

## ارزیابی کارایی پودر جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم (*Sargassum angustifolium*) در حذف آنتی بیوتیک پنی سیلیوم جی (بررسی متغیرهای زمان، دما، pH و غلظت جلبک) از آب عنوان کوتاه: استفاده از پودر جلبک جهت حذف آنتی بیوتیک پنی سیلیوم جی

بیبا باهری<sup>۱\*</sup>، ابراهیم رجب زاده قطرمی<sup>۲</sup>، مهدی دشت بزرگ<sup>۳</sup>

<sup>۱\*</sup> - مهندسی و ساختمان، شرکت ملی مناطق نفتخیز جنوب، اهواز، ایران.

<sup>۲</sup> - عضو هیات علمی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده منابع طبیعی دریا، خرمشهر، ایران.

<sup>۳</sup> - دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران.

\* ایمیل نویسنده مسئول: bitabaheri58@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۵/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۵/۰۳

### چکیده

با توجه به سمیت بالا و تجزیه پذیری پایین آنتی بیوتیک‌ها، مقادیر باقیمانده آنتی بیوتیک‌ها در محیط زیست اثرات نامطلوبی بر سلامت انسان و سایر موجودات دارد. در این مطالعه، حذف آنتی بیوتیک پنی سیلیوم جی به وسیله‌ی پودر جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم (*angustifolium Sargassum*) و تاثیر غلظت جلبک (یک در هزار و دو در هزار)، pH محلول (۵، ۷/۵ و ۸/۵)، زمان تماس (۱، ۳، ۹ و ۲۷ ساعت)، دمای محلول (۱۷ و ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد) مورد مطالعه قرار گرفته است. غلظت اولیه آنتی بیوتیک پنی سیلیوم جی  $25 \text{ mg/L}$  و حداکثر کارایی جذب در زمان در معرض قرار گیری ۲۷ ساعت، pH ۸/۵ و دمای  $27^\circ \text{C}$  و با مقادیر ۳۱/۵۶ درصد و ۳۶/۹۲ درصد در غلظت‌های یک و دو در هزار بدست آمد. با توجه به نتایج، زمان ( $F=10449.01$ ) و درجه حرارت ( $F=1046.06$ ) کارآمدترین پارامترهای دخیل در حذف پنی سیلین توسط جلبک بودند. خروجی آنالیز رگرسیون با ضریب تعیین تعدیل شده ( $Adj R^2=0.817$ ) و  $F$  برابر با ۶۹/۹۳، از فرمول  $y=28.45 - 0.39x_1 - 0.19x_2 - 0.09x_3 - 0.83x_4$  تبعیت می‌کند. جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم (*Sargassum angustifolium*) یک جاذب مناسب و کارآمد برای حذف آنتی بیوتیک‌ها از محلول‌های آبی است که با توجه به بومی بودن و دسترسی به آن، امکان بهره‌برداری از آن به عنوان یک جاذب طبیعی در سیستم‌های تصفیه وجود دارد.

### کلمات کلیدی

"پنی سیلیوم جی"، "جذب"، "جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم (*Sargassum angustifolium*)"، "درصد حذف".

## Evaluation of the efficiency of microalgae (*Sargassum Angustifolium*) in the removal of Penicillin G (Time, Temperature, pH and Concentration) of Water

Bitabaheri<sup>1\*</sup>, Ebrahim Rajabzadeh Ghatrami<sup>2</sup>, Mahdi Dashtbozorg<sup>3</sup>

<sup>1</sup>.Engineering and construction, National Iranian South Oil Company, Ahvaz, Iran.

\*Email Address: bitabaheri58@gmail.com

### Abstract

Due to its high toxicity and low degradation of these compounds, their residual values in the environment have adverse effects on human health and other organisms. In this study, removal of the Penicillin G antibiotic by using algae (*Sargassum angustifolium*) and the effects of algae concentration parameters (one in a thousand and two in a thousand), pH of solution (5, 7.5 and 8.5), contact time (1, 3, 9 and 27 hours), soluble temperature (17 and 27 ° C) were studied. Initial concentration of the Penicillin G was 25 mg/L. The maximum adsorption efficiency was obtained at the exposure time of 27 hours, pH 8.5 and 27 ° C and with the values of 31.56% and 36.92% in concentrations of one and two in 1000. According to the results of time ( $F= 10449.01$ ) and temperature ( $F = 1046.06$ ) the most efficient parameters involved in the removal of penicillin were by algae. The output of the regression analysis with the modified coefficient ( $Adj R^2$ ) 0.817 and  $F$  equals to 69.93, from the  $Y= 28.45- 0.39X_1-0.19X_2 -0.09-X_3- 0.83X_4$ . The present study showed that the microalgae (*Sargassum Angustifolium*) is a suitable and efficient adsorbent for the removal of antibiotics from aqueous solutions, which is due to its indigenous and access to it, it is possible to exploit it as a natural adsorbent in filtration systems.

### Keywords

"Penicillin G", "Adsorption", "Sargasium algae (*Sargassum angustifolium*)", "Removal Percentage".

