

حضور و سرنوشت آلاینده‌های نوپدید ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون در فاضلاب و پساب بیمارستانی: تاثیر فرآیندهای لجن فعال و کلریناسیون

ملیحه جوشنی خیبری^۱ (M.Sc)، آیت رحمانی^۲ (Ph.D)، حسین نظری^۳ (Ph.D)، خلیل‌الله معینیان^{۲*} (Ph.D)

۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- مرکز تحقیقات علوم و فن آوری‌های بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳- گروه بیوشیمی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۹

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۲ ۲۵۲۲۰۱۳۲ khalilollah@yahoo.com

چکیده

هدف: اتحادیه‌ی اروپا در سال ۲۰۱۵، هورمون‌های استروژنی را در فهرست ترکیبات با احتمال خطر واقعی برای موجودات زنده قرار داده و بر نیاز به تحقیقات محیطی تاکید نموده است. تعیین حضور و تاثیر فرایندهای لجن فعال و کلریناسیون بر سرنوشت هورمون‌های استروئیدی ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون در فاضلاب بیمارستانی، هدف این مطالعه بوده است. مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی، برای هر هورمون، ۱۸ نمونه از نقاط مختلف تصفیه‌خانه‌ی با مقیاس واقعی در یک بازه‌ی سه ماهه برداشت گردید. استخراج هورمون از نمونه‌ها به روش استخراج فاز جامد و با استفاده از کارتریج ۱۸ C انتخابی انجام و سپس با روش الیزا و با استفاده از کیت‌های اختصاصی ساخت شرکت IBL آلمان مورد سنجش قرار گرفتند. یافته‌ها: کمینه‌ی غلظت هورمون در فاضلاب خام بیمارستان مربوط به ۱۷ بتا استرادیول اما کمینه‌ی غلظت مشاهده شده در پساب نهایی مربوط به تستوسترون بود. غلظت هورمون تستوسترون در فاضلاب خام (۶/۰۸ نانوگرم در لیتر) و بیش‌تر از هورمون ۱۷ بتا استرادیول (۴/۱۳ نانوگرم در لیتر) و تفاوت مشاهده شده معنی‌دار اما تفاوت غلظت دو هورمون در پساب نهایی معنی‌دار نبود. راندمان فرایند تصفیه‌ی فاضلاب با سیستم بیولوژیک لجن فعال در حذف هورمون تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول به ترتیب حدود ۸۵ و ۷۶ درصد مشاهده گردید. نتیجه‌گیری: هر چند فرایند لجن فعال و کلریناسیون پساب تاثیر زیادی در حذف و کاهش قابل توجه غلظت هورمون‌های استروئیدی ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون دارند اما باقیمانده‌ی غلظت هورمون‌ها نشان می‌دهد که بایستی ملاحظات لازم از جمله توجه به ظرفیت منابع آب پذیرنده مد نظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اختلال غدد درون‌ریز، فاضلاب بیمارستانی، لجن فعال، استرادیول، تستوسترون، استخراج فاز جامد، الیزا

مقدمه

صنایع داروسازی وارد محیط شوند [۶،۵]. هورمون‌های مصنوعی (داروها) پایداری بیش‌تر داشته و در مسیرهای گوارشی انسان یا حیوان و حتی سیستم تصفیه فاضلاب به طور کامل حذف نمی‌شوند [۷]. شناسایی و تایید حضور هورمون‌ها در پساب‌ها، لجن فاضلاب‌ها و حتی آب‌های زیرزمینی نشان می‌دهد که هورمون‌های باقیمانده می‌توانند به خاک و دیگر اجزای محیط وارد شده و سرانجام به آب‌های آشامیدنی و زنجیره غذایی راه یابند [۷،۸]. مطالعه‌ی Vulliet و همکاران نشان داد که هورمون‌ها به سادگی از لایه خاک عبور کرده و آب زیرزمینی را آلوده می‌سازند و میانگین غلظت هورمون نمونه‌ها در آب‌های سطحی ۰/۲-۳/۶ ng/lit و آب‌های زیرزمینی ۰/۳-۴ ng/lit گزارش گردیده است [۹].

هورمون‌ها به عنوان فعال‌ترین ترکیبات مختل‌کننده غدد درون‌ریز (Endocrine Disrupting Compounds, EDCs) مطرح هستند. مهم‌ترین هورمون‌های استروئیدی که به طور طبیعی در بدن تولید می‌شوند در جنس مؤنث ۱۷ بتا استرادیول (E2) و در جنس مذکر تستوسترون می‌باشند. داروهایی مانند قرص‌های ضدبارداری، بدنسازی، ضد افسردگی، سایتمتدین، فشارخون و داروهای هورمونی دام و طیور از جمله هورمون‌های مصنوعی هستند که بر روی مقدار هورمون‌های ورودی به بدن تاثیر می‌گذارند [۱-۳]. هورمون‌ها از طریق ادرار، مدفوع و تعریق به صورت ترکیبی یا آزاد از بدن دفع [۴] و از طریق فاضلاب‌های انسانی و حیوانی، پساب بیمارستانی و

