

## بررسی اثر بازدارندگی آنتی بیوتیک مترونیدازول قبل و بعد از فرایند اکسیداسیون پیشرفته $UV_{254}/H_2O_2$ بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بیهوازی

سید عباس میرزایی<sup>۱\*</sup>، محمدمهدی امین<sup>۲</sup>، منصور سرافراز<sup>۱</sup>، مهناز حیدری<sup>۱</sup>، محمد مهدی احمد معظم<sup>۱\*</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۸/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۵/۲۸

### چکیده

زمینه و هدف: دفع ترکیبات دارویی به محیط زیست به عنوان آلاینده‌های نو ظهور، نگرانی قابل توجهی ایجاد کرده و استفاده از روش‌های جدید تصفیه فاضلاب جهت حذف این ترکیبات ضروری بنظر می‌رسد. مطالعه حاضر درصدد بررسی میزان تاثیر بازدارندگی داروی مترونیدازول قبل و بعد از تصفیه با استفاده از فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  بر فعالیت متان‌سازی ویژه جرم زیستی بی‌هوازی است.

روش بررسی: تعداد ۱۴ آزمایش هضم بی‌هوازی به روش ناپوسته قبل و پس از کاربرد فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  در راکتورهای  $mL$  ۵۰۰ که ۳۰٪ جرم زیستی بی‌هوازی و ۷۰٪ سوبستره بوده، انجام شد. تکنیک مورد استفاده در این مطالعه روش جایجایی مایع بود. مدت هر آزمایش در حدود ۱۰ تا ۱۷ روز به طول انجامید.

یافته‌ها: میزان بیومتان جمعی در غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و  $100\ mg/L$  داروی مترونیدازول بترتیب ۳۴/۰۴، ۹۵/۱۲، ۹۵/۱۲، ۱۰۰/۸۶، ۳/۲۸، ۲۷/۸۸ و  $6/97\ mL$  اندازه‌گیری شد. این میزان با کاربرد فرایند پیش تصفیه به مدت ۶۰ min در غلظت‌های ۵۰ و  $80\ mg/L$  بترتیب ۸۰/۷۳ و  $243/54\ mL$  و در مدت زمان ۹۰ min در غلظت‌های ۸۰ و  $120\ mg/L$  بترتیب تولید بیومتان به میزان ۳۸۰/۴۸،  $377/2\ mL$  و  $63/14\ mL$  مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: داروی مترونیدازول در غلظت‌های مختلف بر کارایی هاضم‌های بی‌هوازی اثر بازدارندگی دارد و بنابراین نیاز به یک روش پیش تصفیه موثر برای کاهش این اثر مورد نیاز است. فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  روشی موثر برای تجزیه و تبدیل مترونیدازول به ترکیبات ساده‌تر و قابل تجزیه بیولوژیکی بیشتر برای مصرف باکتری‌های بی‌هوازی و در نتیجه افزایش بیوگاز تولیدی در هاضم‌ها است.

واژگان کلیدی: هضم بی‌هوازی، داروی مترونیدازول، متان‌سازی ویژه جرم زیستی، فرایند اکسیداسیون پیشرفته

۱- (نویسنده مسئول): دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.  
mehdi.amoazzam@gmail.com

۲- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

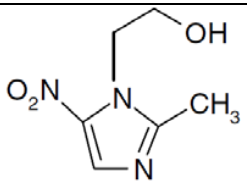
۳- دکترای تخصصی مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

مقدمه

آنتی بیوتیک‌ها و ترکیبات دارویی (Pharmaceuticals) بطور گسترده‌ای به منظور درمان بیماری‌های باکتریایی عفونت‌زا استفاده می‌شوند که اغلب با استفاده از فرایندهای متداول تصفیه فاضلاب حذف نمی‌شوند (۱). دفع آنتی بیوتیک‌ها و ترکیبات دارویی به محیط زیست بعنوان آلاینده‌های نوظهور، نگرانی قابل توجهی را ایجاد کرده است و استفاده از روش‌های جدید تصفیه فاضلاب مانند فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته (Advanced Oxidation processes (AOPs)) جهت حذف این ترکیبات ضروری بنظر می‌رسد، علاوه بر این باقیمانده این ترکیبات در محیط می‌تواند سبب افزایش باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها و در نتیجه افزایش ابتلا به بیماری‌های مختلف گردد. در دهه اخیر گروه وسیعی از مواد دارویی در تصفیه خانه‌های فاضلاب یافت شده اند (۲). فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته می‌توانند به عنوان پیش تصفیه جهت تجزیه ترکیبات بیولوژیکی مقاوم زیستی (bio recalcitrant) به ترکیبات میانی قابل تجزیه بیولوژیکی آسان‌تر و سپس استفاده از فرایند بیولوژیکی بکار روند (۳-۵). استفاده از اشعه ماورابنفش به همراه پراکسید هیدروژن (UV<sub>254</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) به عنوان یکی از روش‌های فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته جهت تصفیه فاضلاب و حذف ترکیبات مختلف به عنوان یک روش تجزیه نوری (photolysis) شناخته می‌شود. این فرایند همانند دیگر فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته، رادیکال آزاد هیدروکسیل را به منظور کاهش میزان مواد آلی در سیستم‌های آبی ایجاد می‌کند که می‌تواند منجر به تجزیه مستقیم آلاینده هدف یا تبدیل آن به محصولات میانی شود (۴، ۵).

