

# تأثیر بازدارندگی آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و جنتاما یسین بر میزان متان سازی

## \*بیومس بی هوازی

هاجر صفاری خوزانی<sup>۱</sup>، مهناز حیدری<sup>۱</sup>، محمد مهدی امین<sup>۲</sup>، بی بی فاطمه نبوی<sup>۳</sup>

### چکیده

**مقدمه:** در صد بالایی از آنتی بیوتیک ها که توسط انسان ها و حیوان ها مصرف می شوند پس از تأثیر گذاری همراه سایر ضایعات از بدن دفع می شوند. این ترکیبات با ورود به فاضلاب، می توانند فرایند تصفیه بی هوازی را مختل کنند. در این مطالعه، رفتار بازدارندگی دو آنتی بیوتیک آمپی سیلین و جنتاما یسین بر فعالیت متان سازی ویژه بیومس بی هوازی (SMA: Specific Methanogenic Activity) مورد بررسی قرار گرفت.

**روش ها:** ۱۸ آزمون به روش ناپیوسته در ویال های شیشه ای mL ۱۲۰ صورت گرفتند که ۳۷ درصد از حجم هر ویال به بیومس، ۴۰ درصد سوبستر و ۲۳ درصد به تجمع بیو گار اختصاص یافت. هر تست ۲۰-۲۵ روز به طول انجامید. متان تولید شده به وسیله جایگزینی گاز با محلول ۲ نرمال KOH به عنوان جاذب CO<sub>2</sub> اندازه گیری شد. اسیدهای چرب مانند استیک، پروپیونیک، بوتیریک اسید به عنوان سوبستر کمکی استفاده گردید.

**یافته ها:** در این مطالعه در غلظت های ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/L آمپی سیلین، متان سازی ویژه تجمعی به ترتیب ۲۵، ۳۵ و ۴۶ برای پروپیونیک، ۶۶، ۱۰۱ و ۱۵۴ برای استیک و ۱۹۸، ۱۴۰ و d VSS. ۲۴۵ mL/g برای بوتیریک به دست آمد. همچنین در غلظت های ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/L جنتاما یسین تولید متان سازی ویژه تجمعی به ترتیب ۵۴، ۷۲ و ۷۱ برای پروپیونیک، ۱۴۱، ۲۰۴ و ۲۵۷ برای استیک، ۱۳۹، ۷۴ و ۷۶ d VSS. ۸۵/۵ mL/g برای بوتیریک به دست آمد.

**نتیجه گیری:** آمپی سیلین در غلظت های مشابه نسبت به جنتاما یسین اثر بازدارندگی بیشتری بر بیومس بی هوازی دارد. همچنین، پروپیونیک نسبت به استیک و بوتیریک اسید بازدارنده تر است.

**واژه های کلیدی:** آنتی بیوتیک، آمپی سیلین، جنتاما یسین، اسید چرب فرار، فعالیت متان سازی ویژه

### نوع مقاله: تحقیقی

پذیرش مقاله: ۱۹/۱۰/۲۹

دریافت مقاله: ۱۹/۱/۲۷

انتشار ترکیبات دارویی و متابولیت حاصل از آن ها در محیط،

### مقدمه

موجب افزایش نگرانی در سال های اخیر شده اند (۱-۳). ترکیبات دارویی از تصفیه ای مؤثر فاضلاب جلوگیری می کنند، بنابراین کاربرد وسیع این داروها منجر به افزایش

امروزه علاوه بر آفت کش ها، ترکیبات شیمیایی صنعتی، گزنو بیوتیک ها (ساخت دست بشر) و ترکیبات شیمیایی آلی،

\* این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی مصوب به شماره ۱۲۸۷۳۰۱ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می باشد.  
۱- دانشجوی کارشناسی پهداشت محیط، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.  
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. (نوبنده مسؤول)  
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد پهداشت محیط، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

Email: amin@hlth.mui.ac.ir

کاهشی بیشتری روی محصولات بیوگاز نداشت. بنابراین حدس بر این بود که بخش مهمی از جمعیت‌های میکروبی در ASBR به آنتی‌بیوتیک مقاوم شدند (۵).

Poels و همکاران دریافتند که به دنبال اضافه کردن آنتی‌بیوتیک‌های کلروتراسایکلین، تایلوزین، اریتروماسین و کلامفینیکل در عمل هضم اختلال به وجود نیامد، در مقابل با به کار بردن سه دوز از باسیتراسین و ویرجینامایسین، کاهش زیادی در تولید متان به وجود آمد. در این آزمایش‌ها با افزایش غلظت اسید چرب فرار (VFA) Volatile Fatty Acid یا VFAs یا COD Chemical Oxygen Demand تولید گاز ۲ برابر کاهش یافت (۸).

VFAs تقریباً نقش مهمی در تولید متان دارند و غلظت آن‌ها بر راندمان تخمیر تأثیر بسزایی می‌گذارد. اگرچه اثرات آن‌ها بر روی باردهی متان و رشد باکتری‌های متانوژن بسیار کم مطالعه شده است؛ اما همه اسیدها قبل از تبدیل شدن به متان، ابتدا به استیک اسید تجزیه می‌شوند و سرعت تبدیل بوتیریک اسید به متان بیشتر از پروپیونیک اسید است (۹).