فاضلاب‌ها و پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب یکی از منابع اصلی ورود میکروآلاینده‌ها به محیط زیست و محیط‌های آبی هستند. بیش‌تر تصفیه‌خانه‌های فاضلاب ریز آلاینده‌ها را به‌طور کامل حذف نمی‌کنند خصوصاً وقتی که فقط فرآیندهای تصفیه‌ی متداول به‌کار گرفته شده باشد. حذف مؤثر آلاینده‌های موجود در فاضلاب به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آلاینده و فرآیند تصفیه وابسته می‌باشد [۱۹]. بر اساس مطالعاتی که تاکنون انجام شده است بیش‌ترین حذف هورمون در طی فرآیندهای تصفیه ثانویه (بیولوژیکی) اتفاق می‌افتد [۲۶، ۲۵]؛ بنابراین این مرحله از تصفیه‌ی فاضلاب اهمیت بسزایی در حذف میکروآلاینده‌ها از جمله هورمون‌ها دارد. هدف این مطالعه بررسی سطح هورمون‌های ۱۷ بتا استرادیول (هورمون استروئیدی-استروژن) و تستوسترون (هورمون استروئیدی-آندروژن) در فاضلاب بیمارستانی و تاثیر فرایندهای تصفیه بر غلظت آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری. در این مطالعه توصیفی-تحلیلی ضمن تعیین سطح هورمون‌های استروئیدی ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون در فاضلاب خام و تصفیه شده در تصفیه‌خانه فاضلاب بیمارستان ولایت دامغان، راندمان عملکرد واحدهای لجن فعال (فرایند بیولوژیک) و کلریناسیون (فرایند شیمیایی) در حذف این دو هورمون مورد بررسی قرار گرفت. بیمارستان ولایت دامغان شامل بخش‌های اورژانس، داخلی، زنان، جراحی، اطفال و اورژانس بوده و میانگین دبی فاضلاب ورودی به تصفیه‌خانه ۲۴۰ متر مکعب در روز می‌باشد. سیستم تصفیه‌ی بیولوژیک فاضلاب بیمارستان سیستم لجن فعال است و در حال حاضر پساب خروجی از فرایند لجن فعال پس از تصفیه‌ی شیمیایی به روش کلرزی به چاه‌های جذبی دفع می‌گردد. فرایند تصفیه و نقاط نمونه‌برداری در شکل ۱ نشان داده شده است. نمونه‌برداری در یک بازه‌ی ۳ ماهه از اسفند ۹۶ تا اردیبهشت ۹۷ انجام و تعداد ۱۸ نمونه برای هر هورمون (۶ نمونه از هر نقطه) برداشت و مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه‌برداری با استفاده از بطری‌های شیشه‌ای کهربایی رنگ با حجم ۵۰۰ cc انجام و تحت شرایط سرد (۴°C) به آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سمنان منتقل و نمونه‌ها پس از استخراج هورمون به روش SPE (solid phase extraction)، با روش الیزا و با استفاده از کیت‌های اختصاصی مورد سنجش قرار گرفتند.

استخراج هورمون. نمونه‌های فاضلاب ابتدا از فیلتر کاغذی ۱ میکرون عبور داده شدند. برای جداسازی هورمون از کارتریج C₁₈ انتخابی مدل (proElut C₁₈, ۶ml, Dikma) [۲۷، ۲۸]

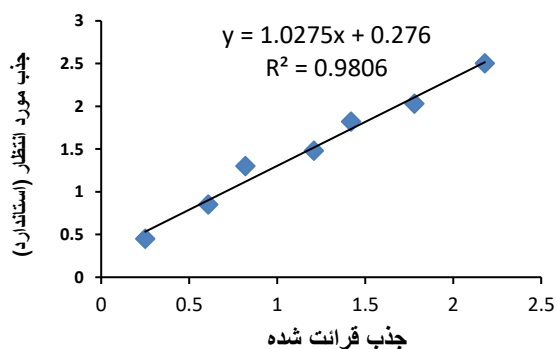
از سال ۱۹۹۶ هورمون‌ها به عنوان یکی از شش اولویت اول پژوهشی دفتر توسعه و تحقیق آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا معرفی شده‌اند. هم‌چنین هورمون‌های استروژنی جز ۱۱۸ ترکیبی هستند که توسط اتحادیه‌ی اروپا در سال ۲۰۱۵ به عنوان مواد با احتمال خطر واقعی در نظر گرفته شده‌اند [۱۰-۱۲]. اتحادیه‌ی اروپا غلظت متوسط سالیانه برای E₂ در آب‌های سطحی را ۰/۴ نانوگرم در لیتر تعیین کرده است [۱۳] و حداکثر غلظت هورمون استروژنی در آب آشامیدنی توسط سازمان WHO و FAO میزان ۰/۰۳ نانوگرم در لیتر و حداکثر مقدار ورودی به بدن را ۰/۰۰۸ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز پیشنهاد کرده‌اند [۱۴].

افزایش هورمون استروژن در هر دو جنس می‌تواند سبب نقص در تولد، خصوصیات جنسی غیر نرمال، مشکلات مربوط به سیستم عصبی، ایمنی و سرطان شود [۱۵]. هم‌چنین هورمون استروژن دارای اثر تحریک‌کنندگی در رشد تومور پستان می‌باشد [۱۶] به طوری که حدود ۹۵ درصد از موارد سرطان پستان به این هورمون ارتباط داده می‌شود [۱۴]. آندروژن نیز بر روی فعالیت مغزی ماهی‌ها تأثیر می‌گذارد و سبب تغییر و غیر نرمال شدن ماهیچه و استخوان می‌گردد [۱۷، ۴]. گزارش شده که پتانسیل خطرزایی ۱۷ بتا استرادیول ده هزار تا صد هزار بار قوی‌تر از سایر ترکیبات EDCs بوده [۱۸] و در مقادیر پیکوگرم تا نانوگرم بر لیتر اثر منفی بر حیات وحش و طبیعت بر جای می‌گذارد [۲۰، ۱۹، ۴]. هر چند ترکیبات آندروژنی نگرانی کم‌تری نسبت به ترکیبات استروژنی دارند [۲۱، ۱۷] اما مطالعات زیادی ارتباط بین سطح تستوسترون و سرطان پروستات را نشان داده‌اند [۱۶]. هم‌چنین تستوسترون در پاتوژنز بیماری دیابت نوع ۲ و نرمال نگهداشتن حساسیت به انسولین تأثیر داشته [۲۲] و در توسعه‌ی صفات جنسی مانند افزایش توده‌ی عضلانی و استخوانی نقش مهمی دارد [۲۳].

