

تأثیر بازدارندگی آنتی بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر میزان متان‌سازی بیومس بی‌هوازی*

هاجر صفاری خوزانی^۱، مهناز حیدری^۱، محمد مهدی امین^۲، بی بی فاطمه نبوی^۳

چکیده

مقدمه: درصد بالایی از آنتی‌بیوتیک‌ها که توسط انسان‌ها و حیوان‌ها مصرف می‌شوند پس از تأثیرگذاری همراه سایر ضایعات از بدن دفع می‌شوند. این ترکیبات با ورود به فاضلاب، می‌توانند فرایند تصفیه بی‌هوازی را مختل کنند. در این مطالعه، رفتار بازدارندگی دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی (SMA: Specific Methanogenic Activity) مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: ۱۸ آزمون به روش ناپیوسته در ویال‌های شیشه‌ای ۱۲۰ mL صورت گرفتند که ۳۷ درصد از حجم هر ویال به بیومس، ۴۰ درصد سوستره و ۲۳ درصد به تجمع بیوگاز اختصاص یافت. هر تست ۲۵-۲۰ روز به طول انجامید. متان تولید شده به وسیله جایگزینی گاز با محلول ۲ نرمال KOH به عنوان جاذب CO₂ اندازه‌گیری شد. اسیدهای چرب مانند استیک، پروپیونیک، بوتیریک اسید به عنوان سوستره کمکی استفاده گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه در غلظت‌های ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/L آمپی‌سیلین، متان‌سازی ویژه تجمعی به ترتیب ۲۵، ۳۵ و ۴۶ برای پروپیونیک، ۶۶، ۱۰۱ و ۱۵۴ برای استیک و ۱۹۸، ۱۴۰ و ۲۴۵ mL/g VSS. d برای بوتیریک به دست آمد. همچنین در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/L جنتامایسین تولید متان‌سازی ویژه تجمعی به ترتیب ۵۴، ۷۲ و ۷۱ برای پروپیونیک، ۱۴۱، ۲۰۴ و ۲۵۷ برای استیک، ۱۳۹، ۷۴ و ۸۵/۵ mL/g VSS. d برای بوتیریک به دست آمد.

نتیجه‌گیری: آمپی‌سیلین در غلظت‌های مشابه نسبت به جنتامایسین اثر بازدارندگی بیشتری بر بیومس بی‌هوازی دارد. همچنین پروپیونیک نسبت به استیک و بوتیریک اسید بازدارنده‌تر است.

واژه‌های کلیدی: آنتی بیوتیک، آمپی سیلین، جنتامایسین، اسید چرب فرار، فعالیت متان‌سازی ویژه

نوع مقاله: تحقیقی

پدیرش مقاله: ۱۹/۱۰/۲۹

دریافت مقاله: ۱۹/۸/۲۷

مقدمه
انتشار ترکیبات دارویی و متابولیت حاصل از آن‌ها در محیط، موجب افزایش نگرانی در سال‌های اخیر شده‌اند (۱-۳).
ترکیبات دارویی از تصفیه‌ی مؤثر فاضلاب جلوگیری می‌کنند، بنابراین کاربرد وسیع این داروها منجر به افزایش

امروزه علاوه بر آفت‌کش‌ها، ترکیبات شیمیایی صنعتی، گزنوبیوتیک‌ها (ساخت دست بشر) و ترکیبات شیمیایی آلی،

Email: amin@hlth.mui.ac.ir

* این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی مصوب به شماره ۲۸۷۳۰۱ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

۱- دانشجوی کارشناسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. (نویسنده مسؤول)

کاهش 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 کلروتتراسایکلین، تایلوزین، اریترومایسین و کلرامفنیکل 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 (Volatile Fatty Acid یا VFAs) و Chemical Oxygen Demand یا COD محلول، 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 ۲۲ تا ۳۸ درصد کاهش می‌یابد و مشخص شد که وقتی pH کاهش یابد، بازدارندگی بیشتر خواهد شد (۹).

Demire و Yenigan اظهار داشتند که پروپیونیک اسید زمانی که در غلظت بالای ۹۵۱ mg/L 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). Yuanyuan.W. 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 بی‌هوازی کمک می‌کند و رشد آن‌ها را تسریع می‌بخشد و در نتیجه تبدیل VFAs به استیک اسید سرعت می‌یابد. در مقابل افزایش غلظت پروپیونیک اسید، از رشد باکتری‌های بی‌هوازی 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 باشند. باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها و متابولیت آن‌ها در لجن می‌تواند اثر منفی روی سیستم تصفیه مانند هاضم‌های بی‌هوازی و سیستم‌های نیتریفیکاسیون داشته باشد (۴).