انسان تحت تاثیر قرار می‌دهد (Zhang et al., 2016). در سال- های اخیر استراتژی‌های مختلفی برای کنترل ترکیبات آلوده کننده اتخاذ شده است. فرآیندهای اکسیداسیون شیمیایی معمولاً توانایی معدنی‌شدن کمتر از حد انتظار را داشته و مواد تولید شده در جریان واکنش‌ها معمولاً سبب تولید مواد غالباً سمی‌تری می‌شوند (Yu et al., 2017). علاوه بر این به دلیل تاثیر آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی باکتری‌ها، کارایی کاهش زیستی با افزایش زمان نگهداری محدود می‌شود (Aydin et al., 2016). بنابراین باید یک راه‌حل سبز و امن- تر برای کنترل مشکل آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط زیست معرفی شود. میکرو و ماکرو جلبک‌ها به دلیل فراوانی بسیار زیاد و مقاومت بالا در برابر باکتری‌ها، کاندید بسیار مناسبی برای این منظور است. مکانیسم اصلی جلبک‌ها در حذف آنتی‌بیوتیک‌ها تغییر شکل زیستی آنتی- بیوتیک‌ها است (Silva et al., 2019). Yazdi و همکاران (۲۰۱۸) کارایی دو ریزجلبک *Chlorella vulgaris* و *Spirulina platensis* در حذف پنی‌سیلین، Yu و همکاران (۲۰۱۷) کارایی جلبک‌های سبز در حذف آنتی‌بیوتیک Cefotaxime را بالا گزارش کردند. با توجه به توانایی جلبک‌ها در حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در این مطالعه کارایی جلبک سارگاسوم *Sargassum angustifolium* به عنوان گونه‌ی بومی آب‌های ایران در حذف آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلیم جی و تعیین شرایط بهینه با تاکید بر این حذف مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- روش انجام تحقیق

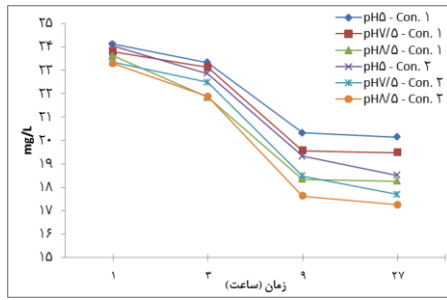
### • آماده‌سازی جلبک

نمونه‌های جلبک سارگاسوم *Sargassum angustifolium* (استان بوشهر- سواحل بندر رستمی تا بندر کنگان) از دریای به صورت طبیعی جمع‌آوری و در ساحل با آب دریا جهت رفع شن و مواد اضافی شستشو گردیدند. در ساحل جلبک‌ها با آب شیرین تا سه مرتبه شستشو گردید. در ساحل جلبک‌ها با آب شیرین تا سه مرتبه شستشو شده تا کلیه مواد اضافی از آنها خارج شود. جلبک‌های شسته شده در سبد به آزمایشگاه منتقل و برای خشک شدن در دمای اتاق نگهداری شدند. جلبک‌های خشک شده با میکسر به صورت پودر در آمده و با الک با مش ۳۰۰ میکرون الک و در کیسه‌های سلفونی زیپ‌دار تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. در مطالعه‌ی حاضر جلبک سارگاسوم *Sargassum angustifolium* در دو غلظت یک و دو در هزار استفاده شد.

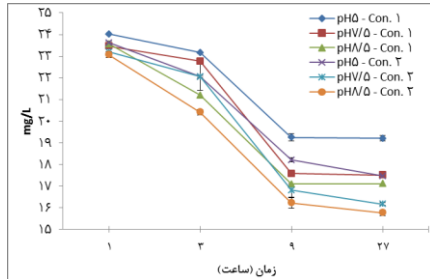
### • طراحی آزمایش

متغیرهای این آزمایش بر پایه شرایط طبیعی حاکم بر یک محیط آبی (لحاظ pH و دمای آب) که بر روی انحلال مواد و نیز زیست موجودات آبی موثر هستند (Yazdia et al., 2018; Silva et al., 2019)، طراحی شده‌اند. برای انجام آزمایش از ارلن مایر مدرج، با حجم مشخص ۲۵۰ ml حاوی ۲۰۰ ml مخلوط واکنش استفاده شد. مخلوط واکنش با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه بر روی شیکر هم زده شدند ۲۵ mg/L پنی‌سیلین جی (کارخانه داروسازی سیگما آلدریج) به عنوان غلظت اولیه در نظر گرفته شد. pH محلول با اسید سولفوریک و سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار شرکت

