

# تأثیر آنتی بیوتیک‌ها بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوایی\*

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

## چکیده

**مقدمه:** آنتی بیوتیک‌ها پس از تأثیر بر بدن می‌بینان، از بدن دفع شده و همراه سایر زائدات وارد فاضلاب‌ها می‌شوند. آنتی بیوتیک‌ها 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 آنتی بیوتیک پر مصرف انسانی و دامی بر فرایند تصفیه بی‌هوایی فاضلاب می‌باشد.

**روش‌ها:** به منظور ارزیابی میزان بازدارنده‌گی آنتی بیوتیک‌ها بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوایی به روش Batch، درون ویال‌های ۹۰ میلی‌لیتری، ۱۵ درصد حجمی بیومس و ۷۰ میلی‌لیتر سوبستره ریخته شد و غلظت‌های مختلفی از آنتی بیوتیک‌های 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 محتويات 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 ۱۰ batch 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 و ۹۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر فعالیت متان‌سازی بیومس بی‌هوایی کاملاً نقش بازدارنده‌گی دارند.

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

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

## نوع مقاله: تحقیقه‌ی

دریافت مقاله: ۱۱/۲/۲۵

پذیرش مقاله: ۱۱/۶/۳۰

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

\*این مقاله حاصل طرح پژوهشی مصوب به شماره ۲۸۴۰۲ 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 مسؤول)

Email: amin@hlth.mui.ac.ir

۳- عضو هیأت علمی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهیدصدوقی، 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 فاضلاب‌هایست که تأثیرات بالقوه‌ای را در آب‌های سطحی ایجاد می‌کنند. بر طبق این مطالعات آنتی‌بیوتیک‌ها در غلظت  $1\text{ }\mu\text{g}/\text{l}$  در آب‌های سطحی اندازه گیری شده‌اند (۷).

آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله داروهای ضد میکروبی هستند که غالباً در پژوهشکی 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 بی‌هوざی‌ها، ریکتزا، کلامیدیا و مایکوپلاسمها 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 متفاونند. 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 می‌توانند 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 اکسی‌تراسایکلین، 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 بی‌هوざی پساب‌های داروسازی و همچنین تأثیرات آن‌ها بر فعالیت مтан‌سازها یا جرم زیستی در راکتورها مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند (۳). فعالیت مтан‌سازی ویژه SM

(Specific Methanogenic Activity) پایش تغییرات در تعداد و فعالیت باکتری‌های مтан‌ساز در جریان تصفیه بیولوژیکی پساب‌های داروسازی در بیوراکتورها می‌باشد. در سیستم تصفیه بیولوژیکی بی‌هوざی سهم عمده تجزیه مواد آلی بر عهده باکتری‌های مтан‌ساز می‌باشد که در حین عمل تجزیه مواد آلی گاز مтан ( $\text{CH}_4$ ) تولید می‌کنند (۴).

با ورود آنتی‌بیوتیک‌ها به سیستم تصفیه در فعالیت این باکتری‌ها اختلال ایجاد می‌شود که با اندازه گیری میزان بیوگاز ( $\text{CH}_4$ ) تولیدی توسط مтан‌سازها 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 آزانس 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 (افروdon  $\text{CH}_3$ ) ریبوزوم 235

مگنت‌هایی قرار داده شده که با چرخش این مگنت‌ها امکان اختلاط کامل لجن با سوبستره و آنتی بیوتیک‌ها فراهم می‌شد. حجم معینی از لجن برداشت شده از تصفیه خانه 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 آنتی بیوتیک تهیه شده به آن اضافه می‌شد. دما در حدود ۳۲°C نگهداری می‌شد.

جهت فعالیت بهتر بیومس بی‌هوای و عملکرد بهتر متانوژن‌ها سوبستراپی با مخلوط ماکرونوترینیت‌ها، میکرونوترینت‌ها به داخل راکتور اضافه می‌شد. راکتور موجود با فاضلاب سنتری 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 (۱۵). اکسی‌تراسایکلین و کپسول آموکسی‌سیلین نیز محتوی ۲۰۰ mg ماده مؤثر آنتی بیوتیک و قرار گرفت. آنها با کار رفته‌اند که این کار در افزایش مقاومت به تراسایکلین در باکتری‌های روده‌ای از جمله کلیفرم‌ها و در پلاسمیدهای حامل ژن مقاوم به تراسایکلین دخالت داشته‌است (۱۶). غلظت تراسایکلین‌ها در ادرار بعد از مدت ۲ ساعت از زمان جذب این دارو به بیش از ۳۰۰ µg/ml رسید و این مقدار تا ۱۲ ساعت بعد از جذب به صورت ثابت باقی ماند. تایلوزین وابسته به گروه ماکرولیدها می‌باشد (۱۷).