در سیستم‌های بی‌هوازی، 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 تغییر در جمعیت میکروبی شود که می‌تواند روی کارایی تصفیه بی‌هوازی اثر منفی داشته باشد (۵).

Camprabi و همکاران، اثر بازدارندگی بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها از قبیل کلرامفنیکل، کلروتتراسایکلین، تایلوزین و اریترومایسین را در آزمایش‌های ناپیوسته (Batch) مطالعه کردند. در گستره غلظت آنتی‌بیوتیک‌های مطالعه شده، کلروتتراسایکلین، تایلوزین و اریترومایسین اثر بازدارندگی بر فعالیت متان‌سازی نداشته است، اما بر خلاف آن‌ها کلرامفنیکل 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 اریترومایسین را روی راکتور ناپیوسته‌ی متوالی بی‌هوازی (Anaerobic Sequencing Batch Reactor یا ASBR) بررسی کردند. آن‌ها بعد از پایدار شدن شرایط بهره‌برداری راکتور، غلظت کم (۱ mg/L) و متعاقب آن غلظت بالای اریترومایسین (۲۰۰ mg/L) را به راکتور اضافه نمودند. افزودن مقدار کم اریترومایسین 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 جنتامایسین در فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هواری (SMA) است، که بر راندمان تصفیه‌ی بیولوژیکی میکروارگانیسم‌های بی‌هواری در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری و همچنین صنایع داروسازی تأثیر می‌گذارد.

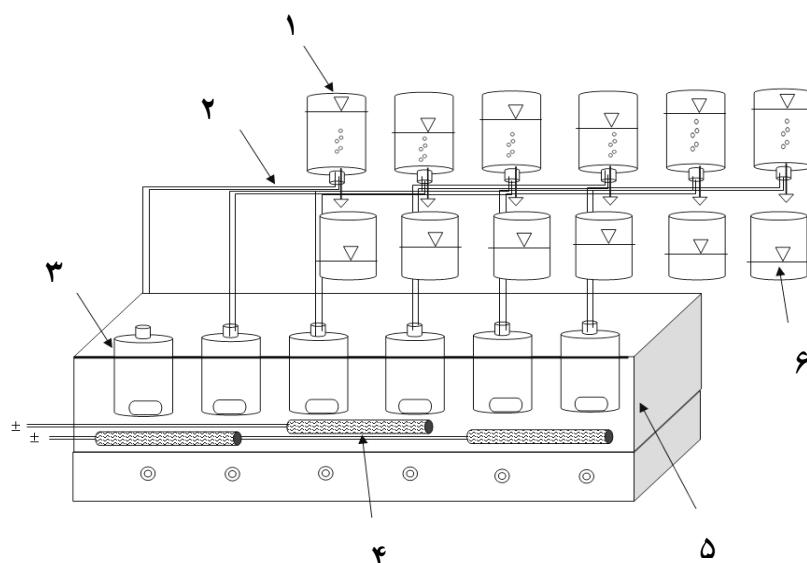
روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی مداخله‌ای بود و تعداد ۱۸ آزمون متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هواری، 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 ($P = 0/01 - 0/05$)، اما با غلظت‌های استیک اسید و اتانول رابطه خاصی ندارد ($P < 0/05$) (۹).

در فرایند هضم بی‌هواری، 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 (Specific Methanogenic Activity یا SMA)، آزمایشی مطمئن برای پایش تعداد و فعالیت باکتری‌های متان‌ساز در جریان تصفیه‌ی بیولوژیکی 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 بی‌هواری و ۴۸ میلی‌لیتر سوبستره پر گردید و ۲۷ میلی‌لیتر باقیمانده به تجمع بیوگاز اختصاص یافت. درب ویال‌ها با واشرهای لاستیکی و سپس با

مشخصات ویال‌ها و بندردهی

۴۵ میلی‌لیتر از حجم هر ویال (از چه ماده‌ای)، ۱۲۰

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

آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده:

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

آماده سازی نمونه‌ها

جهت آماده سازی هر ویال، غلظت مورد نظر از آنتی بیوتیک با سه اسید چرب به صورت جداگانه تهیه شد و با آب مقطر به حجم رسانده شد. غلظت‌های متفاوت اسید چرب و آنتی بیوتیک 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 میلی لیتر و غلظت اسید چرب فرار را بر حسب میلی گرم بر لیتر نشان می‌دهد.