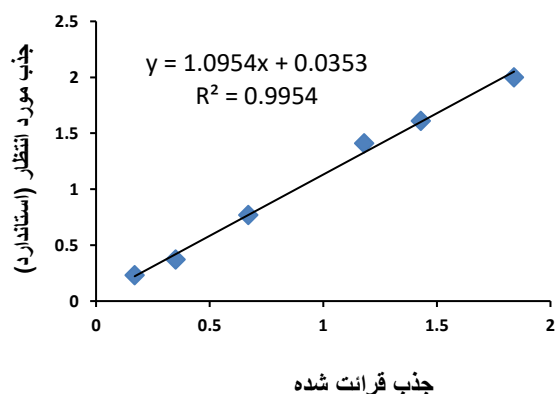
بیمارستان‌ها نقش عمده‌ای در ورود هورمون استروژن در فاضلاب شهری دارند که این موضوع می‌تواند به دلیل وجود بخش‌های مختلف و خصوصاً بخش زنان باشد. کیفیت فاضلاب بیمارستان به مواردی هم‌چون تعداد تخت، جنسیت بیمار، حجم آب مورد استفاده، بخش‌های بیمارستان و موقعیت مکانی بیمارستان بستگی دارد [۳]. طی مقایسه‌ای در بین مشترکین خاص تجاری، صنعتی و شهری مشخص شد که مقدار هورمون در فاضلاب بیمارستانی می‌تواند تا ۳ برابر سایر فاضلاب‌ها باشد [۲۴، ۳] اما در برخی موارد نیز غلظت هورمون E₂ فاضلاب شهری بیش‌تر از فاضلاب بیمارستانی گزارش شده است [۲۴، ۲۰].

نتایج

برای سنجش اعتبار روش اندازه‌گیری و داده‌ها، برای هر سری نمونه‌برداری، منحنی کالیبراسیون مربوط به هورمون‌ها ترسیم شده است. شکل ۱ نمونه‌ای از منحنی‌های کالیبراسیون دو هورمون مورد بررسی را نشان می‌دهد.



(الف)



(ب)

شکل ۱. منحنی کالیبراسیون دو هورمون، الف: ۱۷ بتا استرادیول، ب: تستوسترون

مقادیر کمیته، بیشینه، میانگین و انحراف معیار غلظت دو هورمون ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون در نمونه‌های فاضلاب در جدول ۱ ارائه شده است.

با توجه به یافته‌های ارائه شده در جدول ۱، کمیته‌ی غلظت هورمون در فاضلاب خام مربوط به ۱۷ بتا استرادیول (۲/۲۰ ng/lit) اما کمیته غلظت هورمون مشاهده شده در پساب نهایی مربوط به تستوسترون (۰/۱۰ ng/lit) می‌باشد.

استفاده شد. کارتریج مورد اشاره ابتدا به ترتیب با ۵ml اتیل استات، ۵ml متانول و ۵ml آب مقطر دیونیزه با سرعت ۱۰ ml/min شست‌وشو داده شد. سپس حجم ۱۲۵ml از نمونه کارتریج عبور داده شده و فرصت داده شد تا تقریباً خشک گردد. در این مرحله هر کارتریج با ۸ml دی کلرومتان شست‌وشو شده و محلول شست‌وشوی جمع‌آوری شده ابتدا در معرض هوا تغلیظ و به حجم ۲ml کاهش داده شد [۲۹] و در نهایت نمونه نهایی حاصله به روش الیزا سنجش گردید.

سنجش هورمون‌ها با روش الیزا

جهت سنجش هورمون‌های استرادیول و تستوسترون از کیت الیزا ساخت شرکت IBL آلمان با شماره کاتالوگ‌های RE52041 و RE52151 استفاده شد. سنجش هر هورمون توسط دستورالعمل کیت اختصاصی آن و مطابق مراحل زیر انجام گردید. مراحل آماده‌سازی برای سنجش در هر دو کیت مشابه بوده ولی مقادیر مواد و محلول‌های مورد استفاده و مدت زمان لازم برای هر مرحله در دو هورمون متفاوت بوده است. مراحل کار به طور کلی شامل افزودن استاندارد، کنترل یا نمونه در داخل هر چاهک پلیت؛ افزودن محلول آنزیم کنژوکه به چاهک‌ها؛ زمان انتظار در دمای اتاق (۲۰-۲۵°C)؛ تخلیه‌ی چاهک‌ها و سه بار شست‌وشوی با بافر مورد نظر؛ افزودن محلول سوبسترا به داخل هر چاهک؛ زمان انتظار در دمای اتاق (۲۰-۲۵°C) در مکان تاریک؛ افزودن محلول پایانی به چاهک‌های دارای سوبسترا و در نهایت بعد از گذشت ۱۵ دقیقه زمان انتظار نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ nm توسط دستگاه الیزا قرائت گردیدند. در هر بار سنجش نمونه‌های فاضلاب و با استفاده از استانداردهای موجود، کالیبراسیون دستگاه انجام گردید. حد تشخیص برای هورمون ۱۷ بتا استرادیول معادل ۱ نانوگرم در لیتر و برای هورمون تستوسترون معادل ۲ نانوگرم در لیتر بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Excel و SPSS نسخه ۲۲ و بررسی تفاوت میانگین غلظت هورمون‌ها با استفاده از آزمون‌های من-ویتنی و ویلکاکسون انجام شد.

