاینده‌ها، بخشی از این ترکیبات به آب‌های پذیرنده تخلیه می‌شوند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تقریباً ۸۰ درصد از ترکیبات دارویی که به تصفیه خانه فاضلاب وارد می‌شوند از طریق پساب، به آب‌های سطحی تخلیه می‌شوند (۳). علاوه بر این، راه دیگر ورود این ترکیبات به محیط زیست تخلیه داروهای تاریخ مصرف گذشته به توالت‌ها و زباله‌دان‌های خانگی است. این در حالی است که، غلظت گزارش شده برای هر یک از این ترکیبات به‌صورت تکی در آب‌های سطحی از محدوده  $\mu\text{g/L}$  -  $\text{ng/L}$  متغیر است. اگرچه غلظت‌های گزارش شده برای این ترکیبات بسیار جزئی است ولی بدلیل ورود مداوم این ترکیبات به محیط، به‌عنوان ترکیبات شبه پایدار در محیط زیست شناخته می‌شوند، و بدلیل فعالیت بیولوژیکی این ترکیبات در محیط زیست، خطراتی را برای انسان و جانداران آبی در بلند مدت ایجاد می‌کنند (۴).

در سال ۲۰۰۶، برخی از آنتی بیوتیک‌ها به دلیل سمیت بالا

برای آگ‌ها و باکتری‌ها در غلظت‌های کم، و توانایی بالقوه آنها در ایجاد مقاومت در جمعیت‌های میکروبی، در گروه آلاینده‌های اولویت‌دار قرار گرفته‌اند (۵). از مهمترین اثرات منفی حضور آنتی بیوتیک‌ها، توسعه مقاومت میکروبی است (۶). اگرچه باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک در محیط طبیعی یافت می‌شوند، این باکتری‌ها به تعداد فراوان در فاضلاب و حتی فاضلاب تصفیه شده حضور دارند (۷).

حضور آنتی بیوتیک‌ها در فاضلاب بیمارستانی (۸) پساب تصفیه خانه فاضلاب (۳، ۹، ۱۰) جامدات بیولوژیکی تصفیه خانه (۱۱)، خاک (۱۲)، آب‌های سطحی (۱۳، ۱۴)، آب‌های زیرزمینی (۱۵، ۱۶)، رسوبات (۱۷) و آب آشامیدنی (۱۸)، (۱۹) گزارش شده است.

برخی مطالعات حاکی از این موضوع است که تصفیه خانه‌های فاضلاب مخازن احتمالی انتشار ژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک هستند که می‌توانند از طریق چرخه‌های آب و غذا به باکتری‌های مرتبط با انسان منتقل شده، و از این طریق به تکثیر مقاومت آنتی بیوتیکی کمک می‌کنند (۶). در واقع، تخلیه پساب حاصل از تصفیه خانه‌های فاضلاب مسیر مهمی در انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی به محیط طبیعی و خاک‌های آبیاری شده با پساب فاضلاب است. علاوه بر این، تفاوت در فرایندهای تصفیه و بهره برداری از آنها، بر سرنوشت باکتری‌ها و ژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک در فاضلاب تاثیر می‌گذارند.

از طرفی، بازیافت آب شهری مصرف شده در صنایع، کشاورزی، و مصارف شهری غیر آشامیدنی به‌طور فزاینده‌ای به جزء مهمی از عملیات مدیریت منابع آب در بسیاری از کشورهای جهان تبدیل شده است (۲۰). در برخی از کشورها مانند آمریکا، سنگاپور، مکزیک و بلژیک، پساب تصفیه شده فاضلاب به‌طور عمد، به منابع تکمیلی آب آشامیدنی تزریق می‌گردد. این فرایند که فرایندی شناخته شده با عنوان استفاده مجدد غیرمستقیم برنامه ریزی شده (Planned indirect potable reuse (planned IPR)) جهت منابع آب آشامیدنی است (۲۱)، به سرعت در حال تبدیل شدن به یک استراتژی مهم تامین آب در تعداد زیادی از شهرهای استرالیا

## مواد و روش‌ها

### الف) مواد و حلال‌ها

استانداردهای اولیه هفت آنتی‌بیوتیک پرمصرف در ایران شامل آموکسی سیلین، پنی سیلین جی، سفیکسیم، سفالکسین، سیپروفلوکساسین، اریترومایسین و آزیترومایسین به گزارش کمیته کشوری تجویز و مصرف منطقی دارو، سازمان غذا و داروی وزارت بهداشت، با خلوص > ۹۹ درصد خریداری شدند. ترکیبات برچسب گذاری شده ایزوتوبی شامل Ciprofloxacin-d8، azithromycin-d3، methronidazole-d4 و cefuroxime-d3 خریداری شده از شرکت Santa Cruz Biothenology (California US) در این روش آنالیز، به‌عنوان استاندارد داخلی مورد استفاده قرار گرفتند. همه حلال‌های مورد استفاده از جمله متانول (MeOH) و استونیتریل (CAN) و آب دو بار تقطیر با درجه خلوص کروماتوگرافی بودند. کارتریج‌های تعادلی آبدوست/چربی دوست (Oasis HLB Cartridges, 500 mg, 6mL) از شرکت Waters (Milford, USA) تهیه شدند.

### ب) محل نمونه برداری

دو تصفیه‌خانه فاضلاب اکباتان و جنوب تهران در غرب و جنوب شهر تهران، مورد مطالعه قرار گرفتند. دبی طراحی تصفیه‌خانه اکباتان  $10000 \text{ m}^3/\text{day}$  و جمعیت تحت پوشش آن ۱۰۰۰۰۰ نفر بود. فرایند تصفیه‌خانه، یکی از اصلاحات لجن فعال متداول، بنام  $A_2/O$  بود که شامل سه واحد فرایندی به ترتیب (Anaerobic, Anoxic, Oxic) است. و محل دفع پساب آن نهر فیروزآباد است. زمان ماند هیدرولیکی (HRT) و زمان ماند لجن (SRT) تصفیه‌خانه به ترتیب  $10/5 \text{ h}$  (بیهوای  $10/5 \text{ h}$ ، انوکسیک  $2 \text{ h}$  و هوازی  $8 \text{ h}$ ) و  $20$  روز است. دبی تصفیه‌خانه جنوب تهران  $450000 \text{ m}^3/\text{day}$  و جمعیت تحت پوشش آن ۲۱۰۰۰۰۰ نفر است. فرایند تصفیه‌خانه ترکیب لجن فعال به همراه فیلتر چکنده پر بار است. زمان ماند هیدرولیکی فرایند  $12 \text{ h}$ ، و زمان ماند لجن  $8$  روز است. پساب این تصفیه‌خانه به دشت ورامین و ری تخلیه می‌شود.  $24$  نمونه مختلط براساس زمان ماند هیدرولیکی و در سه مرحله نمونه

است (۲۲). همچنین، این احتمال وجود دارد که کشورهای دیگری نیز مانند ایران از این استراتژی در آینده استفاده کنند. در عین حال، قانون و مقرراتی نیز برای ورود آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات دارویی به محیط، نه در سطح ملی و نه بین‌المللی وضع نشده است. تنها برای آلاینده‌های نوظهور و برخی ترکیبات دارویی دستورالعملی در سطح اتحادیه اروپا، دستورالعملی تحت عنوان چارچوب آب وضع گردیده است (Water Framework Directive (WFD)).

براساس دستورالعمل چارچوب آب (WFD) در سال ۲۰۱۳، استانداردهای محیط زیست (Environmental Quality Standards (EQS)) برای ۴۵ ترکیب با عنوان مواد اولویت (priority substances) و هشت آلاینده دیگر، به تصویب رسید. هنگامی که مقررات استانداردهای کیفیت محیط زیست در سال ۲۰۱۳ اصلاح شد، یک لیست با نام "Watch List" ایجاد شد، که نظارت موقت، بر ترکیباتی که شواهدی دال بر احتمال ایجاد خطر برای محیط زیست دارند، را ضروری می‌دانست. این لیست جهت اطلاع از ترکیباتی با اولویت بیشتر تدوین گردیده است. علاوه بر این، در سال ۲۰۱۳، نام سه ماده شامل هورمون طبیعی استرادیول (E2) و دو ترکیب دارویی (داروی ضد التهابی دیکلوفناک و هورمون مصنوعی اتینیل استرادیول (EE2)) مورد استفاده در داروهای ضد بارداری) برای ورود به اولین Watch List شناسایی شدند. این لیست، تعیین مقادیر مناسب این ترکیبات در محیط و ریسک حاصل از این مواد را سرعت بخشیده و تسهیل می‌کند (۲۳). از این‌رو، بررسی حضور و تعیین مقدار آنتی‌بیوتیک‌ها و بررسی عملکرد تصفیه‌خانه در حذف این ترکیبات ضروری به نظر می‌رسد.

