

# شناسایی ترکیبات حد واسط اکسیداسیون و بررسی تغییرات حد سمیت طی فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری غیر همگن با کاتالیست نانوذرات اکسید منیزیم جهت حذف مترونیدازول از محلول آبی

مجید کرمانی<sup>۱</sup>، فرشاد بهرامی اصل<sup>۲</sup>، علی اسرافیلی<sup>۳</sup>، مهدی فرزادکیا<sup>۴</sup>، سهیلا سلحشور آرین<sup>۵</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** مترونیدازول (Metronidazole) یکی از پرمصرف‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های جهان علاوه بر خواص مختلف، دارای اثرات سوء قابل توجهی بر محیط زیست و جانداران می‌باشد. فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری نیز یکی از موفق‌ترین روش‌های حذف آنتی‌بیوتیک‌ها به شمار می‌رود، اما این فرایند نیز مانند سایر فرایندهای اکسیداسیون، محصولات جانبی تولید می‌کند که می‌تواند باعث سمیت پساب گردد.

**روش‌ها:** نمونه‌ای از راکتور بعد از ۱۰ دقیقه ازن‌زنی تحت شرایط بهینه برای فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری با کاتالیست نانوذرات اکسید منیزیم (MgO) برداشته شد و مواد حد واسط به وسیله دستگاه GC-MS مورد شناسایی قرار گرفتند. میزان معدنی‌سازی فرایند نیز با انجام آزمایش TOC (Total organic carbon) تعیین گردید و تغییرات سمیت با استفاده از زیست آزمون با دافنیا مگنا بررسی شد.

**یافته‌ها:** ۴ ترکیب به عنوان مواد حد واسط اکسیداسیون مورد شناسایی قرار گرفت و میزان معدنی‌سازی فرایند حدود ۹۳/۵ درصد به دست آمد. واحد سمیت ۴۸ ساعته نیز از ۱/۲۴ ورودی راکتور به ۰/۳۲ پساب فرایند کاهش یافت.

**نتیجه‌گیری:** میزان معدنی‌سازی بالایی در فرایند به دست آمد، اما این معدنی‌سازی کامل نبود و موجب تبدیل محلول ورودی از حالت سمی به اندکی سمی شد. در نتیجه می‌توان گفت که فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری با نانوذرات اکسید منیزیم جهت حذف مترونیدازول، از نظر میزان معدنی‌سازی و کاهش سمیت فرایندی قابل قبول می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** ازن‌زنی کاتالیزوری، نانوذرات اکسید منیزیم، مواد حد واسط اکسیداسیون، سمیت، دافنیا مگنا

**ارجاع:** کرمانی مجید، بهرامی اصل فرشاد، اسرافیلی علی، فرزادکیا مهدی، سلحشور آرین سهیلا. شناسایی ترکیبات حد واسط اکسیداسیون و بررسی تغییرات حد سمیت طی فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری غیر همگن با کاتالیست نانوذرات اکسید منیزیم جهت حذف مترونیدازول از محلول آبی. مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۵: ۱۲ (۲): ۱۴۵-۱۴۰

پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱/۲۳

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۸/۲۹

## مقدمه

آلاینده‌های دارویی منابع آبی در سال‌های اخیر به عنوان تهدیدی جدی مطرح شدند (۱) و اغلب در تصفیه خانه‌های فاضلاب به طور کامل قابل حذف نمی‌باشند (۲). آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان یکی از این آلاینده‌ها، بیشتر طی دوره درمان به صورت ناقص مورد متابولیسم قرار می‌گیرند و بخش قابل توجهی از آن‌ها به شکل فعال دارویی دفع می‌شوند که سبب ایجاد پایداری آنتی‌باکتریال می‌گردند (۳).

مترونیدازول (Metronidazole) به عنوان یکی از پرکاربردترین آنتی‌بیوتیک‌های جهان، جزء دسته نیترومیدازول است (۴) و با خاصیت آنتی‌باکتریالی و ضدالتهابی برای درمان بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌های بی‌هوازی و پروتوزوآها و نیز به عنوان افزودنی و ضدانگل در غذای مرغ و ماهی به کار می‌رود (۱). این آنتی‌بیوتیک ساختار حلقوی دارد (۲) و از اثرات آن بر

روی انسان می‌توان به پتانسیل سرطان‌زایی و جهش‌زایی (آسیب به DNA در لنفوسیت‌ها) اشاره نمود (۴).