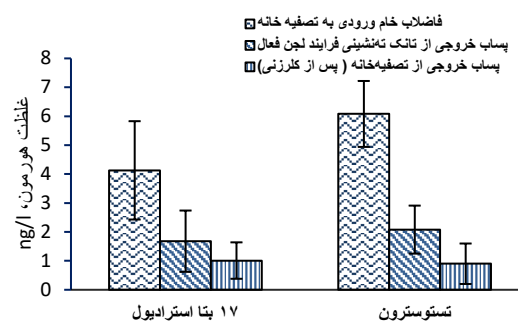
جدول ۱. غلظت هورمون‌های استروئیدی (ng/l) در مراحل مختلف فرایند تصفیه ی فاضلاب بیمارستان ولایت شهرستان دامغان در سال ۹۶-۹۷

هورمون	فاضلاب خام				پساب خروجی از فرایند لجن فعال				پساب نهایی تصفیه خانه (پس از کلرزی)			
	Min	Max	Mean	STD	Min	Max	Mean	STD	Min	Max	Mean	STD
17β Estradiol	۲/۲۰	۶/۱۵	۴/۱۳	۱/۱۷	۰/۶۰	۳/۱۱	۱/۶۸	۱/۰۶	۰/۲۰	۱/۷۰	۱/۰۱	۰/۶۳
Testosterone	۵/۱۰	۷/۷۰	۶/۰۸	۱/۱۴	۱/۰۳	۳/۲۳	۲/۰۸	۰/۸۳	۰/۱۰	۱/۸۰	۰/۹۰	۰/۷۰

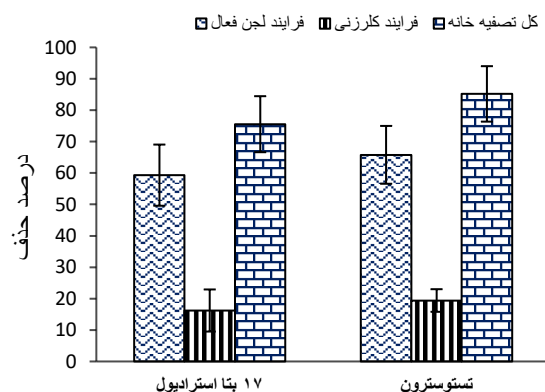
ولایت دامغان برای دو هورمون ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون به ترتیب $(4/13 \pm 1/17)$ و $(6/08 \pm 1/14)$ نانوگرم بر لیتر بوده است. مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داده است که تفاوت بین میانگین غلظت دو هورمون در فاضلاب خام معنی‌دار می‌باشد $(p=0/019)$. در پژوهش‌های انجام شده در ایران، غلظت هورمون ۱۷ بتا استرادیول در فاضلاب خام شهری بین ۱۸-۳ نانوگرم در لیتر [۲۰] و ۱۱-۳۲ نانوگرم در لیتر و در پژوهش‌های سایر نقاط جهان غلظت هورمون ۱۷ بتا استرادیول در فاضلاب خام شهری $3-83 \text{ ng/lit}$ [۳۰، ۳۱] و در فاضلاب بیمارستانی $2-4/20 \text{ ng/lit}$ [۲۴، ۲۲] گزارش شده است. هم‌چنین غلظت هورمون تستوسترون در فاضلاب خام شهری در دامنه‌ی $0/89-4 \text{ ng/lit}$ [۱۷، ۳۰] گزارش شده است. با توجه به اطلاعات محدود موجود در مورد غلظت هورمون‌های تستوسترون و ۱۷ بتا استرادیول در فاضلاب بیمارستانی و گستره‌ی نسبتاً وسیع ارائه شده در مورد آن‌ها، نتایج به‌دست آمده از این مطالعه با مطالعات انجام‌شده توسط سایرین هم‌خوانی دارد. کیفیت فاضلاب شهری در نقاط مختلف جهان می‌تواند یک‌نواختی و شباهت زیادی داشته باشد در حالی که فاضلاب بیمارستانی بسته به نوع بخش‌های موجود، تعداد تخت و داروهای مصرفی می‌تواند به شدت متغیر باشد. در مطالعه‌ی Verlicchi و همکاران مقدار هورمون در فاضلاب بیمارستانی ۱-۳ برابر هورمون در سایر فاضلاب‌های مورد بررسی گزارش شده است [۳] در حالی که در مطالعه‌ی Amin و همکاران [۲۰] و Al Aukidy و همکاران [۲۴] محدوده غلظت هورمون ۱۷ بتا استرادیول در فاضلاب شهری حتی بالاتر از فاضلاب بیمارستانی گزارش شده و تفاوت‌های مشاهده شده به عواملی هم‌چون جنسیت، شرایط فیزیولوژی، نرخ تولید مثل، شرایط آب و هوایی، تغذیه، داروهای مصرفی و نوع فاضلاب ارتباط داده شده است. از سوی دیگر شرایط نمونه‌برداری هم‌چون فصل، نقطه نمونه‌برداری در تصفیه‌خانه، ساعت و نوع نمونه‌برداری می‌تواند بر غلظت هورمون تأثیر داشته باشد. در این مطالعه (جدول ۱)، بیش‌ترین غلظت هورمون ورودی به تصفیه‌خانه مربوط به هورمون تستوسترون بوده است. مطالعات انجام شده در سایر نقاط جهان نیز بیان می‌کند مقدار ۱۷ بتا استرادیول موجود در فاضلاب نسبت به هورمون تستوسترون کم‌تر می‌باشد [۳۰، ۱۷] که علت این امر می‌تواند دفع مقادیر کم‌تر هورمون استروژنی از بدن باشد [۳۴، ۳۳].