هدف از این مطالعه، بررسی و مقایسه داده‌های غلظت هفت آنتی‌بیوتیک پرمصرف در ایران، در دو تصفیه‌خانه فاضلاب شهر تهران (تصفیه‌خانه اکباتان و تصفیه‌خانه جنوب تهران) در سال ۱۳۹۵ و همچنین مقایسه کارایی تصفیه‌خانه‌ها در حذف آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر است.

فیلتر شده توسط کارتریج‌های Oasis HLB Cartridges با ظرفیت (۶ mL، ۵۰۰ mg) پیش تغلیظ شد. پیش از عبور نمونه، کارتریج‌ها با عبور متانول و سپس آب مقطر با درجه خلوص کروماتوگرافی که pH آن توسط اسید هیدروکلریک تا ۲/۵ تنظیم شده بود، آماده شدند. نمونه‌ها با سرعت ۱-۲ mL/min از کارتریج عبور داده شدند. پس از آن، کارتریج با آب مقطر با درجه خلوص کروماتوگرافی شسته شد و به منظور حذف آب اضافی توسط دستگاه خلا و با عبور هوا، کاملاً خشک شد. سپس آنالیت تغلیظ شده به کمک عبور حلال متانول از کارتریج خارج شده و در یک ویال جمع آوری شد. در نهایت، مایع استخراج شده تحت جریان ملایم نیتروژن تا حد خشک شدن تبخیر شد و سپس جهت تزریق به دستگاه LC/MS/MS، باقیمانده تبخیر توسط حلال فاز حامل احیا گردید. مراحل پیش تغلیظ نمونه‌ها (SPE) در مطالعه قبلی به طور کامل تشریح شده است (۲۷-۲۵). پس از احیای باقیمانده تبخیر، ۱۰ μL از آن به دستگاه LC/MS/MS تزریق گردید. آنالیز نمونه‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی با کارکرد عالی مدل Agilent Ultra HPLC (1260 HPLC system) انجام شد که مجهز به یک طیف سنج جرمی چهار قطبی سه گانه ترکیبی تله یونی بود. منبع یونیزاسیون الکترواسپری (Electron Spray Ionization Source) بود و با توجه به قطبی بودن ساختار شیمیایی آنتی بیوتیک‌های هدف،  $[M+1]^+$  به عنوان Precursor Ion برای همه آنتی بیوتیک‌ها تعیین شد. اندازه گیری آنتی بیوتیک‌ها براساس رگرسیون خطی و با استفاده از افزودن استاندارد داخلی انجام شد (۲۷، ۲۵). اساس عملکرد دستگاه LC/MS/MS براساس یونیزاسیون مولکول، جداسازی یون‌های ایجاد شده از یکدیگر و در نهایت شناسایی یون‌ها با توجه به نسبت جرم به بار (m/z) آنها است. در نهایت در سیستم کروماتوگرافی مایع، که از کشش ذاتی ماده به فاز متحرک و فاز ساکن بهره می‌گیرد، در هنگام عبور نمونه با جریان حلال، نمونه از یک ستون تجزیه‌ای عبور کرده و در طول آن، ترکیبات مختلف از یکدیگر جدا می‌شوند (۲۷).

برداری در تاریخ‌های ۲۴ خرداد، ۱۹ تیر، ۱۲ مرداد سال ۱۳۹۵، از ورودی و خروجی تصفیه خانه‌های مورد مطالعه نمونه برداری شد. نمونه‌های فاضلاب خام (ورودی) بعد از واحد آشغالگیر، و نمونه‌های فاضلاب تصفیه شده (خروجی) بعد از مرحله کلر زنی، جمع آوری گردید. جهت جلوگیری از واکنش آنتی بیوتیک‌ها با بروموسیلیکات، نمونه‌ها در بطری‌های شیشه‌ای ۱۰۰۰ mL Silanized (پوشش داده شده با یک ترکیب آلی) جمع آوری و در کنار یخ در ۴ °C به آزمایشگاه منتقل شد.

### ج) آماده‌سازی محلول‌های استاندارد آنتی بیوتیک و نمونه‌های فاضلاب

محلول‌های استاندارد در غلظت ۱ mg/mL تهیه شدند. با توجه به حالیت و پایداری آنتی بیوتیک‌ها در حلال‌های متفاوت، پنی سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها در آب مقطر با درجه خلوص کروماتوگرافی حل شدند. سیپروفلوکساسین در مخلوط حجمی (۵۰:۵۰) متانول و آب مقطر با درجه خلوص کروماتوگرافی حل شد. بقیه ترکیبات فقط در متانول حل شدند. در نهایت محلول‌های استاندارد در فریزر در دمای ۲۰ °C ذخیره شدند. بدلیل پایداری محدود، کلیه استانداردهای کاری (Working Standards) برای آنتی بیوتیک‌های هدف به صورت ماهیانه و با مخلوط حجمی (۵۰:۵۰) متانول و آب مقطر با درجه خلوص کروماتوگرافی و در رقت‌های سریالی تهیه شدند (۳، ۲۴).

### چ) روش آماده‌سازی و آنالیز نمونه‌ها

جهت استخراج نمونه‌ها، ۳۰۰ mL از نمونه فاضلاب، از فیلترهای ۱ μm فایرگلاس و ۰/۴۵ μm نایلونی توسط دستگاه فیلتراسیون غشایی، عبور داده شد. استاندارد آنتی بیوتیک‌ها و استاندارد داخلی مربوط به آنها به نمونه‌ها اضافه شدند. عامل شلاته کننده  $Na_4EDTA$  جهت رفع مزاحمت یون‌های فلزی و جلوگیری از تشکیل کمپلکس آنتی بیوتیک‌ها با این یون‌ها به نمونه‌ها اضافه گردید و pH نمونه‌های فاضلاب در فاز اسیدی با افزودن اسید هیدروکلریک به نمونه‌ها، به آرامی تنظیم شد. سپس نمونه

### یافته‌ها

#### الف) بررسی تفاوت غلظت بین نمونه‌های فاضلاب ورودی و خروجی هر تصفیه خانه

جهت بررسی تفاوت معنی داری میان غلظت آنتی بیوتیک‌های هدف در ورودی و خروجی تصفیه خانه، با توجه به حجم نمونه‌ها برای هر آنتی بیوتیک، از آزمون ناپارامتریک دو نمونه وابسته و تست ویل کاکسون (Wilcoxon) برای بررسی تفاوت غلظت آنتی بیوتیک‌ها در ورودی و خروجی تصفیه خانه استفاده شد. به دلیل چولگی توزیع داده‌ها، داده‌های غلظت به صورت میانه، چارک اول و سوم گزارش شدند. در تصفیه خانه جنوب به علت صفر بودن غلظت آزیترومایسین در همه نمونه‌های خروجی مقدار  $p$  گزارش نگردید.

Box plot غلظت آنتی بیوتیک‌های هدف در دو تصفیه خانه فاضلاب اکباتان و جنوب تهران در نمودارهای ۱ و ۲ ارائه شده است. از طرفی کارایی حذف آنتی بیوتیک‌های هدف (درصد) در دو تصفیه خانه مورد بررسی در نمودارهای ۳ و ۴ به شکل Box plot ارائه شده است. هر Box plot نمایانگر (مینیمم، چارک اول، میانه، چارک سوم و ماکزیمم) از داده‌های غلظت و کارایی حذف آنتی بیوتیک‌های هدف در دو تصفیه خانه مورد بررسی است. لازم به ذکر است که هر داده‌ای که دورتر از  $\pm 1/5$  فاصله چارکی اما کمتر از  $\pm 3$  فاصله چارکی باشد در نرم افزار SPSS به عنوان دور افتاده (Outlier) نامیده می‌شود و در خروجی کامپیوتر به صورت "o" نشان داده می‌شود. هر داده‌ای که از  $\pm 3$  فاصله چارکی تجاوز کند به عنوان نمره انتهایی یا افراطی به شمار می‌رود و در خروجی SPSS به صورت " \* " نمایش داده می‌شود.