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

میلی لیتر اسید چرب			COD اسید چرب، میلی گرم در لیتر	COD میلی گرم در لیتر	غلظت آنتی بیوتیک، میلی گرم در لیتر
استیک اسید	پروپیونیک اسید	بوتیریک اسید			آمپی سیلین
۲/۶۸	۳/۱۳	۴/۱۸	۴۶۷۹۰	۳۲۸	۲۰۰
۲/۴	۲/۸۱	۳/۷۵	۴۱۹۸۰	۸۰۲	۵۰۰
۱/۹۵	۲/۲۷	۳/۰۳	۳۳۹۶۰	۱۶۰۴	۱۰۰۰
					جنتامایسین
۲/۷۷	۳/۲۳	۴/۳۲	۴۸۳۶۰	۱۶۴	۱۰۰
۲/۴	۲/۸	۳/۷۳	۴۱۷۸۰	۸۲۲	۵۰۰
۱/۹۲	۲/۲۴	۲/۹۹	۳۳۵۶۰	۱۶۴۴	۱۰۰۰

نمودارهای ۵ تا ۷، تأثیر غلظت‌های یکسان آنتی بیوتیک‌های جنتامایسین و آمپی سیلین 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 آزما، 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 CO₂ و برم تیمول بلو به عنوان اندیکاتور، اندازه گیری شد. جهت کنترل آزمایش‌ها از نمونه‌های شاهد استفاده گردید (۱۱، ۱۳، ۱۴). ویال‌ها با استفاده از لجن هاضم‌های بی‌هوازی تصفیه‌خانه شهری، به ترتیب با مقادیر Mixed Liquid Suspended Solid یا MLSS و Mixed Liquid Volatile Suspended Solid یا MLVSS معادل ۵/۵۶ و ۵/۳۴ گرم در لیتر بذردهی گردید.

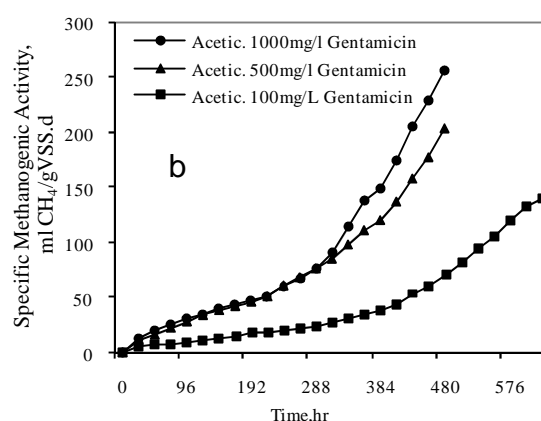
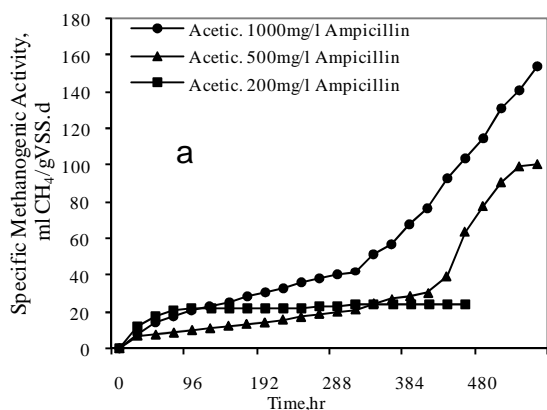
سوبستره

اسیدهای چرب فرار با زنجیره کوتاه (استیک اسید، بوتیریک اسید و پروپیونیک اسید) به عنوان سوبستره‌ی کمکی برای آنتی بیوتیک‌ها با غلظت‌های ارایه شده در جدول ۱ مورد استفاده قرار گرفتند. سوبستره اصلی متشکل از سوبستره کمکی، آنتی بیوتیک و نوترینت‌ها و عناصر کم مقدار (میکرو