pH محیط داخل راکتور با KOH یا NaOH (1:1 molar ratio) تعديل می‌شد. باراندازی راکتور و بهره‌برداری از آن در طول ۱۰ ماه میزان گاز مтан تولیدی حاصل از فعالیت بیومس بی‌هوای بطور روزانه از طریق جایگزینی گاز با محلول ۲ نرمال KOH و برم تیمول CO<sub>2</sub> بلو به عنوان اندازه گیری 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> , 2 H <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

جلوگیری می‌کند. مقاومت سلول به تراسایکلین نشان دهنده مقاومت به چندین دارو است (۱۸).

به طور تقریبی میزان جذب پس از تجویز خوراکی برای اکسی‌تراسایکلین ۶۰-۷۰٪ می‌باشد. یک قسمت از دوز خوراکی تجویز شده تراسایکلین در داخل روده باقی مانده و فلور روده‌ای را تغییر می‌دهد و با مدفوع دفع می‌گردد. کلیرانس کلیوی اکسی‌تراسایکلین بیشتر از سایر آنتی بیوتیک‌های گروه تراسایکلین می‌باشد (۹۰ ml/min) و به این دلیل از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اکسی‌تراسایکلین از آنتی بیوتیک‌های کوتاه اثر با نیمه عمر سرمی ۶-۸ ساعت می‌باشد (۱۹).

صرف گسترده تراسایکلین‌ها برای بیماری‌های خفیف موجب مقاومت در میان سایر گروه‌های حساس شده است. تراسایکلین‌ها به میزان زیادی در غذای حیوانات برای افزایش رشد آنها بکار رفته‌اند که این کار در افزایش مقاومت به تراسایکلین در باکتری‌های روده‌ای از جمله کلیفرم‌ها و در پلاسمیدهای حامل ژن مقاوم به تراسایکلین دخالت داشته‌است (۲۰). غلظت تراسایکلین‌ها در ادرار بعد از مدت ۲ ساعت از زمان جذب این دارو به بیش از ۳۰۰ µg/ml رسید و این مقدار تا ۱۲ ساعت بعد از جذب به صورت ثابت باقی ماند. تایلوزین وابسته به گروه ماکرولیدها می‌باشد (۲۱).

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر آنتی بیوتیک‌های اکسی‌تراسایکلین، تایلوزین و آموکسی‌سیلین بر فعالیت متان‌سازی ویژه بیومس بی‌هوای است.

## روش‌ها

جهت انجام هر batch که ۱۰ روز به طول می‌انجامید 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 به کار گرفته شود و در هر کدام غلظت خاصی از آنتی بیوتیک‌ها تزریق گردد. جهت انجام اختلاط محتويات راکتور در داخل هر ویال