این آنتی‌بیوتیک به دلیل قابلیت تجزیه‌پذیری کم و حلالیت بالا در آب، با روش‌های متداول از آب حذف نمی‌شود و در محیط زیست می‌گردد. بنابراین، می‌توان عوارض جانبی مختلفی در انسان و محیط زیست می‌گردد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که کنترل و حذف این آلاینده قبل از ورود به منابع آبی، امری ضروری می‌باشد. روش‌های متعددی برای حذف آنتی‌بیوتیک‌ها از محیط‌های آبی پیشنهاد شده است (۴-۶) که هر یک از آن‌ها در کنار مزایا، معایبی نیز به همراه دارند که استفاده از آن‌ها را محدود می‌سازد. روش بررسی شده در تحقیق حاضر، فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری با استفاده از نانوذرات اکسید منیزیم (MgO) بود که دلایل انتخاب این روش و نانوذرات اکسید منیزیم به عنوان کاتالیست، همراه با نتایج مربوط در مقاله‌ای به چاپ رسیده است (۷).

- ۱- دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
- ۲- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
- ۳- استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
- ۴- استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
- ۵- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

نویسنده مسؤول: فرشاد بهرامی اصل

Email: farshadfb@gmail.com

میزان TOC آن‌ها با استفاده از روش 5310-B کتاب استاندارد متد تعیین شد (۱۶، ۸) که اختلاف این دو نمونه بیانگر میزان معدنی‌سازی بود. در نهایت، روش زیست‌آزمونی به کمک دافنیا مگنا جهت بررسی تغییرات سمیت مورد استفاده قرار گرفت. دافنیای مورد نیاز از مرکز شیلات گرگان تهیه گردید. یکی از دافنیای جهت به دست آوردن دافنیاهایی با همانندی ژنتیکی به تنهایی در محیط کشت پرورش داده شد. پس از تولید مثل، نوزادان دافنیای ذکر شده به دلیل یکسان و همانند بودن به عنوان جمعیت مورد نظر در آزمایش سمیت مورد استفاده قرار گرفتند.

محیط کشت مورد نیاز با توجه به منابع معتبر آماده گردید (۱۸، ۱۷، ۹، ۸). رقت‌های مختلف (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد حجمی) از محلول ورودی (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر مترونیدازول) و پساب تصفیه شده به مقادیر ۱۰۰ میلی‌لیتر در بشرهای شیشه‌ای با استفاده از آب تهیه شد و جهت انجام آزمون سمیت تحت شرایط بهینه برای فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری مورد استفاده قرار گرفت. به هر یک از این ظروف ۱۰ عدد نوزاد دافنیا اضافه گردید. لازم به ذکر است که پساب فرایند جهت جداسازی نانوذرات اکسید منیزیم پس از ساتریفوژ شدن در ۱۲۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، با فیلترهای سررنگی هیدروفیلیک استریل شده با گاما (PTFE) و قطر روزه‌های ۰/۲۲ میکرومتر و ۲۵ میلی‌متر صاف شدند.

ازن در محیط، باقیمانده‌ای از خود بر جای نمی‌گذارد. با این وجود، نمونه‌ها جهت از بین بردن ازن باقیمانده احتمالی، مدت زمان کوتاهی بعد از اتمام فرایند تصفیه و قبل از انجام فرایند زیست‌آزمونی، در معرض هوا قرار گرفتند. در ادامه، بعد از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت نسبت به شمارش تعداد دافنیای زنده و مرده اقدام شد. باید توجه نمود که مرگ و میر نمونه‌های شاهد نباید بیشتر از ۱۰ درصد و کمتر از ۵ درصد باشد؛ یعنی ۱ موجود مریض در گروه ۱۰ تایی قرار گیرد (۸). داده‌ها با استفاده از آزمون Probit در نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و سپس جهت محاسبه  $LC_{50}$  زمان‌های مختلف اقدام گردید. واحد سمیت پساب (TU) نیز با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (۱۹).