با توجه به فرایند تصفیه‌خانه‌ی فاضلاب بیمارستان ولایت دامغان و نقاط نمونه‌برداری (شکل ۱) و بر اساس یافته‌های پژوهش (جدول ۱ و نمودار ۱) میانگین راندمان حذف هورمون ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون در فرایند لجن فعال به ترتیب

شکل ۲ تغییرات میانگین غلظت هورمون‌های ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون در اثر فرآیندهای تصفیه را نشان می‌دهد. با توجه به نمودار مذکور، میانگین غلظت هورمون تستوسترون در فاضلاب خام تفاوت قابل ملاحظه‌ای با هورمون ۱۷ بتا استرادیول نشان می‌دهد. به رغم تفاوت قابل ملاحظه‌ی میانگین غلظت دو هورمون در فاضلاب خام، غلظت آن‌ها در اثر فرآیندهای تصفیه‌ی لجن فعال و گندزایی به روش کلرزنی به شدت کاهش یافته به گونه‌ای که غلظت آن‌ها در پساب خروجی بسیار به هم نزدیک شده است.



شکل ۲. تغییرات میانگین سطح هورمون‌های استروئیدی در تصفیه‌خانه‌ی فاضلاب بیمارستان ولایت شهرستان دامغان در سال ۹۶-۹۷



شکل ۳. درصد حذف هورمون‌های استروئیدی در واحدهای تصفیه‌خانه فاضلاب بیمارستان ولایت دامغان در سال ۹۶-۹۷

میانگین درصد حذف برای هر فرایند تصفیه‌خانه و درصد حذف کلی در تصفیه‌خانه برای دو هورمون ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون در شکل ۳ آمده است. به طور کلی مشاهده شده است که فرایند لجن فعال حدود ۶۰-۶۶ درصد و فرایند کلرزنی حدود ۱۹-۱۶ درصد از کل هورمون ورودی (فاضلاب خام) را حذف کرده‌اند و درصد حذف کلی در مورد دو هورمون حدود ۷۵-۸۵ بوده است. هم‌چنین درصد حذف هورمون تستوسترون از هورمون ۱۷ بتا استرادیول بیش‌تر می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصله از این مطالعه، سطح هورمون در فاضلاب ورودی به تصفیه‌خانه‌ی (فاضلاب خام) بیمارستان

($p=0/021$) و تستوسترون ($p=0/020$) معنی‌دار می‌باشد. در مطالعات مشابهی در ایران، غلظت هورمون ۱۷ بتا استرادیول در خروجی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری بین ۳-۹/۰ نانوگرم در لیتر تعیین شده است [۲۰، ۸]. در پژوهش‌های مشابه در سایر نقاط جهان، غلظت هورمون ۱۷ بتا استرادیول در خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری $2/8-3/2$ ng/lit و در فاضلاب بیمارستانی $5-10/0$ ng/lit [۱۳، ۳۰، ۳۶، ۳۷] و در [۲۰، ۲۴] گزارش شده است. با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات دیگران، حذف ۱۷ بتا استرادیول سخت‌تر از تستوسترون می‌باشد [۲۰، ۲۱، ۲۵، ۳۸]. از جمله دلایل این مسئله می‌توان به این موضوع اشاره کرد که، بدن تستوسترون را اغلب به‌صورت باند شده دفع می‌کند که حذف آن سریع‌تر و بیش‌تر از حالتی است که هورمون به‌صورت آزاد دفع می‌شود [۳۴، ۳۳]. به‌طور کلی، به‌رغم تاثیر فرایندهای تصفیه بر کاهش قابل توجه غلظت دو هورمون مورد بررسی، غلظت آن‌ها در پساب نهایی تصفیه شده فراتر از مقادیر تعیین شده توسط اتحادیه اروپا در مورد آب‌های سطحی می‌باشد.

سطح هورمون تستوسترون در فاضلاب خام بیمارستانی از هورمون ۱۷ بتا استرادیول بالاتر بوده و سیستم لجن فعال که فرایندی هوازی برای حذف ترکیبات آلی فاضلاب می‌باشد راندمان بالایی در حذف هورمون‌های مذکور دارد. در فرایند لجن فعال، میانگین درصد حذف هورمون تستوسترون از هورمون ۱۷ بتا استرادیول بیش‌تر می‌باشد. بر اساس نتایج این مطالعه و نیز مطالعات دیگران، هر چند روش‌های هوازی مانند لجن فعال در حذف هورمون‌ها بسیار موثرند اما حتی در بهترین شرایط راهبری و عملکردی نیز، هورمون‌ها به‌طور کامل حذف نمی‌شوند لذا باقیمانده‌ی هورمون‌ها می‌توانند از طریق پساب و یا لجن باقی‌مانده وارد محیط زیست و منابع آبی شوند و پیامدهای منفی خود را در درازمدت بر جای بگذارند. با توجه به غلظت دو هورمون مورد بررسی در پساب نهایی و مقادیر تعیین شده توسط اتحادیه اروپا در مورد آب‌های سطحی و نیز رهنمود سازمان جهانی بهداشت در مورد آب آشامیدنی، در هنگام دفع این پساب‌ها به محیط زیست و منابع آبی، بایستی ملاحظات لازم از جمله ترقیق کافی و توجه به ظرفیت منابع آب پذیرنده و در صورت نیاز توجه به روش‌های نوین و ارتقاء فرایندهای تصفیه مد نظر قرار گیرد.

