فصلنامه علوم محیطی، دوره بیستم، شماره ۳، پائیز ۱۴۰۱

۳۵-۵۲

مقاله پژوهشی

شناسایی و تعیین مقدار هورمون‌ها و داروهای برگزیده در خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری، خاک و محصولات زراعی

ندا میری‌کرم[۱]، امیر سالمی[۱*] و مریم وثوق[۲]

[۱] گروه فناوری‌های محیط زیست، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

[۲] گروه فناوری‌های پاک، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۲۷

میری‌کرم، ن.، ا. سالمی و م. وثوق. ۱۴۰۱. شناسایی و تعیین مقدار هورمون‌ها و داروهای برگزیده در خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری، خاک و محصولات زراعی. فصلنامه علوم محیطی. ۲۰(۳): ۳۵-۵۲.

سابقه و هدف: داروها، محصولات مراقبت شخصی و هورمون‌های استرورییدی از آلاینده‌های نوظهوری محسوب می‌شوند که منشا اصلی تولید آن‌ها جوامع انسانی است. تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری، نقش بسیار موثری در کاهش و حذف این دسته از آلاینده‌ها دارند، با این حال، حذف کامل این ترکیبات معمولاً ممکن نمی‌شود و مقداری از این آلاینده‌ها از طریق جریان فاضلاب تصفیه شده (و همچنین لجن باقی مانده) وارد محیط می‌شوند. با توجه به کاربرد فاضلاب تصفیه شده در آبیاری مزارع و باغات، احتمال انتقال آلاینده‌ها به خاک، محصولات زراعی و آب‌های زیرزمینی وجود دارد. از آنجایی که تاثیر منفی حضور این آلاینده‌ها در غلظت‌های بسیار کم نیز قابل مشاهده است، شناسایی و تعیین مقدار آن‌ها ضروری است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، کانال انتقال تصفیه‌خانه جنوب تهران (فاضلاب خام، فاضلاب تصفیه شده)، خاک مزارع و محصولات زراعی از جنبه حضور و مقدار آلاینده‌های آلی نوظهور، از دسته داروها و هورمون‌های استرورییدی مورد بررسی قرار گرفته است. چهار نوبت نمونه‌برداری از فاضلاب تصفیه شده در نقاط مختلف انجام شد. آنالیز کیفی به منظور شناسایی و انتخاب آلاینده‌های هدف به انجام رسید. سپس، مهم‌ترین معیارهای تضمین و کنترل کیفیت در بخش میدانی و آزمایشگاهی مورد مطالعه عملی قرار گفتند تا داده‌های ایجاد شده از بالاترین سطح کیفیت ممکن برخوردار باشند. هر نمونه برای هر دسته آلاینده به صورت جداگانه آماده سازی و استخراج (استخراج فاز جامد و استخراج با حلال تحت التراسونیک) شده و در نهایت با دستگاه کروماتوگرافی مایع-طیف‌سنج جرمی آنالیز شدند.

نتایج و بحث: نمونه‌برداری از محیط‌های فاضلاب خام، فاضلاب تصفیه شده، خاک و محصول زراعی آبیاری شده با فاضلاب تصفیه شده و آنالیز این نمونه‌ها به انجام رسید. دو داروی استامینوفن و سولفامتوکسازول و چهار هورمون استرورییدی اکویلین، استرون، استریول و اتینیل استرادیول، به عنوان آلاینده هدف و مهم‌ترین و مستمرترین آن‌ها انتخاب شدند. هر شش آنالیت در نمونه فاضلاب خام و در یک نمونه فاضلاب تصفیه شده شناسایی شدند. در نمونه دیگر فاضلاب تصفیه شده سه هورمون اکویلین، استرون و اتییل استرادیول یافت نشد. در

*Corresponding Author: *Email Address*. a_salemi@sbu.ac.ir

http://dx.doi.org/10.52547/envs.2021.1074

http://dorl.net/dor/20.1001.1.17351324.1401.20.3.2.5

نمونه خاک فقط هورمون استرون و در نمونه گیاهی (گندم) همه آنالیت ها به جز اتنیل استرادیول دیده شدند.

نتیجه‌گیری: تمام آلاینده‌ها در فاضلاب خام و تصفیه شده (خروجی تصفیه خانه) مشاهده شدند و نقش بسیار مثبت تصفیه‌خانه در کاهش غلظت ملاحظه شد. از سوی دیگر تغییرات غلظت آلاینده‌ها در طول مسیر کانال مشخص شد. همچنین، این نتیجه به دست آمد که آلاینده‌های هدف برخلاف تمایل به جذب توسط گیاهان، توسط ذرات خاک جذب سطحی نمی‌شوند. بنابراین، ورود آب آلوده به خاک زراعی، آلودگی محصولات و نفوذ به آب زیرزمینی را در پی خواهد داشت. حضور و مقدار آلاینده‌های مورد بررسی در کانال انتقال فاضلاب تصفیه شده، به شدت وابسته به زمان و مکان است. در واقع، اختلاط و ترقیق و ورود منابع جدید آلودگی در مسیر کانال، سبب تغییرات معنی‌دار در غلظت و نوع آلاینده‌های مشاهده شده در نمونه‌ها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آلاینده‌های نوظهور، تصفیه‌خانه فاضلاب، محصولات مراقبت شخصی، استخراج فاز جامد، داروها و هورمون‌ها.

مقدمه

در چند دهه اخیر و همراستا با ارتقاء سطح رفاه و بهداشت فردی و اجتماعی، به ویژه در جوامع شهری، تولید و مصرف طیف بسیار گسترده‌ای از مواد شیمیایی طبیعی و سنتزی نیز افزایش چشمگیری یافته است. وجود داروها و هورمون‌ها در محیط زیست به دلیل اثرات سو آن‌ها بر سلامتی و محیط زیست بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Arpin-Pont *et al*., 2016; Chimchirian *et al*., 2007). اگرچه داروها برای بهبود ایمنی انسان و حیوان ساخته شده‌اند، اما پس از ورود به پساب‌های تصفیه‌خانه فاضلاب (WWTP) ممکن است تهدیدی برای محیط زیست به ویژه اکوسیستم‌های آبی باشد (Aymerich *et al*., 2016). افزایش استفاده از داروها، رهاسازی مداوم ترکیبات جدید در محیط و کمبود فن‌آوری های کارآمد تصفیه فاضلاب برای کاهش آن‌ها، چالشی را برای محققان و مدیران ایجاد می‌کند. با توجه به رشد مقدار آلودگی در فاضلاب شهری و هم چنین افزایش حجم کل فاضلاب تولید شده و از سوی دیگر تنوع ترکیبات شیمیایی موجود در آن، تصفیه کامل فاضلاب شهری و حذف آلاینده‌های گوناگون آلی، پیچیده‌تر و دشوارتر شده است. علاوه بر این، وجود داروها همچنین می‌تواند استفاده مجدد از فاضلاب تصفیه شده را به خطر بیندازد، که گزینه‌ای بالقوه برای دستیابی به مدیریت پایدار آب است (Behera *et al*., 2011).

داروها و محصولات مراقبت شخصی (PPCP) دسته ای از آلاینده‌های نوظهور هستند که شامل محصولات دارویی، آرایشی و بهداشتی شخصی هستند که معمولاً مورد استفاده قرار می‌گیرند. نگرانی‌های زیادی در مورد PPCP ها به دلیل تأثیرات نامطلوب بالقوه آن‌ها بر محیط زیست و سلامت انسان وجود دارد (Kolpin *et al*., 2002; Lin *et al*., 2008; Qiao *et al*., 2011). در سراسر جهان، استروژن‌های استروئیدی از جمله استرون، استرادیول و استریول تهدیدهای جدی برای خاک، گیاهان، منابع آب و انسان هستند. در واقع، استروژن‌ها در سال‌های اخیر به دلیل افزایش سریع غلظت در آب و خاک در سراسر جهان مورد توجه قرار گرفته‌اند. نگرانی‌هایی در مورد ورود استروژن‌ها به زنجیره غذایی انسان بیان شده است که به نوبه خود به نحوه جذب و متابولیسم گیاهان از استروژن‌ها مربوط می‌شود (Adeel *et al*., 2017; Pessoa *et al*., 2014; Vymazal *et al*., 2015).

