

## تاثیر بازدارندگی آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، اوفلوکساسین و هورمون $\beta$ ۱۷-استرادیول والرات بر روی میزان متان سازی بیومس بی هوازی

مهناز حیدری<sup>۱</sup>، هاجر صفاری خوزانی<sup>۲</sup>، محمدمهدی امین<sup>۳</sup>، محمد قاسمیان<sup>۴</sup>، الهام طاهریان<sup>۵</sup>، لیلا عطاری<sup>۶</sup>، اکبر حسن زاده<sup>۷</sup>

نویسنده مسئول: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات محیط زیست [amin@hlth.mui.ac.ir](mailto:amin@hlth.mui.ac.ir)

دریافت: ۸۹/۱۰/۲۵ پذیرش: ۹۰/۰۱/۲۲

### چکیده

**زمینه و هدف:** آنتی بیوتیک ها و هورمون ها پس از تاثیرگذاری، همراه با سایر زایدات از بدن دفع می شوند و با ورود به فاضلاب، می توانند فرایند تصفیه بی هوازی را مختل کنند. در این مطالعه رفتار بازدارندگی دو آنتی بیوتیک اوفلوکساسین و سیپروفلوکساسین و هورمون  $\beta$  ۱۷-استرادیول والرات ( $E_2$ ) بر فعالیت متان سازی ویژه (*Specific Methanogenic Activity (SMA)*) بیومس بی هوازی مورد بررسی قرار گرفته است.

**روش بررسی:** تعداد ۲۱ آزمون SMA به روش ناپیوسته و در ویال های شیشه ای ۱۲۰ میلی لیتری انجام شد. ۱۷٪ از حجم هر ویال به بیومس، ۶۶٪ به سویسترا، و ۱۷٪ به تجمع بیوگاز اختصاص یافت. هر تست ۳۰ - ۱۵ روز به طول انجامید. متان تولید شده به وسیله جایگزینی گاز با محلول ۲ نرمال KOH به عنوان جاذب  $CO_2$  اندازه گیری شد.

**یافته ها:** در این مطالعه در غلظت های ۲۰۰، ۵۰۰ و  $1000 \text{ mg/L}$  آنتی بیوتیک اوفلوکساسین کاهش تولید متان به ترتیب به میزان ۴۵، ۷۶ و ۸۸ درصد بود. کاهش ۶۸، ۸۱ و ۸۸ درصدی تولیدی متان به ترتیب در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و  $500 \text{ mg/L}$  سیپروفلوکساسین مشاهده شد. میزان متان تجمعی در غلظت های  $0.1 \text{ mg } E_2/L$ ، ۱، ۵ و به ترتیب ۶۶، ۹۰، و ۱۲۱ میلی لیتر بود.

**نتیجه گیری:** آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین در غلظت های مشابه نسبت به آنتی بیوتیک اوفلوکساسین دارای بازدارندگی بیشتری بر فعالیت متان سازی ویژه بیومس بی هوازی دارد. همچنین، هورمون  $E_2$  در غلظت های پایین نسبت به دو آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین و اوفلوکساسین بازدارنده تر است.

**واژگان کلیدی:** آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، آنتی بیوتیک اوفلوکساسین، هورمون  $E_2$ ، فعالیت متان سازی ویژه (SMA)

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
- ۲- کارشناس مهندسی بهداشت محیط، مرکز بهداشت شماره ۱، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۳- دکترای بهداشت محیط، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۴- کارشناس ارشد مهندسی محیط زیست، شرکت مهندسی فاضلاب تهران
- ۵- کارشناس مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۶- کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی اهواز
- ۷- کارشناس ارشد آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

## مقدمه

امروزه علاوه بر آفت کش ها، ترکیبات شیمیایی صنعتی، گزنوبیوتیک ها (ساخت دست بشر) و ترکیبات شیمیایی آلی، انتشار ترکیبات دارویی و مراقبت های شخصی (PPCPs) و متابولیت حاصل از آن ها در محیط موجب افزایش نگرانی در سال های اخیر شده است (۳-۱). به خاطر کاربرد ترکیبات دارویی در درمان انسان ها و مصارف دامپزشکی، بخشی از دارو به وسیله بدن جذب شده و باقی مانده آن ها همراه با مواد دفعی (به خصوص ادرار) روزانه از بدن به محیط دفع می شود.

ترکیبات دارویی از تصفیه موثر فاضلاب جلوگیری می کنند لذا کاربرد وسیع این داروها منجر به افزایش خطرات زیست محیطی می شود، همچنین حضور مستقیم این ترکیبات در فاضلاب داروسازی می تواند بر تصفیه ی بیولوژیکی و جمعیت میکروبی بیوراکتورها موثر باشد. باقی مانده آنتی بیوتیک ها و متابولیت آن ها در لجن می تواند اثر منفی روی سیستم تصفیه مثل هاضم های بی هوازی و سیستم های نیتریفیکاسیون داشته باشد (۴).

پایش و کنترل، استراتژی های مهمی برای رسیدن به پایداری بهتر فرایند و افزایش راندمان در هاضم های بی هوازی هستند، تولید گاز معمول ترین شاخص جهت کنترل است (۵).

در سیستم های بی هوازی، جایی که چندین راه تجزیه بیولوژیکی می تواند وجود داشته باشد، بازدارندگی کوتاه مدت جمعیت های میکروبی خاص نمی تواند منتج به کاهش قابل توجهی در تولید بیوگاز شود. هر چند که مواجهه طولانی مدت با آنتی میکروبیال ها ممکن است سبب جمع آوری متوسط محصولات و یا تغییر در جمعیت میکروبی شود که می تواند روی کارایی تصفیه بی هوازی اثر منفی داشته باشد (۶). این امکان وجود دارد که غلظت آنتی بیوتیک ها دارای اثر منفی روی جمعیت باکتری های بی هوازی باشد و سبب کاهش رشد باکتری ها شود همچنین اثر ویژه ای روی مواد آلی، زیادات تصفیه و بیوگاز تولیدی داشته باشد (۷).