با توجه به جدول ۱ و  $p$  آزمون Wilcoxon، غلظت آنتی بیوتیک‌های سفیکسیم ( $p=0/173$ ) و آزیترومایسین ( $p=0/345$ ) در ورودی و خروجی تصفیه خانه اکباتان، تفاوت معنی داری را از نظر آماری نشان نمی‌دهند. در حالی که در ورودی و خروجی تصفیه خانه اکباتان، تفاوت غلظت برای آنتی بیوتیک‌های آموکسی سیلین، پنی سیلین، سیپروفلوکساسین، سفالکسین و اریترومایسین با ( $p=0/028$ ),

پیش از آنالیز نمونه کلیه پارامترهای تاثیرگذار در روش آنالیز بهینه شدند و روش آنالیز اعتبارسنجی شد. دو فاز متحرک دستگاه کروماتوگرافی، تعیین و شویش گرادینتی (Gradient elution) برای دو فاز متحرک بهینه شدند. پارامترهای بهینه سازی دستگاه تجزیه گر طیف سنج جرمی از جمله تعیین یون‌های والد یا یون اولیه (precursor Ion) و یون‌های دختری (daughter Ions) برای کلیه آنتی بیوتیک‌های هدف تعیین شد و الگوریتم پایش واکنش‌های چندگانه (Multiple Reaction Monitoring (MRM)) برای کلیه آنتی بیوتیک‌ها نوشته شد. در انتها، عملکرد متد، در قالب خطی بودن، صحت و دقت، حد تشخیص متد (MDL)، حد اندازه گیری متد (MQL)، حد تشخیص دستگاهی (IDL)، توسط اندازه گیری تکرارپذیری غلظت‌های به دست آمده (به عنوان دقت) و ریکاوری آنتی بیوتیک‌ها (به عنوان صحت) اعتبارسنجی گردید. کلیه مراحل بهینه سازی متد و اعتبارسنجی متد در مطالعه پیشین کاملاً شرح داده شده است (۲۵).

پس از تعیین مقدار آنتی بیوتیک‌های هدف توسط روش آنالیز، نتایج آزمون ناپارامتریک دو نمونه وابسته و تست ویل کاکسون (Wilcoxon) به منظور بررسی آماری بین غلظت آنتی بیوتیک‌های هدف در ورودی و خروجی هر یک از تصفیه خانه‌های فاضلاب، مورد استفاده قرار گرفت. پس از محاسبه کارایی حذف آنتی بیوتیک‌ها در دو تصفیه خانه مورد بررسی، از تست آماری یو من ویتنی (U Mann-Whitney) جهت بررسی تفاوت بین کارایی حذف در دو تصفیه خانه، استفاده شد. کارایی حذف آنتی بیوتیک‌ها در فرایند تصفیه طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

$$R\% = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

که در آن:  $R$  کارایی حذف به درصد،  $C_0$  غلظت آنتی بیوتیک در ورودی تصفیه خانه (mg/L)،  $C_1$  غلظت آنتی بیوتیک در خروجی تصفیه خانه (mg/L) است.

جدول ۱- غلظت آنتی بیوتیک‌های هدف در تصفیه خانه اکباتان و p آزمون Wilcoxon

نام آنتی بیوتیک	غلظت نمونه‌های خروجی (از تصفیه خانه اکباتان)	غلظت نمونه‌های ورودی (به تصفیه خانه اکباتان)	p
آموکسی سیلین	۶۷/۸۳ (۳۶/۹۲، ۸۳/۹۹)	۲۸۰/۰۰ (۱۸۵/۰۰، ۴۲۷/۴۵)	۰/۰۲۸
پنی سیلین	۷/۵۰ (۳/۱۶، ۷۴/۴۱)	۲۷/۴۵ (۱۶/۸۱، ۳۴/۶۸)	۰/۰۲۸
سیپروفلوکساسین	۱۵۸/۹۰ (۱۴۱/۸۵، ۲۱۴/۹۵)	۷۱۱/۱۵ (۶۵۷/۴۵، ۷۴۷/۷۵)	۰/۰۲۸
سفیکسیم	۶۳/۷۷ (۵۲/۰۰، ۸۷/۴۹)	۱۶۸/۹۰ (۰/۰۰، ۲۹۹/۶۲)	۰/۱۷۳
سفالکسین	۱۴/۷۵ (۱۰/۲۷، ۲۰/۸۱)	۲۷۹/۱۰ (۱۷۷/۷۷، ۴۳۸/۲۵)	۰/۰۲۸
اریترومایسین	۴۰/۹۵ (۳۳/۳۳، ۵۰/۵۱)	۱۱۱/۹۵ (۶۹/۶۶، ۱۳۱/۳۷)	۰/۰۲۸
آزیترومایسین	۱۱/۷۷ (۹/۶۸، ۱۴/۰۸)	۱۲/۷۸ (۰/۰۰، ۴۰/۰۵)	۰/۳۴۵

جدول ۲- غلظت آنتی بیوتیک‌های هدف در تصفیه خانه جنوب تهران و p آزمون Wilcoxon

نام آنتی بیوتیک	غلظت نمونه‌های خروجی (از تصفیه خانه جنوب تهران)	غلظت نمونه‌های ورودی (به تصفیه خانه جنوب تهران)	p
آموکسی سیلین	۸۰/۵۷ (۶۷/۷۵، ۸۸/۵۲)	۲۲۹/۷۵ (۱۸۶/۱۲، ۳۰۷/۱۲)	۰/۰۲۸
پنی سیلین	۲۰/۰۴ (۹/۸۷، ۳۰/۱۴)	۳۶/۳۵ (۳۴/۷۲، ۴۵/۱۰)	۰/۰۲۸
سیپروفلوکساسین	۱۰۷/۷۲ (۵۹/۳۰، ۲۲۸/۵۴)	۵۱۵/۸۰ (۳۹۸/۹۸، ۷۰۴/۷۰)	۰/۰۲۸
سفیکسیم	۳۵۰/۶۶ (۲۹۷/۹۱، ۴۱۶/۱۰)	۵۶۱/۴۳ (۴۴۱/۰۲، ۷۱۴/۵۵)	۰/۰۷۵
سفالکسین	۴/۶۶ (۰/۰۰، ۹/۳۷)	۸۹۸/۲۰ (۷۶۲/۷۴، ۹۲۶/۳۲)	۰/۰۲۸
اریترومایسین	۱۶۶/۶۲ (۱۴۱/۴۲، ۱۸۰/۱۱)	۴۵/۵۷ (۲۸/۸۷، ۵۶/۹۴)	۰/۰۲۸
آزیترومایسین	N.D	N.D	----

N.D: شناسایی نشده

معنی دار بود. با توجه به جدول ۲ تفاوت معنی داری بین غلظت کلیه آنتی بیوتیک‌های هدف در ورودی و خروجی تصفیه خانه جنوب ( $p=0/028$ ) مشاهده شد، بجز غلظت سفیکسیم که با ( $p=0/075$ ) تفاوت معنی داری در ورودی و خروجی تصفیه خانه نداشت و نیز آزیترومایسین که امکان بررسی به دلیل عدم مشاهده در ورودی وجود نداشت.