اکثر داروها و هورمون‌های موجود در فاضلاب از منابع مختلفی مانند بیمارستان‌ها ، کلینیک‌های دامپزشکی ، خانوارها و حتی تاسیسات تولید دارویی سرچشمه می-گیرند و در نهایت قبل از تخلیه نهایی در محیط طبیعی، به تصفیه خانه‌های فاضلاب (WWTP) می رسند. با این حال، حذف آن‌ها در شبکه‌های تصفیه‌خانه بی‌اثر گزارش شده است (Gulkowska *et al*., 2008; Sui *et al*., 2010). داروها و هورمون‌ها ممکن است پس از جذب و دفع ناقص از بدن، به عنوان زائدات انسانی یا حیوانی وارد محیط شوند یا ممکن است در اثر انتشار مواد زائد پزشکی،

صنعتی، کشاورزی یا خانگی ایجاد شوند (W. C. Li, 2014; Michael *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2009; Taylor and Senac, 2014). در اکوسیستم‌های آب شیرین، سطح داروها می‌تواند از طریق تجزیه بیولوژیکی، جذب رسوبات و تخریب نوری کاهش یابد (Kunkel and Radke, 2011, 2012; Writer *et al.*, 2013; Ying *et al.*, 2013). مطالعات متعددی، حضور این ترکیبات را در زباله‌ها، اکوسیستم‌های آبی یا آب آشامیدنی تایید کرده است (Anquandah *et al.*, 2013; Kuzmanović *et al.*, 2015; Michael *et al.*, 2013; Petrović *et al.*, 2014; Qin *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2009; Tölgyesi *et al.*, 2010; Verlicchi *et al.*, 2015) و نشان می‌دهد آلودگی ممکن است گسترده باشد. در ادامه برخی از نمونه‌های اندازه گیری داروها و استروئیدها در محیط‌های مختلف آبی جهان آورده شده است.

در سال‌های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۱ که در رودخانه‌های شبه جزیره ایبری نمونه‌برداری شد، داروها و محصولات مراقبت شخصی در هر چهار رودخانه شناسایی و نشان داده شد که گروه دارویی و هورمون‌ها با غلظت بیشتری در آب نسبت به محصولات مراقبت شخصی وجود دارد (Kuzmanović *et al.*, 2015). مطالعه ۳۶ PPCP در رودخانه‌های شهری در پکن، چانگژو و شنژن، چین، ۲۸ ترکیب از پنج کلاس مورد مطالعه را کشف کرد. در این مطالعه، آنتی‌بیوتیک‌ها تقریبا نیمی از کل سطح آلاینده‌ها را تشکیل می دهند. ترکیبات با بیشترین غلظت متوسط شامل سولفادیمیتوکسین ، سولپیرید و آتنولول (به ترتیب ۱۶۴ ، ۷۷/۳ و ۵۲/۹ نانوگرم در لیتر) بودند (Wang *et al.*, 2015). یک مطالعه جداگانه در لوزان سوئیس انجام شد، نمونه‌های پساب و آب آشامیدنی خام، برای ۳۷ دارو، چهار هورمون و تعدادی دیگر از ریزآلاینده‌ها مورد بررسی قرار گرفت (Morasch *et al.*, 2010). همه داروها و هورمون‌ها به جز اتینیل استراددیول، حداقل در یک نمونه از فاضلاب یا پساب تصفیه‌خانه فاضلاب یافت شدند. علاوه بر این، ۲۲ دارو در آب آشامیدنی خام تشخیص داده شد. غلظت های پاراستامول، سیپروفلوکساسین و سولفامتوکسازول در آب آشامیدنی خام برابر یا بیشتر از غلظت پیش بینی شده بود، که می‌تواند خطر سمیت محیطی را ایجاد کند (موراش و همکاران ، ۲۰۱۰). این نتایج با یافته‌های سایر محققان که همچنین PPCP را در آب آشامیدنی و فاضلاب در بسیاری از مناطق جهان، مانند کره جنوبی، چین و ایالات متحده آمریکا شناسایی کرده‌اند، مطابقت دارد (Kim *et al.*, 2007; Loraine and Pettigrove, 2006; Oliveira *et al.*, 2015; Qiao *et al.*, 2011). در مطالعه دیگر، هورمون استروئیدی ترکیبات مختل‌کننده غدد درون‌ریز (استروژن‌های طبیعی (۱۷-β-استرادیول)، استرون، استریول، استروژن مصنوعی (۱۷-α-اتینیل استرادیول) ، آندروژن طبیعی (تستوسترون) و پروژسترون طبیعی (پروژسترون)) در فاضلاب، کمی شدند. وجود هورمون‌های استروئیدی در پساب فاضلاب تصفیه شده با لجن فعال با چندین مطالعه قبلی مطابقت دارد که نشان داده است که تصفیه‌خانه فاضلاب منبع قابل توجهی از غدد درون‌ریز هستند. این مطالعه سطح پایه هورمون‌های استروئیدی را در فاضلاب خام، پساب و آب‌های سطحی تعیین کرده است (Manickum and John, 2014). حضور و سرنوشت استرادیول به عنوان شاخص ترکیبات مختل‌کننده غدد درون‌ریز در آب آشامیدنی، آب‌های سطحی و فاضلاب در اهواز ایران، هدف اصلی تحقیقی دیگر است که در آن ۱۷-β-استرادیول در ۳۷/۵ درصد نمونه‌های بدست آمده از آب آشامیدنی و ۶۸/۷۵ درصد از نمونه‌هایی از رودخانه کارون تشخیص داده شد. در فاضلاب خانگی و صنعتی، غلظت ۱۷-β-استرادیول بیشتر از آب‌های آشامیدنی و سطحی تشخیص داد شد (Hassani *et al.*, 2016). در مطالعه درباره حضور داروها در آب‌های سطحی و فاضلاب کوئرناواکا، پایتخت ایالت مورلوس (مکزیکو)، داروهای انتخابی (در مجموع ۳۵) از نمونه‌های آب جمع‌آوری شده با استخراج فاز جامد (SPE)

و با استفاده از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا همراه با طیف سنجی جرمی یونیزاسیون الکترواسپری (HPLC-ESI-MS/MS) تعیین شدند. در مجموع دوازده دارو در نمونه‌های آب مورد آنالیز، پیدا شد. به طور کلی، فراوانترین داروهای موجود در آب‌های سطحی، داروهای ضددرد و ضدالتهاب ناپروکسن (۷۳۲-۴۸۸۰ نانوگرم در لیتر)، استامینوفن (۳۵۴-۴۴۶۰ نانوگرم در لیتر) و دیکلوفناک (۲۵۸-۱۳۹۸ نانوگرم در لیتر) و تنظیم‌کننده لیپید بزافیبرات (۲۱۰۰-۲۸۶ نانوگرم در لیتر) بودند (Rivera-Jaimes *et al*., 2018). در یک مطالعه ۴۹ PPCP در Xiamen، چین بررسی شد. نتایج نشان داد که الگوی طبقات مختلف PPCP در بین نمونه‌های مایع و جامد با NSAIDS متفاوت بوده و در نمونه های مایع بالاترین حضور را دارند در حالی که آنتی بیوتیک ها بیشتر در لجن و مواد معلق وجود دارند (Ashfaq *et al*., 2017). در مطالعه‌ای کارایی و عملکرد تصفیه‌خانه فاضلاب شهری و بیمارستانی به ویژه تصفیه بیولوژیکی در حذف ترکیبات استروژنی از فاضلاب شهری و بیمارستانی در ایران بررسی شد. در این مطالعه، میانگین هورمون موجود در فاضلاب ورودی به تصفیه خانه فاضلاب شهری ۵۸/۸ نانوگرم بر لیتر و میانگین هورمون خروجی از تصفیه خانه ۵/۴ نانوگرم بر لیتر بود (Takdastan *et al*., 2017). در مطالعه حاضر ، ما حضور و میزان ۴ هورمون و ۲ دارو (استریول ، اکولین ، استرون ، اتیلن استرادیول ، سولفامتوکسازول و استامینوفن) را در کانال انتقال پساب، مزارع خاک و محصولات کشاورزی بررسی کردیم.