Sankveist و همکاران (۱۹۸۴) پیشنهاد کردند که آنتی بیوتیک ها ممکن است خودشان از فعالیت باکتری ها جلوگیری نکنند اما متابولیت حاصل از آن ها در دستگاه گوارش، مانع از فعالیت باکتری ها شوند، بنابراین مقدار اثر این ترکیبات زمانی که مستقیماً به لجن اضافه می شوند نسبت به زمانی که از بدن حیوانات و انسان ها دفع می شود کمتر است (۸).

Siegert و همکارانش دریافتند که غلظت بالای ۲۰۰۰ mg/L اسیدها منجر به بازدارندگی تجزیه سلولز می شود در حالی که غلظت بالای ۴۰۰۰ mg/L اسیدها تنها به مقدار کم سبب تجزیه گلوکز می شود (۹).

برای سال های مختلف پایش و حذف استروژن ها و آنتی بیوتیک ها در تصفیه خانه های فاضلاب به وسیله محققان زیادی ارزیابی شد. هرچند که تحقیقات کمی اشاره بر رفتار دقیق این ترکیبات در فاضلاب وقتی که در تماس با لجن فعال قرار می گیرند دارد.

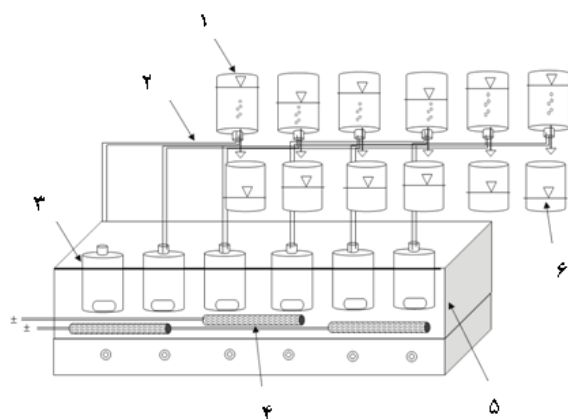
Camprabi و همکاران (۱۹۸۸) اثر بازدارندگی بعضی از آنتی بیوتیک ها (کلرامفنیکل، کلروتتراسایکلین، تایلوزین و اریترومیاسین) را در آزمایشات Batch نیمه پیوسته مطالعه کردند. در گستره غلظت آنتی بیوتیک های مطالعه شده کلروتتراسایکلین، تایلوزین و اریترومیاسین اثر بازدارندگی بر فعالیت متان سازی نداشتند و بر خلاف آن ها کلرامفنیکل دارای اثر بازدارندگی بود (۷).

Sans و همکاران (۱۹۹۶) کاهش ۲۰، ۵۰ و ۸۰ درصدی تولید متان را در فرایند هضم بی هوازی مزوفیلیک برای رده های ۵، ۴۰ و ۱۵۲ میلی گرم بر لیتر کلروتتراسایکلین نشان دادند (۷). امین و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر اریترومیاسین را روی راکتور ناپیوسته ی متوالی بی هوازی Anaerobic Sequencing Batch Reactor (ASBR) بررسی کردند. آن ها بعد از پایدار شدن شرایط بهره برداری راکتور، غلظت کم (۱ mg/L) و متعاقب آن غلظت بالای (۲۰۰ mg/L) اریترومیاسین را به راکتور اضافه نمودند. افزودن مقدار کم اریترومیاسین منتج به کاهش ۵ درصدی تولید بیوگاز

هورمون ها در فاضلاب داروسازی وجود دارد. باکتری های تخمیرکننده متان سهم عمده ی تجزیه ترکیبات آلی را در فرایند هضم بی هوازی به عهده دارند که منجر به تولید متان می شوند. ورود آنتی بیوتیک ها و هورمون ها به سیستم تصفیه منجر به تداخل در فعالیت متان سازی می شود که با اندازه گیری میزان متان تولیدی توسط متان سازها می توان اثرات آن ها را بر فعالیت و تعداد آن ها را بررسی کرد. هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر هورمون  $\beta 17$ - استرادیول والرات ( $E_2$ ) و نیز ۲ آنتی بیوتیک اوفلوکساسین و سپروفلوکساسین در فعالیت متان سازی ویژه بیومس بی هوازی (SMA) است که بر راندمان تصفیه بیولوژیکی میکروارگانیسم های بی هوازی در تصفیه خانه های فاضلاب شهری و همچنین صنایع داروسازی تاثیر می گذارد.

### مواد و روش ها

این مطالعه از نوع تجربی مداخله ای بوده، و تعداد ۲۱ آزمون متان سازی ویژه بیومس بی هوازی به روش ناپیوسته و در ویال های شیشه ای ۱۲۰ میلی لیتری انجام شده است. هر آزمون در محدوده ۱۵ تا ۳۰ روز به طول انجامید. شکل ۱ شماتیک پایلوت مورد استفاده در این مطالعه را نشان می دهد.



شکل ۱: شماتیک پایلوت مورد استفاده جهت آزمایش فعالیت متان سازی ویژه (SMA)، شامل: ۱- ویال های حاوی KOH، ۲- لوله های انتقال بیوگاز، ۳- ویال های SMA، ۴- هیتر، ۵- حمام آب گرم، ۶- بیوگاز معادل KOH تخلیه شده

شده، ولی غلظت بالای آن اثر کاهشی بیشتری روی محصولات بیوگاز نداشت، لذا می توان این گونه پیشگویی کرد که بخش مهمی از جمعیت های میکروبی در ASBR به آنتی بیوتیک مقاوم شده است (۶).

Osman و همکاران در سال ۲۰۰۶ کاهش ۲۷٪ بیوگاز تجمعی را روی دوغاب پهن گوساله هایی که با اکسی تراسایکلین درمان شده بودند در مقایسه با دوغاب پهن گوساله های شاهد نشان دادند (۴). Poles and Overstate (۱۹۸۴) اثر ۶ آنتی بیوتیک (کلروتراسایکلین، تابلوزین، ویرجینیا مایسین، اریترومایسین، کلرامفنیکل، باسیتراسین) را روی هضم بی هوازی دوغاب پهن خوک بررسی کردند و دریافتند که اکسی تراسایکلین در غلظت های ۳، ۱۷ و ۳۳ میلی گرم بر لیتر فاقد اثر بازدارندگی است (۴).

