

## تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هواری\*

حسن هاشمی<sup>۱</sup>، محمد مهدی امین<sup>۲</sup>، اصغر ابراهیمی<sup>۳</sup>، افشین ابراهیمی<sup>۴</sup>

### چکیده

**مقدمه:** آنتی‌بیوتیک‌ها پس از تأثیر بر بدن میزبان، از بدن دفع شده و همراه سایر زائدات وارد فاضلاب‌ها می‌شوند. آنتی‌بیوتیک‌ها مانع تصفیه بیولوژیکی فاضلاب‌ها شده که خطراتی را در محیط زیست و به تبع آن برای سلامتی انسان‌ها به دنبال دارند. هدف از این پژوهش بررسی اثرات چند آنتی‌بیوتیک بر مصرف انسانی و دامی بر فرایند تصفیه بی‌هواری فاضلاب می‌باشد.

**روش‌ها:** به منظور ارزیابی میزان بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌ها بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هواری به روش Batch، درون ویال‌های ۹۰ میلی‌لیتری، ۱۵ درصد حجمی بیومس و ۷۰ میلی‌لیتر سوبسترا ریخته شد و غلظت‌های مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین، اکسی‌تراسایکلین و تایلوزین به آن اضافه گردید. دمای مطلوب ۳۵ درجه سانتی‌گراد در ویال‌ها توسط حمام آب گرم تأمین شد و برای اختلاط کامل محتویات ویال میکسر مغناطیسی استفاده شد. متان تولیدی از طریق جایگزینی گاز با محلول ۲KOH نرمال به عنوان جاذب CO<sub>2</sub> و برم تیمول بلو به عنوان اندیکاتور اندازه‌گیری می‌شد. مدت هر batch ۱۰ روز طول می‌کشید. آزمایش COD قبل و بعد از هر تست بر روی نمونه‌ها انجام می‌گرفت.

**یافته‌ها:** بر اساس یافته‌های حاصل از هر batch، اکسی‌تراسایکلین، تایلوزین و آموکسی‌سیلین به ترتیب در غلظت‌های ۸۰۰۰، ۹۰۰۰ و ۹۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر فعالیت متان‌سازی بیومس بی‌هواری کاملاً نقش بازدارندگی دارند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک، حجم گاز متان تولیدی به ازای واحد وزن بیومس کمتر می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** آنتی‌بیوتیک، اکسی‌تراسایکلین، آموکسی‌سیلین، تایلوزین، فعالیت متان‌سازی ویژه.

### نوع مقاله: تحقیقی

دریافت مقاله: ۱۹/۷/۱۷

پذیرش مقاله: ۱۹/۷/۳۰

### مقدمه

دارو توسط بدن انسان یا دام بقیه از طریق فضولات (به طور معمول ادرار) وارد محیط زیست می‌شوند. کاربرد وسیع این داروها باعث مخاطرات زیستی فراوانی می‌شود. زیرا علاوه بر حضور مستقیم آن‌ها در محیط مانع تصفیه مؤثر فاضلاب‌ها نیز می‌شوند (۱).

در پساب صنایع داروسازی با توجه به نوع داروهای تولیدی، آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای متفاوتی یافت می‌شوند. این آنتی‌بیوتیک‌ها نه تنها در پساب داروسازی بلکه در سایر پساب‌ها نیز ممکن است وجود داشته باشند. بدین صورت که با کاربرد این آنتی‌بیوتیک‌ها توسط انسان‌ها و یا استفاده از آن‌ها در دامداری‌ها علیه بیماری‌ها، پس از جذب قسمتی از

\*این مقاله حاصل طرح پژوهشی مصوب به شماره ۲۸۴۰۳۰ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

۱- عضو هیأت علمی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.  
۲- استادیار، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران (نویسنده مسؤل)

Email: amin@hlth.mui.ac.ir

۳- عضو هیأت علمی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران.  
۴- استادیار، مرکز تحقیقات محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