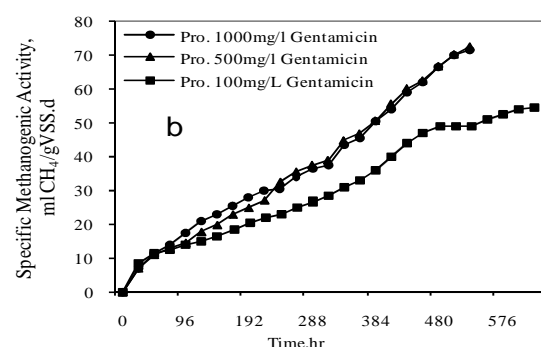
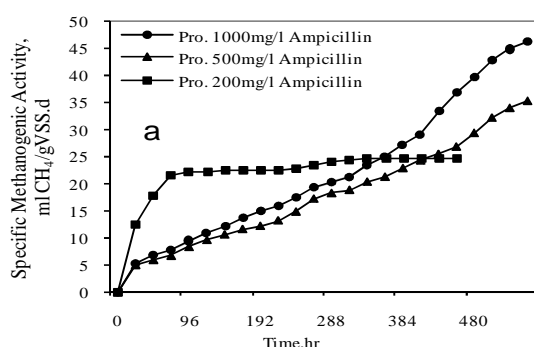
نمودارهای ۲ تا ۴ مربوط به تأثیر غلظت‌های متفاوت آنتی بیوتیک‌های جنتامایسین و آمپی سیلین، در مقابل یک نوع اسید چرب فرار بر روی میزان تولید متان تجمعی می‌باشند.

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

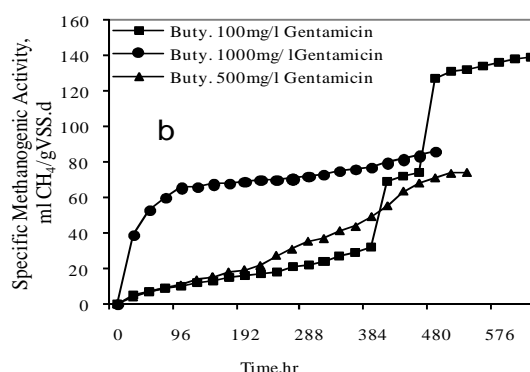
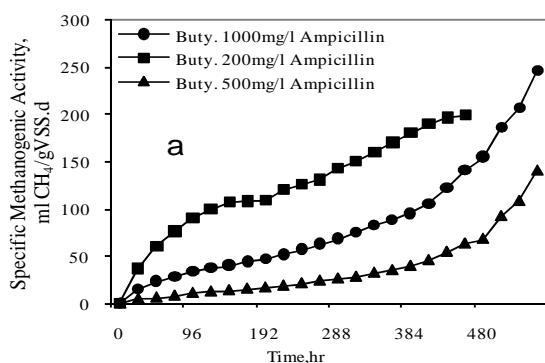
غلظت اسید چرب، میلی‌گرم در لیتر			تولید تجمعی متان، میلی‌لیتر			غلظت آنتی‌بیوتیک، میلی‌گرم در لیتر
استیک اسید	بوتیریک اسید	پروپیونیک اسید	استیک اسید	بوتیریک اسید	پروپیونیک اسید	
جنتامایسین						
۴۵۳۶۰	۲۶۵۹۲	۲۲۰۴۲	۱۴۱	۱۳۹	۵۴	۱۰۰
۳۹۱۶۵	۲۳۰۴۰	۲۷۷۷۶	۲۰۴	۷۴	۷۲	۵۰۰
۳۱۳۹۵	۱۸۴۲۲	۲۲۲۲۱	۲۵۷	۸۵/۵	۷۱	۱۰۰۰
آمپی‌سیلین						
۴۳۸۹۰	۲۵۷۲۸	۳۱۰۵۰	۶۶	۱۹۸	۲۵	۲۰۰
۳۹۳۷۵	۲۳۰۴۰	۲۷۸۷۵	۱۰۱	۱۴۰	۳۵	۵۰۰
۳۱۸۱۵	۱۸۷۲۰	۲۲۵۱۸	۱۵۴	۲۴۵	۴۶	۱۰۰۰