مطالعه Jeole و همکاران نشان داد زمانی که pH برابر ۷ و غلظت پروپیونیک اسید ۵۰۰۰ mg/L باشد، باردهی متان به pH ۲۲ تا ۳۸ درصد کاهش می‌یابد و مشخص شد که وقتی pH کاهش یابد، بازدارندگی بیشتر خواهد شد (۹).

Yenigan و Demire اظهار داشتند که پروپیونیک اسید زمانی که در غلظت بالای mg/L ۹۵۱ وجود داشته باشد، بر رشد باکتری‌های متان‌ساز اثر بازدارندگی خواهد داشت. اگرچه اضافه کردن بوتیریک اسید نیز می‌تواند این بازدارندگی را تا حد زیادی بهبود بخشد (۹). و همکاران دریافتند که پروپیونیک اسید سوبستره اصلی مؤثر در تجزیه VFAs است. همچنین آن‌ها اظهار داشتند که افزایش استیک اسید و بوتیریک اسید به رشد باکتری‌های بی‌هوایی کمک می‌کند و رشد آن‌ها را تسريع می‌بخشد و در نتیجه تبدیل VFAs به استیک اسید سرعت می‌یابد. در مقابل افزایش غلظت پروپیونیک اسید، از رشد باکتری‌های بی‌هوایی جلوگیری می‌کند و تجزیه VFAs به وسیله تولید استیک اسید متوقف می‌شود و باعث

خطرات زیست محیطی می‌شود، همچنین حضور مستقیم این ترکیبات در فاضلاب داروسازی می‌تواند بر تصفیه‌ی بیولوژیکی و جمعیت میکروبی بیوراکتورها مؤثر باشد. باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها و متابولیت آن‌ها در لجن می‌تواند اثر منفی روی سیستم تصفیه مانند هاضم‌های بی‌هوایی و سیستم‌های نیتریفیکاسیون داشته باشد (۴).

در سیستم‌های بی‌هوایی، جایی که چندین راه تجزیه بیولوژیکی می‌تواند وجود داشته باشد، بازدارندگی کوتاه مدت جمعیت‌های میکروبی خاص نمی‌تواند منتج به کاهش قابل توجهی در تولید بیوگاز شود. هر چند که مواجهه طولانی مدت با آنتی‌میکروبیال‌ها ممکن است سبب جمع آوری محصولات واسطه و یا تعییر در جمعیت میکروبی شود که می‌تواند روی کارایی تصفیه بی‌هوایی اثر منفی داشته باشد (۵).

Camprabi و همکاران، اثر بازدارندگی بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها از قبیل کلامفینیکل، کلروتراسایکلین، تایلوزین و اریتروماسین را در آزمایش‌های ناپیوسته (Batch) مطالعه کردند. در گستره غلظت آنتی‌بیوتیک‌های مطالعه شده، کلروتراسایکلین، تایلوزین و اریتروماسین اثر بازدارندگی بر فعالیت متان‌سازی نداشته است، اما بر خلاف آن‌ها کلامفینیکل دارای اثر بازدارندگی است (۶).

Sankveist و همکاران پیشنهاد کردند که آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است به خودی خود از فعالیت باکتری‌ها جلوگیری نکنند، اما متابولیت حاصل از آن‌ها در دستگاه گوارش، مانع از فعالیت باکتری‌ها می‌شوند. بنابراین مقدار اثر این ترکیبات، زمانی که مستقیم به لجن اضافه می‌شوند نسبت به زمانی که از بدن حیوانات و انسان‌ها دفع می‌شوند، کمتر است (۷).

امین و همکاران اثر اریتروماسین را روی راکتور Anaerobic Sequencing (ASBR) یا Batch Reactor پایدار شدن شرایط بهره‌برداری راکتور، غلظت کم (۱ mg/L) و متعاقب آن غلظت بالای اریتروماسین (۲۰۰ mg/L) را به راکتور اضافه نمودند. افزودن مقدار کم اریتروماسین منتج به کاهش ۵ درصدی تولید بیوگاز شد، ولی غلظت بالای آن اثر

اثرات آنتی بیوتیک‌ها و هورمون‌ها در فاضلاب داروسازی صورت گرفته است (۱۱).

هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر دو آنتی بیوتیک آمپی سیلین و جنتامايسین در فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بیهوازی (SMA) است، که بر راندمان تصفیه‌ی بیولوژیکی میکرووارگانیسم‌های بیهوازی در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری و همچنین صنایع داروسازی تأثیر می‌گذارد.