در RNA می‌شوند. حساسیت باکتری‌های گرم مثبت در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر از باکتری‌های گرم منفی است (۶). بر طبق مطالعات اخیر انواع مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌ها در آب‌های سطحی و زیرزمینی در بسیاری از کشورها یافت شده‌اند. این آنتی‌بیوتیک‌ها تمایلی به جذب توسط بافت خاک نداشته و با عبور از لایه‌های زمین وارد آب‌های زیرزمینی می‌شوند. بنابراین ضروری است که آنتی‌بیوتیک‌ها از فاضلاب‌های داروسازی، شهری، پساب‌های کشاورزی و صنعتی حذف شوند. طبق گزارشات سازمان زمین‌شناسی آمریکا (USGS) حضور آنتی‌بیوتیک‌ها در آب‌های سطحی بیانگر آلودگی این منابع با فاضلاب‌هاست که تأثیرات بالقوه‌ای را در آب‌های سطحی ایجاد می‌کنند. بر طبق این مطالعات آنتی‌بیوتیک‌ها در غلظت  $1/7 \mu\text{g/l}$  در آب‌های سطحی اندازه‌گیری شده‌اند (۷).

آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله داروهای ضد میکروبی هستند که غالباً در پزشکی برای مقابله با انواع عفونت‌ها تجویز می‌شوند. با مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها بصورت خوراکی یا تزریقی پس از تأثیر بر بدن به کمک سیستم دفع از بدن خارج می‌شود. بسته به نوع آنتی‌بیوتیک مصرفی مقدار جذب شده توسط بدن و نیز مقدار اضافی دفع شده از بدن متفاوت خواهد بود (۸). ورود آنتی‌بیوتیک‌ها و متابولیت‌های آن به محیط زیست و راه‌یابی آن به منابع آبی باعث اثرات سمی بر موجودات می‌شوند. تتراسایکلین‌ها، آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیفی هستند که ساخت پروتئین را مهار می‌کنند، آن‌ها برای بسیاری از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت از جمله بی‌هوازی‌ها، ریکتیزیا، کلامیدیا و مایکوپلاسماها باکتریواستاتیک هستند و بر ضد برخی پروتوزوئرها نظیر آمیب‌ها فعالیت دارند (۹). به علت تفاوت در خصوصیات جذب، توزیع و دفع هر کدام از این داروها اثربخشی آن‌ها نیز متفاوتند. در داخل سلول، تتراسایکلین بطور برگشت‌پذیر به زیر واحد  $50\text{S}$  ریبوزوم باکتری اتصال می‌یابد و اتصال آمینواستیل tRNA را به جایگاه پذیرنده و مجموعه ریبوزوم mRNA متوقف می‌نماید. این امر از اضافه شدن آمینواسید به پپتید در حال بزرگ شدن

حضور آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای ضد میکروبی سنتزی در فاضلاب داروسازی می‌تواند بر تصفیه بیولوژیکی این گونه فاضلاب‌ها و همچنین اجتماع میکروبی بیوراکتورها تأثیر داشته باشند. اما تماس دراز مدت با این داروهای ضد میکروبی باعث مقاومت میکروارگانیسم‌های مؤثر در تجزیه بیولوژیکی شده و کارایی فرایندهای تصفیه بیولوژیکی فاضلاب داروسازی بهتر می‌شود (۲).

در جریان این مطالعه بیشتر بر ارزیابی اثرات ۳ نوع آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین، تایلوزین و آموکسی‌سیلین که نسبتاً کاربرد بیشتری در مقایسه با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها در انسان و همچنین در دام‌ها دارد توجه شده است. در این مطالعه اثرات آنتی‌بیوتیک‌های مذکور بر تصفیه بی‌هوازی پساب‌های داروسازی و همچنین تأثیرات آن‌ها بر فعالیت متان‌سازها یا جرم زیستی در راکتورها مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند (۳). فعالیت متان‌سازی ویژه SMA (Specific Methanogenic Activity) آزمایشی مطمئن برای پایش تغییرات در تعداد و فعالیت باکتری‌های متان‌ساز در جریان تصفیه بیولوژیکی پساب‌های داروسازی در بیوراکتورها می‌باشد. در سیستم تصفیه بیولوژیکی بی‌هوازی سهم عمده تجزیه مواد آلی بر عهده باکتری‌های متان‌ساز می‌باشد که در حین عمل تجزیه مواد آلی گاز متان ( $\text{CH}_4$ ) تولید می‌کنند (۴).