کشف پنی‌سیلیم به وسیله‌ی الکساندر فلمینگ در ۱۹۲۹، به عنوان یکی از مهمترین کشف‌های پزشکی در قرن ۲۰ نام برده می‌شود. پنی‌سیلیم با جلوگیری از ساخت دیواره توسط باکتری، قادر به مهار باکتری‌هایی همانند *aureus Staphylococcus* که عامل مرگ ناشی از عفونت بیمارستانی است، می‌باشد (Kraemer et al., 2019). دهه‌های ۱۹۴۰ و اوایل ۱۹۷۰، که مقارن با رشد صنعت داروسازی مدرن بودند، به شدت تحت تاثیر کشف آنتی‌بیوتیک قرار گرفتند و تجاری سازی بیش از ۱۶۰ آنتی‌بیوتیک جدید، پایه و اساس درمان بیماری‌های عفونی شد (Davies, 2006). هنوز، برخلاف موفقیت‌های بزرگی که در کاهش مرگ و میر و بیماری‌ها ناشی از عفونت‌های معمول رخ داده است، باکتری‌ها مقاوم و یا پایدار در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به سرعت در شرایط آزمایشگاهی و سپس در شرایط بیمارستانی مشاهده می‌شوند (Livermore, 2011). موضوعی که سبب بدتر شدن وضعیت شده است، کاهش کشف آنتی‌بیوتیک‌ها در دهه‌های اخیر به دلیل چالش‌های فنی و اقتصادی است که این امر بحران مقاومت آنتی‌بیوتیکی را افزایش داده است (Klein et al., 2018). با این حال، استفاده جهانی از آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل مصرف انسانی و مصرف در بخش‌های تجاری به طور پیوسته افزایش یافته است (Van Boeckel et al., 2015). برای مثال، مصرف آنتی-بیوتیک در پرورش حیوانات اهلی به بیش از ۶۳۱۵۱ تن در ۲۰۱۰ و به بیش از ۶۷ درصد در سال ۲۰۳۰ خواهد رسید (Henriksson et al., 2018). به همین دلیل، آنتی‌بیوتیک‌هایی در مقادیر زیاد در محیط‌های انسان ساخت از جمله فاضلاب و حتی پساب‌های تصفیه شده قابل مشاهده هستند (Rizzo et al., 2013). علاوه بر این، به دلیل آلودگی آنتی‌بیوتیکی ناهمگون در مقایسه منطقه‌ای و یا جهانی، مولکول‌های آنتی‌بیوتیک به طور فزاینده‌ای در خشکی‌ها، آب شیرین و محیط‌های دریایی یافت می‌شوند (Boy-Roura et al., 2018). یکی از مهمترین پیامدهای استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در مقادیر بالا، آلودگی آنتی‌بیوتیکی و ورود آن‌ها به محیط زیست، افزایش فراوانی باکتری‌هایی با ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک است (Anderssin and Hughes, 2012). علاوه بر باکتری‌ها، حضور آنتی‌بیوتیک در محیط می‌تواند بر روی موجودات رده‌های بالاتر نیز موثر باشد (Sanchez-Huesca et al., 2005). مطالعات نشان داده است غلظت‌های پایینی از آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر پنی‌سیلیم و یا استرپتومایسین، بقا و رفتار *Daphnia magna* (Flaherty and Dodson, 2011) و *Artemia* (Migliore et al., 1997) تحت تاثیر قرار می‌دهد. در مهره‌دارانی نظیر ماهی حضور مواد آنتی‌بیوتیکی سبب افزایش حجم غیر طبیعی کیسه زرده تخم و یا تولد لاروهایی با کیسه‌ی هوای ناقص و یا توانایی محدود در حرکت شد (Wang et al., 2014). آسیب جدی به دوزیست‌های نظیر *Xenopus tropicalis* در نتیجه در معرض قرار گیری طولانی با مواد آنتی‌بیوتیکی نیز گزارش شده است (Liu et al., 2018). ذخیره مواد آنتی‌بیوتیکی در بدن موجودات آبی نظیر ماهی و نرم‌تنان و تغذیه انسان از این موجودات و نیز نوشیدن آب حاوی آنتی‌بیوتیک خطرات جدی را برای انسان در پی دارد (Merlin, 2020). علاوه بر تاثیرات فیزیولوژیکی در تمام موجودات، ذخیره و در معرض قرار گیری با مواد آنتی‌بیوتیکی، بیان ژن را نیز در این موجودات و بخصوص



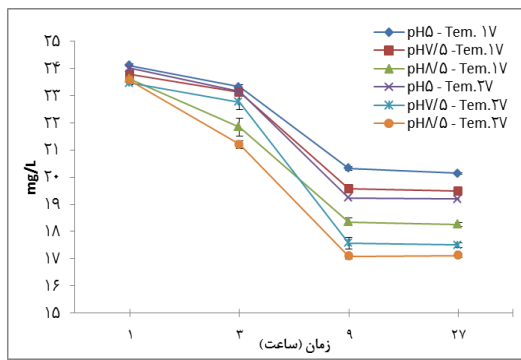
الف



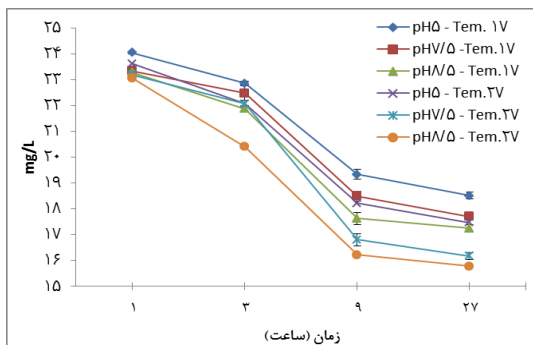
ب

شکل ۱- بررسی تاثیر غلظت جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم بر حذف غلظت آنتی بیوتیک پنی سیلیموم جی آب در pH های محیط طبیعی دمای ۱۷ درجه سانتی گراد (Con1) غلظت یک در هزار جلبک، Con2 غلظت دو در هزار جلبک (الف) - دمای ۱۷ درجه سانتی گراد، ب- دمای ۲۷ درجه سانتی گراد

عامل متغییر دیگر در این تحقیق، غلظت سارگاسوم آنگیلوسفروم بود. با توجه به شکل ۲، در هر دو غلظت یک در هزار و دو در هزار جلبک میزان جذب آنتی بیوتیک پنی سیلیموم جی در دمای ۲۷ درجه سانتی-گراد در مقایسه با ۱۷ درجه سانتی گراد به شکل معنی داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ).