مواد و روش ها

نمونه برداری

در این پژوهش چهار نوع نمونه انتخاب، جمع آوری و آنالیز شده است. این نمونه ها عبارت بودند از فاضلاب شهری خام، فاضلاب تصفیه شده، خاک و محصولات زراعی (گندم) آبیاری شده با فاضلاب تصفیه شده. نمونه فاضلاب خام برای انجام آزمون‌های کمی و کیفی نهایی از تصفیه‌خانه جنوب تهران برداشت شد. فاضلاب تصفیه شده از محل کانال انتقال خروجی تصفیه‌خانه جنوب تهران، در چندین مرحله، از نقاط مختلف جمع‌آوری شد. نقاط بر این اساس تعیین شدند که تغییرات ناشی از عبور کانال از مجاورت مراکز مسکونی و صنعتی مختلف، و ورود جریان‌های متنوع به کانال و تاثیر آن‌ها بر آلودگی را به صورت تقریبی مشخص سازند. همچنین، نمونه‌های آب، خاک و گیاه مربوط به آزمون های کمی، از منطقه‌ای برداشت شدند که در آن از جریان کانال به منظور آبیاری مزرعه استفاده می‌شود. نمونه خاک به منظور انجام آزمون‌های کمی، در دو نوبت از مزرعه‌ای در قیام‌دشت برداشته شد. نمونه‌برداری از خاک به صورت ترکیبی از دو نقطه به فاصله تقریبی ۸ متر و در دو عمق تقریبی ۰ تا ۲۰ سانتی متر و ۴۰ تا۵۰ سانتی متر انجام شد. مراحل نمونه‌برداری و نگهداری نمونه، مطابق با استاندارد-EPA 1694 به انجام رسید. نمونه گیاه به منظور انجام آزمون-های کمی، در یک نوبت از مزرعه برداشته شد.

نمونه‌های فاضلاب خام و تصفیه شده در ظروف پیرکس تیره رنگ ۱ و ۲/۵ لیتری جمع‌آوری شدند. مجموعاً در هر نوبت نمونه‌برداری، حداقل ۵ لیتر نمونه به منظور آنالیز داروها و محصولات مراقبت شخصی جمع‌آوری شد. به ازای هر لیتر نمونه، ۸۰ میلی‌گرم سدیم تیوسولفات (ChemCenter) افزوده شد تا مزاحمت کلر آزاد احتمالی موجود در آب رفع شود. نمونه‌ها در مجاورت یخ و در دمای کم تر از ۵ درجه سلسیوس به آزمایشگاه منتقل شدند. این نمونه‌ها تا یک هفته در یخچال و دور از نور، بدون تخریب قابل ملاحظه قابل نگهداری هستند. در این پژوهش نمونه‌ها در مدت زمان حداکثر ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از ورود به آزمایشگاه، مورد استخراج قرار گرفتند. هم چنین، نمونه های استخراج شده، در صورت نگهداری به دور از نور محیط، در فریزر و دمای کم تر از ۱۰- درجه سلسیوس، قابلیت نگهداری تا ۴۰ روز را دارا هستند که

در این پژوهش، حداکثر ظرف مدت ۱ هفته (بین ۱ تا ۷ روز) مورد سنجش دستگاهی قرار گرفتند (EPA 1694, 1614).

نمونه‌های خاک در ظروف شیشه‌ای با دهانه بزرگ جمع-آوری شدند. ظروف نمونه با استفاده از فویل آلومینیوم در برابر نور محیط محافظت شدند. این نمونه‌ها در دمای کم تر از ۵ درجه سلسیوس به آزمایشگاه منتقل و در یخچال نگهداری شدند.

نمونه‌های گیاه (گندم) در فویل آلومینیومی جمع‌آوری قرار داده شده و سپس، هر بسته در یک پلاستیک انتقال نمونه، به آزمایشگاه منتقل شد. به این ترتیب، ظروف نمونه با استفاده از فویل آلومینیوم در برابر نور محیط نیز محافظت شدند. این نمونه‌ها در دمای کم‌تر از ۵ درجه سلسیوس به آزمایشگاه منتقل و در یخچال نگهداری شدند.

آماده‌سازی نمونه

داروها و محصولات مراقبت شخصی: در نمونه‌های فاضلاب خام، محلول زیر فیلتر مشابه با فاضلاب تصفیه شده و جامدات باقی‌مانده روی فیلتر مشابه با نمونه‌های جامد در نظر گرفته می‌شود. در نهایت، دو محلول حاصل از استخراج مخلوط شده پس از تصحیح حجم، به عنوان یک نمونه واحد و نماینده فاضلاب خام در نظر گرفته می-شود. در نمونه‌های فاضلاب تصفیه شده، روش استخراج فاز جامد، به دو صورت بر نمونه‌ها اعمال شد. یک بخش از نمونه ها (با توجه به ویژگی اسیدی آلاینده‌ها) از محلول اسیدی با pH معادل ۲ (۰/۵ ±) و بخش دیگر از محلول بازی pH معادل ۱۰ (۰/۵ ±) صورت پذیرفت. جاذب مورد استفاده پلیمر پلی استایرن-دی وینیلیل (Merck، آلمان) بود. استخراج نمونه های خاک، گیاه و جامدات فیلتر شده از فاضلاب خام، استخراج با حلال و التراسونیک بود به این صورت که ۳۰ میلی‌لیتر استونیتریل (Merck، آلمان) به ۵ گرم از نمونه خاک یا گیاه اضافه شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه تحت امواج التراسونیک قرار گرفت. پس از انتقال حلال به یک بالن، ۱۵ میلی لیتر بافر فسفات (LabChem lnc) اضافه شده و pH به مقدار ۲ تنظیم شد و همزن ورتکس برای معلق ساختن ذرات جامد به کار برده شد. مرحله استخراج با ۲۰ و ۱۵ میلی‌لیتر استونیتریل، استفاده از حمام التراسونیک و سانتریفیوژ و افزودن حلال به بالن حجم، تکرار شد. با استفاده از تبخیرکننده روتاری، حجم حلال به حدود ۲۰ تا ۳۰ میلی‌لیتر رسید. سپس ۲۰ میلی‌لیتر آب خالص و ۵۰۰ میلی گرم EDTA (Sigma Aldrich) اضافه و مراحل استخراج فاز جامد، مشابه با نمونه‌های فاضلاب تصفیه شده انجام شد.

هورمون‌های استروئیدی: در نمونه‌های فاضلاب خام، محلول زیر فیلتر مشابه با فاضلاب تصفیه شده و جامدات باقی مانده روی فیلتر مشابه با نمونه‌های جامد در نظر گرفته شد. در نهایت، دو محلول حاصل از استخراج مخلوط شده پس از تصحیح حجم، به عنوان یک نمونه واحد و نماینده فاضلاب خام در نظر گرفته شد. در نمونه-های فاضلاب تصفیه شده، روش استخراج با حلال طبق استاندارد EPA 1698 بر روی نمونه‌ها به انجام رسید. نمونه‌های خاک، گیاه و جامدات فیلتر شده از فاضلاب خام به روش سوکسله استخراج شدند.

آنالیز کیفی و کمی نمونه ها

به منظور شناسایی ترکیبات موجود در فاضلاب تصفیه شده، آنالیز کیفی داروها و محصولات مراقبت شخصی مطابق با استاندارد EPA 1694 و هورمون‌های استروئیدی مطابق با استاندارد EPA 1698 صورت پذیرفت. جزئیات شرایط کروماتوگرافی مایع-طیف سنجی جرمی مضاعف (LC-MS/MS) برای جداسازی و شناسایی آنالیت‌ها در استانداردها وجود دارد و اینجا به اختصار آورده شده است. جداسازی کروماتوگرافی با استفاده از یک ستون Waters Xtera C18 با اندازه ذرات ۳/۵ میکرومتر (۱۰۰×۲/۱ میلی‌متر i.d) انجام شد. دمای آون ستون و نمونه‌بردار به ترتیب ۴۰ و ۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد، در حالی که

حجم تزریق ۱۵ میکرولیتر بود. فاز متحرک با سرعت جریان ۰/۱۵ تا ۰/۳۰ میلی‌لیتر در دقیقه، مخلوطی از ۹۵ درصد (الف) آب (۰/۳ درصد فرمیک اسید و ۰/۱ درصد آمونیوم فرمات در آب HPLC)، ۵ درصد (ب) استونیتریل و متانول (۱:۱) بود. پس از شناسایی آلاینده‌های موجود در فاضلاب تصفیه شده، چهار دسته نمونه شامل فاضلاب تصفیه شده، فاضلاب خام، خاک و گیاه (گندم) برای تعیین مقدار آلاینده‌های مشاهده شده، مورد آنالیز کمی قرار گرفتند. به این منظور، ترکیبات استاندارد خالص آلاینده‌های مشاهده شده خریداری شد و پس از انجام مراحل اعتبار بخشی و تضمین/کنترل کیفیت، نمونه-برداری و آنالیز کمی آلاینده‌ها در چهار نوع نمونه به انجام رسید.