### ب) بررسی تفاوت کارایی حذف در دو تصفیه خانه فاضلاب اکباتان و جنوب تهران

جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌های حذف آنتی بیوتیک

در تصفیه خانه‌های مورد بررسی از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov test) استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که داده‌های کارایی حذف سه آنتی بیوتیک آموکسی سیلین، پنی سیلین، سفیکسیم دارای توزیع نرمال هستند، در حالی که داده‌های حذف چهار آنتی بیوتیک سفیکسیم، آزیترومایسین، اریترمایسین و سفالکسین از توزیع نرمال تبعیت نمی‌کند. از این رو مقایسه بین کارایی حذف در دو تصفیه خانه فاضلاب اکباتان و جنوب تهران برای سه آنتی بیوتیک اول از آزمون‌های پارامتریک و برای چهار آنتی بیوتیک دوم از آزمون‌های ناپارامتریک استفاده شد.

معنی داری با سطح اطمینان ۹۵ درصد بین کارایی حذف برای دو آنتی بیوتیک سفالکسین ( $p=0/005$ ) و اریترومایسین ( $p=0/002$ ) در دو تصفیه خانه اکباتان و جنوب تهران مشاهده شد که با توجه به میانه داده‌های حذف در تصفیه خانه اکباتان، میزان حذف دو آنتی بیوتیک آزیترومایسین و اریترومایسین در تصفیه خانه اکباتان بیشتر بوده است. در حالی که میانه داده‌های حذف، برای آنتی بیوتیک سفالکسین در تصفیه خانه جنوب تهران بالاتر بوده و نشان‌دهنده کارایی حذف بیشتر در تصفیه خانه جنوب تهران است. در مورد آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، تفاوت معنی داری با سطح اطمینان ۹۵ درصد بین کارایی حذف در بین دو تصفیه خانه اکباتان و جنوب تهران مشاهده نشد ( $p=0/522$ ).

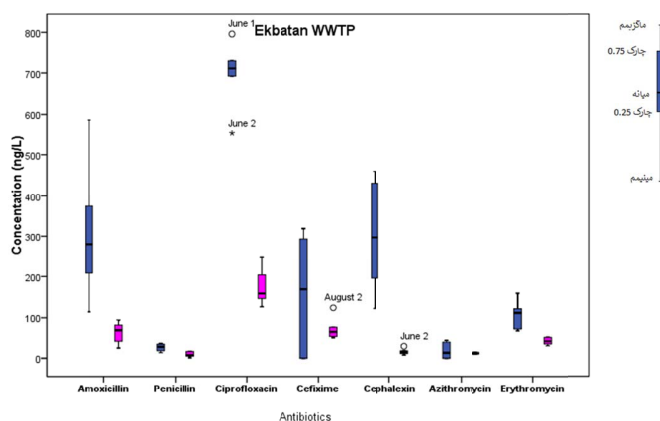
جهت مقایسه کارایی حذف سه آنتی بیوتیک آموکسی سیلین، پنی سیلین، سفیکسیم از آزمون پارامتریک  $t$  مستقل استفاده شد. نتایج آزمون در جدول ۳ ارائه شده است. براساس نتایج، اگرچه میانگین کارایی حذف برای سه آنتی بیوتیک آموکسی سیلین ( $p=0/159$ )، پنی سیلین ( $p=0/614$ ) و سفیکسیم ( $p=0/698$ ) در تصفیه خانه اکباتان بیشتر از میانگین کارایی حذف در تصفیه خانه جنوب تهران است اما براساس نتایج آزمون آماری  $t$ -test، اختلافی معنی داری بین کارایی حذف این آنتی بیوتیک‌ها در این دو تصفیه خانه مشاهده نشد. جهت پردازش آماری کارایی حذف چهار آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، سفالکسین، آزیترومایسین و اریترومایسین از آزمون آماری یو من ویتنی (ناپارامتریک) استفاده شد. نتایج آزمون در جدول ۴ ارائه شده است. براساس نتایج، تفاوت

جدول ۳- مقایسه آماری بین کارایی حذف آنتی بیوتیک‌های هدف در دو تصفیه خانه اکباتان و جنوب تهران با استفاده از آزمون  $t$  مستقل (پارامتریک)

نام آنتی بیوتیک	میانگین کارایی حذف در تصفیه خانه اکباتان (درصد)	میانگین کارایی حذف در تصفیه خانه جنوب تهران (درصد)	نوع آزمون	t	Sig. (2-tailed) p
آموکسی سیلین	۷۵/۲۱	۶۵/۴۶	t مستقل	۱/۵۲۴	۰/۱۵۹
پنی سیلین	۵۹/۴۰	۵۰/۴۳	t مستقل	۰/۵۲۱	۰/۶۱۴
سفیکسیم	۴۳/۱۹	۳۶/۳۵	t مستقل	۰/۳۹۹	۰/۶۹۸

جدول ۴- مقایسه آماری بین کارایی حذف آنتی بیوتیک‌های هدف در دو تصفیه خانه اکباتان و جنوب تهران با استفاده از آزمون یو من ویتنی (ناپارامتریک)

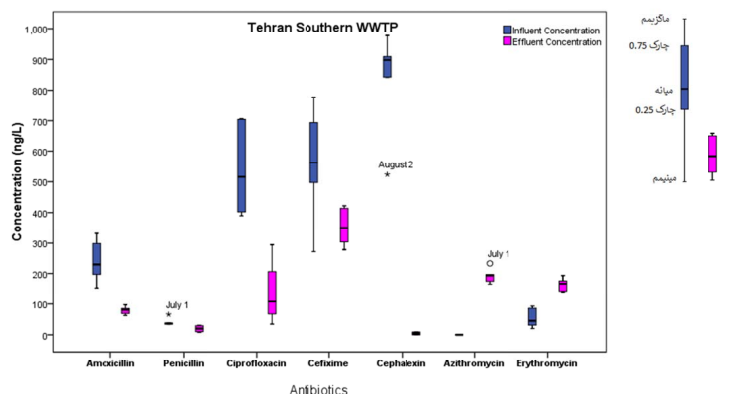
نام آنتی بیوتیک	تصفیه خانه اکباتان			تصفیه خانه جنوب تهران			نوع آزمون	مقدار آماره آزمون U Mann-Whitney	مقدار آماره آزمون Wilcoxon	Sig. (2-tailed) p
	چارک سوم (درصد)	میانه (چارک دوم) (درصد)	چارک اول (درصد)	چارک سوم (درصد)	میانه (چارک دوم) (درصد)	چارک اول (درصد)				
سیپروفلوکساسین	۷۹/۸۴	۷۷/۶۱	۷۰/۰۸	۹۱/۰۴	۸۲/۲۱	۴۱/۹۳	یو من ویتنی	۱۴	۳۵	۰/۵۲۲
سفالکسین	۹۶/۷۸	۹۴/۴۱	۸۹/۸۳	۱۰۰	۹۹/۴۷	۹۸/۷۳	یو من ویتنی	۰/۵	۲۱/۵	۰/۰۰۵
آزیترومایسین	۶۹/۳۲	۳۲/۷۱	.	.	.	.	یو من ویتنی	۹	۳۰	۰/۰۵۹
اریترومایسین	۶۸/۶۱	۵۷/۴۷	۵۲/۳۱	.	.	.	یو من ویتنی	۰/۵	۲۱	۰/۰۰۲



نمودار ۱- Box plot غلظت‌های اندازه‌گیری شده آنتی‌بیوتیک‌های هدف، در تصفیه خانه فاضلاب اکباتان برای نمونه‌های ورودی و خروجی فاضلاب براساس (ماکزیمم، چارک سوم، میانه، چارک اول و مینیم)

غلظت سفیکسیم  $124/4 \text{ ng/L}$  در پساب خروجی از تصفیه خانه اکباتان به‌عنوان outlier با علامت 0 مشخص شده است. غلظت سفالکسین در خروجی فاضلاب  $28/93 \text{ ng/L}$  به‌عنوان outlier با علامت 0 در نمودار مشخص شده است. غلظت پنی‌سیلین در نمونه ۱۹ تیرماه (۱۶ جولای) معادل  $332/1 \text{ ng/L}$  که با علامت \* در Box plot مشخص شده

غلظت سیپروفلوکساسین در فاضلاب ورودی تصفیه خانه که با علامت \* در نمودار مشخص شده  $552/6 \text{ ng/L}$  بود که دورتر از ۳ فاصله چارکی قرار گرفته و غلظت سیپروفلوکساسین در ورودی فاضلاب که با علامت 0 مشخص شده  $796/2 \text{ ng/L}$  بود که outlier محسوب می‌گردد و در فاصله ۱/۵ تا ۳ چارکی قرار گرفته است.