الف



ب

شکل ۲- بررسی روند تغییرات حذف غلظت آنتی بیوتیک پنی سیلیموم و pH جی در مواجه با میزان غلظت جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم در دماهای مورد بررسی الف- غلظت یک در هزار جلبک، ب- غلظت دو در هزار جلبک

مرک آلمان و در محدوده‌های ۵، ۷/۵ و ۸/۵ (با توجه به شرایط طبیعی) تنظیم شد. درصد حذف غلظت پنی سیلیوم جی در ساعات ۱، ۳، ۹ و ۲۷ بعد از شروع آزمایش و در دو دمای ۱۷ و ۲۷ C<sup>o</sup> (با توجه به دمای محیط‌های طبیعی آب در تابستان و زمستان) اندازه-گیری شد (جدول ۱). پس از زمان‌های تعیین شده، محلول‌ها از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شد. غلظت پنی سیلین جی با استفاده از روش اسپکتوفتومتری (دستگاه اسپکتروفوتومتر DR5000) و در طول موج ۲۹۰ nm، اندازه‌گیری شد. میزان بازده تخریب و حذف پنی سیلین جی با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد.

معادله ۱:

$$E = \frac{C_t - C_0}{C_t} \times 100$$

در این معادله E نماد بازده، C<sub>0</sub> و C<sub>t</sub> به ترتیب نماد غلظت نهایی و اولیه آلاینده می‌باشند.

جدول ۱- طراحی آزمایش بر اساس متغیرهای (دما، زمان، pH)

تیمار	pH	درجه حرارت (C <sup>o</sup> )	زمان (ساعت)	تیمار	pH	درجه حرارت (C <sup>o</sup> )	زمان (ساعت)
۱	۵	۱۷	۱	۱۳	۵	۲۷	۱
۲	۷/۵	۱۷	۱	۱۴	۷/۵	۲۷	۱
۳	۸/۵	۱۷	۱	۱۵	۸/۵	۲۷	۱
۴	۵	۱۷	۳	۱۶	۵	۲۷	۳
۵	۷/۵	۱۷	۳	۱۷	۷/۵	۲۷	۳
۶	۸/۵	۱۷	۳	۱۸	۸/۵	۲۷	۳
۷	۵	۱۷	۹	۱۹	۵	۲۷	۹
۸	۷/۵	۱۷	۹	۲۰	۷/۵	۲۷	۹
۹	۸/۵	۱۷	۹	۲۱	۸/۵	۲۷	۹
۱۰	۵	۱۷	۲۷	۲۲	۵	۲۷	۲۷
۱۱	۷/۵	۱۷	۲۷	۲۳	۷/۵	۲۷	۲۷
۱۲	۸/۵	۱۷	۲۷	۲۴	۸/۵	۲۷	۲۷

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در مقیاس آزمایشگاهی و با سه تکرار انجام شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نگارش ۲۳ و Excel 2010 استفاده شد. برای تست نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov-Smirnov، برای مقایسه و یافتن اختلاف معنی‌دار از آزمون ANOVA و تست تکمیلی دانکن و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد استفاده شد.

### ۳- نتایج

بررسی تاثیر غلظت جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم و نیز pH آب بر روی میزان حذف آنتی بیوتیک پنی سیلیوم جی از محیط تیمارها در شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است. با گذشت زمان مواجهه، میزان آنتی بیوتیک توسط جلبک افزایش معنی داری پیدا کرد و در ساعت ۲۷ مواجهه، میزان آنتی بیوتیک به بالاترین میزان خود رسید ( $P < 0.05$ ). در بررسی تاثیر pH، نتایج نشان داد که جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم در pH ۸/۵ بالاترین میزان آنتی بیوتیک جی و در pH ۵ کمترین کارایی را در این آنتی بیوتیک داشت ( $P < 0.05$ ).

در هزار افزایش معنی‌داری یافت ( $P < 0.05$ ). به این ترتیب بالاترین میزان حذف آنتی‌بیوتیک با ۳۱/۵۶ درصد و ۳۶/۹۲ درصد به ترتیب در غلظت ۱ و ۲ در هزار در دمای ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، زمان مواجهه‌ی ۲۷ ساعت و pH ۸/۵ اندازه‌گیری شد ( $P < 0.05$ ).

درصد حذف آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلیوم جی در مواجهه با جلبک سارگاسوم آنژیوسفروم در pH، دما و زمان‌های مختلف در جدول ۲ ذکر شده است. درصد با افزایش pH تا ۸/۵، با افزایش زمان مواجهه تا ۲۷ ساعت و افزایش دما در ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در هر دو غلظت ۱ و ۲

جدول ۲- میانگین درصد حذف آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلیوم جی در مواجهه با جلبک سارگاسوم آنژیوسفروم

زمان/دما pH	۱ ساعت		۳ ساعت		۹ ساعت		۲۷ ساعت	
	۱۷ درجه‌ی سانتی‌گراد	۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد	۱۷ درجه‌ی سانتی‌گراد	۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد	۱۷ درجه‌ی سانتی‌گراد	۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد	۱۷ درجه‌ی سانتی‌گراد	۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد
غلظت یک در هزار جلبک سارگاسوم آنژیوسفروم								
۵	۳/۵۲	۳/۹۲	۶/۶۸	۷/۳۶	۱۸/۷۲	۲۳/۰۴	۱۹/۴۴	۲۳/۲
۷/۵	۴/۸۴	۶/۱۲	۷/۵۲	۸/۹۲	۱۲/۷۲	۲۹/۷۲	۲۲/۰۸	۳۰
۸/۵	۵/۵۲	۵/۷۲	۱۲/۶	۱۵/۲	۲۶/۶	۳۱/۶۴	۲۶/۹۶	۳۱/۵۶
غلظت دو در هزار جلبک سارگاسوم آنژیوسفروم								
۵	۳/۸	۵/۵۲	۸/۵۶	۱۱/۷۶	۲۲/۶۸	۲۷/۱۶	۲۵/۹۶	۳۰/۱۶
۷/۵	۶/۶۴	۷/۲۴	۱۰/۰۸	۱۱/۷۶	۲۶/۰۴	۳۲/۸	۲۹/۲	۲۵/۳۲
۸/۵	۶/۸۴	۷/۷۲	۱۲/۵۲	۱۸/۳۶	۲۹/۵۲	۳۵/۱۲	۳۱	۳۶/۹۲