نمونه‌های کنترل و شاهد در این مطالعه عبارتند از: محلول استاندارد آنالیت‌ها، آب آزمایشگاهی و نمونه‌های واقعی اسپایک شده، شاهدهای روش، دستگاهی و تجزیه. به منظور اطمینان از پایداری حساسیت روش آنالیز، به صورت متناوب، محلول های استاندارد آنالیت های هدف (Sigma Aldrich)، مورد سنجش قرار گرفتند. به این ترتیب که به ازای هر ۵ نمونه استخراج و آنالیز شده، یک نمونه استاندارد خالص مستقیماً به دستگاه تزریق شده نتایج آن با کالیبراسیون مستقیم اولیه مقایسه می‌شد.

شاهد روش: به ازای هر روز کاری و همراه با نمونه‌های واقعی و واقعی اسپایک شده، یک نمونه شاهد (آب خالص، یا خاک عاری از آلاینده های هدف، بسته به نوع آنالیز های در حال انجام) به طور کامل آماده سازی، استخراج و آنالیز می شد تا از عدم انتقال آلودگی از محیط و تجهیزات آزمایشگاه به نمونه ها و یا انتقال آلودگی بین نمونه ها اطمینان حاصل شود.

شاهد دستگاهی: بین هر دو نمونه استاندارد یا نمونه واقعی که حاوی آنالیت‌های هدف بودند، یک حجم معین (۵۰ میکرولیتر) از حلال خالص به دستگاه LC-MS/MS تزریق می‌شد تا هر گونه انتقال آلودگی از نمونه‌ها به دستگاه و بروز خطا در نتایج آنالیز کمی یا کیفی بعدی، مشخص شود.

شاهد تجهیزات: به ازای هر روز نمونه برداری و به ازای هر نوع نمونه (فاضلاب تصفیه شده و خاک)، یک شاهد تجهیزات تهیه شد. به این ترتیب که پس از نمونه برداری از خاک یا فاضلاب تصفیه شده در یک نقطه و پیش از نمونه برداری بعدی، تجهیزات مورد استفاده، سه بار با آب (آشامیدنی) شسته شده و سه بار با آب مقطر آبکشی می شدند. آب مقطر مورد استفاده در آخرین (سومین) آبکشی، در ظرف نمونه جمع آوری شده به آزمایشگاه منتقل می شد. این نوع نمونه ها، همانند یک نمونه ی واقعی مورد آماده سازی، استخراج و آنالیز قرار می گرفتند تا از انتقال آلودگی از یک نمونه به نمونه دیگر اطمینان حاصل شود.

نتایج و بحث

نتایج آنالیز کیفی

آنالیز کیفی در سه نوبت و به عنوان مقدمه‌ای بر آنالیزهای کمی به انجام رسید. مراحل تجربی این آنالیزها در بخش ۲-۲ ارائه شده است. جداول ۱ و ۲ خلاصه نتایج را نمایش می‌دهند. مقایسه نتایج کامل آزمون‌های کیفی (که به منظور اجتناب از طولانی شدن متن در این جا ارائه نشده-اند) نشان داد که برخی از آلاینده‌ها از جمله استریول و استامینوفن در تمام نمونه‌ها و در تمام نوبت‌های نمونه-برداری و آنالیز قابل مشاهده‌اند. از سوی دیگر، ترکیباتی همچون استرون در تمامی نوبت‌های نمونه‌برداری (به منظور آنالیز کیفی) قابل مشاهده‌اند اما فقط در برخی از نقاط غلظت قابل آشکارسازی دارند. دسته سوم، آلاینده-هایی (کتوپروفن و بزافیبرات) بودند که فقط در یک نوبت (زمانی) نمونه‌برداری و در برخی نقاط مشاهده شدند. به عنوان نتیجه این مرحله از پژوهش، داروهای استامینوفن و سولفامتوکسازول و هورمون‌های استروییدی اکویلین، استرون، استریول و اتنیل استرادیول، برای مراحل بعدی آنالیز (تعیین مقدار در انواع نمونه‌ها) در نظر گرفته شدند.

جدول ۱- نتایج آنالیزهای کیفی از دسته هورمون‌های استرواییدی
Table 1. Results of qualitative analyzes of steroid hormones

نقطه نمونه برداری Sampling points	اکویلین Aquiline	استرون Estrone	استریول Estriol	اتنیل استرادیول Ethynyl estradiol
خروجی تصفیه خانه WWTPE	+	-	+	-
قیام‌دشت GD	+	-	+	+
پاک‌دشت PD	+	+	+	-

جدول ۲- نتایج آنالیزهای کیفی از دسته آلاینده‌های دارویی و محصولات مراقبت شخصی
Table 2. Results of qualitative analyzes of pharmaceutical and personal care products

نوبت نمونه برداری Sampling turn	نقطه نمونه برداری Sampling point	استامینوفن Acetaminophen	سولفا متوکسازول Sulfamethoxazole	کتوپروفن Ketoprofen	بزافیبرات Bezafibrate
۱	خروجی تصفیه خانه WWTPE	+	+	-	-
	قیام‌دشت GD	+	+	-	-
	پاک‌دشت PD	+	+	-	-
۲	خروجی تصفیه خانه WWTPE	+	+	-	-
	قیام‌دشت GD	+	+	+	+
	پاک‌دشت PD	+	+	-	-
۳	خروجی تصفیه خانه WWTPE	+	+	-	-
	قیام‌دشت GD	+	+	+	+
	پاک‌دشت PD	+	+	-	-

تضمین کیفیت و کنترل کیفیت

کالیبراسیون و حساسیت

دو نوع منحنی یا تابع کالیبراسیون برای آنالیت‌های هدف محاسبه شد. نوع اول، تزریق محلول‌های استاندارد و به منظور ارزیابی حساسیت و دقت روش و همچنین محاسبه صحت یا ریکاوری استخراج‌ها. نوع دوم کالیبراسیون از طریق افزایش استاندارد و در بافت اصلی نمونه ها ایجاد شد. محدوده‌های کالیبراسیون در جدول ۳ آورده شده است. در هر دو مورد کالیبراسیون، ضریب تعیین تابع ها یا R^2 بیشتر از ۰/۹۹ به دست آمد. همچنین، حساسیت روش، به صورت حد تشخیص (LOD) و حدتعیین مقدار (LOQ) بر اساس نسبت سیگنال به نویز به ترتیب ۳ و ۱۰ برابر محاسبه شد. این مقادیر در جدول‌های ۳ و ۴ ارائه شده است. برای رسم کالیبراسیون و تعیین پارامترهای حساسیت، در مورد نمونه گیاهی (گندم)، از مخلوط ساقه و سنبله گندم استفاده شد. به عبارت دیگر، تمام گیاه همزمان آسیاب شده، مورد فرایند استخراج و آنالیز قرار گرفتند.

جدول ۳- نتایج کالیبراسیون و حساسیت در نمونه های مختلف

Table 3. Calibration and sensitivity results in different samples

		استامینوفن Acetaminophen	سولفامتوکسازول Sulfamethoxazole	اکویلین Aquiline	استرون Estrone	استریول Estriol	اتنیل استرادیول Ethynyl estradiol
گندم Wheat	محدوده کالیبراسیون Calibration range (µg/g)	10-10000	10-10000	10-10000	10-10000	10-10000	10-10000
	ضریب تعیین R^2	0.9922	0.9990	0.9908	0.9942	0.9912	0.9933
	حد تشخیص LOD (µg/g)	10	5	3	8	4	4
	حد تعیین مقدار LOQ (µg/g)	32	17	10	26	14	16
خاک Soil	محدوده کالیبراسیون Calibration range (µg/g)	10-10000	10-10000	10-10000	10-10000	10-10000	10-10000
	ضریب تعیین R^2	0.9918	0.9923	0.9931	0.9961	0.9949	0.9938
	حد تشخیص LOD(µg/g)	9	6	5	9	9	3
	حد تعیین مقدار LOQ (µg/g)	30	20	17	30	30	10
فاضلاب خام Raw sewage	محدوده کالیبراسیون Calibration range (µg/L)	0.1-100	0.1-100	0.1-100	0.1-100	0.1-100	0.1-100
	ضریب تعیین R^2	0.9912	0.9950	0.9902	0.9928	0.9939	0.9909
	حد تشخیص LOD (ng/L)	36	30	24	26	19	27
	حد تعیین مقدار LOQ (ng/L)	110	100	80	86	65	88
فاضلاب تصفیه شده Treated wastewater	محدوده کالیبراسیون Calibration range (ng/L)	10-10000	10-10000	10-10000	10-10000	10-10000	10-10000
	ضریب تعیین R^2	0.9933	0.9992	0.9971	0.9937	0.9960	0.9908
	حد تشخیص LOD (ng/L)	3	3	2	4	3	7
	حد تعیین مقدار LOQ (ng/L)	10	10	7	13	10	23