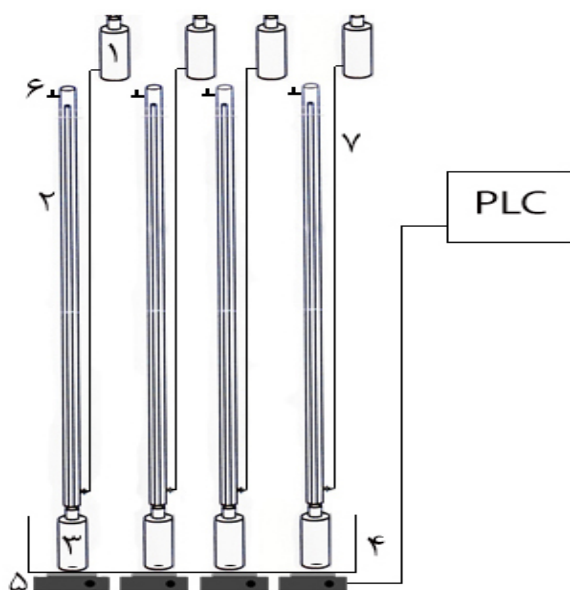
مترونیدازول یک داروی سنتزی از کلاس نیترومیدازول و جزء عوامل آنتی باکتریال و آنتی پروتوزال است. جدول ۱ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی داروی مترونیدازول را نشان می‌دهد. این آنتی بیوتیک یکی از موثرترین داروهای موجود برای درمان عفونت‌های بی‌هوایی بوده، کاربرد ضد انگلی داشته و در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود.

جدول ۱ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی داروی مترونیدازول (۴، ۶)

نام تجاری	۱ بتا هیدروکسی اتیل - دو متیل - ۵-نیترومیدازول
فرمول شیمیایی	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
وزن مولکولی (g/mol)	۱۷۱/۱۵
حلالیت در آب (g/L)	۹/۵
pKa	۲/۵۵
Vp (Pa)	۴/۰۷ × ۱۰ <sup>-۷</sup>
ساختار مولکولی	

از آنجایی که یکی از پرکاربردترین فعالیت‌های بیولوژیکی در تصفیه خانه‌ها هاضم‌های بی‌هوایی هستند، غلظت بالای ترکیبات دارویی ممکن است بر جمعیت باکتری‌های بی‌هوایی اثرات بازدارنده داشته باشند. این داروها می‌توانند میزان رشد باکتری‌ها را کاهش داده، اثر مهمی بر میزان کاهش ارگانیک‌های لجن و همچنین تولید بیوگاز داشته باشند. مطالعات نشان دادند متابولیت‌های ایجاد شده پس از مصرف آنتی بیوتیک‌ها می‌توانند تاثیر بیشتری بر فعالیت باکتریایی داشته باشند (۲، ۷). آزمایش فعالیت متان‌سازی ویژه (Specific Methanogenic Activity (SMA)), روشی مطمئن برای پایش فعالیت باکتری‌های متان‌ساز در جریان تصفیه بیولوژیکی پساب‌های داروسازی در بیوراکتورها است. این آزمایش برای ارزیابی اثرات بازدارندگی ترکیبات مختلف در هاضم‌های تخمیر بی‌هوایی بکار برده می‌شود (۸).

Heidari و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین در غلظت‌های مشابه نسبت به افلوکساسین دارای بازدارندگی بیشتری بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوایی است. همچنین هورمون E<sub>2</sub> (هورمون ۱۷ بتا استرادیول والرات) در غلظت‌های پایین نسبت به آنتی بیوتیک‌های فوق بازدارنده‌تر است (۸). Saffari Khouzani و همکاران (۲۰۱۰)



شکل ۱: شماتیک پایلوت هاضم‌های کوچک بی‌هوازی مورد استفاده در این مطالعه جهت آزمایش متان‌سازی بی‌هوازی: ۱- مخزن حاوی محلول جابجایی گاز، ۲- لوله‌های حاوی محلول جابجایی گاز، ۳- ویال‌های حاوی لجن بی‌هوازی و سوپستره کمکی، ۴- حمام آب گرم، ۵- همزن مغناطیسی، ۶- شیر خروج گاز، ۷- لوله‌های مربوط به جابجایی مایع.

#### مشخصات پایلوت، نمونه‌برداری و نحوه بذردهی:

تکنیک مورد استفاده در این مطالعه از نوع روش جابجایی مایع (liquid displacement method) بوده است (۱۱). از هر ویال ۵۰۰ mL، ۱۵۰ mL جرم زیستی بی‌هوازی و ۳۵۰ mL به سوپستره اختصاص یافت. جهت اندازه‌گیری بیوگاز تولیدی در ویال‌ها از روش جایگزینی گاز با مایع استفاده شده که لوله خروجی بیوگاز در بالای هر کدام از ویال‌ها نصب شده و به یک محفظه حاوی مایع محبوس‌کننده (confining liquid) متصل گردید. در ازای هر حجم بیوگاز تولیدی همان مقدار مایع محبوس‌کننده جابجا شده و به عنوان حجم بیوگاز تولیدی ثبت شد. فضای بالای ویال‌ها با گاز بی‌اثر نیتروژن (خلوص ۹۹/۹۹٪) پر شد. اختلاط محتویات ویال‌ها به صورت زمان‌بندی شده (۴۵min اختلاط، ۱۵ min استراحت) با استفاده از همزن مغناطیسی (ساخت شرکت

نشان دادند که آمبی‌سیلین در غلظت‌های مشابه نسبت به جنتامایسین بر جرم زیستی بی‌هوازی اثر بازدارندگی بیشتری دارد (۱۰). Lallai و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که تیمافنیکل تفاوت قابل توجهی در تولید متان در غلظت‌های ۸۰ تا ۱۶۰ mg/L نشان داد. آموکسی‌سیلین در غلظت‌های ۶۰ و ۱۲۰ mg/L در مقایسه با شاهد اختلاف اندکی در تولید متان نشان داده است. تولید متان در غلظت‌های ۱۲۵ تا ۲۵۰ mg/L اکسی‌تراسایکلین در مقایسه با شاهد، مشابه بودند (۷).