یا بازی و یا در واکنش به یک ماده نوکلئوفیل (هسته دوست) مانند آب و یون‌های فلزی تخریب می‌گردد. تحت شرایط غالب بازی (نظیر pH ۸/۵ در مطالعه‌ی حاضر)، حلقه بتالاکتام آنتی‌بیوتیک، در اثر هیدرولیز شکسته شده و از این رو ترکیبات آنتی‌بیوتیک در نتیجه تخریب در آب به سختی شناسایی و به راحتی جذب جلبک می‌شوند (Mirzaei et al., 2018). که غلظت درصد جذب بالاتر پنی‌سیلیوم را pH ۸/۵ را در مطالعه‌ی حاضر توجیه می‌کند. در مطالعه‌ی Yazdi و همکاران (۲۰۱۸) pH ۷ یا طبیعی را به عنوان pH بهینه برای کارایی بالاتر دو جلبک *Spirulina platensis* و *Chlorella vulgaris* و همکاران Yazdi et al., (2018). همچنین افزایش غلظت و زمان را نیز به عنوان عوامل تاثیر گذار بر روی فرآیند حذف پنی‌سیلین ذکر کردند که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. در مطالعه‌ی Sheikh Mohammadi و Sardar (۲۰۱۳) در حذف پوسته میوه بلوط حداکثر راندمان حذف پنی‌سیلین، Shams Khorram Abadi و همکاران (۲۰۱۴) در استفاده از UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> جهت حذف آنتی‌بیوتیک سفتریاکسون و نیز در مطالعه‌ی Rahmani و همکاران (۲۰۱۵)، در استفاده از فرآیند ازن‌زنی به همراه کلسیم پراکساید در حذف سپیروفلوکوساسین pH = ۳ (اسیدی) را به عنوان شرایط بهینه معرفی کردند، در حالی که در مطالعه‌ی حاضر ماکرو جلبک بهترین راندمان حذف را در شرایط قلیایی به عنوان شرایط حاکم بر محیط طبیعی و نیز بخش عمده‌ای از پساب‌های طبیعی داشت که این موضوع در کنار در دسترس‌ی طبیعی به این جلبک، عدم نیاز به تکنولوژی ویژه جهت استحصال و عدم نیاز به مواد وجود مواد زمینه‌ای همانند اکسیدهای آهن و یا نسبت‌های خاصی از مواد در محیط، برتری این جاذب را در مقایسه با سایر جاذب‌ها نشان می‌دهد. موضوع مورد توجه دیگر، عدم ورود واکنش‌گرهای شیمیایی و زیان‌بار برای طبیعت که عموماً سبب افزایش COD (اکسیژن مورد نیاز شیمیایی) آب‌های طبیعی می‌شوند، در این سیستم است.

با توجه به آنالیز واریانس، در بین متغیرهای زمان، pH، غلظت جلبک و درجه حرارت، زمان مهمترین عامل تاثیرگذار بر روی درصد پنی-سیلیوم جی از محیط تیمارهای آزمایشی بود. درجه حرارت، غلظت جلبک و pH در رتبه‌های بعد از نظر اهمیت قرار داشتند. نتایج آنالیز واریانس رگرسیون در جدول ۴ ذکر شده است، براساس ستون ضرایب رگرسیون، معادله‌ی رگرسیون میزان جذب آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلیوم جی با  $R^2 \text{ Adj } 0.817$  و F برابر با ۶۹/۹۳ به صورت زیر بود:

$$y = 28/45 - 0/39x_1 - 0/19x_2 - 0/09x_3 - 0/83x_4$$

#### ۴- نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه جلبک‌ها بر خلاف باکتری‌ها، هدف آنتی‌بیوتیک‌ها نبوده و کمتر می‌توانند بر روی ساختار دیواره‌ی سلولی جلبک‌ها تاثیر گذار باشند (Yu et al., 2017). از طرفی قابلیت حذف با کمترین تاثیرات زیست محیطی یکی از ویژگی‌های حیاتی استفاده از جلبک‌های بومی از جمله جلبک سارگاسوم آنژیوسفروم محسوب می‌شود از این رو به نظر می‌رسد، جلبک‌ها، کاندید و جایگزین مناسبی در فرآیند تصفیه زیستی آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که بهبود کارایی آنها نیازمند مشخص ساختن شرایط بهینه برای رشد و بقای آنها است. یکی از مکانیسم اصلی حذف ترکیبات آنتی‌بیوتیکی در فرآیندهای تصفیه، حساسیت این مواد به pH بوده که در محدوده‌های خاصی به سادگی به فرم غیر فعال خود تغییر شکل می‌دهند. pH محلول می‌تواند بر بار سطحی جاذب، درجه یونیزاسیون آلاینده‌های مختلف و نیز ساختار مولکول آنتی‌بیوتیک اثر گذار باشد (۸). از این رو تعیین pH بهینه اهمیت بالایی دارد. در بررسی تاثیر غلظت و pH یافته‌ها نشان داد که ضمن تایید تاثیرگذاری این عوامل بر روی قدرت حذف پنی‌سیلیوم جی، افزایش غلظت جلبک به دو هزار و افزایش pH به ۸/۵ درصد به عنوان نقطه‌ی ایزوالکتریک این جاذب، حذف را افزایش داد. پنی‌سیلین تحت شرایط غالب اسیدی