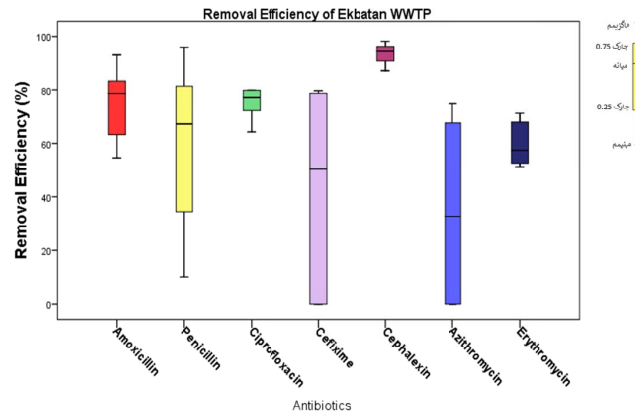


نمودار ۲- Box plot غلظت‌های اندازه‌گیری شده آنتی‌بیوتیک‌های هدف، در تصفیه خانه فاضلاب جنوب برای نمونه‌های ورودی و خروجی فاضلاب براساس (ماکزیمم، چارک سوم، میانه، چارک اول و مینیم)

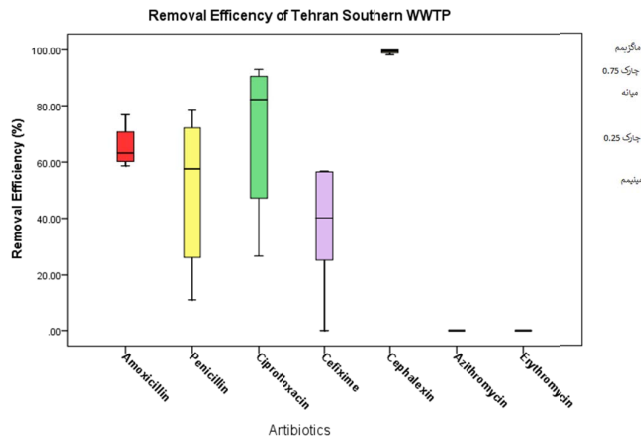
گرفته است. غلظت آزیترومایسین در خروجی فاضلاب  $233/3 \text{ ng/L}$  بود که دورتر از ۱/۵ + فاصله چارکی اما کمتر از ۳ فاصله چارکی قرار گرفته که به‌عنوان outlier شناخته می‌شود.

است، دورتر از ۳ فاصله چارکی قرار گرفته است که یک نمره انتهایی یا افراطی است. غلظت سفالکسین در نمونه ورودی ۱۲ مرداد (۱۶ اگوست)  $523/3 \text{ ng/L}$  به‌دست آمده که دورتر از ۳ فاصله چارکی قرار





نمودار ۳- کارایی حذف (درصد) آنتی بیوتیک‌های هدف در تصفیه خانه فاضلاب اکباتان براساس (ماکزیمم، چارک سوم، میانه، چارک اول و مینیمم)



نمودار ۴- کارایی حذف (درصد) آنتی بیوتیک‌های هدف در تصفیه خانه فاضلاب جنوب تهران براساس (ماکزیمم، چارک سوم، میانه، چارک اول و مینیمم)

## بحث

در فاضلاب ورودی می‌گردد، که در نتیجه تخلیه ناگهانی فلاش تانک‌های توالی‌ها به فاضلاب و تخلیه سیستم‌های جمع‌آوری فاضلاب بیمارستانی به شبکه جمع‌آوری فاضلاب است. عدم رعایت زمان ماند هیدرولیکی (ناشی از محدودیت‌های نمونه برداری) در هنگام جمع‌آوری نمونه‌های کامپوزیت منجر به اشتباه در تعیین غلظت ورودی و خروجی آنالیت مورد نظر می‌شود. همچنین به دلیل حضور متابولیت‌های انسانی و یا محصولات تغییر شکل یافته آنتی بیوتیک‌ها، که در ورودی اندازه‌گیری نشده‌اند و در طی فرایند تصفیه به شکل اولیه خود تغییر شکل می‌دهند، غلظت آنتی بیوتیک در پساب خروجی بیش از غلظت آن در فاضلاب ورودی اندازه‌گیری می‌شوند (۲۸).

با توجه به جداول ۱ و ۲ دلیل عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های ورودی و خروجی به تصفیه خانه فاضلاب می‌تواند ناشی از روش نمونه برداری باشد. به نظر می‌رسد که استفاده از حالت‌های مختلف "نمونه‌گیری ترکیبی" در هنگام نمونه برداری در فواصل زمانی طولانی، برای ترکیبات جزئی از جمله ترکیبات دارویی و بهداشت فردی (pharmaceuticals and personal care (PPCPs) products) در فاضلاب ورودی به تصفیه خانه‌های فاضلاب، مناسب نبوده و موجب ایجاد تغییرات غلظت زیاد در کوتاه مدت (high short-term concentration variations) می‌شود.

آنتی بیوتیک‌های آموکسی سیلین و پنی سیلین متعلق به کلاس بتا لاکتام هستند، که در همه نمونه‌ها با فراوانی ۱۰۰ درصد حتی در غلظت‌های بسیار کم شناسایی شده‌اند. به رغم این واقعیت که آنتی بیوتیک‌های بتا لاکتام ترکیبات بسیار پرمصرف در ایران (۸۸ درصد کل مصرف آنتی بیوتیک‌ها) (۲۶) و در سطح جهانی هستند (۲۴)، تشخیص آنها دشوار است و مطالعاتی که حضور آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام (پنی سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها) را بررسی کرده‌اند، کم است. برخی مطالعات قادر به تشخیص ترکیبات بتا لاکتام نبوده‌اند (۲۹). آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام پس از تجویز به مقدار کمی در بدن متابولیزه می‌شوند، بطوری‌که بیش از ۸۰ درصد مولکول اولیه بدون تغییر از بدن دفع می‌گردد (۲۰). با توجه به جدول ۲، نتایج آزمون *t* مستقل نشان داد که کارایی عملکرد در تصفیه خانه اکباتان و جنوب تهران در کارایی حذف سه آنتی بیوتیک بتا لاکتام، آموکسی سیلین ( $p=0/159$ )، پنی سیلین ( $p=0/614$ ) و سفیکسیم ( $p=0/698$ ) تفاوت معنی داری را نشان نمی‌دهد. در حقیقت حذف این آنتی بیوتیک‌ها به نوع فرایند تصفیه بستگی ندارد و به ساختار شیمیایی این ترکیبات وابسته است (۲۰). دلیل احتمالی این موضوع می‌تواند مربوط به تخریب آنتی بیوتیک‌های بتا لاکتام به دلیل شکست حلقه چهار عضوی بتا لاکتام باشد که بسیار حساس به هیدرولیز شیمیایی و آنزیمی هستند. علاوه بر این، پنی سیلین تحت شرایط اسیدی یا بازی و یا در واکنش به یک ماده نوکلئوفیل (هسته دوست) مانند آب و یون‌های فلزی تخریب می‌گردد. تحت شرایط غالب بازی در فاضلاب، حلقه بتا لاکتام آنتی بیوتیک‌ها در اثر هیدرولیز شکسته می‌شود، از این رو ترکیبات آنتی بیوتیک در نتیجه تخریب در آب، به سختی شناسایی می‌شوند (۳۰، ۳۱) با توجه به اینکه آنتی بیوتیک‌های سفالوسپورین از جمله سفیکسیم نیز دارای حلقه بتا لاکتام هستند، خصوصیات شبیه پنی سیلین‌ها نشان می‌دهند. از طرفی دیگر، اکثر باکتری‌ها قادر به تولید آنزیم بتا لاکتاماز هستند که قادر است موجب تخریب پنی سیلین‌ها تحت هیدرولیز آنزیمی گردد که بسیار شبیه هیدرولیز اسیدی است. آنزیم بتا لاکتاماز فعالیت دارویی ترکیبات بتا لاکتام را