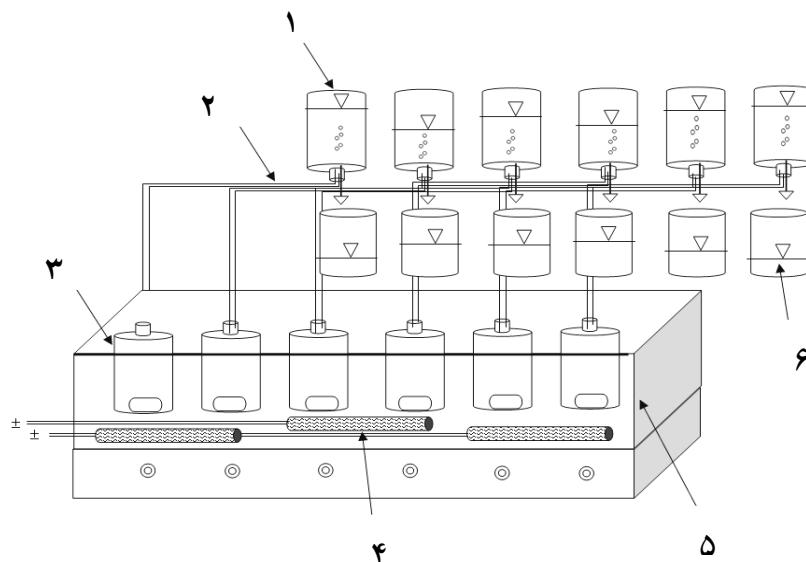
### روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی مداخله‌ای بود و تعداد ۱۸ آزمون متان‌سازی ویژه بیومس بیهوازی، به روش ناپیوسته و در ویال‌های شیشه‌ای ۱۲۰ میلی‌لیتری انجام شده است. هر آزمون در محدوده ۲۰ تا ۲۵ روز به طول انجامید. شکل ۱ شماتیک پایلوت مورد استفاده در این مطالعه را نشان می‌دهد.

کاهش فعالیت باکتری‌های متان‌زا می‌شود. آن‌ها با آنالیزهای آماری دریافتند که سرعت رشد باکتری‌های متان‌زا، رابطه منفی با غلظت پروپیونیک اسید ( $P < 0.05$ ) و رابطه مثبتی با بوتیریک اسید دارد ( $P = 0.05 - 0.01$ )، اما با غلظت‌های استیک اسید و اتانول رابطه خاصی ندارد ( $P > 0.05$ ).

در فرایند هضم بیهوازی، بار آلی بایستی به منظور اجتناب از جمع آوری VFAs در راکتور کنترل شود، همچنین با جلوگیری از تخمیر اسیدی در سیستم، اسیدهای آلی دیگر نسبت به استیک اسید آهسته‌تر به متان تجزیه می‌شوند (۱۰).

فعالیت متان‌سازی ویژه (SMA) یا آزمایشی مطمئن برای پایش تعداد و فعالیت باکتری‌های متان‌ساز در جریان تصفیه‌ی بیولوژیکی SMA پساب‌های داروسازی در بیوراکتورها می‌باشد. آزمایش SMA برای ارزیابی اثرات بازدارندگی ترکیبات مختلفی به کار می‌رود، اما تحقیقات کمی در زمینه‌ی استفاده از این آزمایش‌ها، برای



شکل ۱: شماتیک پایلوت مورد استفاده جهت آزمایش فعالیت متان‌سازی ویژه (SMA) شامل ۱- ویال‌های حاوی KOH، ۲- لوله‌های انتقال بیوگاز، ۳- ویال‌های SMA، ۴- گرم کن برقی، ۵- حمام آب گرم و ۶- بیوگاز معادل KOH تخلیه شده

میلی‌لیتری توسط بیومس بیهوازی و ۴۸ میلی‌لیتر سوبستر پر گردید و ۲۷ میلی‌لیتر باقیمانده به تجمع بیوگار اختصاص یافت. درب ویال‌ها با واشرهای لاستیکی و سپس با

مشخصات ویال‌ها و بذردهی ۴۵ میلی‌لیتر از حجم هر ویال (از چه ماده‌ای)، ۱۲۰ گرم کن برقی از جمله ویالهای برداشت شده

المنتها) تهیه گردید و با استفاده از NaOH و KOH با نسبت مولی ۱:۱ به pH خنثی، رسانده شد.

#### آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده:

در این تحقیق، از استانداردهای دو نوع آنتی‌بیوتیک با کاربرد وسیع در پزشکی استفاده گردید. آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین (فارابی، ایران)، به صورت پودر با درصد خلوص بیش از ۹۷ درصد در ویال ۲۰ گرمی در محدوده غلظت ۱۰۰۰ mg/L-۲۰۰ و جنتامايسین به صورت آمپول با گستره غلظت L mg/L-۱۰۰۰-۱۰۰ از داروخانه تهیه شد.

#### آماده‌سازی نمونه‌ها

جهت آماده‌سازی هر ویال، غلظت مورد نظر از آنتی‌بیوتیک با سه اسید چرب به صورت جداگانه تهیه شد و با آب مقطر به حجم رسانده شد. غلظت‌های متفاوت اسید چرب و آنتی‌بیوتیک در جدول ۱ ارایه شده است.

#### یافته‌ها

جدول ۲ غلظت‌های متفاوت ترکیبات به کار برده شده را همراه با حداکثر تولید تجمعی متان بر حسب میلی‌لیتر و غلظت اسید چرب فرار را بر حسب میلی‌گرم بر لیتر نشان می‌دهد.