Mastui و همکاران (۲۰۰۰) مشاهده کردند که غلظت  $\beta 17$ - استرادیول و استروژن ها در مایع آگیری شده ی لجن نسبت به ورودی به تصفیه خانه بیشتر است (۱). Anderson و همکاران (۲۰۰۳) آشکار ساختند که بارهای ورودی و خروجی  $Estro$ -gens در هاضم ها مشابه است که نتیجه گرفتند استروژن ها تحت شرایط متانوژنیک تجزیه محسوسی نمی شوند (۱). در مقابل مولفین دیگر گزارشات متناقضی را ارائه دادند؛ برای مثال Holbrook و همکارانش (۲۰۰۲) دریافتند که بین ۶۷-۵۱ درصد از فعالیت استروژن ها در ورودی فاضلاب است و آن ها در طول تصفیه فاضلاب یا تصفیه جامدات لجن حذف می شوند (۱).

Kreuzinger و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که فرایند هضم بی هوازی تجزیه استروژن های طبیعی را تسریع می بخشد (۱). فعالیت متان سازی ویژه (SMA) آزمایشی مطمئن برای پایش تجهیزات در تعداد و فعالیت باکتری های متان ساز در جریان تصفیه بیولوژیکی پساب های داروسازی در بیوراکتورهاست. آزمایش SMA برای ارزیابی اثرات بازدارندگی ترکیبات مختلف به کار برده می شود (۱۰) اما تحقیقات کمی در زمینه استفاده از این آزمایشات برای اثرات آنتی بیوتیک ها و

عناصر کم مقدار (میکرو المنت ها) تهیه می گردید و با استفاده از NaOH و KOH با نسبت مولی ۱:۱ به pH خنثی رسانده می شد.

**آنتی بیوتیک ها و هورمون مورد استفاده:** در این تحقیق از استانداردهای سه نوع آنتی بیوتیک و یک نوع هورمون با کاربرد وسیع در پزشکی استفاده گردید. آنتی بیوتیک های اوفلوکساسین (گلاسکو، انگلستان) در محدوده غلظت ۱۰۰۰-۰/۱ mg/L، سیپروفلوکساسین (فلوکا، سوئیس) با گستره غلظت ۵۰۰-۰/۱ mg/L و هورمون  $\beta 17$  - استرادیول والرات یا  $E_2$  (سیگما آلدریج، سوئیس) در محدوده غلظت mg/L ۵۰-۰/۱ به صورت پودر با درصد خلوص بیش از ۹۸٪ هر کدام در ویال های ۵ گرمی تهیه شد.

**آماده سازی نمونه ها:** محلول مادر آنتی بیوتیک ها از طریق حل کردن مقدار مشخصی از هر ماده استاندارد در آب دو بار تقطیر و نگه داری در دمای  $4^{\circ}C$  در تاریکی تهیه گردید. برای تهیه محلول مادر از هورمون  $\beta 17$  - استرادیول والرات، به علت نامحلول بودن این ترکیب در آب، ابتدا در اتانول حل گردیده و سپس با آب مقطر به حجم رسانده می شود. محلول مادر تهیه شده از پودر خالص این هورمون، یک گرم در لیتر است. غلظت COD ناشی از افزودن سوبسترا های کمکی و حلال به ویال ها در جدول ۱ ارایه شده است.

**مشخصات ویال ها و بذردهی:** ۲۰ میلی لیتر از حجم هر ویال ۱۲۰ میلی لیتری توسط بیومس بی هوازی، ۸۰ میلی لیتر سوبسترا پر می گردید و ۲۰ میلی لیتر باقی مانده به تجمع بیوگاز اختصاص می یافت. درب ویال ها با واشرهای لاستیکی و سپس پوشش های آلومینیومی آب بند گردید. اختلاط محتویات ویال ها با استفاده از دستگاه هم زن مغناطیسی ۶ خانه (ساخت شرکت پارس آزما، ایران) در محدوده ۳۰-۲۰ دور در دقیقه در حمام آب گرم با حفظ دمای  $35^{\circ}C$  درجه سانتی گراد انجام گردید (۱۱). متان تولیدی از طریق جایگزینی مایع توسط محلول ۲ نرمال KOH به عنوان جاذب  $CO_2$  و برم تیمول بلو به عنوان اندیکاتور اندازه گیری شد. جهت کنترل آزمایشات از نمونه های شاهد استفاده گردید (۱۳-۱۰). ویال ها با استفاده از لجن هاضم های بی هوازی تصفیه خانه شهری به ترتیب با مقادیر MLSS و MLVSS معادل ۱/۳۲ و ۱۷/۲ گرم در لیتر بذردهی گردید.

**سوبستره:** مخلوطی از چهار نوع اسید چرب فرار با زنجیره کوتاه شامل اسید استیک، اسید بوتیریک، اسید پروپیونیک و اسید والریک به عنوان سوبسترا کمکی برای آنتی بیوتیک ها و اتانول به عنوان حلال هورمون  $E_2$  با غلظت های ارایه شده در جدول ۱ مورد استفاده قرار گرفت. سوبسترا اصلی متشکل از سوبسترا کمکی، آنتی بیوتیک یا هورمون و نوترینت ها و