غیر فعال می‌کند (۲۰). فلئوروکینولون‌ها بویژه سپیروفلوکسازین به وفور و بالاتر از حد اندازه گیری (LOQ) در محیط‌های آبی شناسایی و گزارش شده‌اند (۲۰، ۳۲). نتایج آزمایشات در شرایط کنترل شده نشان داد که فلئوروکینولون‌ها به راحتی قابل تجزیه بیولوژیکی نیستند (۳۳). بسیاری از محققین مکانیسم اصلی حذف برای فلئوروکینولون‌ها را جذب روی لجن فاضلاب و یا فلوک‌های موجود در فاضلاب ذکر کرده‌اند و نه تجزیه بیولوژیک (۳۴، ۳۵). با توجه به نتایج حاصله از آزمون یو من ویتنی، اختلاف معنی داری در حذف سپیروفلوکسازین ( $p=0/522$ ) در دو تصفیه خانه اکباتان و جنوب تهران مشاهده نگردید. گرچه اختلافی بین میانه داده‌های حذف سپیروفلوکسازین در دو تصفیه خانه مشاهده می‌گردد، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبوده و این موضوع می‌تواند بدلیل مکانیسم غالب حذف سپیروفلوکسازین و جذب آن بر جامدات بیولوژیکی لجن باشد. مطالعه بالانس جرمی که توسط Golet و همکاران در سال ۲۰۰۳ در یک فرایند تصفیه متداول فاضلاب انجام شد، نشان داد که بدلیل جذب بر روی لجن، حذف فلئوروکینولون‌ها از فاز آبی تا ۸۸-۹۲ درصد به دست آمد. در حالی که، در شرایط متانوزیک در یک هاضم بی‌هوای لجن (تجزیه بیولوژیکی)، هیچ حذف قابل توجهی برای این ترکیبات حاصل نشد و این موضوع حاکی از مکانیسم غالب حذف این ترکیبات از طریق جذب بر روی جامدات بیولوژیکی لجن تصفیه خانه دارد (۳۶). اریترومایسین نماینده اصلی آنتی بیوتیک‌های گروه ماکرولید است که برای مصارف بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تفاوت مهم بین اریترومایسین و روکسیترومایسین، حساسیت آن به تغییرات کلاریترومایسین و روکسیترومایسین، حساسیت آن به تغییرات pH هست. تحت شرایط اسیدی، اریترومایسین پایدار نبوده و با از دست دادن یک مولکول آب ( $H_2O$ ) به شکل غیرفعال anhydro در می‌آید (۳۷). در اکثر تصفیه خانه‌های فاضلاب شهری pH محیط بهره برداری در محدوده (۸-۶/۵) تغییر می‌کند، در این شرایط اریترومایسین می‌تواند به شکل فعال اولیه خود تغییر شکل دهد و به هر دو شکل ماده فعال اولیه

## نتیجه‌گیری

پردازش آماری هفت آنتی بیوتیک پر مصرف در ایران توسط آزمون‌های آماری ناپارامتریک دو نمونه وابسته و تست ویل کاکسون (Wilcoxon) در ورودی و خروجی هر تصفیه خانه انجام شد، و پس از محاسبه کارایی حذف آنتی بیوتیک‌ها، از آزمون آماری t مستقل و یو من ویتنی برای پردازش داده‌های کارایی حذف در دو تصفیه خانه فاضلاب استفاده شد. براساس نتایج به دست آمده، تفاوت غلظت سفیکسیم و آزیترومایسین در فاضلاب ورودی و خروجی تصفیه خانه اکباتان و تفاوت غلظت سفیکسیم در ورودی و خروجی تصفیه خانه جنوب تهران معنی دار نبود که می‌تواند ناشی از پدیده de-conjugation یا محدودیت‌های نمونه برداری براساس زمان ماند هیدرولیکی باشد.

اگرچه میانگین کارایی حذف برای سه آنتی بیوتیک آموکسی سیلین، پنی سیلین و سفیکسیم در این دو تصفیه خانه اختلاف معنی داری نشان نداده است، ولی میزان حذف دو آنتی بیوتیک آزیترومایسین و اریترومایسین در تصفیه خانه اکباتان بیشتر بوده است. مکانیسم اصلی حذف در تصفیه خانه فاضلاب، تخریب آنتی بیوتیک بتا لاکتام به دلیل شکست حلقه چهار عضوی بتا لاکتام است که بسیار حساس به هیدرولیز شیمیایی و آنزیمی هستند. در حالی که، مکانیسم اصلی حذف برای فلوتوروکینولون‌ها، جذب روی لجن فاضلاب و یا فلوک‌های موجود در فاضلاب است. مکانیسم اصلی حذف ترکیبات ماکرولید در فرایندهای تصفیه فاضلاب حساسیت این آنتی بیوتیک‌ها به pH بوده که به سادگی به فرم غیر فعال خود تغییر شکل داده و تحت پدیده de-conjugation قرار می‌گیرند. از این رو می‌توان گفت که علاوه بر نوع فرایند تصفیه فاضلاب در حذف آنتی بیوتیک‌ها، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آنها نیز نقش مهمی در سرنوشت این ترکیبات در محیط‌های آبی و فرایندهای تصفیه فاضلاب ایفا می‌کند.

## ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

و به شکل غیر فعال اریترومایسین دهیدراته (اریترومایسینی که یک مولکول آب از دست داده است) حضور داشته باشد (۲۰). در این شرایط، کارایی حذف منفی (Negative Removal) برای این ترکیب ایجاد می‌شود به این پدیده de-conjugation یا جدا شدن ترکیبات مزدوج گفته می‌شود (۲۰، ۲۴). آنتی بیوتیک‌های ماکرولید معمولاً در تصفیه خانه‌های متداول فاضلاب به طور کامل حذف نمی‌شوند. مطالعات متعددی عنوان کرده‌اند که درصد حذف آنتی بیوتیک‌های ماکرولید در فرایند لجن فعال متداول از ۸۰- تا ۴۴ درصد متغیر بوده است (۲۴، ۳۸، ۳۹). در مطالعه حاضر نیز غلظت اریترومایسین و آزیترومایسین در پساب فاضلاب بیشتر از فاضلاب ورودی بود که در نهایت برای این آنتی بیوتیک‌ها درصد حذف منفی به دست آمد که می‌تواند مربوط به پدیده de-conjugation باشد. در آنالیز آماری درصد حذف اریترومایسین و آزیترومایسین صفر در نظر گرفته شد. با توجه به اینکه غلظت نه تنها در خروجی فاضلاب کاهش نیافته بود بلکه غلظت افزایش یافته بود و در واقع کارایی حذفی مشاهده نگردید.

جذب روی لجن فاضلاب فقط بخش کوچکی از مکانیسم حذف ماکرولیدها را به خود اختصاص می‌دهد، و اساساً حذف آنتی بیوتیک‌های ماکرولید در فرایند تصفیه بیولوژیکی اتفاق می‌افتد. در فرایندهایی که حاوی کانال اکسایش هستند، شبیه به فرایند موجود در تصفیه خانه اکباتان ( $A^2/O$ )، به دلیل طولانی‌تر بودن زمان ماند هیدرولیکی نسبت به فرایند هوازی، اریترومایسین و آزیترومایسین به راحتی تحت پدیده de-conjugation قرار می‌گیرند (۲۹). علاوه بر این Suarez و همکاران در سال ۲۰۱۰، گزارش کردند که اریترومایسین و آزیترومایسین در راکتور هوازی تا بیش از ۹۰ درصد تغییر شکل می‌دهند، در حالی که در راکتور بدون اکسیژن (Anoxic) مقدار بسیار کمی از این ترکیبات تغییر شکل می‌دهد. در جدول ۵ کارایی حذف آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه در فرایندهای مختلف تصفیه فاضلاب بویژه اصلاحات لجن فعال مورد بررسی قرار گرفته است.