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

آمپی‌سیلین	میلی‌گرم در لیتر	COD میلی‌گرم در لیتر	COD میلی‌گرم	غلظت آنتی‌بیوتیک،
جنتامايسین	۱۰۰	۱۶۴	۴۸۳۶۰	۲/۷۳
	۵۰۰	۸۲۲	۴۱۷۸۰	۲/۷۳
	۱۰۰	۱۶۴	۴۸۳۶۰	۲/۲۳
امپی‌سیلین	۲۰۰	۳۲۸	۴۶۷۹۰	۴/۱۸
	۵۰۰	۸۰۲	۴۱۹۸۰	۲/۷۵
	۱۰۰۰	۱۶۰۴	۲۲۹۶۰	۳/۰۳
امپی‌سیلین	۲۰۰	۳۲۸	۴۶۷۹۰	۴/۱۸

نمودارهای ۵ تا ۷، تأثیر غلظت‌های یکسان آنتی‌بیوتیک‌های جنتامايسین و آمپی‌سیلین در مقابل هر سه نوع اسید چرب فرار بر روی میزان تولید متان تجمعی را نشان می‌دهند.

پوشش‌های آلومینیومی آب بند گردید. اختلاط محتویات ویال‌ها با استفاده از دستگاه همزن مغناطیسی ۶ خانه (ساخت شرکت پارس آزمایشگاه، ایران) در محدوده ۲۰ تا ۳۰ دور در دقیقه در حمام آب گرم با حفظ دمای ۳۵ درجه سانتیگراد صورت گرفت (۱۲).

متان تولیدی از طریق جایگزینی مایع توسط محلول ۲ نرمال KOH به عنوان جاذب CO<sub>2</sub> و برم تیمول بلو به عنوان اندیکاتور، اندازه‌گیری شد. جهت کنترل آزمایش‌ها از نمونه‌های شاهد استفاده گردید (۱۴، ۱۳، ۱۱). ویال‌ها با استفاده از لجن هاضم‌های بی‌هوایی تصفیه‌خانه شهری، به ترتیب با مقدار Mixed Liquid Suspended Solid MLSS و Mixed Liquid Volatile Suspended Solid MLVSS معادل ۵۶/۰۵ و ۳۴/۵ گرم در لیتر بذرده‌ی گردید.

#### سوبیستر

اسیدهای چرب فرار با زنجیره کوتاه (استیک اسید، بوتیریک اسید و پروپیونیک اسید) به عنوان سوبیستر کمکی برای آنتی‌بیوتیک‌ها با غلظت‌های ارایه شده در جدول ۱ مورد استفاده قرار گرفتند. سوبیستر اصلی مشکل از سوبیستر کمکی، آنتی‌بیوتیک و نوترینت‌ها و عناصر کم مقدار (میکرو

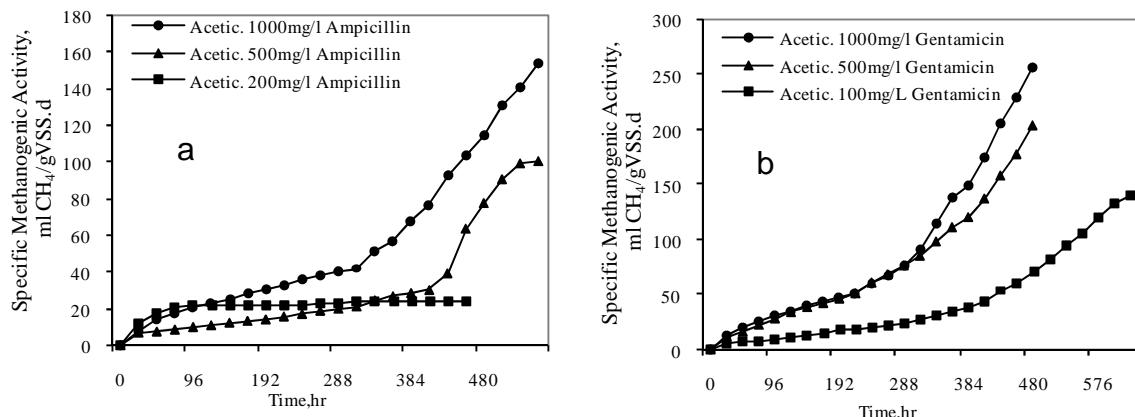
جدول ۲: مشخصات سوبیستر های کمکی و حلال مورد استفاده در این مطالعه

آمپی‌سیلین	میلی‌گرم در لیتر	COD میلی‌گرم در لیتر	COD میلی‌گرم	غلظت آنتی‌بیوتیک،
۲۰۰	۳۲۸	۴۶۷۹۰	۴/۱۸	۲/۶۸
۵۰۰	۸۰۲	۴۱۹۸۰	۲/۷۵	۲/۴
۱۰۰۰	۱۶۰۴	۲۲۹۶۰	۳/۰۳	۱/۹۵
۱۰۰	۱۶۴	۴۸۳۶۰	۴/۲۲	۲/۷۷
۵۰۰	۸۲۲	۴۱۷۸۰	۲/۷۳	۲/۴
۱۰۰۰	۱۶۴۴	۳۲۵۶۰	۲/۹۹	۱/۹۲