تعداد تصفیه‌خانه‌ی مورد بررسی و بازه‌ی زمانی مطالعه را می‌توان جزء محدودیت‌های این مطالعه ذکر نمود لذا مطالعه‌ی تعداد بیش‌تری از تصفیه‌خانه‌های مشابه و در بازه‌ی زمانی طولانی‌تر مثلاً یک‌ساله پیشنهاد می‌گردد. یافته‌های این مطالعه و مطالعات مشابه پیشنهادی، در زمینه‌ی مداخله در فرایندهای

حدود ۶۰ و ۶۶ درصد بوده است. مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون من-ویتنی نشان داده است که تفاوت بین میانگین غلظت دو هورمون در پساب بعد از لجن فعال معنی‌دار نمی‌باشد ($p=0/122$) به عبارت دیگر عملکرد فرایند لجن فعال در حذف دو هورمون به‌گونه‌ای بوده است که تفاوت غلظت مشاهده شده در فاضلاب خام از بین رفته است. هم‌چنین میانگین راندمان حذف هورمون ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون در فرایند گندزدایی به روش کلرزنی نیز به ترتیب حدود ۱۶ و ۱۹ درصد از کل ورودی بوده است. به‌طور کلی حدود ۷۶ درصد از هورمون ۱۷ بتا استرادیول و ۸۵ درصد از هورمون تستوسترون توسط تصفیه‌خانه حذف شده است. در مطالعات انجام شده در سطح جهان، میانگین درصد حذف برای ۱۷ بتا استرادیول ۹۸-۸۸ درصد [۳۵، ۳۱، ۱۲] و تستوسترون بالاتر از ۹۵ درصد [۳۶، ۳۴، ۳۰، ۱۷] گزارش شده است. عواملی هم‌چون نوع فاضلاب، فرآیند تصفیه، پارامترهای عملکردی و راهبری تصفیه‌خانه، ساختار فیزیکوشیمیایی هورمون، میزان آب‌گریزی و شکل دفع شده هورمون در تفاوت مقادیر خروجی هورمون از تصفیه‌خانه‌ها و مقدار (درصد) حذف هورمون مؤثر می‌باشند. فاضلاب بیمارستانی چون دارای شوینده‌ی بیش‌تری است می‌تواند سبب نابودی برخی میکروارگانسیم‌ها و عملکرد پایین‌تر سیستم تصفیه نسبت به فاضلاب شهری شود. پایین‌تر بودن درصد حذف نسبت به مطالعات جهانی به نوع فاضلاب مورد بررسی و راهبری آن بستگی زیادی دارد [۳۳، ۳۰، ۲۰، ۱۷]. از دیگر عوامل تأثیرگذار در حذف هورمون توسط فرایند لجن فعال می‌توان به زمان ماند هیدرولیکی و سلولی، دما و میزان هوادهی اشاره کرد. هم‌چنین باکتری‌های نیتروبیفیکاسیون‌کننده که می‌توانند در شرایط خاص در لجن فعال رشد بالایی داشته باشند تأثیر بسزایی در حذف هورمون دارند و افزایش سن لجن نیز می‌تواند سبب حذف مؤثرتر هورمون شود [۳۶، ۲۶].

سطح دو هورمون ۱۷ بتا استرادیول و تستوسترون در خروجی تصفیه‌خانه‌ی فاضلاب بیمارستان ولایت دامغان به ترتیب ($1/01 \pm 0/63$) و ($0/90 \pm 0/70$) نانوگرم در لیتر مشاهده شده است و این درحالی است که غلظت هورمون تستوسترون در فاضلاب خام بیش‌تر بوده است. مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون من-ویتنی نشان داده است که تفاوت بین میانگین غلظت دو هورمون در پساب خروجی از تصفیه‌خانه معنی‌دار نمی‌باشد ($p=0/308$). هم‌چنین مقایسه‌ی میانگین غلظت هر هورمون (با استفاده از آزمون ویلکاکسون) در فاضلاب خام با پساب نهایی نشان داده است که تفاوت میانگین‌ها در مورد هر دو هورمون ۱۷ بتا استرادیول

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.011>

PMid:29128774

[11] Kase R, Javurkova B, Simon E, Swart K, Buchinger S, Könemann S, et al. Screening and risk management solutions for steroidal estrogens in surface and wastewater. *TrAC Trends Anal Chem* 2018; 102: 343-358.

<https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.02.013>

[12] Jauković ZD, Grujić SD, Bujagić IV, Laušević MD. Determination of sterols and steroid hormones in surface water and wastewater using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry. *Microchemical J* 2017; 135: 39-47.

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.07.011>

[13] Arlos MJ, Parker WJ, Bicudo JR, Law P, Marjan P, Andrews SA, et al. Multi-year prediction of estrogenicity in municipal wastewater effluents. *Sci Total Environ* 2018; 610: 1103-1112.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.171>

PMid:28847104

[14] Takdastan A, Nazarzadeh A, Oroogi N, Javanmardi P. Performance of municipal and hospital wastewater treatment plants in removal of estrogenic compounds. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2016; 26: 103-110. (Persian).

[15] Hartmann J, Beyer R, Harm S. Effective removal of estrogens from drinking water and wastewater by adsorption technology. *Environ Proc* 2014; 1: 87-94.

<https://doi.org/10.1007/s40710-014-0005-y>

[16] Shargil D, Gerstl Z, Fine P, Nitsan I, Kurtzman D. Impact of biosolids and wastewater effluent application to agricultural land on steroidal hormone content in lettuce plants. *Sci Total Environ* 2015; 505: 357-366.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.100>

PMid:25461037

[17] Zhang JN, Ying GG, Yang YY, Liu WR, Liu SS, Chen J, et al. Occurrence, fate and risk assessment of androgens in ten wastewater treatment plants and receiving rivers of South China. *Chemosphere* 2018; 201: 644-654.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.144>

PMid:29547853

[18] Khanal SK, Xie B, Thompson ML, Sung S, Ong SK, Van Leeuwen J. Fate, transport, and biodegradation of natural estrogens in the environment and engineered systems. *Environ Sci Technol* 2006; 40: 6537-6546.