جدول ۵- کارایی حذف آنتی بیوتیک‌های هدف در فرایندهای متفاوت تصفیه فاضلاب با لجن فعال در مطالعات پیشین

منابع	کارایی حذف (درصد)	زمان ماند هیدرولیکی به ساعت (HRT)	زمان ماند لجن به روز (SRT)	فرایند تصفیه فاضلاب	آنتی بیوتیک
(۴۰)	۸۴	۱۱	۱۲/۵	لجن فعال متداول + میکروفیلتراسیون به همراه اسمز معکوس	آموکسی سیلین
(۴۱)	۱۰۰	-----	----	لجن فعال متداول	
(۴۲)	۹۹*	۱۲/۵	۱۶/۵	لجن فعال متداول	
(۲۸)	کارایی حذف کم	۸/۹	۱۵	بی هوازی/ انوکسیک/هوازی (A <sup>2</sup> O)	
(۲۸)	کارایی حذف کم	۱۷	۱۱	بی هوازی/ انوکسیک/هوازی (A <sup>2</sup> O)	
(۳۴)		۱۶	۲۵	لجن فعال متداول	
(۲۹)		۱۲	۷/۵	کانال اکسایش + زلال ساز UV ثانویه و ضد عفونی با کلر	
(۴۳)	۲۶	کاربردی نیست		لاگون هوادهی	آزیترومایسین
(۴۳)	۸۲	کاربردی نیست		لاگون اختیاری	
(۴۳)	-۷۸	کاربردی نیست		لجن فعال متداول + افزودن ترکیبات شیمیایی در تصفیه اولیه	
(۴۳)	-۴۰	۵/۳	۴	لجن فعال + تصفیه ثانویه	
(۴۳)	۵۴	۱۱	۶	لجن فعال + تصفیه ثانویه	
(۴۳)	۶۲	۶/۷	۹	تصفیه پیشرفته (حذف بیولوژیکی nutrient)	
(۲۹)	۷۶	۱۶	۲۵	لجن فعال متداول	سفالکسین
(۲۹)	۱۰۰	۱۲	۷/۵	کانال اکسایش + زلال ساز UV ثانویه و ضد عفونی با کلر	
(۴۲)	۹۹*	۱۲/۵	۱۶/۵	لجن فعال متداول	
(۲۹)	۸۸/۷	۱	۶	لجن فعال	
(۲۹)	۸۷/۱	۲۸/۳۱	۱۷	هوادهی گسترده	
(۳۴)	۵۹	۴	-----	تماس دهنده‌های بیولوژیکی چرخان	
(۳۴)	۶۴	۱	۱۵	تماس دهنده‌های بیولوژیکی چرخان	
(۳۴)	۷۵	۱۶	۲۵	لجن فعال متداول	سیپروفلوکساسین
(۳۴)	۷۰	۱۲	۷/۵	کانال اکسایش + زلال ساز UV ثانویه و ضد عفونی با کلر	
(۳۴)	-۵۸۲	کاربردی نیست		لاگون هوادهی	
(۳۴)	۹۸	کاربردی نیست		لاگون اختیاری	
(۳۴)	۵۶	کاربردی نیست		لجن فعال متداول + افزودن ترکیبات شیمیایی در تصفیه اولیه	
(۴۳)	۳۲	۵/۳	۴	لجن فعال-تصفیه ثانویه	
(۴۳)	۸۸	۱۱	۶	لجن فعال-تصفیه ثانویه	

ادامه جدول ۵- کارایی حذف آنتی بیوتیک‌های هدف در فرایندهای متفاوت تصفیه فاضلاب با لجن فعال در مطالعات پیشین

منابع	کارایی حذف (درصد)	زمان ماند هیدرولیکی به ساعت (HRT)	زمان ماند لجن به روز (SRT)	فرایند تصفیه فاضلاب	آنتی بیوتیک
(۴۳)	۷۵	۶/۷	۹	تصفیه پیشرفته (حذف بیولوژیکی (nutrient)	
(۲۹)	۲۸/۹	---	۱۲/۵		اریترومايسين
(۴۳)	-۱۶	کاربردی نیست		لاگون هوادهی	
(۴۳)	۶۹	کاربردی نیست		لاگون اختیاری	
(۴۳)	-۱۰	۵/۳	۴	لجن فعال-تصفیه ثانویه	اریترومايسين -
(۴۳)	-۱۸	۱۱	۶	لجن فعال-تصفیه ثانویه	H <sub>2</sub> O
(۴۳)	۲۱	۶/۷	۹	تصفیه پیشرفته (حذف بیولوژیکی (nutrient)	
(۴۰)	کارایی محاسبه نشده	۱۱	۱۲/۵	لجن فعال متداول + میکروفیلتراسیون به همراه اسمز معکوس	پنی سیلین جی
(۴۲)	-۲۹*	۱۲/۵	۱۶/۵	لجن فعال متداول	

\* درصد حذف در مطالعه محاسبه نشده بود، لذا نویسنده با استفاده از غلظت ورودی و خروجی درصد حذف را محاسبه نموده است.

## تشکر و قدردانی

پژوهشکده محیط زیست مرکز کیفیت آب در سال ۱۳۹۲ با کد ۲۳۳۴۰-۴۶-۰۲-۹۲ است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران اجرا شده است.

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با عنوان "بررسی حضور و تعیین مقدار آنتی بیوتیک‌ها در منابع آب شهر تهران و ارزیابی خطر زیست محیطی آنها" در مقطع دکتری پژوهشی-

## References

- Liu X, Lee J, Ji K, Takeda S, Choi K. Potentials and mechanisms of genotoxicity of six pharmaceuticals frequently detected in freshwater environment. *Toxicology Letters*. 2012;211(1):70-76.
- Huerta B, Rodríguez-Mozaz S, Barceló D. Pharmaceuticals in biota in the aquatic environment: analytical methods and environmental implications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2012;404(9):2611-24.
- López-Serna R, Pérez S, Ginebreda A, Petrović M, Barceló D. Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Talanta*. 2010;83(2):410-24.
- Carvalho IT, Santos L. Antibiotics in the aquatic environments: a review of the European scenario. *Environment International*. 2016;94:736-57.
- Hernando MD, Mezcuca M, Fernández-Alba AR, Barceló D. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*. 2006;69(2):334-42.
- Gao L, Shi Y, Li W, Niu H, Liu J, Cai Y. Occurrence of antibiotics in eight sewage treatment plants in Beijing, China. *Chemosphere*. 2012;86(6):665-71.
- Kim S-C, Carlson K. Quantification of human and veterinary antibiotics in water and sediment using SPE/LC/MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2007;387(4):1301-15.
- Al Aukidy M, Verlicchi P, Voulvoulis N. A framework for the assessment of the environmental risk posed by pharmaceuticals originating from hospital effluents. *Science of The Total Environment*. 2014;493:54-64.
- Al Aukidy M, Verlicchi P, Jelic A, Petrovic M, Bar-