جدول ۴- نتایج دقت و ریکاوری در نمونه های مختلف

Table 4. Accuracy and recovery results in different samples

		استامینوفن Acetaminophen	سولفامتوکسازول Sulfamethoxazole	اکویلین Aquiline	استرون Estrone	استریول Estriol	اتنیل استرادیول Ethynyl estradiol
فاضلاب خام	دقت (٪) تجربی*	16	21	16	18	22	16
Raw sewage	ریکاوری (٪)	81	111	71	99	103	116
فاضلاب تصفیه شده Treated wastewater	دقت (٪) تجربی*	14	13	13	16	19	13
	ریکاوری (٪)	85	103	78	91	96	110
خاک	دقت (٪) تجربی*	9	14	11	8	11	10
Soil	ریکاوری (٪)	78	98	88	73	90	101
سنبله گندم	دقت (٪) تجربی*	16	10	14	15	19	18
Wheat spike	ریکاوری (٪)	83	94	86	101	90	89

ادامه جدول ۴- نتایج دقت و ریکاوری در نمونه های مختلف

Table 4. Cont. Accuracy and recovery results in different samples

		استامینوفن Acetaminophen	سولفامتوکسازول Sulfamethoxazole	اکویلین Aquiline	استرون Estrone	استریول Estriol	اتنیل استرادیول Ethynyl estradiol
ساقه گندم	دقت (٪) تجربی*	13	11	18	13	16	14
Wheat stalks	ریکاوری (٪)	85	103	78	91	96	110

*. انحراف استاندارد نسبی در سه تکرار

Relative standard deviation in triplicate

نتایج آنالیز کمی

به طور خلاصه، تمام آنالیت‌ها در فاضلاب خام مشاهده شدند. همچنین، به طور کلی مشخص شد که در فرایند تصفیه فاضلاب، بخش اعظم آلاینده‌های مورد بررسی از جریان فاضلاب حذف می‌شوند. لازم به ذکر است که تعیین بازده حذف آلاینده‌های مورد بررسی در فرایند تصفیه مد نظر بوده است و محاسبه ارقام دقیق مربوط به حذف و کارایی تصفیه‌خانه، مستلزم انجام پژوهشی جداگانه و در نظر گرفتن پارامترهای مختلف، از جمله تغییرات مقدار داروها در فصول مختلف و همچنین، حجم فاضلاب و تغییرات احتمالی فرایند تصفیه است. از سوی دیگر نمونه برداری‌های انجام شده در این پژوهش، با هدف تخمین کارایی طراحی نشده‌اند. نتایج نهایی حاصل از انجام آنالیزهای کمی در جدول ۵ خلاصه شده است.

جدول۵. نتایج آنالیزهای کمی در بافت‌های مورد مطالعه

Table 5. Results of quantitative analyzes in the studied tissues

	استامینوفن Acetaminophen	سولفامتوکسازول Sulfamethoxazole	اکویلین Aquiline	استرون Estrone	استریول Estriol	اتنیل استرادیول Ethynyl estradiol
فاضلاب خام Raw sewage (µg/L)	175	84	44	59	18	23
فاضلاب تصفیه شده در دو نقطه Treated wastewater in tow points (ng/L)	9270	780	277	255	152	129
	632	499	nd	nd	755	nd
خاک Soil (ng/L)	nd	nd	nd	35	nd	nd
گندم Wheat (ng/L)	561	24	14	50	19	nd

*no detect

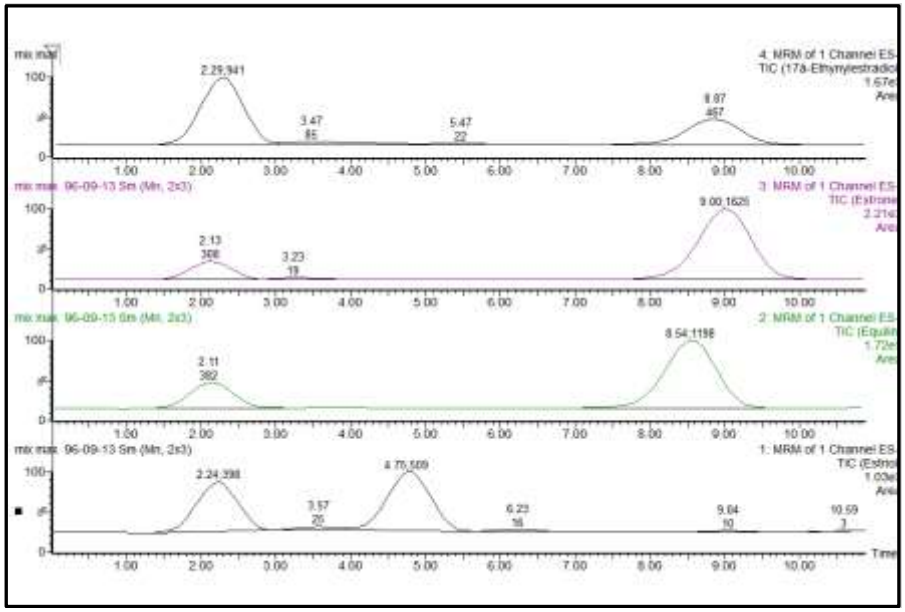
استامینوفن و سولفامتوکسازول: استامینوفن یکی از پرمصرف ترین داروهایی است که در سطح جهان مصرف می‌شود. در نتیجه، موارد بسیار زیادی از حضور این ترکیب در منابع طبیعی و جریان‌های خروجی فاضلاب گزارش شده است (Antunes *et al*., 2013; Bedner and MacCrehan, 2006; Huber *et al*., 2009; Kolpin *et al*., 2002; J. Li *et al*., 2014; Ternes, 1998) مقدار مشاهده شده در این گزارش در فاضلاب تصفیه شده، به ویژه در نمونه ۱ که در نزدیکی خروجی تصفیه خانه فاضلاب شهری جنوب تهران برداشت شده است (۹/۳ µg/L)، کاملاً مشابه و قابل مقایسه با منابع بررسی شده است. با این حال، با توجه به برداشت و ورود آب در جریان کانال و در فاصله بین نمونه ۱ تا ۶، تغییر غلظت معنی-داری مشاهده شد. از سوی دیگر مقدار مشاهده شده استامینوفن در فاضلاب خام، ۱۷۵ µg/L بود که با توجه موارد کاربرد گسترده و رایج و مصرف بسیار زیاد این دارو، قابل انتظار بود. با این حال بخش اعظم (در حدود ۹۵ درصد) استامینوفن وارد شده به تصفیه خانه، طی مراحل

تصفیه از جریان خروجی حذف می شود. در این پژوهش غلظت قابل توجهی از استامینوفن در نمونه‌های گیاهی مشاهده شد (۵۶۱ ng/g)، که این مقدار تنها مربوط به استامینوفن متابولیزه نشده است و با توجه به تحت کنترل نبودن آبیاری و رشد گیاه، تشخیص و محاسبه مقدار کل استامینوفن جذب شده امکان پذیر نبود. با این حال، نتایج به دست‌آمده نشان‌دهنده جذب مقدار قابل توجهی از داروی موجود در فاضلاب تصفیه شده توسط گیاه (گندم) بود. نکته مهم، عدم مشاهده استامینوفن در خاک بود. در واقع با توجه به حضور و مشاهده ی استامینوفن هم در فاضلاب تصفیه شده (مورد استفاده در آبیاری) و هم در نمونه‌های گیاه، انتظار می رفت که این دارو در نمونه‌های خاک نیز مشاهده شود. با این حال، همان گونه که در جدول ۵ نیز مشخص است، مقدار استامینوفن موجود در خاک، بسیار کم و غیرقابل تشخیص بود. دو دلیل برای این موضوع می توان بیان داشت. اول، انحلال پذیری بسیار بالای آن در آب است که سبب می‌شود تا همراه با آب در خاک نفوذ کرده و تحت تاثیر آبیاری، در خاک تجمع نیابد. دوم، واکنش‌پذیری بیوشیمیایی این دارو و تخریب و تبدیل آن به سایر ترکیبات است که به ویژه در حضور میکروارگانیزم‌های خاک، مشاهده شده است.