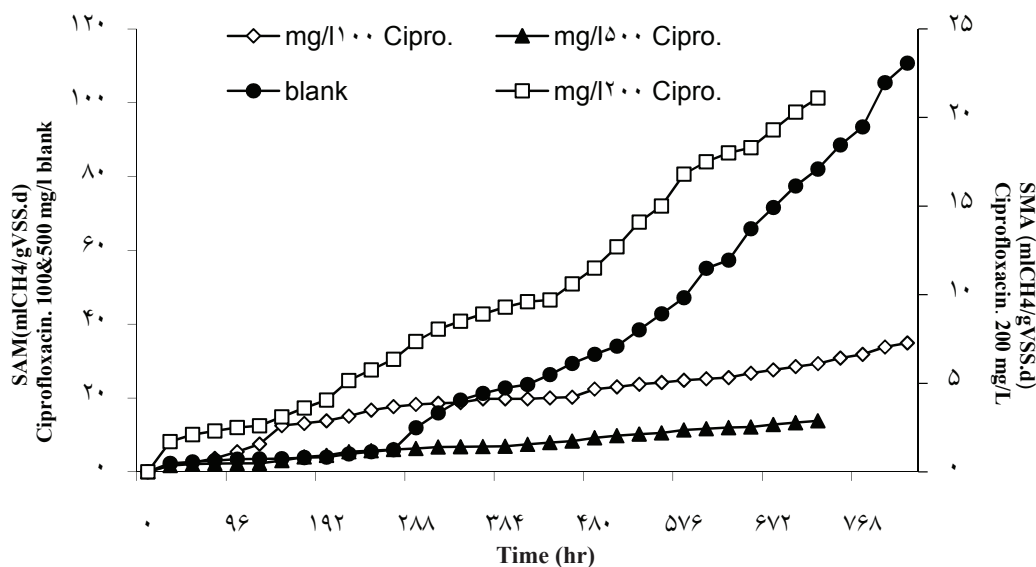
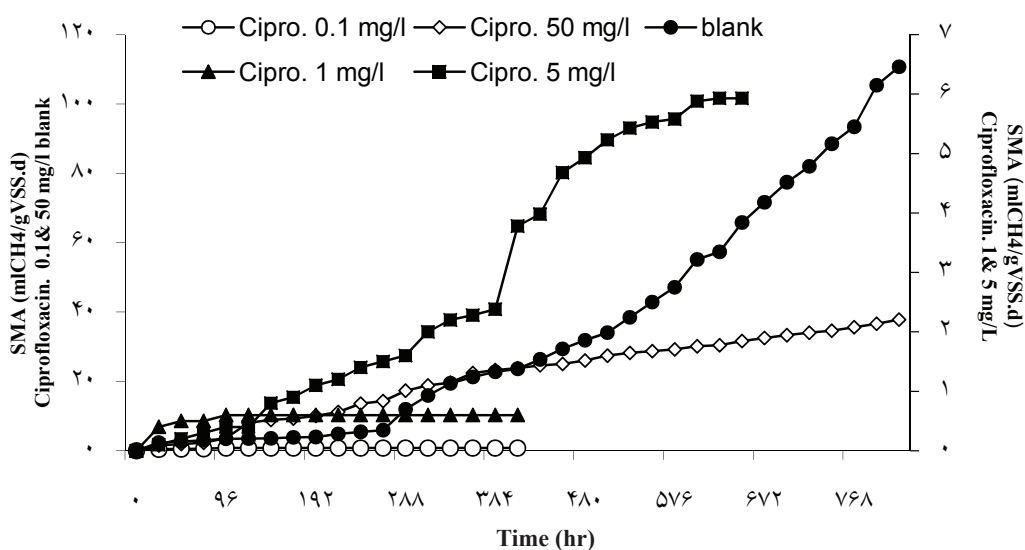
جدول ۱: مشخصات سوبستره های کمکی و حلال مورد استفاده در این مطالعه

سوبستره کمکی	حلال	غلظت، میلی گرم در لیتر	COD، میلی گرم در لیتر
سیپروفلوکساسین و اوفلوکساسین			
اسید استیک	✓	۱۴۰۶۰	۱۵۰۰
اسید پروپیونیک	✓	۹۹۲۰	۱۵۰۰
اسید بوتیریک	✓	۸۲۵۰	۱۵۰۰
اسید والریک	✓	۲۳۰۰	۵۰۰
هورمون بتا والرات ۱۷-استرادیول ( $E_2$ )			
۵۰ تا ۵۰ میلی گرم در لیتر			
اتانول	✓	۰/۴ - ۰/۰۰۱	۶۲۰ - ۱/۲