جدول ۳- بررسی اثرات غلظت جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم، pH، درجه حرارت و مدت مواجه بر روی حذف آنتی بیوتیک پنی سیلیوم جی

Sig.	F	Mean Square	df	Type III Sum of Squares	
.۰/۰	۷۶۸/۳۰	۲۱/۷۸	۴۷	۱۰۲۴/۰۸	Corrected Model
.۰/۰	۲۱۳۳۳۲۵/۳۲	۶۰۴۹۷/۹۶	۱	۶۰۴۹۷/۹۶	Intercept
.۰/۰	۸۸۳/۲۵	۲۵/۰۴	۲	۵۰/۰۹	pH
.۰/۰	۱۰۴۴۹/۰۱	۲۹۶/۳۳	۳	۸۸۸/۹۹	ساعت
.۰/۰	۱۰۴۶/۰۶	۲۹/۶۶	۱	۲۹/۶۶	درجه حرارت
.۰/۰	۸۸۷/۴۱	۲۵/۱۶	۱	۲۵/۱۶	غلظت جلبک
.۰/۰	۵۸/۵۵	۱/۶۶	۶	۹/۹۶	pH*ساعت*
.۰/۰	۱۳/۲۸	۰/۳۷	۲	۰/۷۵	pH*درجه حرارت*
.۰/۰۰۲	۶/۵۱	۰/۱۸	۲	۰/۳۷	pH*غلظت جلبک*
.۰/۰	۱۰۸/۵۵	۳/۰۷	۳	۹/۲۳	ساعت*دما
.۰/۰	۷۴/۶۶	۲/۱۱	۳	۶/۳۵	ساعت*غلظت جلبک
.۰/۰۱۴	۶/۳۱	۰/۱۷	۱	۰/۱۷	درجه حرارت*غلظت جلبک
.۰/۰	۱۰/۶۵	۰/۳۰	۶	۱/۸۱	pH*ساعت*درجه حرارت*
.۰/۰۲۵	۲/۵۳	۰/۰۷	۶	۰/۴۳	pH*ساعت*غلظت جلبک*
.۰/۰	۱۰/۱۵	۰/۲۸	۲	۰/۵۷	*درجه حرارت*غلظت جلبک*
.۰/۰۰۳	۴/۸۴	۰/۱۳	۳	۰/۴۱	غلظت جلبک*ساعت*درجه حرارت
.۰/۰۴	۰/۳۸	۰/۰۱۱	۶	۰/۰۶۵	*درجه حرارت*غلظت جلبک* pH ساعت
R squared=۰/۹۹۷					

جدول ۴- خروجی رگرسیون عوامل تاثیر گذار مورد آزمایش روی کارایی جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم در حذف آنتی بیوتیک پنی سیلیوم جی

Sig.	t	Standardized Coefficients	Unstandardized Coefficients		Model
		Beta	Std. Error	B	
.۰/۰	۲۹/۹۷		۰/۹۴۹	۲۸/۴۵	Constant
.۰/۰	-۴/۴۱	-۰/۲۱	۰/۰۸۹	-۰/۳۹	pH

مدت زمان مواجهه جاذب و پنی سیلین افزایش می یابد، بنابراین راندمان حذف نیز افزایش می یابد (Mohammadi et al., 2013). چنین نتیجه ای در مطالعه ی Sadeghi و همکاران (۲۰۱۵)، در مطالعه ی توانایی مخمر ساکارومایسس سرویزیه در حذف آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین نیز گزارش شده است. در مطالعه ی Yu و همکاران (۲۰۱۷) درصد حذف آنتی بیوتیک Cefazidime توسط مجموعه ای از جلبک های سبز از جمله *C. pyrenoidosa* تحت تاثیر زمان بود و از ۷/۳۵ درصد در ۲۰ دقیقه به ۹۱/۵۳ درصد در ۶ ساعت رسید. اگرچه در مطالعه ی حاضر درصد حذف آنتی بیوتیک در مقایسه با مطالعات ذکر شده از میزان کمتری برخوردار است اما نکته قابل توجه غلظت پایین جلبک استفاده شده است به گونه ای که در نسبت ۱ گرم جلبک به ۲۵ میلی گرم پنی سیلین (نسبت ۱ به ۴۰۰) درصد حذف برابر با ۳۶/۹۲ (در شرایط بهینه) درصد بود که در مقایسه با سایر مطالعات درصد حذف بالایی را نشان می دهد. در مطالعه ی حاضر، افزایش دما از ۱۷ به ۲۷ درجه ی سانتی گراد قدرت جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم در حذف آنتی بیوتیک را به شکلی معنی داری افزایش داد و از ۲۶/۹۶ و ۳۱ درصد در غلظت یک و دو در هزار در ساعت ۲۷ به ۳۱/۵۶ درصد و ۳۶/۹۲ درصد رساند. De Godes و همکاران (۲۰۱۲) در حذف تتراسیکلین توسط