سولفامتوکسازول، یکی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج و بسیار پرکاربرد است و تشخیص حضور آن در فاضلاب منطقی به نظر می‌رسد. در سایر نقاط جهان نیز مطالعات زیادی بر روی تشخیص و تعیین مقدار این دارو انجام شده است (Azanu *et al.*, 2018; Chitescu *et al.*, 2013; García-Galán *et al.*, 2011). اصلی‌ترین آسیبی که بواسطه حضور سولفامتوکسازول در طبیعت و به ویژه محیط زیست انسانی ایجاد می‌شود، پدید آمدن مقاومت دارویی در میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا و ایجاد چرخه مخاطره-آمیزی از تشدید بیماری‌ها و افزایش آلودگی محیط زیست است. در مورد نمونه‌های خاک، توجیه عدم مشاهده سولفامتوکسازول مشابه با استامینوفن است و انتقال سولفامتوکسازول از آب (آلوده به آلاینده‌های دارویی) به ذرات خاک بسیار کم و به سختی صورت می‌پذیرد (Shen *et al.*, 2018). در نتیجه، از یک سو مشاهده این آلاینده‌ها در خاک (مگر در موارد بسیار خاص و آلودگی بسیار شدید) به ندرت مشاهده می‌شود و از سوی دیگر احتمال جذب توسط گیاه و همچنین، نفوذ به منابع آب زیرزمینی افزایش می‌یابد.

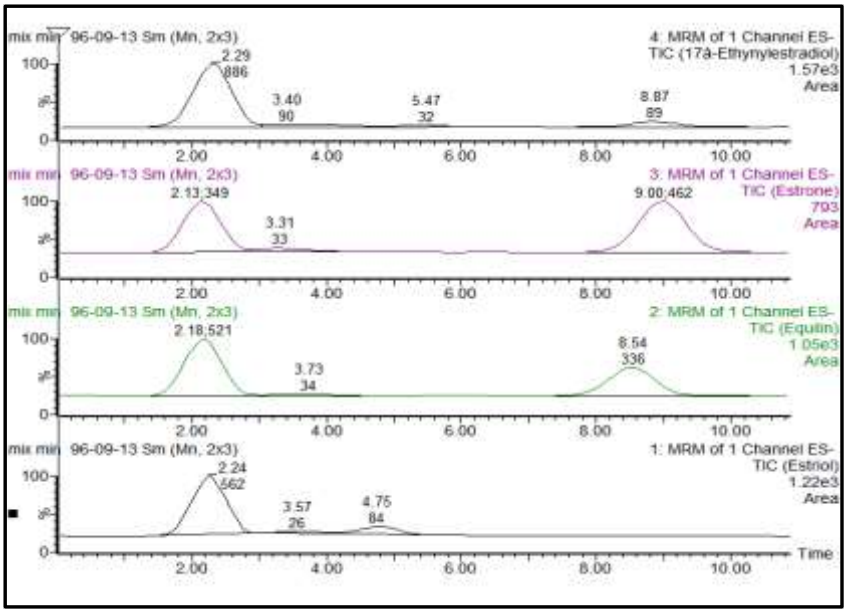
هورمون‌های استروئیدی: مهم‌ترین منشاء تولید و ورود استرورییدها به محیط، مراکز سکونت انسان‌ها و فاضلاب‌های شهری است. تشخیص حضور و تعیین مقدار این دسته از آلاینده در سال‌های اخیر اهمیت بسیار زیادی یافته است و مقالات متعددی در این ارتباط منتشر شده است. نکته بسیار مهم در ارتباط با آلودگی محیط زیست طبیعی و انسانی با استرورییدها این است که مخاطرات و اثرات سوء این ترکیبات حتی در غلظت‌هایی در حد نانوگرم در لیتر مشاهده می‌شود. از جمله این آثار و مخاطرات می‌توان به اختلال در عملکرد غدد درون‌ریز (Robinson *et al.*, 2003) و حتی ایجاد مسمومیت (Yan *et al.*, 2012) اشاره کرد. منابع متعددی در این ارتباط منتشر شده‌اند که برای اجتناب از طولانی شدن مطلب، می‌توان به مقاله مروری (Adeel *et al.*, 2017) اشاره کرد. نتایج این پژوهش نیز حضور ۴ استرورییدبسیار مهم را هم در فاضلاب خام و هم در جریان خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری نشان داد (شکل ۱ و ۲). با این حال، ارزیابی دو نقطه متفاوت نمونه-برداری از جریان کانال فاضلاب تصفیه شده، و مقایسه نتایج کمی به دست آمده، مشخصاً نشانه تغییرات قابل توجه در مسیر این کانال بود. اولین نکته، کاهش غلظت تمام هورمون‌ها و افزایش غلظت استریول بود. با توجه به ارتباط این هورمون با بارداری و دفع مقادیر قابل توجه این هورمون در زنان باردار، ورود پساب بیمارستانی دارای مقادیر زیادی از استریول به جریان کانال می‌تواند دلیل این امر باشد. با در نظر گرفتن انحلال‌پذیری نسبی این ترکیبات در آب، بویژه در غلظت‌های بسیار کم، مقدار جذب شده و قابل

مشاهده در خاک بسیار کم خواهد بود. نتایج به دست آمده در این پژوهش، تا حد زیادی با منابع و گزارش‌های موجود مطابقت دارد (Ben *et al*., 2018; Ting and Praveena, 2017; Yu *et al*., 2004). گزارش‌های موجود در مورد جذب هورمون‌های استرویيدی توسط گیاهان، نشان‌دهنده بالابودن تمایل تجمع زیستی این ترکیبات در گیاهان است. بسته به نوع گیاه، نوع استرویید، غلظت موجود در آب مورد استفاده برای آبیاری و همچنین، زمان تماس، غلظت های بین ۲۱ تا ۵۹۰ نانوگرم در گرم از استرویيدها در گیاهان مشاهده شده است (Zheng *et al*., 2014).



شکل ۱- کروماتوگرام‌های حاصل از آنالیز نمونه فاضلاب خام و پیک‌های ناشی از حضور استرویيدها، به ترتیب از بالا به پایین: اتینیل استرادیول، استرون، اکویلین و استریول

Fig. 1- Chromatograms obtained from the analysis of raw sewage samples and peaks caused by the presence of steroids, from top to bottom: ethinyl estradiol, estrone, equilin and estriol.



شکل۲- کروماتوگرام‌های حاصل از آنالیز نمونه فاضلاب تصفیه شده جمع‌آوری شده از خروجی تصفیه‌خانه و پیک‌های ناشی از حضور استرویيدها، به ترتیب از بالا به پایین: اتینیل استرادیول، استرون، اکویلین و استریول

Fig. 2- Chromatograms obtained from the analysis of the treated wastewater sample collected from the outlet of the treatment plant and the peaks caused by the presence of steroids, from top to bottom: ethinyl estradiol, estrone, equilin and estriol.

نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد که بسیاری از آلاینده‌های نوظهور در جریان کانال انتقال آب قابل مشاهده هستند. با در نظر داشتن غلظت بسیار بالای استامینوفن و همچنین، واکنش‌پذیری شدید آن در محیط‌های مختلف، این دارو یک تهدید مهم به شمار می‌رود. آنتی‌بیوتیک سولفامتوکسازول، هم در نمونه‌های فاضلاب خام و تصفیه شده و هم در نمونه‌های گیاهی، مشاهده شد. غلظت مشاهده شده این دارو (در حد ng/L) اثرات منفی موثری بر عوامل بیماری‌زا ندارد اما می‌تواند سبب ایجاد مقاومت دارویی در آن‌ها شود. یکی از نتایج حاوی اهمیت این پژوهش نشان دادن این موضوع بود که آلاینده‌های مورد بررسی، بدون جذب سطحی قابل تشخیص، همراه با آب در خاک نفوذ کرده و احتمال آلودگی آب‌های زیرزمینی را به شدت افزایش می‌دهند. برخلاف خاک، گیاهان و محصولات زراعی قادر به جذب آلاینده‌های دارویی مشاهده شده هستند. با توجه به مقطعی و وابسته به زمان بودن مصرف بسیاری از داروها، امکان حضور سایر داروها نیز در جریان خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب و تغییر الگوی حضور و مقدار آن‌ها در طول مسیر وجود دارد.

از شش هورمون استرواییدی که در طی آنالیزهای کیفی مشاهده شدند، ۴ استروییدِ اکویلین، استرون، استریول و اتینیل استرادیول، حضور پیوسته‌ای داشتند. این ۴ استروییدِ هم در فاضلاب شهری خام (که منشاء اصلی ورود آن ها به شمار می‌رود) و هم در فاضلاب تصفیه شده مشاهده شدند. مشابه با داروها، هورمون‌های استرواییدی نیز به مقدار بسیار کمی در خاک جذب می‌شوند و بخش عمده استرواییدهای موجود در آب آلوده مورد استفاده در آبیاری، همراه با آب در خاک نفوذ می‌کند. از آنجایی که گیاهان قادر به جذب این هورمون‌ها هستند، محصولات زراعی آبیاری شده با آب آلوده به هورمون های استرواییدی، مقدار قابل توجهی از این ترکیبات را با خود منتقل می کنند.