با ورود آنتی‌بیوتیک‌ها به سیستم تصفیه در فعالیت این باکتری‌ها اختلال ایجاد می‌شود که با اندازه‌گیری میزان بیوگاز ( $\text{CH}_4$ ) تولیدی توسط متان‌سازها می‌توان تأثیرات آنتی‌بیوتیک‌ها بر فعالیت و تعداد آن‌ها را بررسی نمود. در پساب صنایع داروسازی ممکن است فنل نیز وجود داشته باشد که از مواد مقاوم به تجزیه بیولوژیکی است و آژانس حفاظت محیط زیست آن را در لیست آلاینده‌های مقدم قرار داده است (۵).

آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه ساختار حلقوی داشته و با تأثیر بر RNA باکتری‌ها از فعالیت آن‌ها جلوگیری می‌کنند. مکانیسم بازدارندگی این ترکیبات به این صورت است که این آنتی‌بیوتیک‌ها باعث متیلاسیون (افزودن  $\text{CH}_3$ ) ریبوزوم 235

مگنت‌هایی قرار داده شده که با چرخش این مگنت‌ها امکان اختلاط کامل لجن با سوبستره و آنتی‌بیوتیک‌ها فراهم می‌شد. حجم معینی از لجن برداشت شده از تصفیه‌خانه را شسته تا گرانول‌های خاص آن به دست آید. سپس به هر ویال حدود ۲۲۰ ml از گرانول شسته شده را ریخته و پس از افزودن مقدار مشخصی از سوبسترا و مواد مغذی به هر ویال غلظت مشخصی از آنتی‌بیوتیک تهیه شده به آن اضافه می‌شد. در حدود ۳۲ نگهداری می‌شد.

جهت فعالیت بهتر بیومس بی‌هواری و عملکرد بهتر متانوژن‌ها سوبسترای با مخلوط ماکرونوتریت‌ها، میکرونوتریت‌ها به داخل راکتور اضافه می‌شد. راکتور موجود با فاضلاب سنتزی با COD ۱۶۲۵۰ mg/l تغذیه می‌شد. ترکیبات مختلف سوبستره در جدول (۱) آمده است. همچنین ۳۶ mg/l عصاره مخمر و ۳۶ mg/l هم‌پیتون به آن اضافه می‌شد (۱۴ و ۱۵). آنتی‌بیوتیک و کپسول آموکسی‌سیلین نیز حاوی ۲۰۰ mg ماده مؤثر آموکسی‌سیلین تهیه و در غلظت‌های مختلفی مورد آزمایش قرار گرفت.

pH محیط داخل راکتور با NaOH یا KOH (1:1 molar ratio) تعدیل می‌شد. باره‌اندازی راکتور و بهره‌برداری از آن در طول ۱۰ ماه میزان گاز متان تولیدی حاصل از فعالیت بیومس بی‌هواری بطور روزانه از طریق جایگزینی گاز با محلول ۲ KOH نرمال به‌عنوان جاذب CO<sub>2</sub> و برم تیمول بلو به‌عنوان اندیکاتور اندازه‌گیری می‌شد.

جدول ۱: ترکیب سوبستره مورد استفاده در آزمایش SMA

Inorganic nutrients:	amounts as COD
Acetic acid	76.45 COD
NH <sub>4</sub> Cl	10 mg/g COD
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10 mg/g COD
Trace Elements:	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	25.32 mg/g COD
Fe Cl <sub>3</sub>	1.021
CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O	2.06
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	2.14
MnCl <sub>2</sub> , 2 H <sub>2</sub> O	0.34
COCl <sub>2</sub> , 6 H <sub>2</sub> O	0.092
NiSO <sub>4</sub> , 6 H <sub>2</sub> O	0.0793
ZnSO <sub>4</sub>	0.0592
NaMoO <sub>4</sub> , 2 H <sub>2</sub> O	0.0822
HBO <sub>3</sub>	0.020

جلوگیری می‌کند. مقاومت سلول به تتراسایکلین نشان دهنده مقاومت به چندین دارو است (۱۰).

به‌طور تقریبی میزان جذب پس از تجویز خوراکی برای اکسی‌تتراسایکلین ۷۰-۶۰٪ می‌باشد. یک قسمت از دوز خوراکی تجویز شده تتراسایکلین در داخل روده باقی مانده و فلور روده‌ای را تغییر می‌دهد و با مدفوع دفع می‌گردد. کلیرانس کلیوی اکسی‌تتراسایکلین بیشتر از سایر آنتی‌بیوتیک‌های گروه تتراسایکلین می‌باشد (۹۰ ml/min) و به این دلیل از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اکسی‌تتراسایکلین از آنتی‌بیوتیک‌های کوتاه اثر با نیمه عمر سرمی ۶-۸ ساعت می‌باشد (۱۱).