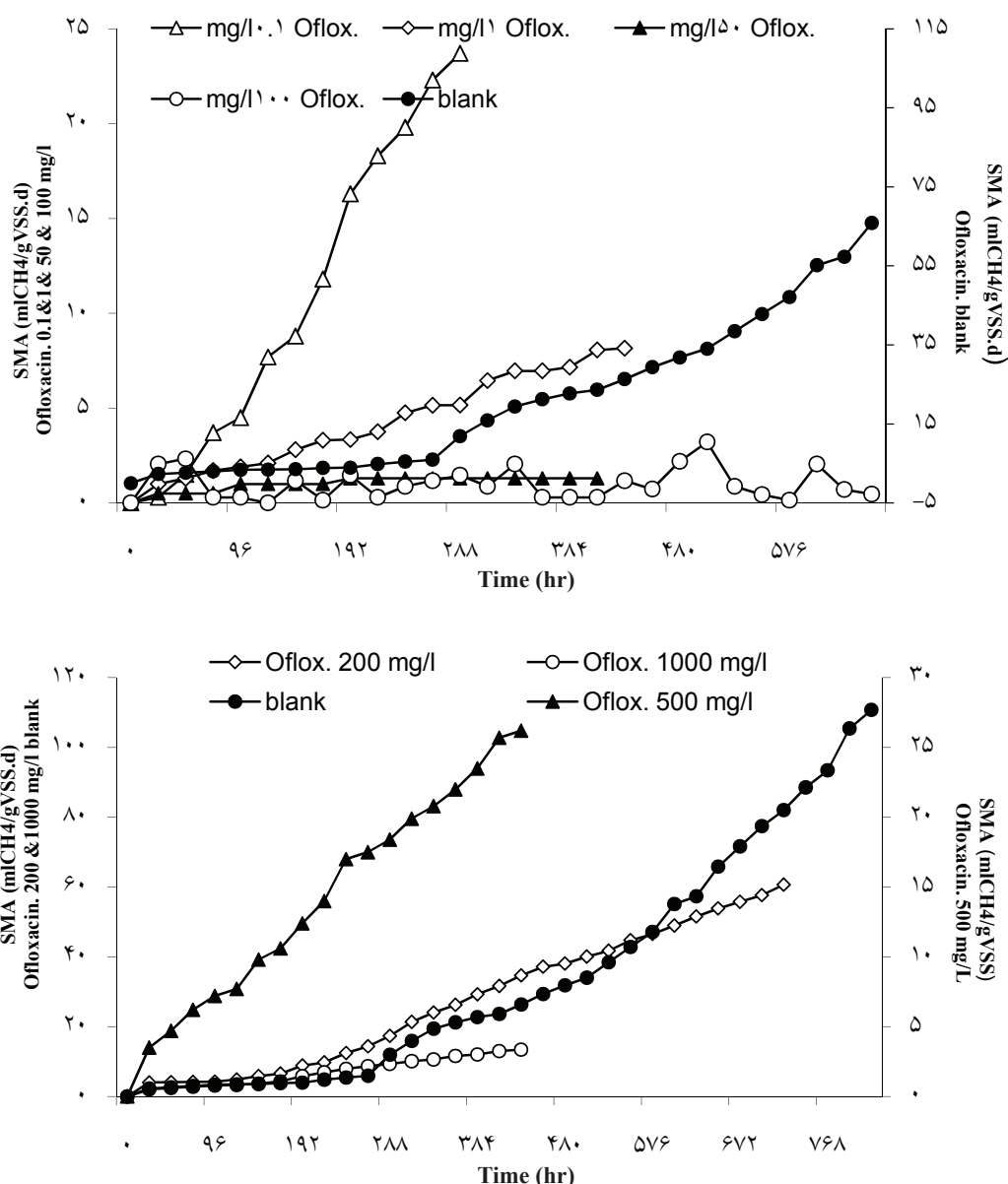
## یافته ها

جداول ۲-۴ غلظت های متفاوت ترکیبات به کار رفته را همراه با حداکثر متان تولیدی و COD حذف شده معادل میلی لیتر متان تولیدی نشان می دهد.

در شکل های ۲ و ۳ نمودارهای مربوط به تاثیر غلظت های متفاوت آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، اوفلوکساسین و شکل ۴ هورمون  $E_2$  بر روی میزان تولید متان تجمعی مشاهده می شود. نمودارهای مربوط به هر کدام از ترکیبات به دو گروه شامل غلظت های کم و غلظت های زیاد تقسیم بندی شده اند.



شکل ۲: تاثیر آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین بر روی میزان تجمعی متان سازی ویژه بیومس بی هوازی: (الف): در غلظت های کم شامل ، ۱ (▲)، ۰/۱ (○)، ۵ (■)، ۵۰ (◇) و شاهد یا صفر (●) میلی گرم در لیتر؛ و (ب) غلظت های زیاد شامل ، ۱۰۰ (◇)، ۲۰۰ (□)، ۵۰۰ (▲)، و شاهد یا صفر (●) میلی گرم در لیتر



شکل ۳: تأثیر آنتی بیوتیک اوفلوکساسین بر روی میزان تجمعی متان سازی ویژه بیومس بی هوازی: (الف): در غلظت های کم شامل ۰٫۱ (▲)، ۱ (◇)، ۵۰ (●)، ۱۰۰ (○) و شاهد یا صفر (●) میلی گرم در لیتر و (ب) غلظت های زیاد شامل: ۲۰۰ (◇)، ۵۰۰ (▲)، ۱۰۰۰ (○) و شاهد یا صفر (●) میلی گرم در لیتر

## بحث

شکل ۲- الف میزان متان تولیدی در برابر غلظت های متفاوت تزریقی سیپروفلوکساسین در مقایسه با نمونه شاهد را نشان می دهد. همان طور که در شکل (۲- الف) مشاهده می شود، افزایش غلظت سیپروفلوکساسین در گستره ۵۰-۰/۱ mg/L باعث افزایش متان تولیدی در لجن بی هوازی شده است که این افزایش در هورمون  $E_2$  در محدوده

شکل ۲- الف میزان متان تولیدی در برابر غلظت های متفاوت تزریقی سیپروفلوکساسین در مقایسه با نمونه شاهد را نشان می دهد. همان طور که در شکل (۲- الف) مشاهده می شود، افزایش غلظت سیپروفلوکساسین در گستره ۵۰-۰/۱ mg/L باعث افزایش متان تولیدی در لجن بی هوازی شده است که این افزایش در هورمون  $E_2$  در محدوده

می شود با افزایش غلظت افلوکسازین در دامنه ۰/۱ تا ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، درصد کاهش منظمی در تولید متان مشاهده نشد. علاوه بر این، در غلظت های ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/L آنتی بیوتیک افلوکسازین کاهش تولید متان به ترتیب به میزان ۴۵، ۷۶ و ۸۸ درصد بود. با توجه به جدول ۳ با افزایش غلظت سیپروفلوکسازین در دامنه ۵-۰/۱ میلی گرم در لیتر درصد کاهش منظمی در تولید متان مشاهده نگردید و کاهش ۶۸، ۸۱ و ۸۸ درصدی تولیدی متان به ترتیب در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ mg/L آنتی بیوتیک سیپروفلوکسازین مشاهده شد.

میزان متان تجمعی تولیدی هورمون در غلظت های ۰/۱، ۱، ۵ و میلی گرم در لیتر  $E_2$  به ترتیب ۶۶، ۹۰، و ۱۲۱ میلی لیتر بود، به طوری که با افزایش غلظت هورمون، میزان متان تولیدی افزایش یافت. میزان متان تجمعی تولیدی هورمون در غلظت ۵۰ mg/L  $E_2$  برابر ۱۰۸ میلی لیتر است که نسبت به غلظت ۱۰ mg/L با میزان متان سازی تجمعی ۱۱۵ میلی لیتر، کمتر است.