با توجه به اینکه مطالعات گذشته تنها به بررسی اثر بازدارندگی ترکیبات دارویی بر فرایند هضم بی‌هوازی تمرکز کرده و روش خاصی برای کاهش اثر بازدارندگی این ترکیبات ارائه نداده‌اند بنابراین مطالعه حاضر درصدد بررسی میزان تاثیر بازدارندگی داروی مترونیدازول قبل و بعد از تصفیه با استفاده از فرایند اکسیداسیون پیشرفته  $UV_{254}/H_2O_2$  بر فعالیت متان‌سازی ویژه جرم زیستی بی‌هوازی و بهینه‌سازی فرایند هضم بی‌هوازی لجن است. با توجه به بررسی‌های انجام شده این مطالعه اولین پژوهش انجام شده در زمینه پیش تصفیه ترکیبات دارویی و سپس هضم بی‌هوازی است.

#### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تحلیلی (تجربی) - مداخله‌ای بوده که در آزمایشگاه پایلوت، گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به صورت مقطعی در سال ۹۱-۹۲ انجام شد. در این مطالعه تعداد ۱۴ آزمایش هضم بی‌هوازی به منظور بررسی میزان بازدارندگی داروی مترونیدازول بر فعالیت ویژه متان‌سازی جرم زیستی بی‌هوازی به روش ناپیوسته قبل و پس از کاربرد فرایند اکسیداسیون پیشرفته  $UV_{254}/H_2O_2$  در راکتورهای ۵۰۰ mL انجام شده است. مدت هر آزمایش در حدود ۱۰ تا ۱۷ روز به طول انجامید. شکل ۱ شماتیک پایلوت هاضم‌های کوچک بی‌هوازی (Mini digester) مورد استفاده در این مطالعه جهت آزمایش متان‌سازی بی‌هوازی را نشان می‌دهد.

داروی مورد استفاده و نحوه آماده‌سازی نمونه‌ها: از استاندارد داروی مترونیدازول (سیگما آلدریج، آمریکا) در ۲ محدوده غلظت پایین ۱ تا ۱۰۰ mg/L قبل از فرایند AOP و غلظت‌های بالا و بازدارنده ۲۵ تا ۱۵۰ mg/L پس از فرایند AOP استفاده شد. در هر مرحله، یک نمونه شاهد نیز به همراه سایر غلظت‌ها آزمایش شد. محلول مادر داروی مورد استفاده از طریق حل کردن مقدار مشخصی از ماده استاندارد در آب دوبار تقطیر ساخته و در دمای ۴ °C و در تاریکی نگهداری شد. غلظت COD ناشی از افزودن سوپسترا کمی در جدول ۲ ارائه شده است.

توصیف شرایط اکسیداسیون UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:

اشعه ماوراء بنفش توسط لامپ بخار جیوه فشار متوسط با طول موج ۲۵۴ nm (Arda150w) تولید شد. میزان شدت لامپ ماوراء بنفش ۰/۷۳ mW/cm<sup>2</sup> است. میزان تشعشع با ضرب میزان شدت در زمان تماس به دست می‌آید. در این مطالعه با توجه به استفاده از دو زمان واکنش ۶۰ و ۹۰ min میزان تشعشع ۴۳/۸ و ۶۵/۷ mW.min/cm<sup>2</sup> بود. میزان pH نمونه‌ها مانند فاضلاب طبیعی در محدوده خنثی حفظ شد. مقدار ۴/۴ g/L پراکسید هیدروژن به نمونه‌ها اضافه شد.

#### یافته‌ها

در شکل‌های ۲ و ۳ نمودارهای مربوط به تاثیر داروی مترونیدازول بر روی میزان تولید تجمعی بیومتان قبل از پیش تصفیه با فرایند UV<sub>254</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> نشان داده شده است. در این نمودار داروی مترونیدازول در غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ mg/L به هاضم‌ها تغذیه شده و میزان بیومتان تجمعی آنها ثبت شده است. همچنین میزان بیومتان تجمعی شاهد (با و بدون سوپسترا کمی) نیز اندازه‌گیری شده است. در شکل ۴ نمودار مربوط به تاثیر داروی مترونیدازول بر میزان تولید تجمعی بیومتان پس از پیش تصفیه با فرایند UV<sub>254</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> با زمان ۶۰ min در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۸۰ mg/L و شاهد (حاوی اسیدهای چرب فرار) نشان داده شده است. همان‌طور که در نمودار نشان داده شده است غلظت ۸۰ mg/L تقریباً اثر

لایینکو) در محدوده ۳۰ تا ۴۰ rpm در حمام آب گرم با حفظ دمای مزوفیلیک (۳۵°C) انجام شد. بیوگاز تولیدی با استفاده از محلول اشباع سولفات سدیم ده آب، اسید سولفوریک غلیظ و متیل اورانژ (به عنوان اندیکاتور) تصفیه شده و میزان بیومتان تولیدی بر اساس میزان جابجایی مایع (بر اساس mL) اندازه‌گیری شد. در هر مرحله از آزمایش‌ها از نمونه‌های شاهد نیز استفاده شد. ویال‌ها با استفاده از لجن هاضم‌های بی‌هوازی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری با مقادیر MLSS و MLVSS به ترتیب ۳۴ و ۱۹ g/L بذردهی شدند. در این سیستم علاوه بر سنجش بیومتان تولیدی، اندازه‌گیری پارامترهای COD و VSS به ترتیب بر اساس دستورالعمل‌های شماره D ۵۲۲۰ و G ۲۵۴۰ کتاب روش‌های استاندارد آزمایش‌های آب و فاضلاب انجام شد (۱۲).