**HBO<sub>3</sub>** **0.020**

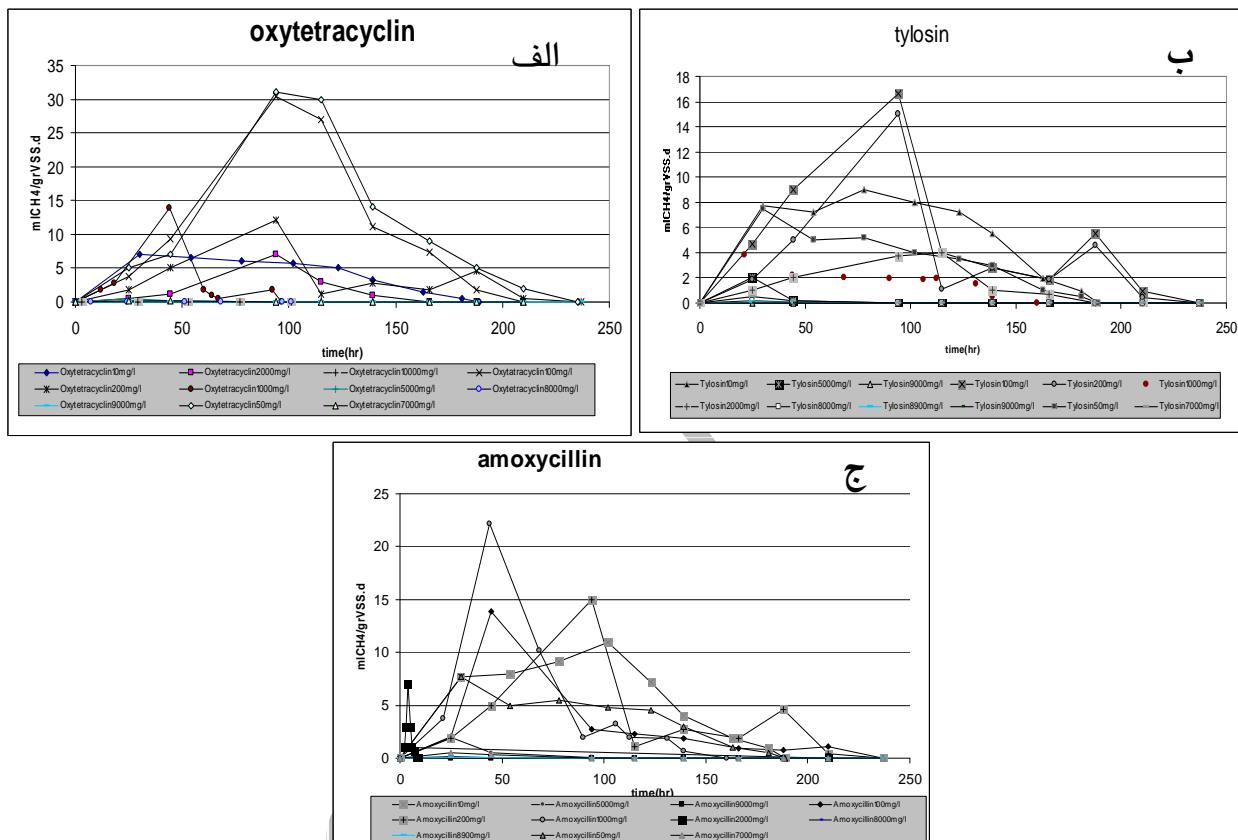
بی‌هوایی کاملاً نقش بازدارنده‌ی دارند. روند تولید بیوگاز با افزودن آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در شکل (۱) نشان داده شده است.

**NaMoO<sub>4</sub>, 2 H<sub>2</sub>O**

**0.0822**

### یافته‌ها

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



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

این فعالیت متانوژن‌های بیومس بی‌هوایی در حالی مورد بررسی قرار گرفت که به راکتور هیچ گونه سوبسترا و آنتی‌بیوتیکی افزوده نشده بود. در آزمایش‌های بعدی مقداری از سوبسترا از تهیه شده (حدود ۵%) و حدود ۷۰ گرم گلوكز به بیومس افزوده شد همان‌طور که انتظار می‌رفت این بار متان‌سازها تقویت شده و گاز متان تولیدی در مقایسه با آزمایش‌های قبلی که هیچ

### بحث

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

آنتی بیوتیک‌ها باعث اختلال در تولید گاز در طی فرآیندهای تصفیه بی‌هوای فاضلاب می‌شوند. آنتی بیوتیک‌ها در غلظت‌های کم به عنوان باکتریواستاتیک عمل می‌کنند و با توقف فعالیت متان‌سازها مقدار متان تولیدی روند نزولی را طی می‌کند. در غلظت‌های بالاتر آنتی بیوتیک‌ها به عنوان باکتریووساید 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 غیربیونیزان دارو، تأثیر آنتی میکروبی آن افزایش یافته و بنابراین در محدوده قلیایی pH تولید بیوگاز کاهش می‌یابد. آنتی بیوتیک‌ها با تداخل در عمل باکتری‌های تجزیه کننده اسیدهای چرب فرار از فعالیت آن‌ها جلوگیری می‌کند.

اکسی‌تراسایکلین بازدارنده بسیار قوی در هضم بی‌هوای 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 آنتی بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین و تایلوزین تأثیر بر زیر واحد 50S ریبوزوم می‌باشد. بنابراین مقدار کمتری از آنتی بیوتیک آموکسی‌سیلین در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های 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 فلوكهای موجود در راکتور در حذف COD اختلال ایجاد می‌نماید. بر این اساس مقدار COD در پساب خروجی راکتور حاوی آنتی بیوتیک اکسی‌تراسایکلین بیشتر بوده که با افزایش غلظت آنتی بیوتیک 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 آنتی بیوتیک نیز بیشتر شده و مقدار کمتری از COD نسبت به پساب راکتور حاوی اکسی‌تراسایکلین مشاهده می‌شود.