$$TU = 100/LC_{50} \quad (1)$$

### یافته‌ها

مشخصات و نوع ترکیبات حد واسط تشکیل شده حاصل از تجزیه مترونیدازول تحت شرایط بهینه، بعد از ازن‌زنی به مدت زمان ۱۰ دقیقه در شکل ۱ و جدول ۱ ارائه گردید. نتایج آنالیز مقادیر TOC نشان داد که TOC برای ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر مترونیدازول (ورودی راکتور) و محلول خروجی راکتور (بعد از انجام آزمایش تحت شرایط بهینه) به ترتیب برابر با ۱۷/۰ و ۱/۱ میلی‌گرم بر لیتر بود؛ به عبارتی می‌توان گفت که تصفیه مترونیدازول با استفاده از فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری در حضور نانوذرات اکسید منیزیم، میزان معدنی‌سازی حدود ۹۳/۵ درصد داشت. نتایج مرگ دافنی‌ها در اثر مواجهه با محلول ورودی (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر مترونیدازول) و محلول خروجی، مقادیر  $LC_{50}$  و واحد سمیت (TU) آن در زمان‌های مواجهه ۲۴ و ۴۸ ساعته بر اساس مدل Probit در جداول ۲-۴ نشان داده شد.

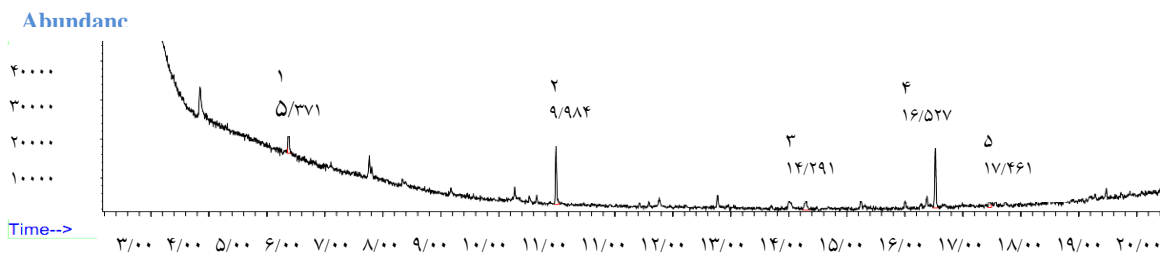
تمامی فرایندهای اکسیداسیون طی اکسید نمودن آلاینده، باعث شکستن آن و تولید حد واسطه‌هایی می‌شود که تعدادی از این ترکیبات حد واسط بسته به میزان معدنی‌سازی فرایند، در خروجی فرایند باقی می‌مانند (گاهی سمی‌تر از فرم اولیه) و یا به طور کامل حذف می‌شوند (معدنی‌سازی کامل). بنابراین، بهتر است که میزان معدنی‌سازی در فرایندهای اکسیداسیون تعیین گردد و در صورت عدم معدنی‌سازی کامل، مواد حد واسط و سمیت آن‌ها مورد شناسایی و ارزیابی قرار گیرد. یکی از روش‌هایی که برای بررسی سمیت پساب استفاده می‌شود، روش زیست‌آزمونی (Bioassay) می‌باشد (۱۰-۸). یکی از پرکاربردترین و معروف‌ترین موجودات به کار رفته در زیست‌آزمونی، دافنیا است که استفاده از آن سابقه‌ای طولانی در مطالعات زیست‌آزمونی دارد (۱۴-۱۱).

دافنیا مگنا بزرگ‌ترین نوع دافنیا می‌باشد که اندازه آن به ۵ میلی‌متر می‌رسد و تعداد زیادی از آن‌ها را می‌توان در یک فضای به نسبت کوچک پرورش داد. نوزادهای دافنیا مگنا ۰/۸ تا ۱ میلی‌متر طول دارند و با چشم غیر مسلح دیده می‌شوند. دافنیا مگنا در این مرحله از سیکل زندگی، اهمیت زیادی در آزمایش‌های زیست‌آزمونی دارد. گونه دافنیا مگنا دارای سیکل زندگی جالبی می‌باشد که ماده‌ها در شرایط مساعد، طی فواصل زمانی کوتاهی بکرزایی می‌نمایند که موجب پیدایش دافنیاهای جوانی می‌شوند که از نظر ژنتیکی همانند مادر خود می‌باشند. به این ترتیب، همانندی ژنتیکی که از مهم‌ترین عوامل اعتبار نتایج به دست آمده از آزمایش‌های زیست‌آزمونی است، در نوزادهایی وجود دارد که از یک جنس ماده متولد می‌شوند (۱۵، ۸). با توجه به مطالب گفته شده، هدف مطالعه حاضر بررسی ترکیبات حد واسط حاصل از اکسیداسیون مترونیدازول به وسیله فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری با کاتالیست نانوذرات اکسید منیزیم، تعیین میزان معدنی‌سازی و بررسی تغییرات سمیت در محلول‌های ورودی و خروجی راکتور بود.