نتایج حاصل از این مطالعه با یافته های به دست آمده توسط مطالعات Gamel-El-Din (۱۹۸۶) قابل مقایسه است. وی کاهش به ترتیب ۳۲، ۴۰ و ۴۹ درصدی بیوگاز تولیدی در طول هضم بی هوازی مزوفیلیک ناپیوسته فاضلاب محتوی غلظت های ۱۲/۵، ۳۷/۵ و ۷۵ میلی گرم بر لیتر فاضلاب حاوی اکسی تتراسایکلین را نشان داده است (۸). همچنین Sankveist و همکاران (۱۹۸۴) به ترتیب کاهش ۳۵ درصدی (در ۱۵ روز) و ۵۵ درصدی (در ۲۵ روز) میزان متان تولیدی در شرایط مزوفیلیک و ترموفیلیک در مورد فاضلاب محتوی ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر اکسی تتراسایکلین را مشاهده کردند (۸).

یافته های این مطالعه با نتایجی که توسط Lallai گرفته شده است را بیشتر تصدیق می کند (۷). طبق نظر Lallai حضور آنتی بیوتیک ها و هورمون ها در فاضلاب می تواند مشکلاتی را در تصفیه فاضلاب به طریق بی هوازی ایجاد کند، به ویژه

متان تولیدی در لجن بی هوازی شده است. همچنین، غلظت کم این ترکیبات می تواند به بازدارندگی کمتر و تجزیه بهتر توسط باکتری های فعال در بیومس بی هوازی کمک کند. در مقابل همان طور که در شکل ۲- ب مشاهده می شود با افزایش غلظت سیپروفلوکسازین در گستره ۵۰۰ - ۱۰۰ mg/L در لجن بی هوازی مورد آزمایش میزان متان تولیدی کاهش می یابد به گونه ای که این تفاوت بین غلظت های ۵۰۰ mg/L - ۲۰۰ قابل ملاحظه است. از آنجا که سیپروفلوکسازین سبب از بین رفتن باکتری های گرم منفی می شود می توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت سیپروفلوکسازین باعث از بین رفتن باکتری های گرم منفی متانوژنیک شده و سبب کاهش میزان متان تولیدی در مرحله ی بی هوازی می شود.

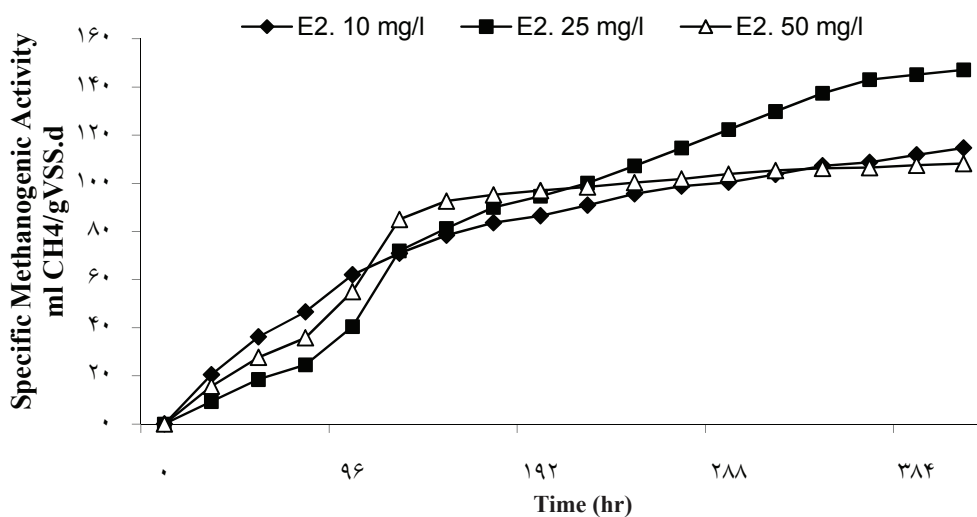
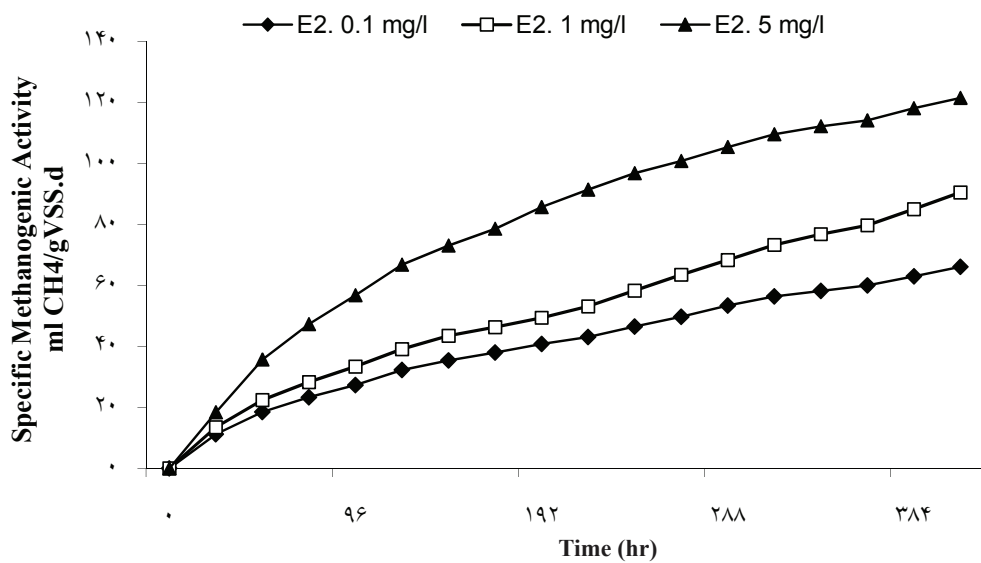
شکل (۳-الف و ب) میزان متان تولیدی را در برابر غلظت های متفاوت تزریقی افلوکسازین نشان می دهد. در این شکل افزایش تدریجی در متان تولیدی ویال ها در طی ۷۶۸ ساعت مشاهده می شود، این پدیده نشان دهنده سازگار شدن باکتری ها با لجن بی هوازی و مقاومت آن ها در برابر آنتی بیوتیک هاست. با افزایش تدریجی غلظت افلوکسازین میزان متان تولیدی کاهش می یابد. آنتی بیوتیک افلوکسازین نیز همانند سیپروفلوکسازین بر باکتری های گرم منفی اثر می کند. پس می توان نتیجه ای را که در مورد محدوده غلظت های بالای سیپروفلوکسازین به دست آمد را در مورد افلوکسازین نیز تعمیم داد.