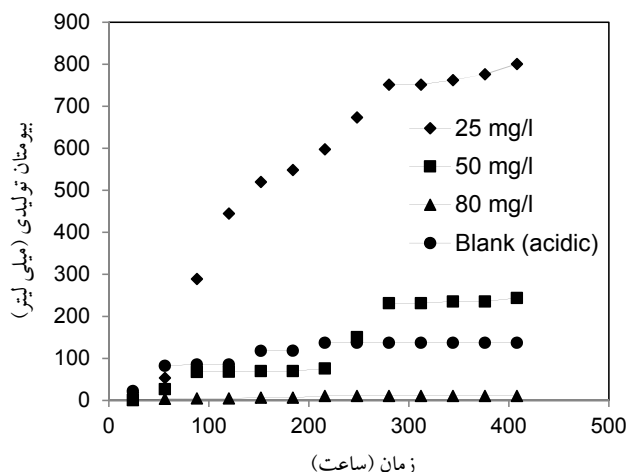
مشخصات سوپستره و نوترینت‌های مصرفی:

مخلوطی از سه نوع اسید چرب فرار با زنجیره کوتاه شامل اسید استیک، بوتریک و پروپیونیک به عنوان سوپستره کمی بر اساس جدول ۲ به ویال‌ها اضافه شد. سوپستره اصلی شامل سوپستره کمی، داروی مورد تصفیه، نوترینت‌ها و عناصر جزئی هستند. عناصر جزئی (میکروالمنت) استفاده شده برای باکتری‌های مزوفیلیک بی‌هوازی شامل NH<sub>4</sub>Cl، KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>، K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>، FeCl<sub>3</sub>، CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O، MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O، ZnSO<sub>4</sub>، NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O، COCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O، MnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O، Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O، CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O و H<sub>3</sub>Bo<sub>3</sub> هستند. pH نمونه‌ها با استفاده از هیدروکسید سدیم و هیدروکسید پتاسیم ۲N در محدوده خنثی (۷-۷/۵) تنظیم شد.

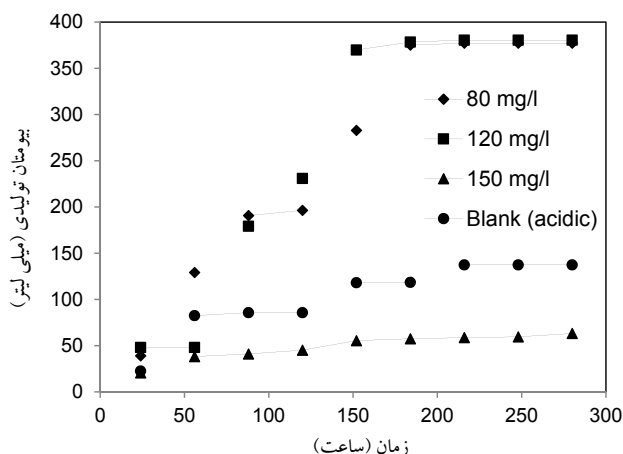
جدول شماره ۲ مشخصات سوپستره کمی مورد استفاده در این مطالعه

سوپستره کمی	غلظت (mg/L)	COD (mg/L)
اسید استیک	۱/۸۶۴	۲۰۸۸
اسید بوتریک	۰/۴۵۸	۷۹۹/۷۶
اسید پروپیونیک	۱/۲	۱۸۰۰

۸۰، ۱۲۰، ۱۵۰ mg/L و شاهد (حاوی اسیدهای چرب فرار) را نشان می‌دهد. جدول ۳ و ۴ به ترتیب میزان بیومتان تولیدی و کارایی حذف COD در هاضم‌های حاوی داروی مترونیدازول قبل و پس از پیش تصفیه با فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  را در غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد.

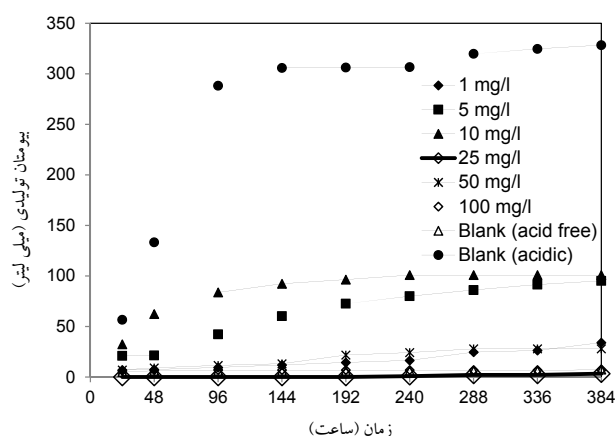


شکل ۴: تاثیر داروی مترونیدازول بر تولید تجمعی متان‌سازی ویژه جرم زیستی بی‌هوازی. پس از پیش تصفیه با فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  با زمان ۶۰ min در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۸۰ mg/L و شاهد (حاوی اسیدهای چرب فرار).