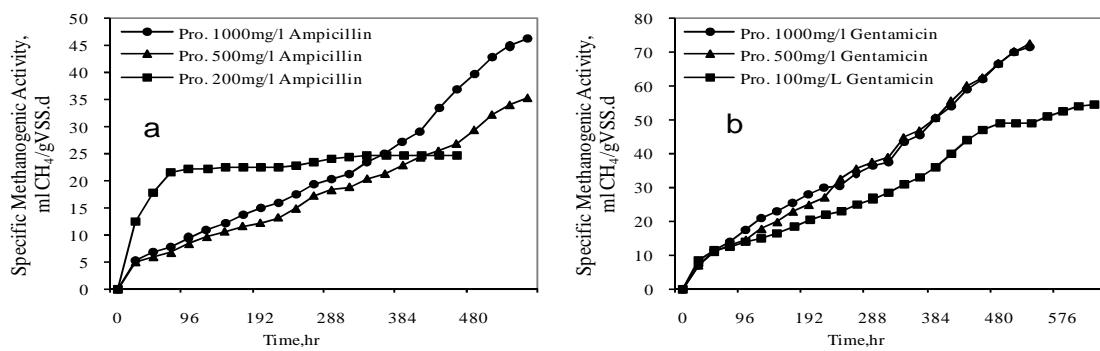
نمودارهای ۲ تا ۴ مربوط به تأثیر غلظت‌های متفاوت آنتی‌بیوتیک‌های جنتامايسین و آمپی‌سیلین، در مقابل یک نوع اسید چرب فرار بر روی میزان تولید متان تجمعی می‌باشد.

جدول ۲: میزان تولید تجمعی متان و غلظت اسید چرب فرار در ویال‌های حاوی آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و آمپی‌سیلین

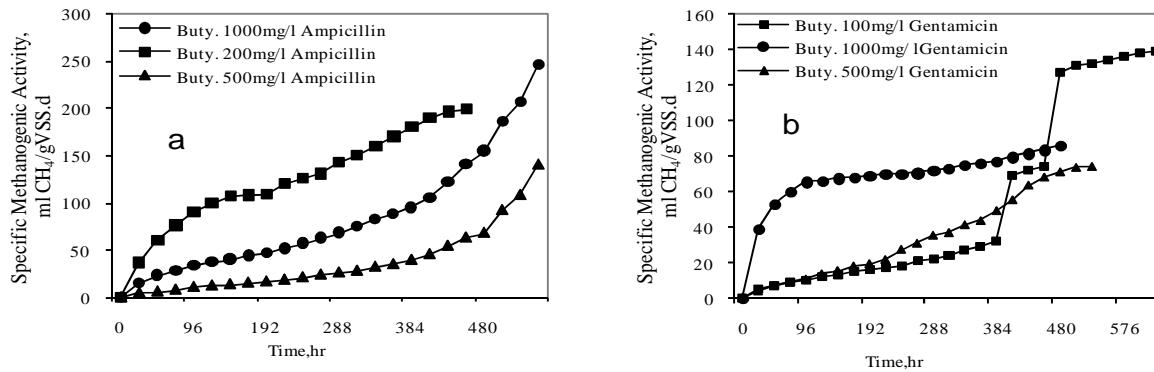
غلظت اسید چرب، میلی‌گرم در لیتر				تولید تجمعی متان، میلی‌لیتر				غلظت آنتی‌بیوتیک، میلی‌گرم در لیتر
استیک اسید	بوتیریک اسید	پروپیونیک اسید	استیک اسید	بوتیریک اسید	پروپیونیک اسید			
جنتامایسین								
۴۵۳۶۰	۲۶۵۹۲	۲۲۰۴۲	۱۴۱	۱۲۹	۵۴	۱۰۰		
۳۹۱۶۵	۲۲۰۴۰	۲۷۷۷۶	۲۰۴	۷۴	۷۲	۵۰۰		
۳۱۳۹۵	۱۸۴۳۲	۲۲۲۲۱	۲۵۷	۸۵/۵	۷۱	۱۰۰۰		
آمپی‌سیلین								
۴۳۸۹۰	۲۵۷۲۸	۳۱۰۵۰	۶۶	۱۹۸	۲۵	۲۰۰		
۳۹۲۷۵	۲۲۰۴۰	۲۷۸۷۵	۱۰۱	۱۴۰	۳۵	۵۰۰		
۳۱۸۱۵	۱۸۷۲۰	۲۲۵۱۸	۱۵۴	۲۴۵	۴۶	۱۰۰۰		



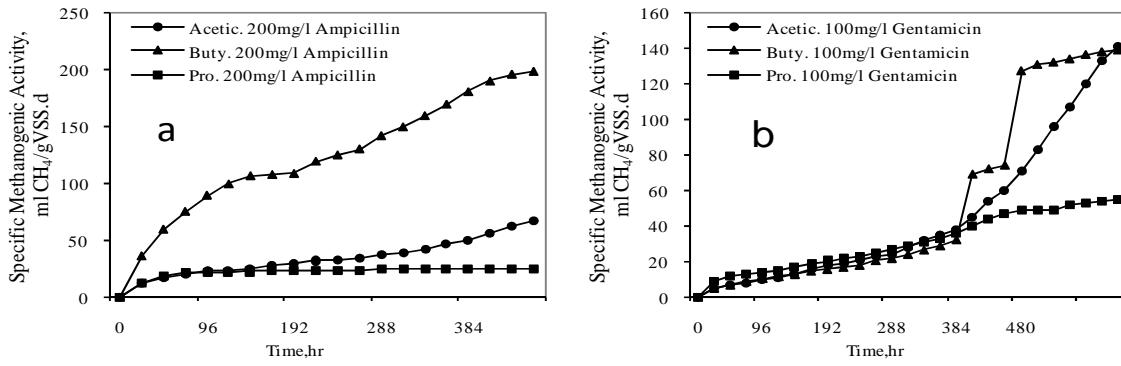
نمودار ۲: تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر روی میزان تجمعی متان‌سازی ویژه بیومس بیهوازی (a): غلظت‌های متفاوت آمپی‌سیلین بر روی استیک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۲۰۰ (■) میلی‌گرم در لیتر و (b) غلظت‌های متفاوت جنتامایسین بر روی استیک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۱۰۰ (■) میلی‌گرم در لیتر. (کلمه اختصار Acetic. در نمودارها به معنی استیک اسید است)