شکل ۴- ب میزان متان تولیدی در محدوده ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر هورمون  $E_2$  در لجن بی هوازی را نشان می دهد، همان طور که در شکل نیز مشخص است میزان متان تولیدی در غلظت ۵۰ mg/L نسبت به غلظت ۱۰ mg/L کمتر است. این پدیده می تواند به دلیل بازدارندگی ناشی از غلظت های بالای هورمون بر روی فعالیت متان سازی باکتری ها باشد.

جداول ۴-۲ محدوده غلظت هورمون و آنتی بیوتیک های مورد استفاده همراه با حداکثر متان تولیدی و COD حذف شده مربوط را نشان می دهد. همان طور که در جدول ۲ مشاهده

در غلظت های تزریقی گرفته شد نمی توان به سایر ترکیبات با فرمولاسیون های متفاوت نسبت داد. Lallai نتیجه گرفت که تمام باکتری های تولیدکننده اسید و متان از این ترکیبات تاثیر نمی پذیرند.

وقتی که تولید بیوگاز اهمیت دارد. نتایج بالا همچنین بیان کننده آنست که در تزریق غلظت های متفاوت آنتی بیوتیک و هورمون امکان پیشگویی در رابطه با درجه بازدارندگی و میزان بیوگاز تولیدی نیست و نتیجه ای را که در مورد این ترکیبات



شکل ۴: تاثیر هورمون E2 بر روی میزان تجمعی متان سازی ویژه بیومس بی هوازی: (الف): در غلظت های کم شامل: ۰,۱ (◆)، ۱ (□) و ۵ (▲) میلی گرم در لیتر و (ب) غلظت های زیاد شامل: ۱۰ (◆)، ۲۵ (■) و ۵۰ (△) میلی گرم در لیتر



## نتیجه گیری

هورمون  $E_2$  در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر و بالاتر و سیپروفلوکساسین در غلظت های بالاتر از ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر بازدارنده هستند. ورود آنتی بیوتیک ها و هورمون های بررسی شده در این مطالعه به سیستم تصفیه ممکن است منجر به تداخل در فعالیت متان سازی در هاضم های بی هوازی تصفیه خانه های شهری و صنایع داروسازی شود.

از یافته های این مطالعه نتیجه گیری می شود که آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین در غلظت های مشابه نسبت به آنتی بیوتیک اوفلوکساسین دارای بازدارندگی بیشتری بر فعالیت متان سازی ویژه بیومس بی هوازی است. همچنین، هورمون  $E_2$  نسبت به دو آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین و اوفلوکساسین در غلظت های پایین بازدارنده تر است. با افزایش تدریجی غلظت اوفلوکساسین میزان متان تولیدی کاهش می یابد ولی

جدول ۲: میزان متان تولیدی و COD حذف شده در ویال های حاوی آنتی بیوتیک اوفلوکساسین

غلظت اوفلوکساسین، میلی گرم در لیتر	حداکثر متان سازی ویژه، میلی لیتر متان به ازای هر گرم VSS در روز	تولید تجمعی متان، میلی لیتر	میزان کاهش متان، برحسب درصد	COD حذف شده معادل میلی لیتر متان تولیدی، میلی گرم
۰/۱	۲۱/۹۵	۲۳/۷	۷۸/۶۰	۶۰
۱	۲۴/۸۴	۳۲/۱	۷۱/۰۱	۸۱/۳
۵۰	۱/۴۶	۱/۳	۹۸/۸۳	۳/۳
۱۰۰	۳/۲۱	۹/۳۵	۹۱/۵۶	۲۳/۷
۲۰۰	۱۱/۶۹	۶۰/۶۵	۴۵/۲۳	۱۵۳/۶
۵۰۰	۱۰/۲۳	۲۶/۲۰	۷۶/۳۴	۶۶/۴
۱۰۰۰	۵/۸۴	۱۳/۴	۸۷/۹۰	۳۳/۹
شاهد	۲۴/۸۶	۱۱۰/۷۳	۰	۲۸۰/۴

جدول ۳: میزان متان تولیدی و COD حذف شده در ویال های حاوی آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین

غلظت سیپروفلوکساسین، میلی گرم در لیتر	حداکثر متان سازی ویژه، میلی لیتر متان به ازای هر گرم VSS در روز	تولید تجمعی متان، میلی لیتر	میزان کاهش متان، برحسب درصد	COD حذف شده معادل میلی لیتر متان تولیدی، میلی گرم
۰/۱	۱/۱۷	۰/۸	۹۹/۲۸	۲
۱	۱/۱۷	۰/۶	۹۹/۴۶	۱/۵
۵	۴/۰۹	۵/۹۳	۹۴/۶۴	۱۵
۵۰	۱۲/۸۶	۳۷/۸	۶۵/۸۶	۹۵/۷
۱۰۰	۱۴/۶۱	۳۴/۹	۶۸/۴۸	۸۸/۴
۲۰۰	۵/۲۶	۲۱/۱	۸۰/۹۴	۵۳/۴
۵۰۰	۴/۹۷	۱۳/۷۹	۸۷/۵۵	۳۴/۹
شاهد	۲۴/۸۶	۱۱۰/۷۳	۰	۲۸۰/۴