<https://doi.org/10.1021/es0607739>

PMid:17144275

[19] Křesinová Z, Linhartova L, Filipová A, Ezechiáš M, Mašín P, Cajthaml T. Biodegradation of endocrine disruptors in urban wastewater using *Pleurotus ostreatus* bioreactor. *New Biotechnol* 2018; 43: 53-61.

<https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.05.004>

PMid:28502780

[20] Amin MM, Bina B, Ebrahimi A, Yavari Z, Mohammadi F, Rahimi S. The occurrence, fate, and distribution of natural and synthetic hormones in different types of wastewater treatment plants in Iran. *Chin J Chem Engin* 2018; 26: 1132-1139.

<https://doi.org/10.1016/j.cjche.2017.09.005>

[21] Väitälö P, Massei R, Heiskanen I, Behnisch P, Brack W, Tindall AJ, et al. Effect-based assessment of toxicity removal during wastewater treatment. *Water Res* 2017; 126: 153-163.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.09.014>

PMid:28941401

[22] Doustmohamadian S, Ghorbani R, Soghandi S. Is poor glycemic control associated with free testosterone level in Iranian diabetic men? *Koomesh* 2019; 21. (Persian).

[23] Rahimi MR, Khodamoradi M, Falah F. Effects of caffeine consumption before resistance exercise on blood levels of testosterone and growth hormones in male athletes. *Koomesh* 2019; 21: 679-685. (Persian).

[24] Al Aukidy M, Verlicchi P, Voulvoulis N. A framework for the assessment of the environmental risk posed by pharmaceuticals originating from hospital effluents. *Sci Total Environ* 2014; 493: 54-64.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.128>

PMid:24937492

[25] Cheng D, Ngo H, Guo W, Liu Y, Zhou J, Chang S, et al. Bioprocessing for elimination antibiotics and hormones

تصفیه جهت ارتقاء راندمان آن‌ها و نیز نظارت بر استفاده از پساب‌ها، کاربرد خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی سمنان با شماره طرح ۱۲۹۸ و کد اخلاقی IR.SEMUMS.1396.136 انجام شده است. نویسندگان مقاله از دانشگاه علوم پزشکی سمنان به واسطه‌ی حمایت‌های مادی و معنوی و نیز مدیریت و مسئولین ذریبط بیمارستان که در انجام این مطالعه همکاری کامل نموده‌اند سپاس‌گزاری می‌نمایند.

منابع

- [1] Cai K, Phillips DH, Elliott CT, Muller M, Scippo ML, Connolly L. Removal of natural hormones in dairy farm wastewater using reactive and sorptive materials. *Sci Total Environ* 2013; 461: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.088> PMid:23712110
- [2] Jafari A, Abasabad R, Salehzadeh A. Endocrine disrupting contaminants in water resources and sewage in Hamadan City of Iran. *J Environ Health Sci Engin* 2009; 6: 89-96. (Persian).
- [3] Verlicchi P, Galletti A, Petrovic M, Barceló D. Hospital effluents as a source of emerging pollutants: an overview of micropollutants and sustainable treatment options. *J Hydrology* 2010; 389: 416-428. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.06.005>
- [4] Manickum T, John W. Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disrupting compounds at the wastewater treatment works in Pietermaritzburg (South Africa). *Sci Total Environ* 2014; 468: 584-597. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.041> PMid:24056449
- [5] Santiago-Morales J, Agüera A, del Mar Gómez M, Fernández-Alba AR, Giménez J, Esplugas S, et al. Transformation products and reaction kinetics in simulated solar light photocatalytic degradation of propranolol using Ce-doped TiO₂. *Appl Catalys B Environ* 2013; 129: 13-29. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2012.09.023>
- [6] Thomas KV, Langford K. Occurrence of pharmaceuticals in the aqueous environment. *Compreh Analyt Chem* 2007; 50: 337-359. [https://doi.org/10.1016/S0166-526X\(07\)50010-3](https://doi.org/10.1016/S0166-526X(07)50010-3)
- [7] Arnold WA, McNeill K. Transformation of pharmaceuticals in the environment: Photolysis and other abiotic processes. *Compreh Analyt Chem* 2007; 50: 361-385. [https://doi.org/10.1016/S0166-526X\(07\)50011-5](https://doi.org/10.1016/S0166-526X(07)50011-5)
- [8] Mohagheghian A, Nabizadeh R, Mesdghinia A, Rastkari N, Mahvi AH, Alimohammadi M, et al. Distribution of estrogenic steroids in municipal wastewater treatment plants in Tehran, Iran. *J Environ Health Sci Engin* 2014; 12: 97. <https://doi.org/10.1186/2052-336X-12-97> PMid:25013724 PMCid:PMC4091687
- [9] Vulliet E, Cren-Olivé C. Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. *Environ Pollut* 2011; 159: 2929-2934. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.04.033> PMid:21570166
- [10] Ejhed H, Fång J, Hansen K, Graae L, Rahmberg M, Magnér J, et al. The effect of hydraulic retention time in onsite wastewater treatment and removal of pharmaceuticals, hormones and phenolic utility substances. *Sci Total Environ* 2018; 618: 250-261.