نکته نهایی این که حضور و مقدار آلاینده‌های مورد بررسی در کانال انتقال فاضلاب تصفیه شده، به شدت وابسته به زمان و مکان است. در واقع، اختلاط و ترقیق و ورود منابع جدید آلودگی در مسیر کانال، سبب تغییرات معنی دار در غلظت و نوع آلاینده‌های مشاهده شده در نمونه‌ها می‌شود. در هر دو مورد داروها و هورمون های استرواییدی، تصفیه-خانه فاضلاب شهری کارایی بسیار مطلوبی دارد و به جز در مورد استامینوفن با بازده تقریبی ۹۵ درصد، برای سایر آلاینده های مطالعه شده، بیش از ۹۹ درصد کارایی حذف مشاهده شد. با این حال، نقاط ورود آلودگی متعددی در مسیر کانال انتقال فاضلاب تصفیه شده و یکی از منابع مهم تامین آب در دشت ورامین وجود دارد که سبب آلودگی جریان می شوند. در نتیجه، با توجه مخاطرات ناشی از مقادیر بسیار کم آلاینده ها (بویژه هورمون‌های استرواییدی و آنتی‌بیوتیک‌ها)، این کانال، کماکان یک منبع آلودگی محیط و ورود آلاینده‌های خطرناک به آب زیرزمینی و محصولات کشاورزی محسوب می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از حمایت مالی شرکت آب منطقه‌ای ایران و هم چنین از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید بهشتی قدردانی می‌نمایند.

منابع

Anquandah, G.A.K., Sharma, V.K., Panditi, V.R., Gardinali, P.R., Kim, H. and Oturan, M.A., 2013. Ferrate (VI) oxidation of propranolol: kinetics and products. Chemosphere. 91(1), 105–109.

Adeel, M., Song, X., Wang, Y., Francis, D. and Yang, Y., 2017. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review. Environment International. 99, 107–119.

Antunes, S.C., Freitas, R., Figueira, E., Gonçalves, F. and Nunes, B., 2013. Biochemical effects of acetaminophen in aquatic species: edible clams Venerupis decussata and Venerupis philippinarum. Environmental Science and Pollution Research. 20(9), 6658–6666.

Arpin-Pont, L., Bueno, M.J.M., Gomez, E. and Fenet, H., 2016. Occurrence of PPCPs in the marine environment: a review. Environmental Science and Pollution Research. 23(6), 4978–4991.

Ashfaq, M., Li, Y., Wang, Y., Chen, W., Wang, H., Chen, X., Wu, W., Huang, Z., Yu, C. P. and Sun, Q., 2017. Occurrence, fate, and mass balance of different classes of pharmaceuticals and personal care products in an anaerobic-anoxic-oxic wastewater treatment plant in Xiamen, China. Water Research. 123, 655–667.

Aymerich, I., Acuña, V., Barceló, D., García, M.J., Petrovic, M., Poch, M., Rodriguez-Mozaz, S., Rodríguez-Roda, I., Sabater, S. and von Schiller, D., 2016. Attenuation of pharmaceuticals and their transformation products in a wastewater treatment plant and its receiving river ecosystem. Water Research. 100, 126–136.

Azanu, D., Styrishave, B., Darko, G., Weisser, J.J. and Abaidoo, R.C., 2018. Occurrence and risk assessment of antibiotics in water and lettuce in Ghana. Science of the Total Environment. 622, 293–305.

Bedner, M. and MacCrehan, W.A., 2006. Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1, 4-benzoquinone and N-acetyl-p-benzoquinone imine. Environmental Science and Technology. 40(2), 516–522.

Behera, S. K., Kim, H. W., Oh, J.-E., and Park, H.-S., 2011. Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. Science of the Total Environment. 409(20), 4351–4360.

Ben, W., Zhu, B., Yuan, X., Zhang, Y., Yang, M. and Qiang, Z., 2018. Occurrence, removal and risk of organic micropollutants in wastewater treatment plants across China: Comparison of wastewater treatment processes. Water Research. 130, 38–46.

Chimchirian, R. F., Suri, R. P. S. and Fu, H., 2007. Free synthetic and natural estrogen hormones in influent and effluent of three municipal wastewater treatment plants. Water Environment Research. 79(9), 969–974.

Chitescu, C. L., Nicolau, A. I. and Stolker, A. A. M., 2013. Uptake of oxytetracycline, sulfamethoxazole and ketoconazole from fertilised soils by plants. Food Additives and Contaminants: Part A. 30(6), 1138–1146.

García-Galán, M. J., Díaz-Cruz, M. S. and Barceló, D., 2011. Occurrence of sulfonamide residues along the Ebro river basin: removal in wastewater treatment plants and environmental impact assessment. Environment International. 37(2), 462–473.

Gulkowska, A., Leung, H.W., So, M.K., Taniyasu, S., Yamashita, N., Yeung, L.W.Y., Richardson, B. J., Lei, A.P., Giesy, J.P. and Lam, P.K.S., 2008. Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Shenzhen, China. Water Research. 42(1–2), 395–403.

Hassani, G., Babaei, A.A., Takdastan, A., Shirmardi, M., Yousefian, F. and Mohammadi, M.J., 2016. Occurrence and fate of 17β-estradiol in water resources and wastewater in Ahvaz, Iran. Global Nest Journal. 18(4), 855–866.

Huber, C., Bartha, B., Harpaintner, R. and Schröder, P., 2009. Metabolism of acetaminophen

(paracetamol) in plants—two independent pathways result in the formation of a glutathione and a glucose conjugate. Environmental Science and Pollution Research. 16(2), 206–213.

Kim, S.D., Cho, J., Kim, I.S., Vanderford, B.J., and Snyder, S.A., 2007. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. Water Research. 41(5), 1013–1021.

Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B. and Buxton, H.T., 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999− 2000: A national reconnaissance. Environmental Science and Technology. 36(6), 1202–1211.

Kunkel, U. and Radke, M., 2011. Reactive tracer test to evaluate the fate of pharmaceuticals in rivers. Environmental Science and Technology. 45(15), 6296–6302.

Kunkel, U. and Radke, M., 2012. Fate of pharmaceuticals in rivers: deriving a benchmark dataset at favorable attenuation conditions. Water Research. 46(17), 5551–5565.

Kuzmanović, M., Ginebreda, A., Petrović, M. and Barceló, D., 2015. Risk assessment based prioritization of 200 organic micropollutants in 4 Iberian rivers. Science of the Total Environment. 503, 289–299.

Li, J., Ye, Q. and Gan, J., 2014. Degradation and transformation products of acetaminophen in soil. Water Research. 49, 44–52.

Li, W.C., 2014. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. Environmental Pollution. 187, 193–201.

Lin, A.Y. C., Yu, T. H. and Lin, C. F., 2008. Pharmaceutical contamination in residential, industrial, and agricultural waste streams: risk to aqueous environments in Taiwan. Chemosphere. 74(1), 131–141.

Loraine, G.A. and Pettigrove, M.E., 2006. Seasonal variations in concentrations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and reclaimed wastewater in southern California. Environmental Science and Technology. 40(3), 687–695.

Manickum, T. and John, W., 2014. Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disrupting compounds at the wastewater treatment works in Pietermaritzburg (South Africa). Science of the Total Environment. 468, 584–597.

Michael, I., Rizzo, L., McArdell, C. S., Manaia, C. M., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C. and Fatta-Kassinos, D., 2013. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: a review. Water Research. 47(3), 957–995.

Morasch, B., Bonvin, F., Reiser, H., Grandjean, D., De Alencastro, L.F., Perazzolo, C., Chèvre, N. and Kohn, T., 2010. Occurrence and fate of micropollutants in the Vidy Bay of Lake Geneva, Switzerland. Part II: micropollutant removal between wastewater and raw drinking water. Environmental Toxicology and Chemistry. 29(8), 1658–1668.

Oliveira, T.S., Murphy, M., Mendola, N., Wong, V., Carlson, D. and Waring, L., 2015. Characterization of pharmaceuticals and personal care products in hospital effluent and waste water influent/effluent by direct-injection LC-MS-MS. Science of the Total Environment. 518, 459–478.

Pessoa, G.P., de Souza, N.C., Vidal, C.B., Alves, J.A.C., Firmino, P.I.M., Nascimento, R.F. and dos

Santos, A.B., 2014. Occurrence and removal of estrogens in Brazilian wastewater treatment plants. Science of the Total Environment. 490, 288–295.