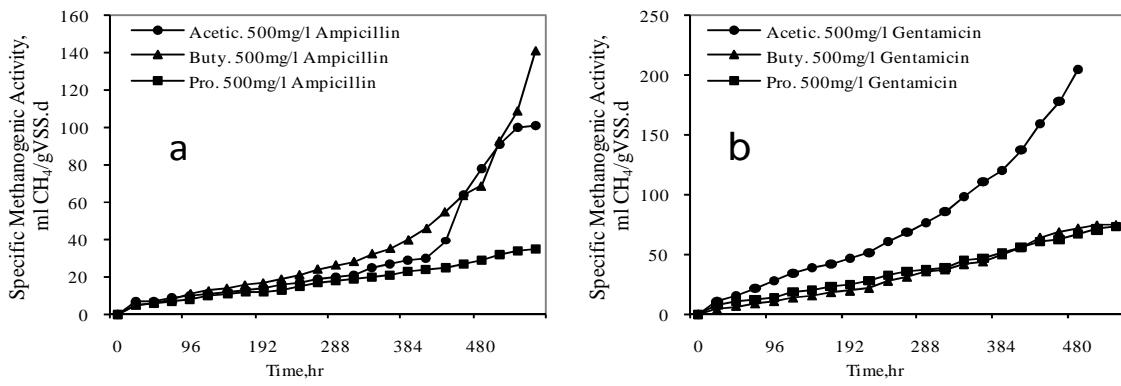
نمودار ۳: تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر روی میزان تجمعی متان‌سازی ویژه بیومس بیهوازی (الف) غلظت‌های متفاوت آمپی‌سیلین بر روی پروپیونیک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۲۰۰ (■) میلی‌گرم در لیتر و (ب) غلظت‌های متفاوت جنتامایسین بر روی پروپیونیک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۱۰۰ (■) میلی‌گرم در لیتر. (کلمه اختصار Pro. در نمودارها به معنی پروپیونیک اسید است)



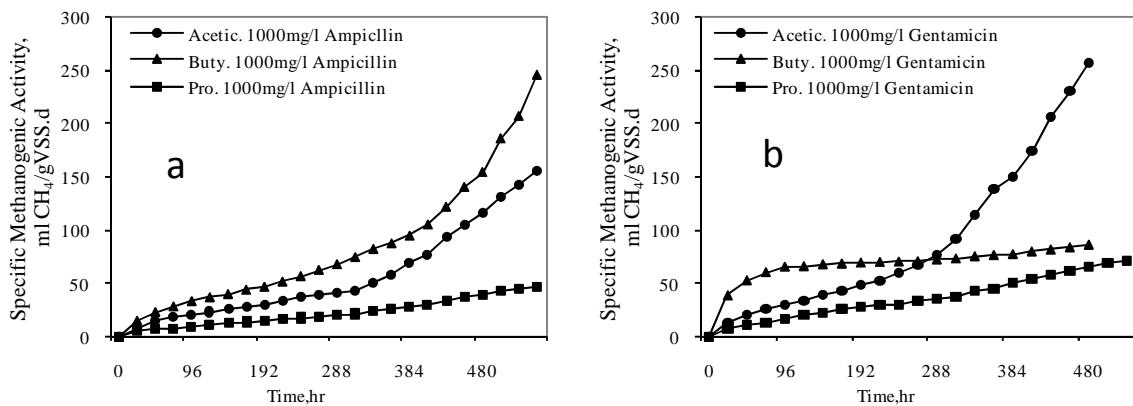
نمودار ۴: تأثیر آنتیبیوتیک‌های آمپیسیلین و جنتامایسین بر روی میزان تجمعی متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوایی (الف) غلظت‌های مختلف آمپیسیلین بر روی بوتیریک اسید شامل ۱۰۰۰ (●) و ۲۰۰ (■) و ۵۰۰ (▲) میلی‌گرم در لیتر و (ب) غلظت‌های مختلف جنتامایسین بر روی بوتیریک اسید شامل ۱۰۰۰ (●) و ۱۰۰ (■) و ۵۰۰ (▲) میلی‌گرم در لیتر (کلمه اختصار Buty در نمودارها به معنی بوتیریک اسید است)



نمودار ۵: تأثیر آنتیبیوتیک‌های آمپیسیلین و جنتامایسین بر روی میزان تجمعی متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوایی: (الف): غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آمپیسیلین بر روی سه نوع اسید چرب شامل استیک اسید (●)، بوتیریک اسید (▲) و پروپیونیک اسید (■) و (ب) غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر جنتامایسین بر روی سه نوع اسید چرب شامل استیک اسید (●)، بوتیریک اسید (▲) و پروپیونیک اسید (■)