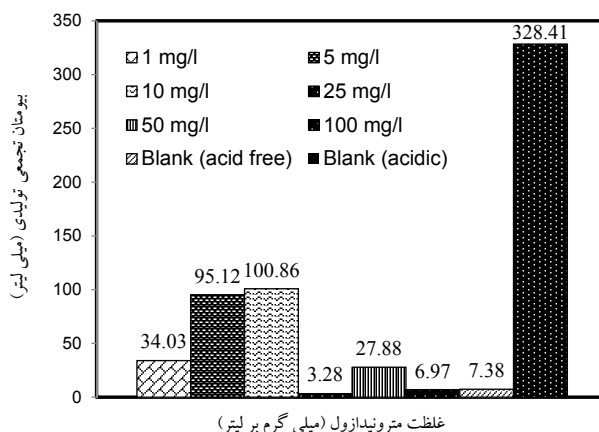


شکل ۵: تاثیر داروی مترونیدازول بر روی تولید تجمعی متان‌سازی ویژه جرم زیستی بی‌هوازی. پس از پیش تصفیه با فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  با زمان ۹۰ min در غلظت‌های ۸۰، ۱۲۰، ۱۵۰ mg/L و شاهد (حاوی اسیدهای چرب فرار).

بازدارندگی کاملی بر فرایند هضم بی‌هوازی داشته بنابراین از زمان بیشتری برای پیش تصفیه با فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  در غلظت‌های بیشتر داروی مترونیدازول استفاده شد. شکل ۵ نمودار مربوط به تاثیر داروی مترونیدازول بر روی تولید تجمعی متان‌سازی ویژه جرم زیستی بی‌هوازی پس از پیش تصفیه با فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  با زمان ۹۰ min در غلظت‌های



شکل ۶: تاثیر داروی مترونیدازول بر روی تولید تجمعی متان‌سازی ویژه جرم زیستی بی‌هوازی. قبل از فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  در غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ mg/L و شاهد (با و بدون سوپستره کمکی)



شکل ۷: میزان تولید تجمعی متان‌سازی ویژه جرم زیستی بی‌هوازی با تاثیر داروی مترونیدازول قبل از پیش تصفیه با فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  در غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ mg/L

جدول ۳: میزان بیومتان تولیدی و کارایی حذف COD در هاضم‌های حاوی داروی مترونیدازول

غلظت دارو (mg/L)	حداکثر متان‌سازی ویژه (mL CH <sub>4</sub> /g VSS)	تولید تجمعی متان (mL)	تغییرات میزان بیومتان تولیدی نسبت به شاهد (mL) <sup>(الف)</sup>	کارایی حذف COD معادل متان تولیدی (%)
۱	۱/۷۹	۳۴/۰۳	-۲۹۴/۳۸	۶۴/۱۶
۵	۵	۹۵/۱۲	-۲۳۳/۲۹	۷۷/۴۷
۱۰	۵/۳۰۸	۱۰۰/۸۶	-۲۷۷/۵۵	۶۰/۲۲
۲۵	۰/۱۷	۳/۲۸	-۳۲۵/۱۳	۲۹/۳۲
۵۰	۱/۴۶۷	۲۷/۸۸	-۳۰۰/۵۳	۴۶/۵۴
۱۰۰	۰/۳۶۷	۶/۹۷	-۳۲۱/۴۴	۴۹/۴۹
شاهد	۱۷/۲۸	۳۲۸/۴۱	۰	۷۳/۳۶

(الف) مقادیر منفی نشان‌دهنده اختلاف تولید بیومتان با مقدار تولید نمونه شاهد است.

جدول ۴: میزان بیومتان تولیدی و کارایی حذف COD در هاضم‌های حاوی داروی مترونیدازول پس از پیش تصفیه با فرایند UV<sub>254</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

غلظت دارو (mg/L)	حداکثر متان‌سازی ویژه (mL CH <sub>4</sub> /g VSS)	تولید تجمعی متان (mL)	تغییرات میزان بیومتان تولیدی نسبت به شاهد (mL)	کارایی حذف COD معادل متان تولیدی (%)
۲۵ (الف)	۴۲/۱۴	۸۰۰/۷۳	۶۶۳/۳۸	۷۶/۳۸
۵۰ (الف)	۱۲/۸۲	۲۴۳/۵۴	۱۰۶/۱۹	۹۲/۵۲
۸۰ (الف)	۰/۵۶	۱۰/۶۶	-۱۲۶/۶۹ (ج)	۹۴/۲۵
۸۰ (ب)	۱۹/۸۵	۳۷۷/۲	۲۳۹/۸۵	۸۹/۲۴
۱۲۰ (ب)	۲۰/۰۳	۳۸۰/۴۸	۲۴۳/۱۳	۸۹/۱۰
۱۵۰ (ب)	۳/۳۲	۶۳/۱۴	-۷۴/۲۱ (ج)	۸۹/۵۲
شاهد	۷/۲۳	۱۳۷/۳۵	۰	۷۳/۳۶

(الف) مدت زمان پیش تصفیه ۶۰ min، pH بین ۷ تا ۸، غلظت پراکسید هیدروژن ۴/۴g/L

(ب) مدت زمان پیش تصفیه ۹۰ min، pH بین ۷ تا ۸، غلظت پراکسید هیدروژن ۴/۴g/L

(ج) مقادیر منفی نشان‌دهنده اختلاف تولید بیومتان با مقدار تولید نمونه شاهد است.