Petrović, M., Škrbić, B., Živančev, J., Ferrando-Climent, L. and Barcelo, D., 2014. Determination of 81 pharmaceutical drugs by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry with hybrid triple quadrupole–linear ion trap in different types of water in Serbia. Science of the Total Environment. 468, 415–428.

Qiao, T., Yu, Z., Zhang, X., and Au, D. W. T., 2011. Occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products in drinking water in southern China. Journal of Environmental Monitoring. 13(11), 3097–3103.

Qin, Q., Chen, X., and Zhuang, J., 2015. The fate and impact of pharmaceuticals and personal care products in agricultural soils irrigated with reclaimed water. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 45(13), 1379–1408.

Rivera-Jaimes, J. A., Postigo, C., Melgoza-Alemán, R. M., Aceña, J., Barceló, D., and de Alda, M. L., 2018. Study of pharmaceuticals in surface and wastewater from Cuernavaca, Morelos, Mexico: occurrence and environmental risk assessment. Science of the Total Environment. 613, 1263–1274.

Robinson, C. D., Brown, E., Craft, J. A., Davies, I. M., Moffat, C. F., Pirie, D., Robertson, F., Stagg, R. M., and Struthers, S., 2003. Effects of sewage effluent and ethynyl oestradiol upon molecular markers of oestrogenic exposure, maturation and reproductive success in the sand goby (Pomatoschistus minutus, Pallas). Aquatic Toxicology. 62(2), 119–134.

Sharma, V. K., Anquandah, G. A. K., and Nesnas, N., 2009. Kinetics of the oxidation of endocrine disruptor nonylphenol by ferrate (VI). Environmental Chemistry Letters. 7(2), 115–119.

Shen, G., Zhang, Y., Hu, S., Zhang, H., Yuan, Z., and Zhang, W., 2018. Adsorption and degradation of sulfadiazine and sulfamethoxazole in an agricultural soil system under an anaerobic condition: Kinetics and environmental risks. Chemosphere. 194, 266–274.

Sui, Q., Huang, J., Deng, S., Yu, G., and Fan, Q., 2010. Occurrence and removal of pharmaceuticals, caffeine and DEET in wastewater treatment plants of Beijing, China. Water Research. 44(2), 417–426.

Takdastan, A., Nazarzadeh, A., Orouji, N., Javanmardi, P., 2017. Investigating the efficiency and performance of urban and hospital wastewater treatment plants in removing estrogenic compounds from wastewater. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences (University Letter). Volume 26, No. 139, pages 103 to 110.

Taylor, D., and Senac, T., 2014. Human pharmaceutical products in the environment–the “problem” in perspective. Chemosphere. 115, 95–99.

Ternes, T. A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. Water Research. 32(11), 3245–3260.

Ting, Y. F., and Praveena, S. M., 2017. Sources, mechanisms, and fate of steroid estrogens in wastewater treatment plants: a mini review. Environmental Monitoring and Assessment. 189(4), 178.

Tölgyesi, Á., Verebey, Z., Sharma, V. K., Kovacsics, L., and Fekete, J., 2010. Simultaneous determination of corticosteroids, androgens, and progesterone in river water by liquid

chromatography–tandem mass spectrometry. Chemosphere. 78(8), 972–979.

Verlicchi, P., Al Aukidy, M., and Zambello, E., 2015. What have we learned from worldwide experiences on the management and treatment of hospital effluent?—An overview and a discussion on perspectives. Science of the Total Environment. 514, 467–491.

Vymazal, J., Březinová, T., and Koželuh, M., 2015. Occurrence and removal of estrogens, progesterone and testosterone in three constructed wetlands treating municipal sewage in the Czech Republic. Science of the Total Environment. 536, 625–631.

Wang, Z., Zhang, X.-H., Huang, Y., and Wang, H., 2015. Comprehensive evaluation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in typical highly urbanized regions across China. Environmental Pollution. 204, 223–232.

Writer, J. H., Antweiler, R. C., Ferrer, I., Ryan, J. N., and Thurman, E. M., 2013. In-stream attenuation of neuro-active pharmaceuticals and their metabolites. Environmental Science and Technology. 47(17), 9781–9790.

Yan, Z., Lu, G., Liu, J., and Jin, S., 2012. An integrated assessment of estrogenic contamination and feminization risk in fish in Taihu Lake, China. Ecotoxicology and Environmental Safety. 84, 334–340.

Ying, G.-G., Zhao, J.-L., Zhou, L.-J., and Liu, S., 2013. Fate and occurrence of pharmaceuticals in the aquatic environment (surface water and sediment). In Comprehensive analytical chemistry. 62, 453–557.

Yu, Z., Xiao, B., Huang, W., and Peng, P., 2004. Sorption of steroid estrogens to soils and sediments. Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal. 23(3), 531–539.

Zheng, W., Wiles, K. N., Holm, N., Deppe, N. A., and Shipley, C. R., 2014. Uptake, translocation, and accumulation of pharmaceutical and hormone contaminants in vegetables. In Retention, Uptake, and Translocation of Agrochemicals in Plants. 167–181.

Environmental Sciences Vol.20 / No.3 / Autumn 2022

35-52

Original Article

Identification and determination of selected hormones and pharmaceuticals in municipal wastewater treatment plant effluent, soil, and crops

Neda Mirikaram,[1] Amir Salemi[1*] and Maryam Vosough[2]

[1] Department of Environmental Technologies, Environmental Sciences Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
[2] Department of Clean Technologies, Chemistry and Chemical Engineering Research Center of Iran, Tehran, Iran

Received: 2021.06.21 Accepted: 2021.07.18

Mirikaram, N., Salemi, A. and Vosough, M., 2022. Identification and determination of selected hormones and pharmaceuticals in municipal wastewater treatment plant effluent, soil, and crops. Environmental Sciences. 20(3): 35-52.

Introduction: Pharmaceuticals, personal care products and steroid hormones are emerging pollutants whose main production source is human societies. Municipal wastewater treatment plants have a very effective role in reducing and eliminating these pollutants, however, complete elimination of these compounds is usually not possible and some of these pollutants are treated through the treated wastewater stream (as well as residual sludge) and enter the environment. Due to the use of treated wastewater in the irrigation of fields and orchards, there is a possibility of transferring contaminants to soil, crops, and groundwater. Since the negative effect of the presence of these contaminants is visible in very low concentrations, it is necessary to identify and determine their amount.

Material and methods: In this study, the transfer channel of the treatment plant in the south of Tehran (raw wastewater, treated wastewater), farm soil, and crops in terms of the presence and amount of emerging organic pollutants, from the category of pharmaceuticals and steroid hormones have been studied. Four samplings of treated wastewater were performed in different places. First, qualitative analysis was performed to identify and select target pollutants (for quantitative measurement). Then, the most important quality assurance and control criteria in the field and laboratory were studied so that the data generated had the highest possible level of quality. Finally, each sample for each category of pollutants was separately prepared and extracted. Solid phase

[*]Corresponding Author: *Email Address*. a_salemi@sbu.ac.ir
http://dx.doi.org/10.52547/envs.2021.1074
http://dorl.net/dor/20.1001.1.17351324.1401.20.3.2.5

and solvent extraction were ultrasonically analyzed and finally assessed by gas chromatography-mass spectrometry.

Results and discussion: Two pharmaceuticals, acetaminophen and sulfamethoxazole, and four steroid hormones, aquiline, estrone, estriol, and ethinyl estradiol, were selected as the target contaminants and the most important and continuous ones. All six analytes were identified in a raw wastewater sample and a treated wastewater sample. In another sample of treated wastewater, aquiline, estrone, and ethyl estradiol were not found. Contrary to our expectations, all analytes were found in soil samples, but only estrone was found in soil samples. In the plant sample (wheat), all analytes except ethynyl estradiol were observed.

Conclusion: All contaminants were observed in raw and treated wastewater (treatment plant effluent) and a very positive role of the treatment plant in reducing the concentration was observed. On the other hand, changes in the concentration of pollutants along the channel path were observed. Also, it was concluded that soil particles do not adsorb the target contaminants despite their tendency to be absorbed by plants. Therefore, the entry of contaminated water into arable soil will lead to crop contamination and infiltration into groundwater. The presence and amounts of contaminants in the treated wastewater treatment canal are highly dependent on time and place. Mixing and diluting and entering new sources of contamination in the canal path causes significant changes in the concentration and type of contaminants observed in the samples.

Keywords: Emerging pollutants, Wastewater treatment plant, Personal care products, Solid phase extraction, pharmaceuticals and Hormones.