مصرف گسترده تتراسایکلین‌ها برای بیماری‌های خفیف موجب مقاومت در میان سایر گروه‌های حساس شده است. تتراسایکلین‌ها به میزان زیادی در غذای حیوانات برای افزایش رشد آن‌ها بکار رفته‌اند که این کار در افزایش مقاومت به تتراسایکلین در باکتری‌های روده‌ای از جمله کلیفرم‌ها و در پلاسמידهای حامل ژن مقاوم به تتراسایکلین دخالت داشته‌است (۱۲). غلظت تتراسایکلین‌ها در ادرار بعد از مدت ۲ ساعت از زمان جذب این دارو به بیش از ۱۲۰ μg/ml می‌رسد و این مقدار تا ۱۲ ساعت بعد از جذب به صورت ثابت باقی می‌ماند. تایلوزین وابسته به گروه ماکرولیدها می‌باشد (۱۳).

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین، تایلوزین و آموکسی‌سیلین بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هواری است.

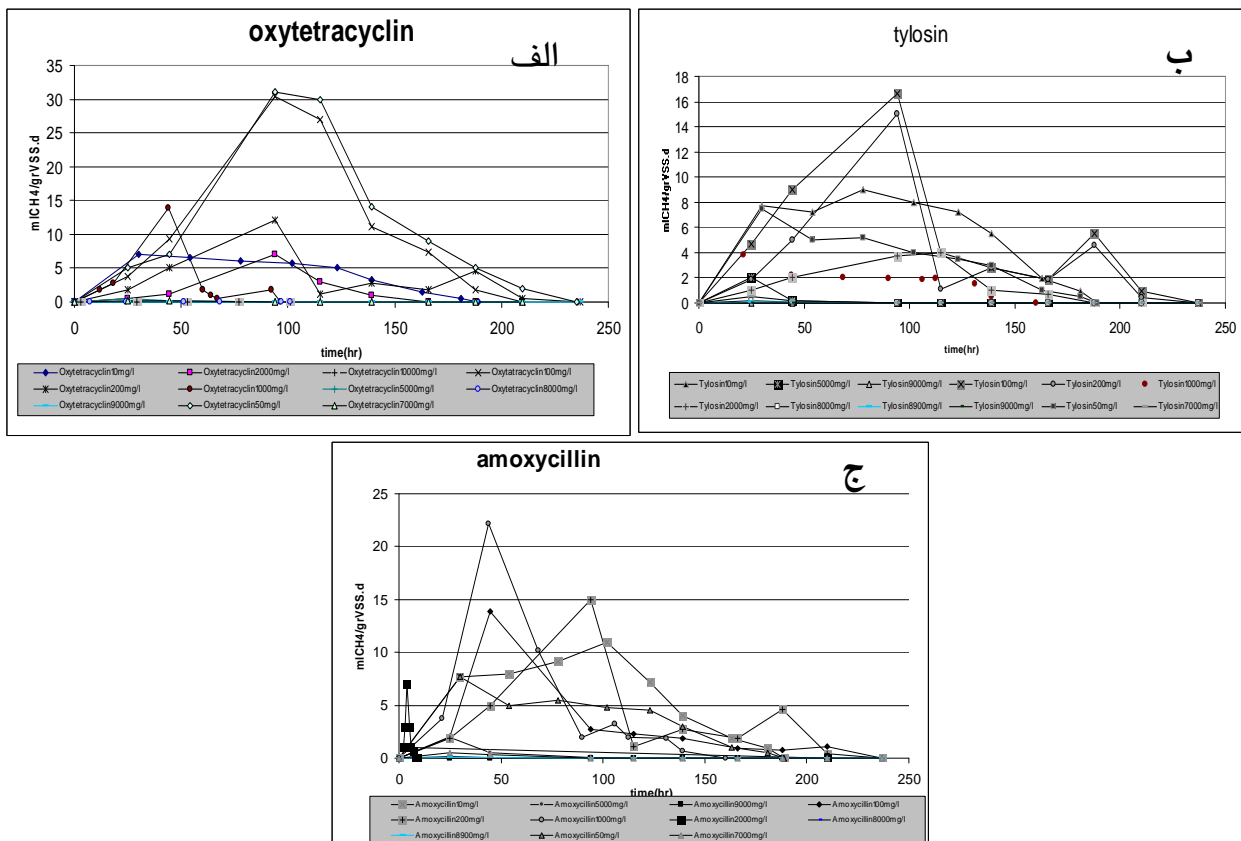
## روش‌ها

جهت انجام هر batch که ۱۰ روز به طول می‌انجامد از ویال‌های ۱۲۰ میلی‌لیتر استفاده می‌شد. این ویال‌ها شیشه‌ای بوده و با توجه به حجم نسبتاً کوچک آن‌ها این امکان فراهم بود تا در هر batch حدود ۶ عدد از آن‌ها به‌کار گرفته شود و در هر کدام غلظت خاصی از آنتی‌بیوتیک‌ها تزریق گردد. جهت انجام اختلاط محتویات راکتور در داخل هر ویال

**یافته‌ها**

بی‌هوازی کاملاً نقش بازدارندگی دارند. روند تولید بیوگاز با افزودن آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در شکل (۱) نشان داده شده‌است.

بر اساس یافته‌های حاصل از هر batch، اکسی‌تتراسایکلین، تایلوزین و آموکسی‌سیلین به ترتیب در غلظت‌های ۸۰۰۰، ۹۰۰۰ و ۹۰۰۰ میلی گرم در لیتر بر فعالیت متان‌سازی بیومس



شکل ۱: روند تولید بیوگاز با افزودن آنتی‌بیوتیک‌های مختلف (الف: اکسی‌تتراسایکلین، ب) آموکسی‌سیلین، ج) تایلوزین

**بحث**

این فعالیت متانوژن‌های بیومس بی‌هوازی در حالی مورد بررسی قرار گرفت که به راکتور هیچ گونه سوبسترا و آنتی‌بیوتیکی افزوده نشده بود.

در آزمایش‌های بعدی مقداری از سوبسترای تهیه شده (حدود ۵ cc) و حدود ۰/۷ گرم گلوکز به بیومس افزوده شد همان‌طور که انتظار می‌رفت این بار متان‌سازها تقویت شده و گاز متان تولیدی در مقایسه با آزمایش‌های قبلی که هیچ

با توجه به اینکه دوره انجام هر batch ۱۰ روز بود در این مدت زمان مشخص غلظت‌های مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسکلین، تایلوزین، آموکسی‌سیلین بر فعالیت بیومس مورد ارزیابی قرار گرفتند در آزمایش‌های جداگانه‌ای فعالیت بیومس بی‌هوازی خالص و قدرت متان‌سازی آن مورد بررسی قرار گرفته و جامدات معلق فرار نیز در آزمایشگاه تعیین شد.