جدول ۴: میزان متان تولیدی و COD حذف شده در ویال های حاوی هورمون E2

غلظت E <sub>2</sub> میلی گرم در لیتر	حداکثر متان سازی ویژه، میلی لیتر متان به ازای هر گرم VSS در روز	تولید تجمعی متان، میلی لیتر	COD ورودی، میلی گرم در لیتر	COD حذف شده معادل میلی لیتر متان تولیدی، میلی گرم
۰/۱	۱۹	۶۶	۱۷۹۵	۱۶۷
۱	۲۳	۹۰	۲۳۷۸	۲۲۹
۵	۳۱	۱۲۱	۲۷۶۷	۳۰۷
۱۰	۳۵	۱۱۵	۳۰۵۹	۲۹۰
۲۵	۵۳	۱۴۷	-	۳۷۲
۵۰	۵۱	۱۰۸	۱۷۷۳۶	۲۷۴

## منابع

- Bailon-Perez MI, Garcia-Campana AM, Cruces-Blanco C, del Olmo Iruela M. Trace determination of  $\beta$ -lactam antibiotics in environmental aqueous samples using off-line and on-line pre-concentration in capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 2008;1185:273-80.
- 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;41:2139-50.
- Carballa M, Fink G, Omil F, Lema JM, Ternes T. Determination of the solid-water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals, estrogens and musk fragrances in digested sludge. *Water Research*. 2008;42(1-2):287-95.
- Arikan OA, Sikora LJ, Mulbry W, Khan ShU, Rice C, Foster GD. The fat and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves. *Process Biochemistry*. 2006;41:1637-43.
- Boe K, Batstone DJ, Steyer JP, Angelidaki I. State indicators for monitoring the anaerobic digestion process. *Water Research*. 2010;44(20):5973-80.
- Amin MM, Zilles JL, Greiner J, Charbonneau S, Raskin L, Morgenroth E. Influence of the antibiotic Erythromycin on anaerobic treatment of a pharmaceutical wastewater. *Environmental Science and Technology*. 2006;40:3971-77.
- Lallai A, Mura G, Onnis N. The effect of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. *Bioresource Technology*. 2002;82:205-208.
- Massé DI, Lu D, Mass L, Droste RL. Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors. *Biore-source Technology*. 2000;75:205-11.
- Wang Y, Zhang Y, Wang J, Meng L. Effect of volatile fatty acid concentrations on methane yield and Methanogenic bacteria. *Biomass and Bioenergy*. 2009;33:848-53.
- Jawed M, Tara V. Microbial composition assessment of anaerobic biomass through methanogenic ac-

- tivity tests. *Water SA*. 1999;25(3):345-50.
11. APAH, WEF, AWWA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. Washington, DC: American Public Health Association; 2005.
12. Van-Haandel AC, Lettinga G. *Anaerobic Sewage Treatment, A Practical Guide for Regions with a Hot Climate*. Chichester: John Wiley & Sons Inc; 1994.
13. Irini A, Madalena A, David B, Liliana B, Luis C, Alan G, et al. *Anaerobic biodegradation, activity and inhibition (ABAI)*. Task Group Meeting; 2006 Oct 9-10; Prague.

## Inhibition Effect of Antibiotics Ciprofloxacin and Ofloxacin and Hormone $\beta$ -stradiol 17 Valerat on the Methanogenic Activity of Anaerobic Biomass

Heidari M.<sup>1</sup>, Saffari Khouzani H.<sup>2</sup>, \*Amin M.M.<sup>3</sup>, Ghasemian M.<sup>4</sup>, Taherian E.<sup>5</sup>, Attari L.<sup>6</sup>, Hassanzadeh A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Health Engineering, Shahrekord University of Medical Sciences, Chaharmahal and Bakhtiari, Iran

<sup>2</sup>Department of Environmental Health Engineering, Health Center No. 1, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

<sup>3</sup>Department of Environmental Health Engineering, Environment Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

<sup>4</sup>Department of Environmental Engineering, Tehran Wastewater Engineering Cooperation, Tehran, Iran

<sup>5</sup>Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

<sup>6</sup>Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Ahwaz Jondishapour University of Medical Sciences, Khuzestan, Iran

Received; 15 January 2011 Accepted; 11 April 2011

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** Antibiotics and hormones are excreted with other wastes following their influences on bodies. These substances can disturb treatment process by their entry to the wastewater. In this study the inhibitory behavior of antibiotics Ofloxacin and Ciprofloxacin and hormone  $\beta$  stradiol 17- valerat have been investigated on Specific Methanogenic Activity (SMA) of anaerobic biomass.

**Materials and Methods:** Twenty one SMA tests were done using 120-mL vials in batch mode. In each vial, substrate, biomass and biogas were occupied 66, 17, and 17 % (v/v), respectively. Each test lasted in range of 15-30 days. Produced methane was measured by gas replacement with 2N KOH solution as CO<sub>2</sub> absorbent.

**Results:** In this study, at the concentrations of 200, 500 and 1000 mg/L of antibiotic Ofloxacin, the methane production reduced to 45, 76 and 88 percent, respectively. Reduced methane production of 68, 81 and 88 percent was observed in Ciprofloxacin concentrations of 100, 200, and 500 mg/L, respectively. Cumulative methane at the concentrations of 0.1, 1, and 5 mg E<sub>2</sub> /L was 66, 90, and 121 mL, respectively

**Conclusion:** Antibiotic Ciprofloxacin at concentrations similar to the antibiotic Ofloxacin have a greater inhibitory effect on specific methanogenic activity of anaerobic biomass. Also, the hormone E<sub>2</sub> at lower concentrations showed more inhibitory effect than other two antibiotics Ciprofloxacin and Ofloxacin.

**Key word:** Antibiotic Ciprofloxacin, Antibiotic Ofloxacin, Hormone E<sub>2</sub>, Specific Methanogenic Activity (SMA)

---

\*Corresponding Author: [amin@hlth.mui.ac.ir](mailto:amin@hlth.mui.ac.ir)

Tel: +98 311 79 22 686 Fax: +98 311 66 82 509