### روش‌ها

مواد مورد نیاز، روش‌های بررسی شده و سایر شرایط فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری مترونیدازول در مقاله‌ای دیگر به طور کامل بیان شد (۷). فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری در شرایطی انجام گردید که غلظت اولیه مترونیدازول برابر با ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر، حجم راکتور ۵۰۰ میلی‌لیتر و دوز ازن برابر با ۰/۵ گرم بر ساعت بود. شرایط بهینه برای فرایند مشخص شد که شامل pH اولیه برابر با ۱۰، دوز کاتالیست (نانوذرات اکسید منیزیم) ۰/۲۵ گرم بر لیتر و زمان مورد نیاز برای حذف ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر مترونیدازول برابر با ۲۰ دقیقه بود.

دستگاه GC-MS جهت تعیین مواد حد واسط حاصل از اکسیداسیون مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ای از راکتور تحت شرایط بهینه بعد از ۱۰ دقیقه ازن‌زنی (اواسط فرایند) برداشته شد. عمل استخراج مایع-مایع این نمونه با استفاده از کلروفرم صورت گرفت و به دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent Technologies ۷۸۹۰-A ساخت کشور آمریکا مجهز به دکور جرمی با مدل ۵۹۷۵C تزریق گردید و ترکیبات حد واسط مطابق با دایره‌المعارف دستگاه مشخص شد. در گام بعدی، آزمایش کل کربن آلی (Total organic carbon یا TOC) جهت تعیین میزان معدنی‌سازی مورد استفاده قرار گرفت. بدین صورت که تحت شرایط بهینه یک نمونه از محلول ورودی (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر مترونیدازول) و یک نمونه از محلول خروجی راکتور (پساب فرایند) تهیه گردید و



شکل ۱. کروماتوگرام مواد حد واسط تشکیل شده بعد از ۱۰ دقیقه ازن زنی تحت شرایط بهینه

جدول ۱. مشخصات و نوع ترکیبات حد واسط اکسیداسیون

شماره پیک	نام ترکیب	فرمول شیمیایی	درصد اطمینان	جرم مولی (g/mol)
۱	Chloroform	CHCL <sub>3</sub>	۷۸	۱۱۹/۳۹
۲	2,4 dimethyl Oxazole	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO	۶۳	۹۷/۱۲
۳	3-acetyl-2-oxazolidinone	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	۷۹	۱۲۹/۱۱
۴	Dodecane	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	۹۴	۱۷۰/۳۳
۵	1-Eicosanol	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O	۵۲	۲۹۸/۵۵

جدول ۳. نتایج مرگ دافنیا مگنا در رقت‌های مختلف پساب فرایند ازن زنی کاتالیزوری (درصد)

رقت پساب (درصد حجمی)	درصد مرگ بعد از زمان تماس	
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
۰	۰	۰
۰/۵	۰	۰
۱/۰	۰	۰
۲/۰	۰	۰
۵/۰	۰	۰
۱۰/۰	۰	۰
۲۰/۰	۰	۰
۳۰/۰	۰	۰
۵۰/۰	۰	۰
۷۵/۰	۱۰	۰
۱۰۰	۳۰	۲۰

جدول ۲. نتایج مرگ دافنیا مگنا در رقت‌های مختلف مترونیدازول قبل از فرایند ازن زنی کاتالیزوری (درصد)

رقت پساب (درصد حجمی)	درصد مرگ بعد از زمان تماس	
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
۰	۱۰	۱۰
۰/۵	۰	۰
۱/۰	۰	۰
۲/۰	۰	۰
۵/۰	۰	۰
۱۰/۰	۱۰	۰
۲۰/۰	۱۰	۱۰
۳۰/۰	۲۰	۱۰
۵۰/۰	۳۰	۳۰
۷۵/۰	۶۰	۵۰
۱۰۰	۸۰	۶۰