## بحث

تجزیه داروی مترونیدازول و تاثیر آن بر روی میزان تولید بیومتان در هاضم‌های بی‌هوازی است. شکل ۲ و ۳ میزان بیومتان تجمعی تولیدی را در برابر غلظت‌های مختلف استفاده شده از داروی مترونیدازول در مقایسه با نمونه شاهد نشان می‌دهد. همانطور که مشخص است غلظت‌های تزریقی مترونیدازول در گستره ۱ تا ۱۰۰ mg/L نسبت به نمونه شاهد اثر باز دارندگی دارد که این اثر در غلظت‌های

در چند سال اخیر ترکیبات دارویی و محصولات مراقبت شخصی خصوصا ترکیبات مختل‌کننده غدد درون ریز به عنوان آلاینده‌های نو ظهور در پساب‌ها و رودخانه‌ها شناسایی شده‌اند که می‌توانند تاثیرات سویی را بر سلامت انسان‌ها و سایر موجودات آبرزی داشته باشند. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثر پیش تصفیه با استفاده از فرایند UV<sub>254</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> بر

هیچ حذفی برای آن مشاهده نشد، بین ۲۰ تا ۶۰ درصد حذف شدند (۱۶). بنابراین از شکل‌های ۲ و ۳ می‌توان نتیجه‌گیری کرد که داروی مترونیدازول در هر غلظتی که وارد هاضم‌های بی‌هوایی شود می‌تواند بر روی باکتری‌های فعال در جرم زیستی بی‌هوایی اثر منفی داشته باشد که این مطلب می‌تواند از جدول ۳ نیز استنباط شود که هم تولید تجمعی بیومتان نسبت به نمونه شاهد خیلی پایین بوده و هم میزان COD حذف شده به میزان قابل توجهی پایین است بنابراین استفاده از یک روش پیش تصفیه موثر برای کاهش اثر بازدارندگی داروی مترونیدازول در هاضم‌های بی‌هوایی ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین در مرحله دوم داروی مترونیدازول با استفاده از فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  پیش تصفیه شده و سپس به هاضم‌های بی‌هوایی تزریق شد. پراکسید هیدروژن یک پارامتر راهبری مهم است که به عنوان شروع کننده تولید رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل عمل می‌کند و به همراه تجزیه نوری UV بکاربرده شده است. شکل ۴ تاثیر داروی مترونیدازول را بر روی تولید تجمعی متان‌سازی ویژه جرم زیستی بی‌هوایی پس از پیش تصفیه با فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  با زمان ۶۰ min نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود میزان بیومتان تولیدی در غلظت‌های ۲۵ و  $50 \text{ mg/L}$  نسبت به نمونه شاهد بیشتر بوده است. در حالی که این غلظت‌ها قبل از پیش تصفیه کاملاً بازدارنده بوده‌اند. این مطلب بیانگر این است که روش پیش تصفیه مورد استفاده در این زمان ماند بر روی تجزیه مترونیدازول در غلظت‌های مذکور اثر مثبتی داشته است هر چند شکل ۴ نشان می‌دهد که زمان ماند  $60 \text{ min}$  بر روی غلظت‌های بالاتر این دارو ( $80 \text{ mg/L}$ ) اثر چندانی ندارد. این مطلب توسط سایر محققان نیز تایید شده است (۹). نتایج این مطالعه با یافته‌های حاصل از مطالعه Vogna و همکاران (۲۰۰۴) همخوانی دارد که نتیجه‌گیری کردند فرایند اکسیداسیون با  $UV_{254}/H_2O_2$  در تحریک تجزیه ترکیبات دارویی موثر است و تبدیل کامل کلرین را به یون‌های کلراید و درجه معدنی‌سازی ۳۹٪ با زمان تصفیه  $90 \text{ min}$  را تضمین می‌کند (۵). همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده است پس از فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  در مدت زمان  $60 \text{ min}$  میزان حذف

پایین‌تر دارو (۱، ۵ و  $10 \text{ mg/L}$ ) کمتر بوده و در غلظت‌های بالاتر (۲۵، ۵۰ و  $100 \text{ mg/L}$ ) تقریباً به طور کامل فعالیت میکروبی در هاضم بی‌هوایی را مختل کرده است. اثر سمیت و بازدارندگی داروی مترونیدازول می‌تواند نشان‌دهنده این موضوع باشد که چون این دارو برای درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌های گرم منفی به کار می‌رود و از جهتی جمعیت غالب در هاضم‌های بی‌هوایی باکتری‌های گرم منفی متانوژنیک هستند بنابراین ورود این ترکیب به هاضم بی‌هوایی باعث مختل شدن فعالیت میکروبی در هاضم‌ها شده است از طرفی یکی از پارامترهای کنترلی هاضم‌های بی‌هوایی نشان‌دهنده فعالیت باکتری‌های متانوژنیک تولید گاز است در این مطالعه از این پارامتر برای کنترل فعالیت هاضم‌ها استفاده شده است (۴). نتایج حاصل از این مطالعه با پژوهش Poels و همکاران (۱۹۸۴) قابل مقایسه است که نشان دادند آنتی‌بیوتیک‌های کلتراسایکلین، تیلوزین، اریترومایسین، کلرامفنیکل، باسیتراسین و ویرجینامایسین در غلظت‌های معمول هیچگونه اثر بازدارندگی بر فرایند متان‌سازی ندارند ولی عوامل ضد میکروبی باسیتراسین و ویرجینامایسین در غلظت‌های بالاتر در تولید بیوگاز اثر بازدارندگی داشتند (۱۳). در مطالعه مشابه Hashemi و همکاران (۲۰۱۰) نتیجه گرفتند که آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین، تیلوزین و آموکسی‌سیلین بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوایی کاملاً نقش بازدارندگی دارند. همچنین این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها حجم گاز متان تولیدی به ازای واحد وزن جرم زیستی کمتر می‌شود (۱۴). نتایج این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعه Moradpour و همکاران (۲۰۱۰) همخوانی دارد که نشان دادند که روغن‌های حاوی ترکیبات پلی‌کلروابی فنیل (PCBs) نیز در غلظت‌های بسیار پایین بر روی متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوایی تاثیر بازدارندگی دارد (۱۵). Carballa و همکاران (۲۰۰۷) رفتار ۱۳ ماده دارویی را در طی فرایند هضم بی‌هوایی لجن فاضلاب بررسی کرده که بیشترین حذف در بین آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه را استروژن‌های طبیعی و ناپروکسن داشتند. برای سایر ترکیبات به جز کارمازپین که