سوبستری در اختیار آن‌ها نبود بیشتر شد جامدات معلق فرار بیومس خالص ورودی به راکتور  $52 \text{ mg/L}$  اندازه‌گیری شد. با آگاهی از قدرت بیومس در تولید گاز متان و نیز تقویت آن با مقادیر مشخص نوترینت‌ها در مراحل بعدی شروع به اضافه نمودن غلظت‌های مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه شد. این غلظت‌ها از غلظت پایین شروع شد و در آزمایش‌های بعدی غلظت‌های بیشتری به سیستم افزوده می‌شد البته غلظت  $1000 \text{ mg/L}$  از آنتی‌بیوتیک به راکتور اضافه شد که کاملاً بر روی بیومس بی‌هوایی بازدارنده بود لذا برای رسیدن به غلظت شخص بازدارندگی از مقادیر کم شروع شد تا به حد مورد نظر رسیده شود. کمترین غلظت آنتی‌بیوتیک افزوده شود به سیستم  $10 \text{ mg/L}$  از هر ۳ آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه بود غلظت‌های پایین را متانوزن‌ها براحتی تحمل می‌کردند و به فعالیت خود ادامه می‌دادند البته در روزهای اولیه جهت سازگاری متانوزن‌ها با محیط مقدار گاز تولیدی کم بود که به ندرت زیاد می‌شد و پس از رسیدن به نقطه پیک دوباره کاهش می‌یافت تحقیق مشابهی که در این زمینه با هدف تأثیر آنتی‌بیوتیک اریترومايسين بر بیومس بی‌هوایی نشان داده که تولید بیوگاز و حذف COD هنگامی که آنتی‌بیوتیک اریترومايسين به بیومس اضافه شود،  $10-5/0$  کاهش می‌یابد و فعالیت متانوزن‌ها در تولید متان از  $3/46$  به  $0/64 \text{ ml/grVSS.d}$  می‌رسد همچنین حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در سیستم مورد مطالعه به دلیل زمان ماند طولانی و جذب سطحی به لخته‌ها  $82\%$ .  $42-$  بیشتر بوده است. با اندازه‌گیری مقدار متان جمع شده روزانه ( معادل میلی‌لیتر بیوگاز تولیدی به ازای گرم  $VSS$  مصرف شده در هر روز)، نتایج حاصل نشان داد که هر ۳ نوع آنتی‌بیوتیک تقریباً تأثیر مشابهی را بر فعالیت متانوزن‌ها در بیومس بی‌هوایی دارند. آنتی‌بیوتیک اکسی‌تراسایکلین در غلظت  $8000 \text{ mg/l}$  و آنتی‌بیوتیک‌های تایلوزین و آموکسی‌سیلین در غلظت  $9000 \text{ mg/l}$  کاملاً بر فعالیت متان‌زاها بازدارنده بودند. همچنین طبق نتایج حاصل از آزمایش COD در ورودی و خروجی سیستم، با تزریق آنتی‌بیوتیک‌ها به راکتور، کاهش COD  $15-10$  درصد بوده است.