اثر نانوذرات اکسید منیزیم بر سلول‌های اپیتلیال آلوئولار (۲۲)، سلول‌های اندوتلیال عروق کوچک قلبی (۲۳)، سلول‌های عصبی و فیروبللاست (۲۴) و سلول‌های تک هسته‌ای خون (۲۵) مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین، در تحقیق حاضر جهت جلوگیری از خواص آنتی‌باکتریال این نانوذرات، از تماس مستقیم آن‌ها با دافنیا جلوگیری گردید و نانوذرات با استفاده از فیلتراسیون و سانتریفیوژ از پساب فرایند جدا شد. این نانوذرات جزء فلزات قلیایی خاکی می‌باشند که pH محیط را افزایش می‌دهند. بنابراین، اثر غیر مستقیم آن‌ها با وجود حذف خود نانوذرات از پساب، یعنی pH بالا همچنان باقی می‌ماند که این امر نیز جزء طبیعت فرایند بررسی شد و غیر قابل اجتناب می‌باشد.

### بحث

نانوذره اکسید منیزیم که در تحقیق حاضر به عنوان کاتالیست به همراه ازن مورد استفاده قرار گرفت، یکی از نانوذرات کاربردی در صنعت و پزشکی به شمار می‌آید. این نانوذره برای ساخت مواد عایق و مقاوم در برابر دمای بالا، ماده افزودنی در سوخت نفت، کامپوزیت شیشه‌ای مقاوم برابر حرارت در پانل‌های صفحه نمایش، تمیزسازی خطوط لوله‌های نفت، جلوگیری از تشکیل لجن در مخازن و حفاظت دیگ‌های بخار در برابر خوردگی کاربرد دارد. مطالعات نشان دادند که این نانوذر به تنهایی یا به صورت توأم با دیگر گروه‌های ضد میکروبی، به عنوان یک عامل بالقوه مؤثر ضدباکتری جهت افزایش ایمنی مواد غذایی می‌تواند استفاده شود (۲۰، ۲۱).

جدول ۴. تغییرات سمیت در ورودی و خروجی سیستم ازن‌زنی کاتالیزوری

Pearson Goodness of fit Test			حدود اطمینان ۹۵ درصد		LC <sub>۵۰</sub>	زمان h	مترونیدازول	نمونه آزمایش شده
٪	df	P	حد بالا	حد پایین	(V:V)		باقی‌مانده mg/l	
۹۸/۲۳	۸	< ۰/۰۱	۰/۸۶	۵۱/۳۷	۱۱۵/۷۳	۲۴	۴۰	ورودی راکتور
۱۴۳/۶۹	۸		۱/۲۴	۳۲/۱۴	۸۰/۷۶	۴۸	۴۰	ورودی راکتور
۴۸/۳۹	۸		۰/۲۷	-	۳۷۰/۳۶	۲۴	N.D*	خروجی راکتور
۵۸/۰۵	۸		۰/۳۲	-	۳۱۴/۸۷	۴۸	N.D	خروجی راکتور

\* Non detectable

جدول ۵: طبقه‌بندی میزان سمیت ترکیبات سمی بر اساس واحد سمیت ۴۸ ساعته

واحد سمیت (TU)			
نوع سمیت	کمتر از ۱	۱ تا ۱۰	۱۱ تا ۱۰۰
	غیر سمی	اندکی سمی	سمی
		بسیار سمی	بیشتر از ۱۰۰ بی‌نهایت سمی

۳۱۵ ml افزایش پیدا کرد. به همین ترتیب، واحد سمیت ۲۴ ساعته از ۰/۸۶ به ۰/۲۷ و واحد سمیت ۴۸ ساعته از ۱/۲۴ به ۰/۳۲ رسید. بنابراین، می‌توان گفت که با افزایش زمان تماس، میزان سمیت افزایش یافت؛ چرا که LC<sub>۵۰</sub> کاهش نشان داد.