سیستم (استفاده از جلبک *Sargassum angustifolium*) حاضر در مقایسه با سیستم های تصفیه دارای اجزای طبیعی نظیر مطالعه ی جواد Zoqi و همکاران (۲۰۱۹) بر روی استفاده از تالاب مصنوعی گیاه کاری شده، ضمن کاهش هزینه (به دلیل وجود طبیعی این جلبک در آب ها) و نداشتن خطرات زیست محیطی برای سکونتگاه حیات وحش و حیوانات، نیاز به آماده سازی نیز ندارد. مسئله مهم هنگام کاربرد سیستم جذب، فراهم آوردن یک زمان تماس موثر تحت شرایط معین است. در این مطالعه زمان تماس در محدوده ی ۱ تا ۲۷ ساعت اعمال و تاثیر آن بر کارایی حذف آنتی بیوتیک پنی سیلیوم جی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که عمل جذب برای آنتی بیوتیک روندی افزایشی با افزایش زمان تماس داشت و در ساعت ۲۷، میزان جذب آنتی بیوتیک توسط جلبک به بالاترین میزان خود رسید. جلبک سارگاسوم آنگیلوسفروم در فرآیند جذب به صورت بیولوژیکی عمل کرده و سطح آنتی بیوتیک را با جذب سطحی کاهش می دهد. با توجه به اینکه واکنش های بیولوژیکی وابسته به زمان تماس و مقدار جاذب می باشد با افزایش زمان تماس و یا مقدار جاذب حذف افزایش می یابد. با افزایش مقدار جاذب، سطح تماس ذرات جاذب افزایش یافته و میزان بیشتری از پنی سیلین امکان نشست بر سطح جاذب را داشته و با افزایش زمان،

و غلظت دو در هزار با درصد حذف ۳۶/۹۲ بالاترین راندمان حذف را دارا بود. یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد این جلبک در شرایط طبیعی دما و pH آب‌های آزاد، قادر به حذف و کاهش سطح آنتی-بیوتیک‌ها می‌باشد که این کارکرد با توجه به بومی بودن آن‌ها در ایران و اولویت‌های بالای زیست محیطی آن در مقایسه با سایر سیستم‌های حذف، امکان استفاده از پودر آن در تصفیه‌خانه‌های بیمارستان‌ها و یا منابع طبیعی آبی که احتمال آلودگی با این آنتی‌بیوتیک را دارند، فراهم می‌سازد.

#### • ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل رضایت آگاهانه و حسن رفتار، عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

*Chlorella vulgaris* افزایش دما را عاملی موثر در افزایش حذف آنتی‌بیوتیک گزارش کرد. Hom-Diaz و همکاران (۲۰۱۷) در حذف اشکال دارویی از فاضلاب در سیستم بیوراکتور حاوی جلبک، تاثیر درجه‌حرارت ناشی از فصل را بر روی کارایی سیستم گزارش کردند، که هم‌راستا با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر است. علت این امر را می‌توان به افزایش برهمکنش‌های یونی ناشی از تشکیل کمپلکس‌های فعال میان یون‌های آنتی‌بیوتیک و ترکیبات پلی‌ساکاریدی دیواره سلولی جلبک دانست که در دماهای بالا، افزایش می‌یابد (Merlin et al., 2020). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در حذف آنتی‌بیوتیک پنی سیلیوم جی (با غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر) مدت زمان مواجهه با جلبک سارگاسوم آنگیلوسفرورم در مقایسه با متغیرهای دما، pH و غلظت جلبک عامل مهمتری بود. هر ۴ متغیر رابطه‌ی مستقیمی با افزایش راندمان حذف آنتی‌بیوتیک داشتند. جلبک سارگاسوم آنگیلوسفرورم در دمای ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، زمان مواجهه ۲۷ ساعت، pH برابر با ۸/۵