پیش تصفیه مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین روش اکسیداسیون پیشرفته  $UV_{254}/H_2O_2$  یک روش موثر برای تجزیه و تبدیل داروی مترونیدازول به ترکیبات ساده‌تر و قابل تجزیه بیشتر برای مصرف باکتری‌های بی‌هوازی در هاضم‌ها است. هر چند مطالعات بیشتر در رابطه با ترکیبات واسطه و محصولات جانبی ایجاد شده در اثر تصفیه با فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  و همچنین تعیین مشخصات هر ترکیب مورد نیاز است.

### نتیجه‌گیری

می‌توان نتیجه‌گیری کرد که داروی مترونیدازول در غلظت‌های مختلف بر روی کارایی هاضم‌های بی‌هوازی اثر بازدارندگی دارد و بنابراین نیاز به یک روش پیش تصفیه موثر برای کاهش اثر بازدارندگی این دارو مورد نیاز است. روش اکسیداسیون پیشرفته  $UV_{254}/H_2O_2$  یک روش موثر برای تجزیه و تبدیل داروی مترونیدازول به ترکیبات ساده‌تر و قابل تجزیه بیولوژیکی بیشتر برای مصرف باکتری‌های بی‌هوازی و در نتیجه افزایش بیوگاز تولیدی در هاضم‌ها است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی با عنوان بررسی اثر بازدارندگی آنتی بیوتیک مترونیدازول قبل و بعد از فرایند اکسیداسیون پیشرفته  $UV/H_2O_2$  بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی اصفهان در سال ۱۳۹۱ با کد ۲۹۱۱۳۵ است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی اصفهان اجرا شده است.

COD نیز به مقدار قابل توجهی افزایش یافته است که این مطلب بیانگر این است که این روش اکسیداسیون باعث تبدیل ترکیب دارو به ترکیبات واسطه با قابلیت تجزیه بیولوژیکی آسان‌تر شده و به میزان بیشتری توسط جمعیت میکروبی بی‌هوازی مورد تجزیه قرار گرفته است. لازم به ذکر است که روش پیش تصفیه  $UV_{254}/H_2O_2$  در مدت زمان  $60 \text{ min}$  بر روی غلظت‌های بالاتر ( $80 \text{ mg/L}$  و بالاتر) اثر تجزیه‌ای قابل توجهی ندارد و به زمان ماند بیشتری نیاز دارد که این مطلب در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود پس از اکسیداسیون به مدت  $90 \text{ min}$  غلظت‌های  $80$  و  $120 \text{ mg/L}$  مترونیدازول میزان تولید متان بالاتری را نسبت به نمونه شاهد دارند ولی برخلاف این غلظت‌ها در این زمان تماس غلظت  $150 \text{ mg/L}$  اثر بازدارندگی زیادی بر روی باکتری‌های گرم منفی متانوژنیک داشته است و می‌توان نتیجه گرفت که برای غلظت‌های  $150 \text{ mg/L}$  و بالاتر از آن بایستی زمان ماند بیشتری را برای تجزیه به کار برد. بنابراین پیشنهاد می‌شود برای پیش تصفیه این ترکیب با استفاده از فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  از نظر زمان تماس و دوز مناسب بهینه‌سازی فرایند صورت گیرد.

همچنین شکل ۴ و ۵ نشان می‌دهد که داروی مترونیدازول پس از تصفیه با روش اکسیداسیون پیشرفته به ترکیبات واسطه با قابلیت تجزیه بیولوژیکی بیشتر تبدیل می‌شود و به عنوان ماده غذایی توسط باکتری‌های بی‌هوازی مصرف می‌شود و در نتیجه میزان تولید بیومتان در مدت زمان بیشتری ( $400 \text{ h}$ ) نسبت به زمانی که از روش پیش تصفیه استفاده نشده است تولید می‌شود. همچنین جدول ۴ نشان می‌دهد که فرایند  $UV_{254}/H_2O_2$  باعث می‌شود که ترکیب داروی مترونیدازول به میزان بیشتری توسط باکتری‌ها مصرف و درصد کاهش COD نیز نسبت به قبل از پیش تصفیه به میزان قابل توجهی افزایش یابد. هاضم‌های بی‌هوازی واحدهای متداول در تصفیه و پردازش لجن بوده که ارزیابی کارایی و بهبود پارامترهای راهبری آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در خصوص ورود ترکیبات دارویی و آنتی بیوتیک‌ها به هاضم‌های بی‌هوازی نیز بایستی روش‌های مناسب