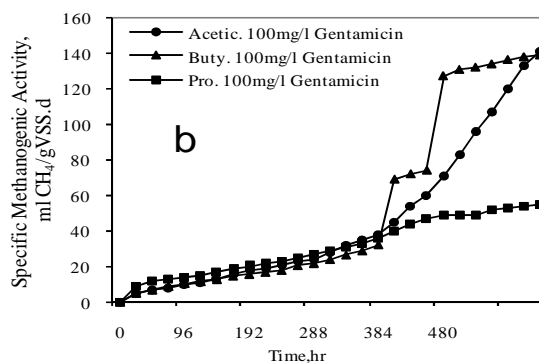
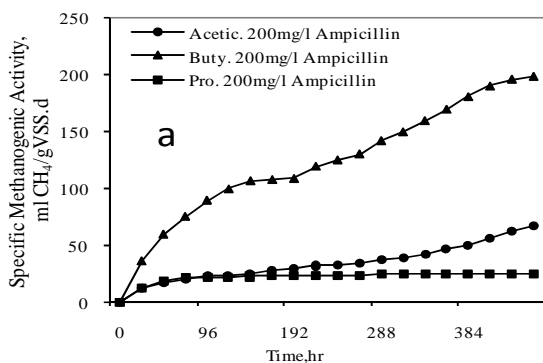
نمودار ۲: تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر روی میزان تجمعی متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی (a): غلظت‌های متفاوت آمپی‌سیلین بر روی استیک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۲۰۰ (■) میلی‌گرم در لیتر و (b) غلظت‌های متفاوت جنتامایسین بر روی استیک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۱۰۰ (■) میلی‌گرم در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



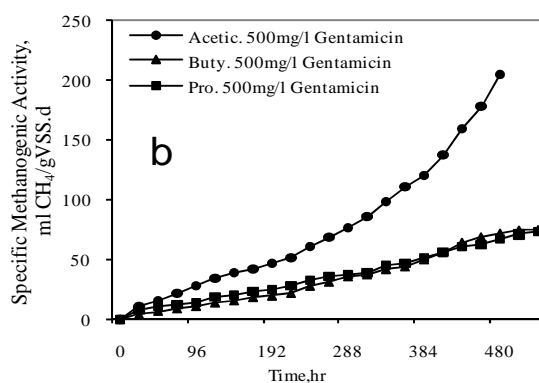
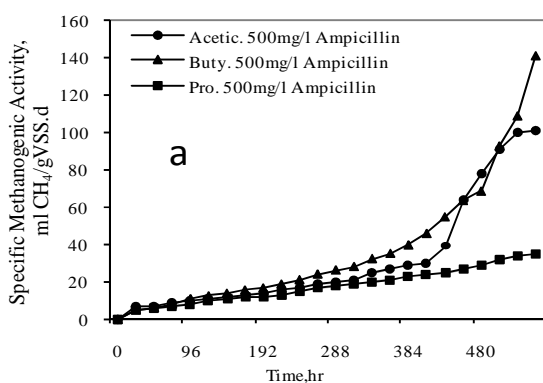
نمودار ۳: تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر روی میزان تجمعی متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی (الف) غلظت‌های متفاوت آمپی‌سیلین بر روی پروپیونیک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۲۰۰ (■) میلی‌گرم در لیتر و (ب) غلظت‌های متفاوت جنتامایسین بر روی پروپیونیک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۱۰۰ (■) میلی‌گرم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



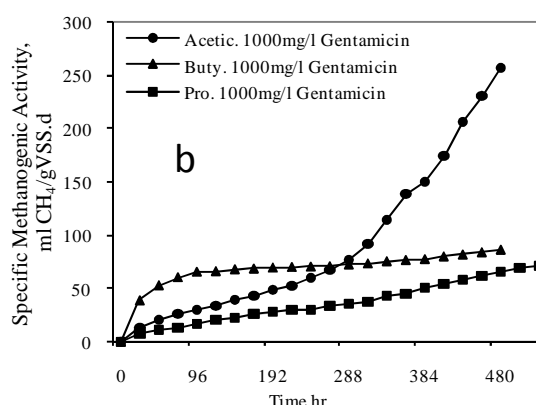
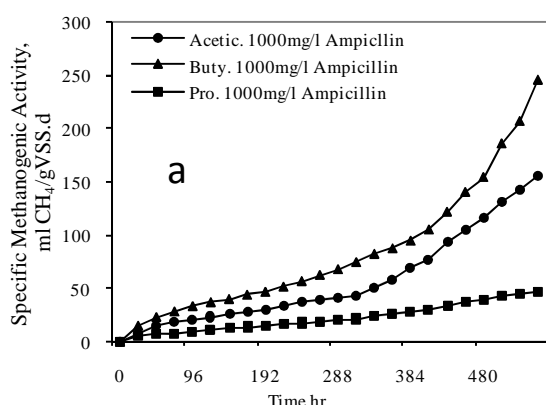
نمودار ۴: تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر روی میزان تجمعی متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی (الف) غلظت‌های متفاوت آمپی‌سیلین بر روی بوتیریک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۲۰۰ (■) میلی‌گرم در لیتر و (ب) غلظت‌های متفاوت جنتامایسین بر روی بوتیریک اسید شامل ۱۰۰۰ (●)، ۵۰۰ (▲) و ۱۰۰ (■) میلی‌گرم 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 بی‌هوازی (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 بی‌هوازی (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 آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر روی میزان تجمع‌ی متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی: (الف): غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر آمپی‌سیلین بر روی سه نوع اسید چرب شامل استیک اسید (●)، بوتیریک اسید (▲) و پروپیونیک اسید (■) و (ب) غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر جنتامایسین بر روی سه نوع اسید چرب شامل استیک اسید (●)، بوتیریک اسید (▲) و پروپیونیک اسید (■)