#### منابع

- Andersson, D.I., Hughes, D. 2012. Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. *Drug Resistance Updates*, Vol. 15(3), P. 162-172.
- Aydin, S., Ince, B., Ince, O. 2016. Assessment of anaerobic bacterial diversity and its effects on anaerobic system stability and the occurrence of antibiotic resistance genes. *Bioresource technology*, Vol. 207, P. 332-38.
- Boy-Roura, M., Mas-Pla, J., Petrovic, M., Gros, M., Soler, D., Brusi, D., et al. 2018. Towards the understanding of antibiotic occurrence and transport in groundwater: Findings from the Baix Fluvià alluvial aquifer (NE Catalonia, Spain). *Science of the total environment*, Vol. 612, P.1387-406.
- Davies, J. 2006. Where have all the antibiotics gone? *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, Vol. 17(5), P. 287-290.
- de Godos, I., Muñoz, R., Guieysse, B. 2012. Tetracycline removal during wastewater treatment in high-rate algal ponds. *Journal of hazardous materials*, Vol. 229, P.446-449.
- Flaherty, C.M., Dodson, S.I. 2005. Effects of pharmaceuticals on *Daphnia* survival, growth, and reproduction. *Chemosphere*, Vol. 61(2), P. 200-207.
- Henriksson, P.J., Rico, A., Troell, M., Klinger, D.H., Buschmann, A.H., Saksida, S., et al. 2018. Unpacking factors influencing antimicrobial use in global aquaculture and their implication for management: a review from a systems perspective. *Sustainability science*, 13(4), P. 1105-1120.
- Hom-Diaz, A., Jaén-Gil, A., Bello-Laserna, I., Rodríguez-Mozaz, S., Vicent, T., Barceló, D., et al. 2017. Performance of a microalgal photobioreactor treating toilet wastewater: pharmaceutically active compound removal and biomass harvesting. *Science of the Total Environment*, Vol. 592:, P. 1-11.
- Klein, E.Y., Van Boeckel, T.P., Martinez, E.M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S.A., et al. 2018. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 115(15), P. 3463-3470.
- Kraemer, S.A., Ramachandran, A., Perron, G.G. 2019. Antibiotic pollution in the environment: from microbial ecology to public policy. *Microorganisms*, Vol. 7(6), P. 180-185.
- Liu, L., Wu, W., Zhang, J., Lv, P., Xu, L., Yan, Y. 2018. Progress of research on the toxicology of antibiotic pollution in aquatic organisms. *Acta Ecologica Sinica*, Vol. 38(1), P. 36-41.
- Livermore, D.M. 2011. *Discovery Bsfacwpotunrad, Development, Blaser M, Carrs O, Cassell G, et al. Discovery research: the scientific challenge of finding new antibiotics. Journal of antimicrobial chemotherapy*, Vol.66(9), P.1941-1942.
- Matamoros, V., Gutiérrez, R., Ferrer, I., García, J., Bayona, J.M. 2015. Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: a pilot-scale study. *Journal of hazardous materials.*, VOL. 288, P. 34-42.
- Merlin, C. 2020. Reducing the Consumption of Antibiotics: Would That Be Enough to Slow Down the Dissemination of Resistances in the Downstream Environment? *Frontiers in Microbiology*, Vol. 11, P.28-33.
- Migliore, L., Civitareale, C., Brambilla, G., Di Delupis, G.D. 1997. Toxicity of several important agricultural antibiotics to *Artemia*. *Water Research*, Vol. 31(7), P. 1801-1806.

- Mirzaei, R., Yunesian, M., Nasser, S., Gholami, M., Jalilzadeh, E., Shoeibi, S., et al. 2018. Occurrence and fate of most prescribed antibiotics in different water environments of Tehran, Iran. *Science of the Total Environment*, Vol. 619, P. 446-59.
- Mohammadi, A.S., Sardar, M. 2013. The removal of penicillin G from aqueous solutions using chestnut shell modified with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Isotherm and kinetic study. *Iranian Journal of Health and Environment*, Vol. 5(4), P. 497-508.
- Rhmani, A., Mehralipour, J., Shabanlo, A., Majidi, S. 2015. Efficiency of ciprofloxacin removal by ozonation process with calcium peroxide from aqueous solutions. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*. Vol. 2, P. 55-64.
- Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M, et al. 2013. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review. *Science of the total environment*, Vol. 447, P. 345-60.
- Sadeghi, A., Dolatabadi, M., Asadzadeh, S.N., Jamali Behnam, F. 2015. Ability of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* for biological removal of ciprofloxacin antibiotic in aqueous solution. *Journal of North Khorasan University*, Vol. 7, P. 71-79.
- Sánchez-Huesca, R., Lerma, A., Guzmán-Saldaña, R.M., Lerma, C. 2020. Prevalence of Antibiotics Prescription and Assessment of Prescribed Daily Dose in Outpatients from Mexico City. *Antibiotics*, Vol. 9(1), P. 38-45.
- Shams Khorramabadi, G., Belghadr, I., Godini, H., farzan Ale- Nabi Amlashi, S., Hatami, S., Godarzi, A., Danesh Bahreini, M., Shabani, H., Rahmani, D. 2014. Efficiency of UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> advanced oxidation process in removal of ceftriaxone antibiotic from aqueous solution. *Journal of Lorestan University of Medical Sciences*, Vol. 59, P. 31-23.
- Silva, A., Delerue-Matos, C., Figueiredo, S.A., Freitas, O.M. 2019. The Use of Algae and Fungi for Removal of Pharmaceuticals by Bioremediation and Biosorption Processes: A Review. *Water*, Vol. 11(8), P.25-55.
- Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T.P., et al. 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol. 112(18), P. 5649-54.
- Wang, H., Che, B., Duan, A., Mao, J., Dahlgren, R.A, Zhang, M., et al. 2014. Toxicity evaluation of  $\beta$ -diketone antibiotics on the development of embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental toxicology* Vol. 29(10), P.1134-46.
- Yazdia, M., Sayadib, M.H., FarsadA, F. 2018. Removal of penicillin in aqueous solution using *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* from hospital wastewater. *Desalination and Water Treatment*, Vol. 23, P. 315-320.
- Yu, Y., Zhou, Y., Wang, Z., Torres, O.L., Guo, R., Chen, J. 2017. Investigation of the removal mechanism of antibiotic ceftazidime by green algae and subsequent microbic impact assessment. *Scientific reports*, Vol. 7(1), P. 1-11.
- Zhang, Y., Wang, X., Yin, X., Shi, M., Dahlgren, R.A., Wang, H. 2016. Toxicity assessment of combined fluoroquinolone and tetracycline exposure in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental toxicology*, Vol. 31(6), P. 736-50.
- Zoqi, M.J., Doosti, M.R., Golkari, V. 2019 Removal efficiency of penicillin G in horizontal subsurface flow wetlands. *Amirkabir Journal of Civil Engineering*. Articles in Press, Accepted Manuscript.