## منابع

- 1- Thiele-Bruhn S, Beck I-C. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass. *Chemosphere*. 2005;59(4):457-65.
- 2- Álvarez JA, Otero L, Lema JM, Omil F. The effect and fate of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure. *Bioresource Technology*. 2010;101(22):8581-86.
- 3- Klavarioti M, Mantzavinos D, Kassinos D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment International*. 2009;35(2):402-17.
- 4- Shemer H, Kunukcu YK, Linden KG. Degradation of the pharmaceutical Metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. *Chemosphere*. 2006;63(2):269-76.
- 5- Vogna D, Marotta R, Napolitano A, Andreozzi R, d'Ischia M. Advanced oxidation of the pharmaceutical drug diclofenac with UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and ozone. *Water Research*. 2004;38(2):414-22.
- 6- Sigma-Aldrich. Material Safety data sheet (MSDS): Metronidazole. USA: Sigma-Aldrich; 2007.
- 7- Lallai A, Mura G, Onnis N. The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. *Bioresource Technology*. 2002;82(2):205-208.
- 8- Heidari M, Saffari Khouzani H, Amin M, Ghasebian M, Taherian E, Attari L, et al. Inhibition Effect of Antibiotics Ciprofloxacin and Ofloxacin and Hormone  $\beta$ -stradiol 17 Valerat on the Methanogenic Activity of Anaerobic Biomass. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2011;4(2):189-20 (in Persian).
- 9- Esplugas S, Bila DM, Krause LGT, Dezotti M. Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. *Journal of Hazardous Materials*. 2007;149(3):631-42.
- 10- Saffari Khouzani H, Heidari M, Amin M, Nabavi B. Inhibition effect of antibiotics ampicillin and gentamycin on the methanogenic activity of anaerobic biomass. *Health System Research*. 2010;6:1038-47 (in Persian).
- 11- Guwy A. Equipment used for testing anaerobic biodegradability and activity. *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*. 2004;3(2):131-39.
- 12- APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. Washington DC: American Public Health Association; 2005.
- 13- Poels J, Van Assche P, Verstraete W. Effects of disinfectants and antibiotics on the anaerobic digestion of piggery waste. *Agricultural Wastes*. 1984;9(4):239-47.
- 14- Hashemi H, Amin M, Ebrahimi A. Effects of antibiotics on specific methanogenic activity of anaerobic biomass. *Health System Research*. 2010;6:960-66 (in Persian).
- 15- Moradpour H, Amin MM, Nikaeen M, Shafiee A, Molaei R, Sabouri A, Ghasemian M, et al. Investigating the inhibitory effect of polychlorinated biphenyls oils (PCBs) on anaerobic biomass by specific methanogenic activity (SMA). *Health System Research*. 2010;6(927):927-34 (in Persian).
- 16- Carballa M, Omil F, Ternes T, Lema JM. Fate of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) during anaerobic digestion of sewage sludge. *Water Research*. 2007;41(10):2139-50.

## An investigation of inhibition effect of metronidazole before and after using advanced oxidation process ( $UV_{254}/H_2O_2$ ) on specific methanogenic activity of anaerobic biomass

S.A. Mirzaee<sup>1,2</sup>, M.M. Amin<sup>3</sup>, M. Sarafraz<sup>1</sup>, M. Heidari<sup>1</sup>, M.M. Ahmad Moazzam<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Environment Research Center, Isfahan University of Medical Sciences (IUMS), Isfahan, Iran; Department of Environmental Health Engineering, School of Health, IUMS, Isfahan, Iran.

<sup>2</sup>Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran.

<sup>3</sup>Environment Research Center, Isfahan University of Medical Sciences (IUMS), Isfahan, Iran; Department of Environmental Health Engineering, School of Health, IUMS, Isfahan, Iran.

Received: 19 August 2014 ; Accepted: 12 November 2014

### ABSTRACT

**Background & Objectives:** Disposal of pharmaceutical compounds to environment as an emerging pollutants cause concerns significantly and it is necessary to use new methods of sewage treatment for removal of these compounds. The aim of this study was to investigate the inhibition effects of metronidazole before and after using  $UV_{254}/H_2O_2$  process on specific methanogenic activity of anaerobic biomass

**Materials & Methods:** Fourteen anaerobic digestion tests were carried out at batch scale before and after using  $UV_{254}/H_2O_2$  process in 500 ml reactors with 30% anaerobic biomass and 70% substrate. The liquid displacement method was used. Duration of each test was in the range of 10-17 days.

**Results:** Cumulative Biomethane production in concentrations of 1, 5, 10, 25, 50, and 100 mg/l metronidazole was 34.04, 95.12, 100.86, 3.28, 27.88, and 6.97 ml respectively. This production was 800.73, 243.54, and 10.66 ml in concentrations of 25, 50, and 80 mg/l respectively using  $UV_{254}/H_2O_2$  process as pretreatment at 60 min retention time. Biomethane production in concentrations of 80, 120, and 150 mg/l was 377.2, 380.48, and 63.14 ml respectively at 90 min retention time.

**Conclusion:** Different concentrations of metronidazole had an inhibition effect on anaerobic digestions and therefore the efficient pretreatment method is needed to reduce this inhibition effect. The  $UV_{254}/H_2O_2$  process is an effective method for degradation and conversion of metronidazole to more biodegradable compounds for anaerobic bacteria consumption and, in turn, to increase biogas production in anaerobic digestions.

**Key words:** Anaerobic digestion- metronidazole – specific biomass methanogenic activity (SMA)- advanced oxidation process

---

\*Corresponding Author: mehdi.amoazzam@gmail.com

Tel: +98-----