نمودار ۶: تأثیر آنتیبیوتیک‌های آمپیسیلین و جنتامایسین بر روی میزان تجمعی متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوایی: (الف): غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر آمپیسیلین بر روی سه نوع اسید چرب شامل استیک اسید (●)، بوتیریک اسید (▲) و پروپیونیک اسید (■) و (ب) غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جنتامایسین بر روی سه نوع اسید چرب شامل استیک اسید (●)، بوتیریک اسید (▲) و اسید پروپیونیک (■)



نمودار ۷: تأثیر آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و جنتامايسین بر روی میزان تجمعی متان سازی و بیژه بیومس بیهوازی: (الف): غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر آمپی سیلین بر روی سه نوع اسید چرب شامل استیک اسید (●)، بوتیریک اسید (▲) و پروپیونیک اسید (■) و (ب) غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر جنتامايسین بر روی سه نوع اسید چرب شامل استیک اسید (●)، بوتیریک اسید (▲) و پروپیونیک اسید (■)

نسبت به استیک اسید و بوتیریک اسید بر روی فعالیت متان سازی و بیژه بیومس بیهوازی اثر بازدارندگی نشان می دهد. همچنین افزایش تدریجی، در متان تولیدی ویال ها در طی ۵۵۲ ساعت مشاهده می شود، که این پدیده نشان دهنده سازگار شدن باکتری ها با لجن بیهوازی و مقاومت آن ها در برابر آنتی بیوتیک ها می باشد.

جدول ۲ محدوده غلظت آنتی بیوتیک های مورد استفاده همراه با حداکثر متان تجمعی تولیدی و غلظت اسید چرب مصرفی بر حسب میلی گرم در لیتر را نشان می دهد. همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود میزان متان تولیدی آمپی سیلین، در غلظت های مشابه در مقایسه با جنتامايسین کمتر می باشد که شاید بتوان این گونه نتیجه گرفت که آمپی سیلین از جنتامايسین بازدارنده تر است. علاوه بر این، متان تولیدی در پروپیونیک اسید نسبت به دو اسید مصرفی دیگر کمتر است که می توان نتیجه گرفت پروپیونیک اسید، اثر بازدارندگی بر متان سازی و بیژه بیومس بیهوازی دارد. با توجه به جدول ۲ با افزایش غلظت جنتامايسین در دامنه ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر، در مورد استیک اسید، میزان گاز تولیدی افزایش می یابد، ولی در مورد بوتیریک اسید و پروپیونیک اسید اثر منظمی مشاهده نگردید.

## بحث

نمودارهای ۲ تا ۴ میزان متان تولیدی در برابر غلظت های متفاوت تزریقی آمپی سیلین و جنتامايسین بر روی استیک اسید را نشان می دهند. همان طور که در نمودارهای (۲-الف)، (۳-الف) و (۴-الف) مشاهده می شود، افزایش غلظت آمپی سیلین در گستره ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش متان تولیدی در لجن بیهوازی شده است. این موضوع می تواند بیانگر آن باشد که با افزایش غلظت آمپی سیلین میزان اسید چرب مصرفی به خصوص اسید پروپیونیک کاهش یافته است و اثر بازدارندگی آن کم شده است. در مقابل همان طور که در نمودارهای (۲-ب)، (۳-ب) و (۴-ب) مشاهده می شود با افزایش غلظت جنتامايسین در گستره ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر بر روی استیک اسید در لجن بیهوازی مورد آزمایش، میزان متان تولیدی افزایش می یابد، در حالی که این افزایش، در مورد بوتیریک اسید و پروپیونیک اسید مشاهده نشد و نظم خاصی مشاهده نشد.

نمودارهای ۵ تا ۷ میزان متان تولیدی را در برابر غلظت های یکسان تزریقی آمپی سیلین و جنتامايسین بر روی سه نوع اسید چرب نشان می دهند. پروپیونیک اسید در هر غلظت از هر دو آنتی بیوتیک آمپی سیلین و جنتامايسین،

آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، دارای بازدارندگی بیشتری بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوایی می‌باشد. همچنین با افزایش غلظت آمپی‌سیلین میزان متان تولیدی افزایش می‌یابد و پروپیونیک اسید در هر غلظت از دو آنتی‌بیوتیک مورد استفاده، نسبت به بوتیریک اسید و استیک اسید دارای بازدارندگی بیشتری می‌باشد.

پیشنهاد می‌گردد ورود آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه به سیستم‌های بزرگ تصفیه که ممکن است منجر به تداخل در فعالیت متان‌سازی در هاضم‌های بی‌هوایی تصفیه‌خانه‌های شهری و صنایع داروسازی شود، پایش گردد.

#### تشکر و قدردانی

این مطالعه نتیجه طرح پژوهشی شماره ۲۸۷۳۰۱ مصوب در معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد، که بدین وسیله از گرانات اعطایی قدردانی می‌گردد.