سوپستراتی در اختیار آن‌ها نبود بیشتر شد جامدات معلق فرار بیومس خالص ورودی به راکتور L ۵۲ mg 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 آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه شد. این غلظت‌ها از غلظت پایین شروع شد و در آزمایش‌های بعدی غلظت‌های بیشتری به سیستم افزوده می‌شد البته غلظت L ۱۰۰۰۰ mg از آنتی بیوتیک به راکتور اضافه شد که کاملاً برروی بیومس بی‌هوای بازدارنده بود لذا برای رسیدن به غلظت شخص بازدارنده از مقادیر کم افزوده شود موردنظر رسیده شود. کمترین غلظت آنتی بیوتیک افزوده شود به سیستم ۱۰ mg/L از هر ۳ آنتی بیوتیک مورد مطالعه بود غلظتها را پایین را متابون‌ها برآختی تحمل می‌کردند و به فعالیت خود ادامه می‌دادند البته در روزهای اولیه جهت سازگاری متابون‌ها 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 آنتی بیوتیک اریتروماسین بر بیومس بی‌هوای نشان داده که تولید بیوگاز و حذف COD هنگامی که آنتی بیوتیک اریتروماسین به بیومس اضافه شود، ۵-۱۰٪ کاهش می‌یابد و فعالیت متابون‌ها در تولید متان از ۳/۴۶ به ml/grVSS.d<sup>0</sup>/۶۴ می‌رسد همچنین حذف آنتی بیوتیک‌ها در سیستم مورد مطالعه به دلیل زمان ماند طولانی و جذب سطحی به لخته‌ها ۸۲-۴۲٪ بیشتر بوده است. با اندازه‌گیری مقدار متان جمع شده روزانه ( معادل میلی لیتر بیوگاز تولیدی به ازای گرم VSS مصرف شده در هر روز)، نتایج حاصل نشان داد که هر ۳ نوع آنتی بیوتیک تقریباً تأثیر مشابهی را بر فعالیت متابون‌ها در بیومس بی‌هوای دارند. آنتی بیوتیک اکسی‌تراسایکلین در غلظت ۸۰۰۰ mg/l و آنتی بیوتیک‌های تایلوزین و آموکسی‌سیلین در غلظت ۹۰۰۰ mg/l کاملاً بر فعالیت متان‌ها بازدارنده بودند. همچنین طبق نتایج حاصل از آزمایش COD در ورودی و خروجی سیستم، با تزریق آنتی بیوتیک‌ها به راکتور، COD کاهش ۱۵-۲۰ درصد بوده است.

## References

1. Metcalf E. Wastewater Treatment Disposal and Reuse. 4<sup>th</sup> ed. Mc Graw Hill Inc. 2003.
2. Esley W, Eckenereder K. Industrial water pollution control. 1989.
3. Hugow B, Russell A. Pharmaceutical Microbiology. Sixth edition. 1998.
4. Adams C, Wang Y, Loftin k. Removal of antibiotics from surface and distilled water in conventional water treatment processes. 2002.
5. Kim YH, Heinz TM, Kim SJ. Adsorption and clay catalyzed degradation of erythromycin A on hominoid class. 2004.
6. Martindale. The Extra pharmacopoeia. edition 31 vol: 1
7. Barbara D. Presence of Antibiotics in surface water. 2005.
8. Apha WA. standard methods for the examination of water and wastewater. 20 th ed. 1995.
9. Fate EPA. Transport and transformation test guidelines; Anaerobic biodegradability of organic chemical. 1998.
10. Jawed M, Tare V. Microbial composition assessment of anaerobic biomass. 1999.
11. Van CL. Anaerobic sewage treatment. 1994.
12. Springer. verlag dogestion processtion in industrial wastewater treatment .
13. Stritt L. microbiological process pesingn for wastewater treat went.
14. Amin MM. [Influence of the Antibiotic Erythromycin on Anaerobic treatment of A pharmaceutical wastewater in ASB Reactor]. May; 23, 2004. [Persian]

## Effects of Antibiotics on Specific Methanogenic Activity of Anaerobic Biomass\*

**Hasan 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 KOH 2 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 Environment 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 Environment 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.