بحث

نسبت به استیک اسید و بوتیریک اسید بر روی فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی اثر بازدارندگی نشان می‌دهد. همچنین افزایش تدریجی، در متان تولیدی ویال‌ها در طی ۵۵۲ ساعت مشاهده می‌شود، که این پدیده نشان دهنده‌ی سازگار شدن باکتری‌ها با لجن بی‌هوازی و مقاومت آن‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد.

جدول ۲ محدوده غلظت آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده همراه با حداکثر متان تجمع‌ی تولیدی و غلظت اسید چرب مصرفی بر حسب میلی‌گرم در لیتر را نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود میزان متان تولیدی آمپی‌سیلین، در غلظت‌های مشابه در مقایسه با جنتامایسین کمتر می‌باشد که شاید بتوان این گونه نتیجه گرفت که آمپی‌سیلین از جنتامایسین بازدارنده‌تر است. علاوه بر این، متان تولیدی در پروپیونیک اسید نسبت به دو اسید مصرفی دیگر کمتر است که می‌توان نتیجه گرفت پروپیونیک اسید، اثر بازدارندگی بر متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی دارد. با توجه به جدول ۲ با افزایش غلظت جنتامایسین در دامنه ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، در مورد استیک اسید، میزان گاز تولیدی افزایش می‌یابد، ولی در مورد بوتیریک اسید و پروپیونیک اسید اثر منظمی مشاهده نگردید.

نمودارهای ۲ تا ۴ میزان متان تولیدی در برابر غلظت‌های متفاوت تزریقی آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر روی استیک اسید را نشان می‌دهند. همان‌طور که در نمودارهای (۲-الف)، (۳-الف) و (۴-الف) مشاهده می‌شود، افزایش غلظت آمپی‌سیلین در گستره ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش متان تولیدی در لجن بی‌هوازی شده است. این موضوع می‌تواند بیانگر آن باشد که با افزایش غلظت آمپی‌سیلین میزان اسید چرب مصرفی به خصوص اسید پروپیونیک کاهش یافته است و اثر بازدارندگی آن کم شده است. در مقابل همان‌طور که در نمودارهای (۲-ب)، (۳-ب) و (۴-ب) مشاهده می‌شود با افزایش غلظت جنتامایسین در گستره ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر روی استیک اسید در لجن بی‌هوازی مورد آزمایش، میزان متان تولیدی افزایش می‌یابد، 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 غلظت‌های یکسان تزریقی آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر روی سه نوع اسید چرب نشان می‌دهند. پروپیونیک اسید در هر غلظت از هر دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و جنتامایسین،

آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، دارای بازدارندگی بیشتری بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوازی 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 بی‌هوازی 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 گرانت 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 ۲۲ تا ۳۸ درصد کاهش می‌یابد و مشخص شد که وقتی pH کاهش یابد بازدارندگی بیشتر خواهد شد (۹).

یافته‌های این مطالعه نتایجی را که توسط Demire و Yenigan گرفته شده است، بیشتر تصدیق می‌کند. Demire و Yenigan اظهار داشتند که پروپیونیک اسید بر رشد باکتری‌های متان‌ساز زمانی که در غلظت بالای ۹۵۱ 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

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Arikian 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.
5. 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.
6. 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.
7. Massé DI, Lu D, Masse L, Droste RL. Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors. *Bioresour Technol* 2000; 75(3): 205-11.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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 (ABAI) 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 Khouzani¹; Mahnaz Heidari¹; Mohammad Mehdi Amin²;
Bibi Fatemeh Nabavi³**

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 CO₂ 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 CH₄/g VSS.d for propionic acid, 66, 101, and 154 CH₄/g VSS.d for Acetic acid and 198, 140, and 245 CH₄/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 CH₄/g VSS.d for propionic acid, 141, 204, and 257 mL CH₄/g VSS.d for Acetic acid, and 139, 74, and 85.5 mL CH₄/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.