میزان سمیت بر اساس واحد سمیت ۴۸ ساعته (TU-۴۸ h) طبق طبقه‌بندی انجام شده به صورت جدول ۵ می‌باشد (۲۷، ۲۸). بنابراین، محلول ورودی فرایند سمی بود و بعد از تصفیه به اندکی سمی تبدیل شد. Chifan طی تحقیقی بیان نمود که مترونیدازول یک داروی غیر سمی نیست و یک همبستگی بین دوز مصرف، دوره درمان و بروز شدید کلنیکی همراه با سمیت وجود دارد که باید در مطالعات بیشتر مورد بررسی قرار گیرد (۲۹). می‌توان به بررسی سمیت سولفامتازین (Sulfamethazine) در مطالعات انجام شده با استفاده از دافنیا مگنا نیز اشاره نمود. آن‌ها نشان دادند که سولفامتازین در غلظت‌های محیطی موجود برای خانواده سخت پوستان سمی نمی‌باشد (۳۰).

در نهایت، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری با استفاده از کاتالیست نانوذرات اکسید منیزیم قادر است تا حد قابل قبولی مترونیدازول را معدنی نماید و تخلیه پساب‌های حاوی این آنتی‌بیوتیک را به محیط زیست کم خطر و یا حتی بی‌خطر تبدیل کند.

### تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران در سال ۱۳۹۲ به کد ۲۱۵۲۳ می‌باشد که نویسندگان نهایت تقدیر و تشکر را از حمایت‌های آن دانشگاه دارند.

### References

- Fang Z, Chen J, Qiu X, Qiu X, Cheng W, Zhu L. Effective removal of antibiotic metronidazole from water by nanoscale zero-valent iron particles. *Desalination* 2011; 268(13): 60-7.
- Shemer H, Kunukcu YK, Linden KG. Degradation of the pharmaceutical metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. *Chemosphere* 2006; 63(2): 269-76.
- Sui M, Xing S, Sheng L, Huang S, Guo H. Heterogeneous catalytic ozonation of ciprofloxacin in water with carbon nanotube supported manganese oxides as catalyst. *J Hazard Mater* 2012; 227-228: 227-36.
- Bendesky A, Menendez D, Ostrosky-Wegman P. Is metronidazole carcinogenic? *Mutat Res* 2002; 511(2): 133-44.
- Wang H, Zhang G, Gao Y. Photocatalytic degradation of metronidazole in aqueous solution by niobate K6Nb10.8O30. *Wuhan da xue chu ban she*, 2010; 15(4): 345-9.

کروماتوگرام مربوط به شناسایی ترکیبات حد واسط حاصل از اکسیداسیون مترونیدازول تحت فرایند ازن‌زنی کاتالیزوری در حضور نانوذرات اکسید منیزیم در شکل ۱ ارائه گردید. طبق این کروماتوگرام و حافظه دستگاه GC-MS، ۵ ترکیب مورد شناسایی قرار گرفت. باید توجه نمود که پیک شماره ۱، ترکیب حد واسط نیست و حلالی می‌باشد که جهت استخراج نمونه قبل از تزریق به دستگاه استفاده شد. بنابراین، می‌توان گفت که ۴ ترکیب حد واسط طی اکسیداسیون مترونیدازول در این فرایند تشکیل گردید. Sanchez-Polo و همکاران طی تحقیقی به بررسی ترکیبات حد واسط حاصل از ازن‌زنی ترکیبات دارویی گروه نیتروایمیدازول پرداختند. آن‌ها ترکیب حد واسط 3-acetyl-2-oxazolidinone را در بررسی مترونیدازول شناسایی نمودند (۲۶).

برای پی بردن به این موضوع که چه مقدار از این ترکیبات حد واسط از بین رفته است و چه مقدار در خروجی فرایند باقی مانده است، از آزمایش TOC استفاده شد. این آزمایش میزان معدنی‌سازی را مشخص کرد. همان طور که در مطالب فوق اشاره گردید، میزان معدنی‌سازی فرایند حدود ۹۳/۵ درصد به دست آمد که عدد قابل قبولی می‌باشد. با این وجود، حدود ۶/۵ درصد از مواد به طور کامل معدنی نشدند و در خروجی راکتور می‌توانستند مشکل ساز گردند. با توجه به مقدار پایین این مواد در خروجی راکتور و پرهزینه بودن روش‌های تغلیظ موجود، ترکیبات حد واسط باقی‌مانده (به بیانی دیگر محصولات جانبی) در بررسی پساب خروجی راکتور شناسایی نشدند؛ به عبارت دیگر، پیک قابل استنادی در کروماتوگرام دستگاه GC-MS ملاحظه نگردید.