- celò D. Monitoring release of pharmaceutical compounds: occurrence and environmental risk assessment of two WWTP effluents and their receiving bodies in the Po Valley, Italy. *Science of The Total Environment*. 2012;438:15-25.
10. Rizzo L, Manaia C, Merlin C, Schwartz T, Dagot C, Ploy M, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review. *Science of The Total Environment*. 2013;447:345-60.
  11. Kinney CA, Furlong ET, Zaugg SD, Burkhardt MR, Werner SL, Cahill JD, et al. Survey of organic wastewater contaminants in biosolids destined for land application. *Environmental Science & Technology*. 2006;40(23):7207-15.
  12. Kinney CA, Furlong ET, Werner SL, Cahill JD. Presence and distribution of wastewater-derived pharmaceuticals in soil irrigated with reclaimed water. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2006;25(2):317-26.
  13. Collado N, Rodriguez-Mozaz S, Gros M, Rubirola A, Barceló D, Comas J, et al. Pharmaceuticals occurrence in a WWTP with significant industrial contribution and its input into the river system. *Environmental Pollution*. 2014;185:202-12.
  14. O'Flaherty E, Cummins E. Antibiotic resistance in surface water ecosystems: presence in the aquatic environment, prevention strategies, and risk assessment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. 2017;23(2):299-322.
  15. Phillips PJ, Schubert C, Argue D, Fisher I, Furlong ET, Foreman W, et al. Concentrations of hormones, pharmaceuticals and other micropollutants in groundwater affected by septic systems in New England and New York. *Science of The Total Environment*. 2015;512:43-54.
  16. Boy-Roura M, Mas-Pla J, Petrovic M, Gros M, Soler D, Brusi D, et al. Towards the understanding of antibiotic occurrence and transport in groundwater: Findings from the Baix Fluvià alluvial aquifer (NE Catalonia, Spain). *Science of The Total Environment*. 2018;612:1387-406.
  17. Kim S-C, Carlson K. LC-MS2 for quantifying trace amounts of pharmaceutical compounds in soil and sediment matrices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2005;24(7):635-44.
  18. Kim SD, Cho J, Kim IS, Vanderford BJ, Snyder SA. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water Research*. 2007;41(5):1013-21.
  19. Padhye LP, Yao H, Kung'u FT, Huang C-H. Year-long evaluation on the occurrence and fate of pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disrupting chemicals in an urban drinking water treatment plant. *Water Research*. 2014;51:266-76.
  20. Le-Minh N, Khan S, Drewes J, Stuetz R. Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. *Water Research*. 2010;44(15):4295-323.
  21. AWWA. *Water Quality and Treatment: A Handbook on Drinking Water*. New York: McGraw-Hill; 2011.
  22. Kazner C. *TECHNEAU: Safe Drinking Water from Source to Tap*. London: IWA Publishing; 2009.
  23. European Union. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. Brussels: European Union; 2013 [cited 2018 Jul 22]. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013L0039&from=EN>.
  24. Gros M, Rodríguez-Mozaz S, Barceló D. Rapid analysis of multiclass antibiotic residues and some of their metabolites in hospital, urban wastewater and river water by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2013;1292:173-88.
  25. Mirzaei R, Yunesian M, Nasser S, Gholami M, Jalilzadeh E, Shoeibi S, et al. An optimized SPE-LC-MS/MS method for antibiotics residue analysis in ground, surface and treated water samples by response surface methodology- central composite design. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. 2017;15:21.
  26. Mirzaei R, Yunesian M, Nasser S, Gholami M, Jalilzadeh E, Shoeibi S, et al. Occurrence and fate of most prescribed antibiotics in different water envi-

- ronments of Tehran, Iran. *Science of The Total Environment*. 2018;619–620:446-59.
27. Englert B. Method 1694: pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS. Washington DC: United States Environmental Protection Agency; 2007.
  28. Yan Q, Gao X, Chen Y-P, Peng X-Y, Zhang Y-X, Gan X-M, et al. Occurrence, fate and ecotoxicological assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants in Chongqing, the Three Gorges Reservoir Area. *Science of The Total Environment*. 2014;470-471:618-30.
  29. Zhou L-J, Ying G-G, Liu S, Zhao J-L, Yang B, Chen Z-F, et al. Occurrence and fate of eleven classes of antibiotics in two typical wastewater treatment plants in South China. *Science of The Total Environment*. 2013;452:365-76.
  30. Gulkowska A, Leung HW, So MK, Taniyasu S, Yamashita N, Yeung LW, et al. Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Shenzhen, China. *Water Research*. 2008;42(1):395-403.
  31. Junker T, Alexy R, Knacker T, Kümmerer K. Biodegradability of 14C-labeled antibiotics in a modified laboratory scale sewage treatment plant at environmentally relevant concentrations. *Environmental Science & Technology*. 2006;40(1):318-24.
  32. Lindberg RH, Wennberg P, Johansson MI, Tysklind M, Andersson BA. Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden. *Environmental Science & Technology*. 2005;39(10):3421-29.
  33. Kümmerer K, Al-Ahmad A, Mersch-Sundermann V. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere*. 2000;40(7):701-10.
  34. Batt AL, Kim S, Aga DS. Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations. *Chemosphere*. 2007;68(3):428-35.
  35. Zorita S, Mårtensson L, Mathiasson L. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Science of The Total Environment*. 2009;407(8):2760-70.
  36. Golet EM, Xifra I, Siegrist H, Alder AC, Giger W. Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. *Environmental Science & Technology*. 2003;37(15):3243-49.
  37. Göbel A, McArdell CS, Suter MJ-F, Giger W. Trace determination of macrolide and sulfonamide antimicrobials, a human sulfonamide metabolite, and trimethoprim in wastewater using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2004;76(16):4756-64.
  38. Clara M, Strenn B, Gans O, Martinez E, Kreuzinger N, Kroiss H. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Research*. 2005;39(19):4797-807.
  39. Göbel A, McArdell CS, Joss A, Siegrist H, Giger W. Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Science of The Total Environment*. 2007;372(2):361-71.
  40. Watkinson A, Murby E, Costanzo S. Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Research*. 2007;41(18):4164-76.
  41. Zuccato E, Castiglioni S, Bagnati R, Melis M, Fanelli R. Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*. 2010;179(1):1042-48.
  42. Watkinson A, Murby E, Kolpin D, Costanzo S. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: from wastewater to drinking water. *Science of The Total Environment*. 2009;407(8):2711-23.
  43. Guerra P, Kim M, Shah A, Alaei M, Smyth S. Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. *Science of The Total Environment*. 2014;473:235-43.



Available online: <http://ijhe.tums.ac.ir>

Original Article



## The efficiency of the conventional wastewater treatment plant in antibiotics removal and the determination of their concentration in Ekbatan and Southern Tehran wastewater treatment plants: a case report

R Mirzaei<sup>1</sup>, M Yunesian<sup>2,3,\*</sup>, AR Mesdaghinia<sup>1,2</sup>, S Nasser<sup>1,2</sup>, M Gholami<sup>4</sup>, E Jalilzadeh<sup>5</sup>, Sh Shoeibi<sup>6</sup>

1- Center for Water Quality Research (CWQR), Institute for Environmental Research (IER), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Department of Research Methodology and Data Analysis, Institute for Environmental Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Water and Wastewater Company, Department of Water and Wastewater Quality Control Laboratory, Tehran, Iran

6- Food and Drug Reference Control Laboratories Center, Food and Drug Organization, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

### ARTICLE INFORMATION:

**Received:** 9 July 2018

**Revised:** 27 August 2018

**Accepted:** 1 September 2018

**Published:** 19 December 2018

### ABSTRACT

**Background and Objective:** Antibiotics are a group of emerging contaminants in the aquatic environment. Antibiotic residues threaten the human health and ecosystem in the low concentrations found in the environment. Hence, the present work has been conducted to investigate the occurrence and removal efficiency of most prescribed antibiotics including amoxicillin, penicillin, cefixime, cephalexin, ciprofloxacin, erythromycin and azithromycin detected in two urban wastewater treatment plants (WWTPs) in Tehran.

**Materials and Methods:** The present work is an applied research based on USEPA method no. 1694, to investigate pharmaceuticals residues in water by HPLC/MS/MS in year 2016. The differences between target antibiotics residues were investigated statistically. After the calculation of the removal efficiencies, the normality of the data was assessed. Then, parametric and non-parametric tests were used to compare the removal efficiencies in both WWTPs.

**Results:** There was not a significant difference between the influent and effluent concentrations of cefixime and azithromycin (in Ekbatan WWTP) and cefixime (in southern Tehran WWTP). There is a significant difference between the removal efficiencies of cephalexin ( $p=0.005$ ) and erythromycin ( $p=0.002$ ) in two WWTPs. The highest median removal efficiencies were observed for cephalexin 94.41 and 99.47 in Ekbatan WWTP and southern Tehran WWTP, respectively.

**Conclusion:** In addition to the type of treatment processes, it is physicochemical properties of the selected compound has a significant influence on removal efficiencies.

**Keywords:** Antibiotic,  
Emerging contaminants,  
Wastewater treatment plant

**\*Corresponding Author:**

yunesian@tums.ac.ir

Please cite this article as: Mirzaei R, Yunesian M, Mesdaghinia AR, Nasser S, Gholami M, Jalilzadeh E, et al. The efficiency of the conventional wastewater treatment plant in antibiotics removal and the determination of their concentration in Ekbatan and Southern Tehran wastewater treatment plants: a case report. Iranian Journal of Health and Environment. 2018;11(3):321-36.