نتایج حاصل از این مطالعه با یافته‌های به دست آمده توسط مطالعات Yuanyuan و همکاران قابل مقایسه می‌باشند. Jeol و همکاران دریافتند زمانی که pH برابر ۷ و

غلظت پروپیونیک اسید ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باشد، باردهی متان به ۳۸ تا ۲۲ درصد کاهش می‌یابد و مشخص شد که وقتی pH کاهش یابد بازدارندگی بیشتر خواهد شد (۹). یافته‌های این مطالعه نتیجه‌ی Demire و Demire Yenigan گرفته شده است، بیشتر تصدیق می‌کند. Yenigan و Yenigan اظهار داشتند که پروپیونیک اسید بر رشد ۹۵۱ باکتری‌های متان‌ساز زمانی که در غلظت بالای میلی‌گرم بر لیتر باشد اثر بازدارندگی خواهد داشت. اگرچه اضافه کردن بوتیریک اسید نیز می‌تواند این بازدارندگی را تا حد زیادی بهبود بخشد (۹).

از یافته‌های این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین در غلظت‌های مشابه نسبت به

#### References

- Bailon-Perez MI, Garcia-Campana AM, Cruces-Blanco C, del O, I. Trace determination of beta-lactam antibiotics in environmental aqueous samples using off-line and on-line preconcentration in capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 2008; 1185(2): 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 Res* 2007; 41(10): 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 SU, Rice C, Foster GD. The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves. *Process Biochemistry* 2006; 41(7): 1637-43.
- Amin MM, Zilles JL, Greiner J, Charbonneau S, Raskin L, Morgenroth E. Influence of the antibiotic erythromycin on anaerobic treatment of a pharmaceutical wastewater. *Environ Sci Technol* 2006; 40(12): 3971-7.
- Lallai A, Mura G, Onnis N. The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. *Bioresour Technol* 2002; 82(2): 205-8.
- Massé DI, Lu D, Masse L, Droste RL. Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors. *Bioresource Technology* 2000; 75(3): 205-11.
- 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.
- Wang Y, Zhang Y, Wang j, Meng L. Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass and Bioenergy* 2009; 33(5): 848-53.
- Espinoza-Escalante FM, Pelayo-Ortiz C, Gutierrez-Pulido H, Gonzalez-Alvarez V, Alcaraz-Gonzalez V, Bories A. Multiple response optimization analysis for pretreatments of Tequila's stillages for VFAs and hydrogen production. *Bioresour Technol* 2008; 99(13): 5822-9.
- Jawed M, Tare V. Microbial composition assessment of anaerobic biomass through methanogenic activity tests. *Journal of Water SA* 1995; 25(3).

12. Angelidaki I, Alves M, Campos L, Bolzonella D, Borzacconi L, Guwy AJ, et al. Anaerobic Biodegradation, Activity and Inhibition (ABAII) Task Group Meeting 9th to 10th October 2006, in Prague. Lyngby: Technical University of Denmark, 2007.
13. Apha. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. Washington: American Public Health Association; 2005.
14. Haandel A, Lettinga G. Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate. Chichester: John Wiley & Sons, 1994.

## Inhibition effect of antibiotics ampicillin and gentamycin on the methanogenic activity of anaerobic biomass\*

**Hajar Saffari Khouzani<sup>1</sup>; Mahnaz Heidari<sup>1</sup>; Mohammad Mehdi Amin<sup>2</sup>;  
Bibi Fatemeh Nabavi<sup>3</sup>**

### Abstract

**Background:** The high percentage of consumed antibiotics by humans and animals is excreted with other residues from the body after its performance. By entering these compounds to the wastewater, they can disrupt the anaerobic treatment process. In this study, deterrent behavior of two ampicillin and gentamicin antibiotics is investigated on specific methanogenic activity (SMA) of anaerobic biomass.

**Methods:** A total of 18 SMA (Specific methanogenic Activity) tests were done using 120-mL vials in batch mode. In each vial 40%, 37% and 23% (v/v) of substrate, biomass and biogas were placed respectively. Each test lasted in range of 20 to 25 days. Produced methane was measured by gas replacement with 2N KOH solution as CO<sub>2</sub> absorbent. Three Volatile fatty acids (VFAs) including Acetic, propionic, and Butyric acids were used as co-substrate.

**Findings:** In this study, in the concentrations of 200, 500 and 1000 mg/L of ampicillin, the cumulative SMA were 25, 35, and 46 mL CH<sub>4</sub>/g VSS.d for propionic acid, 66, 101, and 154 mL CH<sub>4</sub>/g VSS.d for Acetic acid and 198, 140, and 245 mL CH<sub>4</sub>/g VSS.d for Butyric acid, respectively. Also, in the concentrations of 100, 500 and 1000 mg/L of gentamicin the cumulative SMA were 54, 72, and 71 mL CH<sub>4</sub>/g VSS.d for propionic acid, 141, 204, and 257 mL CH<sub>4</sub>/g VSS.d for Acetic acid, and 139, 74, and 85.5 mL CH<sub>4</sub>/g VSS.d for Butyric acid, respectively.

**Conclusion:** At the same concentrations, ampicillin has more deterrence effect on anaerobic biomass than gentamicin. On VFAs, the deterrence of propionic acid is greater than Acetic and Butyric acids.

**Key words:** Antibiotic, Ampicillin, Gentamicin, Volatile Fatty Acids, Specific Methanogenic Activity

\* This article was extracted from research project No. 287301 by Isfahan University of Medical Sciences.

1- BSc Student, Environment Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

2- Associate Professor, Environment Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran (Corresponding Author)

Email: amin@hlth.mui.ac.ir

3- MSc Student, Environment Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.