همان طور که در جدول ۴ قابل مشاهده است، سمیت محلول ورودی بعد از تصفیه کاهش یافت؛ به عبارت دیگر، LC<sub>۵۰</sub> (۲۴ ساعته) از ۱۱۶ ml / ۱۰۰ ml به ۳۷۰ ml / ۱۰۰ ml و LC<sub>۵۰</sub> (۴۸ ساعته) از ۸۱ ml / ۱۰۰ ml به ۱۰۰ ml / ۱۰۰ ml

6. Goncalves AG, Orfao JJ, Pereira MF. Catalytic ozonation of sulphamethoxazole in the presence of carbon materials: catalytic performance and reaction pathways. *J Hazard Mater* 2012; 239-240: 167-74.
7. Kermani M, Bahrami Asl F, Farzadkia M, Esrafil A, Salahshur Arian S, Arfaeinia H, et al. Degradation efficiency and kinetic study of metronidazole by catalytic ozonation process in presence of MGO nanoparticles. *Urmia Med J* 2013; 24(10): 839-50. [In Persian].
8. Eaton A, Franson M. Standard methods for the examination of water and wastewater [Online]. [cited 1999]; Available from: URL: [http://www.mwa.co.th/download/file\\_upload/SMWW\\_1000-3000.pdf](http://www.mwa.co.th/download/file_upload/SMWW_1000-3000.pdf)
9. Asadi M, Mahvi AH. Bioassay of treated color wastewater with Electro Fenton by *Daphnia Magna*. *Toloo e Behdasht* 2014; 12(4): 40-50.
10. Momeniha F, Naddafi K, Hassanvand MS, Nabizadeh R, Heidari M. Bioassay of Zinc Oxide Nanoparticles Exposed-to Reactive Blue 29 by Using *Daphnia Magna*. *J Health Syst Res* 2012; 8(2): 267-74.
11. Mahvi AH, Ghanbarian M, Naddafi K, Mahmoodi NM. Investigation of the toxicity reduction in reactive dye solution and real textile wastewater by nanophotocatalysis process using *daphnia magna*. *J Color Sci Tech* 2007; 1(2): 91-6. [In Persian].
12. Movahedian H, Bina B, Asghari GH. Toxicity evaluation of wastewater treatment plant effluents using *daphnia magna*. *Iran J Environ Health Sci Eng* 2005; 2(2): 1-4.
13. Barros LS, Amaral LA, Lorenzon CS. *Daphnia magna*-bio-indicator of pollution from poultry and pig abattoir effluents. *Rev Bras Saude Prod Ann* 2007; 8(3): 217-28.
14. Maleki A, Mahvi AH, Naddafi K. Bioassay of phenol and its intermediate products using *daphnia magna*. *Water and Wastewater* 2008; 19(2): 19-24. [In Persian].
15. Martins J, Oliva TL, Vasconcelos V. Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. *Environ Int* 2007; 33(3): 414-25.
16. Greenberg AE, Clesceri LS, Eaton AD, American public health association, water environment federation. standard methods for the examination of water and wastewater. 18<sup>th</sup> ed. Washington, DC: American Public Health Association; 1992.
17. Weber CI. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency; 1993.
18. Peltier W. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to aquatic organisms. Washington, DC: Environmental Protection Agency; 1978.
19. Guerra R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. *Chemosphere* 2001; 44(8): 1737-47.
20. Park JY, Lee YJ, Jun KW, Yim DJ. Chemical synthesis and characterization of highly oil dispersed MgO nanoparticles. *Ind Eng Chem* 2016; 12(6): 882-7.
21. Shi L, Xing L, Hou B, Ge H, Guo X, Tang Z. Inorganic nano mental oxides used as anti-microorganism agents for pathogen control [Online]. [cited 2010]; Available from: URL: <http://www.formatex.info/microbiology2/361-368.pdf>
22. Lu S, Duffin R, Poland C, Daly P, Murphy F, Drost E, et al. Efficacy of simple short-term in vitro assays for predicting the potential of metal oxide nanoparticles to cause pulmonary inflammation. *Environ Health Perspect* 2009; 117(2): 241-7.
23. Sun J, Wang S, Zhao D, Hun FH, Weng L, Liu H. Cytotoxicity, permeability, and inflammation of metal oxide nanoparticles in human cardiac microvascular endothelial cells: cytotoxicity, permeability, and inflammation of metal oxide nanoparticles. *Cell Biol Toxicol* 2011; 27(5): 333-42.
24. Lai JC, Lai MB, Jandhyam S, Dukhande VV, Bhushan A, Daniels CK, et al. Exposure to titanium dioxide and other metallic oxide nanoparticles induces cytotoxicity on human neural cells and fibroblasts. *Int J Nanomedicine* 2008; 3(4): 533-45.
25. Barkhordari A, Barzegar S, Hekmati Moghaddam H, Jebali A, Fallahzadeh H. The cytotoxic effects of MgO nanoparticles on human blood mononuclear cells. *Occup Med* 2012; 3(4): 14-9.
26. Sanchez-Polo M, Rivera-Utrilla J, Prados-Joya G, Ferro-Garcia MA, Bautista-Toledo I. Removal of pharmaceutical compounds, nitroimidazoles, from waters by using the ozone/carbon system. *Water Res* 2008; 42(15): 4163-71.
27. Manusadzianas L, Balkekyt L, Sadauskas K, Blinova I, Pollumaa L, Kahru A. Ecotoxicological study of Lithuanian and Estonian wastewaters: selection of the biotests, and correspondence between toxicity and chemical-based indices. *Aquatic Toxicology* 2003; 63(1): 27-41.
28. Gunesf EH, Gunes Y, Talinie I. 10<sup>th</sup> IWA international specialized conference on diffuse pollution and sustainable basin management toxicity evaluation of industrial and land base sources in a river basin. *Desalination* 2008; 226(1): 348-56.
29. Chifan M. Consideration of metronidazole toxicity on development and reproduction. *Clujul Medical* 2010; 83(4): 596.
30. De Liguoro M, Fioretto B, Poltronieri C, Gallina G. The toxicity of sulfamethazine to *Daphnia magna* and its additivity to other veterinary sulfonamides and trimethoprim. *Chemosphere* 2009; 75(11): 1519-24.