آنتی‌بیوتیک‌ها باعث اختلال در تولید گاز در طی فرآیندهای تصفیه بی‌هوایی فاضلاب می‌شوند. آنتی‌بیوتیک‌ها در غلظت‌های کم به‌عنوان باکتریواستاتیک عمل می‌کنند و با توقف فعالیت متان‌سازها مقدار متان تولیدی روند نزولی را طی می‌کند. در غلظت‌های بالاتر آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان باکتریوساید عمل نموده و باعث توقف کامل فعالیت باکتری‌های متان‌ساز می‌شود و در نتیجه تولید متان به صفر می‌رسد. در pH‌های قلیایی به علت افزایش بخش غیریونیزان دارو، تأثیر آنتی‌میکروبی آن افزایش یافته و بنابراین در محدوده قلیایی pH تولید بیوگاز کاهش می‌یابد. آنتی‌بیوتیک‌ها با تداخل در عمل باکتری‌های تجزیه‌کننده اسیدهای چرب فرار از فعالیت آن‌ها جلوگیری می‌کند.

اکسی‌تراسایکلین بازدارنده‌ی بسیار قوی در هضم بی‌هوایی است که باعث توقف کامل فعالیت باکتری‌های متان‌ساز می‌شود.

اکسی‌تراسایکلین با اثر بر دیواره سلولی از فعالیت باکتری‌های متان‌ساز جلوگیری می‌کند در حالی که مکانیسم عمل آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین و تایلوزین تأثیر بر زیر واحد  $50S$  ریبوزوم می‌باشد. بنابراین مقدار کمتری از آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین و تایلوزین جهت توقف فعالیت باکتری‌های متان‌ساز مورد نیاز می‌باشد.

تراسایکلین در محیط توسط رس، خاک و رسوبات جذب شده و حرکت آن محدود می‌شود، بنابراین با جذب آن توسط فلوک‌های موجود در راکتور در حذف COD اختلال ایجاد می‌نماید. بر این اساس مقدار COD در پساب خروجی راکتور حاوی آنتی‌بیوتیک اکسی‌تراسایکلین بیشتر بوده که با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک مقدار حذف COD هم کاهش یافته و مقادیر بیشتری در خروجی ملاحظه می‌شود. از آنجایی که جذب تایلوزین و آموکسی‌سیلین توسط رسوبات به مراتب کمتر از اکسی‌تراسایکلین می‌باشد، حذف COD در راکتورهای حاوی این دو آنتی‌بیوتیک نیز بیشتر شده و مقدار کمتری از COD نسبت به پساب راکتور حاوی اکسی‌تراسایکلین مشاهده می‌شود.