- [33] Zhang K, Fent K. Determination of two progestin metabolites (17 α -hydroxypregnanolone and pregnanediol) and different classes of steroids (androgens, estrogens, corticosteroids, progestins) in rivers and wastewaters by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *Sci Total Environ* 2018; 610: 1164-1172.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.114>
PMid:28847137
- [34] Houtman CJ, Ten Broek R, Brouwer A. Steroid hormonal bioactivities, culprit natural and synthetic hormones and other emerging contaminants in waste water measured using bioassays and UPLC-tQ-MS. *Sci Total Environ* 2018; 630: 1492-1501.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.273>
PMid:29554767
- [35] Lima DL, Silva CP, Schneider RJ, Otero M, Esteves VI. Application of dispersive liquid-liquid microextraction for estrogens: quantification by enzyme-linked immunosorbent assay. *Talanta* 2014; 125: 102-106.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.069>
PMid:24840421
- [36] Esperanza M, Suidan MT, Marfil-Vega R, Gonzalez C, Sorial GA, McCauley P, et al. Fate of sex hormones in two pilot-scale municipal wastewater treatment plants: Conventional treatment. *Chemosphere* 2007; 66: 1535-1544.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.08.020>
PMid:17083962
- [37] Servos M, Bennie D, Burnison B, Jurkovic A, McInnis R, Neheli T, et al. Distribution of estrogens, 17 β -estradiol and estrone, in Canadian municipal wastewater treatment plants. *Sci Total Environ* 2005; 336: 155-170.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.05.025>
PMid:15589256
- [38] Mina O, Gall HE, Elliott HA, Watson JE, Mashtare ML, Langkilde T, et al. Estrogen occurrence and persistence in vernal pools impacted by wastewater irrigation practices. *Agricul Ecosyst Environ* 2018; 257: 103-112.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.01.022>
- from swine wastewater. *Sci Total Environ* 2018; 621: 1664-1682.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.059>
PMid:29074241
- [26] Marti EJ, Batista JR. Impact of secondary treatment types and sludge handling processes on estrogen concentration in wastewater sludge. *Sci Total Environ* 2014; 470: 1056-1067.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.10.070>
PMid:24239827
- [27] Thurman E, Mills M. Solid-phase extraction. New York: John Wiley & Sons 1998; 29: 35-73.
- [28] Tang S, Zhang H, Lee HK. Advances in sample extraction. *Analyt Chem* 2016; 88: 228-249.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04040>
PMid:26616153
- [29] Beresford N, Baynes A, Kanda R, Mills MR, Arias-Salazar K, Collins TJ, et al. Use of a battery of chemical and ecotoxicological methods for the assessment of the efficacy of wastewater treatment processes to remove estrogenic potency. *J Visualized Exp* 2016; 115: e54243.
<https://doi.org/10.3791/54243>
PMid:27684328 PMCID:PMC5092016
- [30] Blair BD, Crago JP, Hedman CJ, Treguer RJ, Magruder C, Royer LS, et al. Evaluation of a model for the removal of pharmaceuticals, personal care products, and hormones from wastewater. *Sci Total Environ* 2013; 444: 515-521.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.103>
PMid:23295178
- [31] Li X, Zheng W, Kelly WR. Occurrence and removal of pharmaceutical and hormone contaminants in rural wastewater treatment lagoons. *Sci Total Environ* 2013; 445: 22-28.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.035>
PMid:23314119
- [32] Avberšek M, Šömen J, Heath E. Dynamics of steroid estrogen daily concentrations in hospital effluent and connected waste water treatment plant. *J Environ Monitor* 2011; 13: 2221-2226.
<https://doi.org/10.1039/c1em10147a>
PMid:21727965

Occurrence and fate of emerging pollutants of 17beta-estradiol and testosterone in hospital wastewater and effluent: The effect of activated sludge and chlorination processes

Maliheh Joshani kheybari (M.Sc)¹, Ayat Rahmani (Ph.D)², Hossein Nazari (Ph.D)³, Khalilollah Moeinian (Ph.D)^{*2}

1 - Student Research Committee, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

2 - Research Center for Health Sciences and Technologies, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

3- Biochemistry Department, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

* Corresponding author. +98 23 35220132 khalilollah@yahoo.com

Received: 29 Jul 2020; Accepted: 18 Jan 2021

Introduction: In 2015, the European Union placed estrogen hormones on the list of compounds with a possible real risk to living organisms and emphasized the need for environmental research. The aim of this study was to determine the occurrence and effect of activated sludge process and chlorination on the fate of 17-beta estradiol and testosterone in hospital wastewater.

Materials and Methods: In this descriptive-analytical study, for each hormone, 18 samples were taken from different parts of a real scale treatment plant in a three months period. Hormone extraction was performed by solid phase extraction using selective C18 cartridge. The extracted hormones were assayed by ELISA specific kits (IBL, Germany). Data analysis was performed using SPSS software version 22 and Mann-Whitney and Wilcoxon statistical tests.

Results: The minimum concentration observed in raw wastewater was related to 17 β -estradiol and in the final effluent was related to testosterone. The mean concentration of testosterone in raw wastewater (6.08 ng/l) was significantly higher than the 17 β -estradiol concentration (4.13 ng/l), but the difference in the mean concentrations (around 1 ng/l) of the two hormones in the final effluent was not significant. The overall efficiency of the activated sludge and chlorination processes in the removal of testosterone and 17 β -estradiol was observed to be about 85% and 76%, respectively.

Conclusion: Although the treatment processes can reduce considerably the concentration of 17 β -estradiol and testosterone, but the final hormones concentrations indicated that the type of effluent reuse and capacity of the receiving water resources must be considered.

Keywords: Endocrine Disruptors, Hospital Wastewater, Activated Sludge, Estradiol, Testosterone, Solid-Phase Extraction, ELISA