## Identification of Oxidation Intermediates and Investigation of Toxicity Changes in Heterogenic Catalytic Ozonation Process in the Presence of MgO Nanoparticles for Metronidazole Removal from Aqueous Solution

Majid Kermani<sup>1</sup>, Farshad Bahrami-Asl<sup>2</sup>, Ali Esrafil<sup>3</sup>, Mahdi Farzadkia<sup>4</sup>, Soheila Salahshour-Arian<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Metronidazole, as one of the most widely used antibiotics in the world, in addition to various benefits, has significant adverse effects on the environment and animals. The catalytic ozonation process is one of the most successful methods for antibiotics removal. However, it should be noted that this process, like other oxidation processes, has some byproducts that can be toxic in the process effluent.

**Methods:** Under optimum conditions for catalytic ozonation in the presence of MgO nanoparticles, 1 sample was obtained from a reactor after 10 minutes of ozonation. The sample was analyzed by gas chromatography–mass spectrometry (GS-MS) and the intermediates were identified. The mineralization rate was determined using TOC analysis and the toxicity changes were calculated through bioassay with *Daphnia magna*.

**Findings:** In the present study, 4 compositions were identified as oxidation intermediates. The mineralization rate was about 93.5% and the 48-hour toxicity unit decreased from 1.24 in the influent to 0.32 in the effluent.

**Conclusion:** A high mineralization rate was obtained in the process. Nevertheless, it was not complete, and thus, the influent solution was converted from toxic to slightly toxic. In conclusion, we can say that catalytic ozonation process in the presence of MgO nanoparticles can be acceptable for metronidazole removal.

**Keywords:** Catalytic ozonation, *Daphnia magna*, MgO nanoparticles, Oxidation intermediates

**Citation:** Kermani M, Bahrami-Asl F, Esrafil A, Farzadkia M, Salahshour-Arian S. **Identification of Oxidation Intermediates and Investigation of Toxicity Changes in Heterogenic Catalytic Ozonation Process in the Presence of MgO Nanoparticles for Metronidazole Removal from Aqueous Solution.** J Health Syst Res 2016; 12(2): 140-5.

1- Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran  
2- PhD Candidate, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran  
3- Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran  
4- Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran  
5- Student Research Committee, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran  
**Corresponding Author:** Farshad Bahrami-Asl, Email: farshadfba@gmail.com