## References

1. Tchobanoglous G, Burton FL, Stensel HD. Wastewater Engineering: Treatment Disposal Reuse. 4 thed. New York: McGraw-Hill Book Company; 2003.
2. Eckenfelder WW. Industrial water pollution control. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 1989.
3. Hugo WB, Russell AD. Pharmaceutical microbiology. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998.
4. Adams C, Wang Y, Loftin K, Meyer M. Removal of Antibiotics from Surface and Distilled Water in Conventional Water Treatment Processes. *J Envir Engrg*. 2002; 128(3): 253-60.
5. Kim YH, Heinze TM, Kim SJ, Cerniglia CE. Adsorption and clay-catalyzed degradation of erythromycin A on homoionic clays. *J Environ Qual*. 2004; 33(1): 257-64.
6. Martindale W, Reynolds JEF. The extra pharmacopoeia: Volume 1. 31th ed. London: Royal Pharmaceutical Society; 1996.
7. Duff B. Presence of tetracycline antibiotics in surface water: a study of the presence absence of tetracycline in the Raccoon River watershed Des Moines water works laboratory. 2005 [cited 2010 Feb 20]; Available from: <http://www.dmww.com/laboratory/tetracyclinereport.pdf>.
8. Eaton AD, Franson MAH. Standard methods for the examination of water & wastewater. 20 th ed. Washington D.C: American Public Health Association; 1995.
9. رفرنس داده نشده است
10. United States Environmental Protection Agency. Fate, transport and transformation test guidelines: anaerobic biodegradability of organic chemical. [cited 2011 Feb 2]; Available from: <http://www.regulations.gov/search/Regs/contentStreamer?objectId=09000064809bc1d3&disposition=attachment&contentType=pdf>
11. Jawed M, Tare V. Microbial composition assessment of anaerobic biomass through methanogenic activity tests. 1999 [cited 2011 Mar 2]; Available from: [http://www.wrc.org.za/Knowledge%20Hub%20Documents/Water%20SA%20Journals/Manuscripts/1999/03/WaterSA\\_1999\\_03\\_jul99\\_p345.pdf](http://www.wrc.org.za/Knowledge%20Hub%20Documents/Water%20SA%20Journals/Manuscripts/1999/03/WaterSA_1999_03_jul99_p345.pdf).
12. Haandel AC, Lettinga G. Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate. New York: J. Wiley and Sons; 1994.
13. Stronach SM, Rudd T, Lester JN. Anaerobic digestion processes in industrial wastewater treatment. Berlin: Springer-Verlag; 1986.
14. Stritt, Lester. Microbiological process pesign for wastewater treat went
15. 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.

## Effects of antibiotics on specific methanogenic activity of anaerobic biomass\*

Hassan Hashemi<sup>1</sup>, Mohammad Mehdi Amin<sup>2</sup>, Asghar Ebrahimi<sup>3</sup>, Afshin Ebrahimi<sup>4</sup>

### Abstract

**Background:** The antibiotics are excreted after their effect on the host body and together with other waste disposal are entered the treatment plant processes. Antibiotics prevent the biological sewage treatment in the plant which consequently causes hazards to the environmental and human health. The purpose of this study was to investigate the effect of some popular antibiotics used by human and livestock on the anaerobic wastewater treatment process.

**Methods:** To evaluate the inhibitory effect of the antibiotics on biomass activity, particularly methane production (Specific Methanogenic Activity; SMA) using anaerobic biomass Batch, the 90ml vials were filled by 15 percent volume and 70 mg biomass L substrate including volatile fatty acids, mainly acetic acid, or glucose and then various concentrations of antibiotics were added including amoxicillin, tetracycline and tylosin. To provide the optimum temperature of 35°C in vials the hot water bath was used, and to mix the contents of the vial fully, the magnetic mixer was used. The methane gas produced was measured through its replacement with 2KOH N solution as CO<sub>2</sub> absorber and bromine thymol blue as indicator. Each batch lasted for 10 days. COD tests were carried out before and after each test on the samples.

**Findings:** Based on the findings of each batch, oxy tetracycline, amoxicillin and tylosin in 8000, 9000 and 9000 mg/ L concentrations, respectively, had a complete inhibitory effect on the specific methanogenic activity of anaerobic biomass.

**Conclusion:** The results of this study indicated that by increasing the antibiotics concentrations, the produced biogas volume as per biomass weight per unit is decreased. On the other hand, COD removal was 42% to 82% due to long retention time and the groups adsorption.

**Key words:** Specific Methanogenic Activity, Antibiotic, Oxytetracycline, Tylosin, Amoxicillin

\*This article was extracted from research project No. 284030 by Isfahan University of Medical Sciences.

1-Faculty Member, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

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

Email: amin@hlth.mui.ac.ir

3- Faculty Member, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

4- Assistant Professor, Environment Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.