Journal of Food Hygiene, Vol. 10, No. 39, Autumn 2020

“Research article” DOI: 10.30495/JFH.2020.1908282.1283

Optimizing water ozonation conditions with the aim of removing estrone and 17β-estradiol hormones

Abbaszadeh Maroufan, Kh.[1], Mirzaei, H.[2*], Matin, A.A.[3], Javadi, A.[2], Amani-gadim, A.[3]

1. PhD Graduate of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
3Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
*Corresponding author: hmirzaei@iaut.ac.ir
(Received: 2020/9/2 Accepted: 2020/11/6)

Abstract

The presence of endocrine-disrupting chemicals in the environment and their adverse effects on human and animal health have attracted much attention in recent years. Estrogens are the most important endocrine disruptors and estrone (E1) and 17β-estradiol (E2) is the strongest of them. This study aimed to optimize the conditions of the removal of E1 and E2hormones in water using ozonation. To evaluate the amount of E1and E2, high-performance liquid chromatography was used. To evaluate the effect of ozonation on the removal of the studied hormones, first, the optimal ozonation conditions in terms of ozone gas concentration, ozonation time, pH, and E1 and E2hormones were calculated. According to the obtained results, ozone concentration of 4 mg / l, duration of 5 minutes, pH of 6, and initial concentration of the solution of E1 and E2hormones up to 10 mg / l had the greatest effect. Eventually, ozonation under optimal conditions eliminated 90% of E1 and 95% of E2. Overall, the results of this study showed that ozonation under optimal conditions is a good way to remove these hormones from water.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Estrone, 17β-estradiol, water, ozonation

«مقاله پژوهشی»
DOI: 10.30495/JFH.2020.1908282.1283

بهینه‌سازی شرایط ازون‌دهی آب باهدف حذف هورمون‌های استرون و ۱۷ بتا-استرادیول

خداویردی عباس‌زاده معروفان[۱]، حمید میرزائی[۲*]، امیر عباس متین[۳]، افشین جوادی[۲]، علیرضا امانی قدیم[۳]

۱. دانش‌آموخته دکترای بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲. دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۳. دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: hmirzaei@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۹/۶/۱۲ پذیرش نهایی: ۹۹/۸/۱۶)

چکیده

حضـور مواد شـیمیایی مختل‌کننده غدد درون‌ریز در محیط‌زیسـت و اثرات نامطلوب آن‌ها بر سـلامت انسـان و حیوانات توجه زیادی را در سـال‌های اخیر به خود جلب کرده اسـت. اسـتروژن‌ها مهم‌ترین مختل‌کننده‌های غدد درون‌ریز بدن بوده و اسـترون (E_1) و ۱۷بتا- استرادیول (E_2) قوی‌ترین آن‌ها می‌باشند. هدف از این تحقیق بهینه‌سازی شرایط حذف هورمون‌های E1 و E2 در آب با استفاده از ازون‌دهی است. برای ارزیابی مقدار E_1 و E_2 از روش کرواتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد و برای ارزیابی میزان تأثیر ازون‌دهی در حذف هورمون‌های مورد مطالعه، ابتدا شـرایط بهینه ازون‌دهی ازنظر غلظت گاز ازون، مدت‌زمان ازون‌دهی، pH و غلظت هورمون‌های E_1 و E_2 محاسبه شد. طبق نتایج به‌دست‌آمده غلظت ازون برابر ٤ میلی‌گرم در لیتر، مدت‌زمان ۵ دقیقه، pH برابر ٦ و غلظت اولیه محلول هورمون‌های E_1 و E_2 تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را داشت. درنهایت ازون‌دهی با شرایط بهینه باعث حذف ۹۰ درصد E_1 و ۹۵ درصد E_2 شد. درمجموع نتایج این تحقیق نشان داد که ازون‌دهی در شرایط بهینه روش مناسبی برای حذف این هورمون‌ها از آب می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: استرون، ۱۷بتا- استرادیول، آب، ازون‌دهی

مقدمه

حضـــور مواد شـــیمیایی مختل‌کننده غدد درون‌ریز (Endocrine Disrupt Compounds: EDCs) در محیط‌های آبی به‌عنوان یک موضوع جهانی داغ به کانون تحقیقات علمی در ســال‌های اخیر تبدیل‌شــده اســت (Sun *et al.*, 2019) و اثرات نامطلوب آن‌ها بر ســلامت انســان و حیوانــات توجه زیادی را به خود جلب کرده اســت (Baldigo *et al.*, 2015). این ترکیبات می‌توانند عملکرد تولیدمثلی پســتانداران (Doshi *et al.*, 2011)، پرنــدگــان (Tubbs, 2016)، مــاهی‌هــا (Runnalls *et al.*,2013) و بی‌مهره‌گان آبزی (Ciocan *et al.*, 2010) را مختل نمایند. اســتروژن‌ها، آندروژن‌ها و هورمون‌های تیروئیــدی شــایع‌ترین مختــل‌کننــده‌های غدد درون‌ریز هســتند (Vandenberg *et al.*, 2012). استروژن‌ها شامل استروژن‌های طبیعی و استروژن‌های مصنوعی و ترکیبات صــنعتی که شــبیه اســتروژن عمل می‌کنند، می‌باشند. E_2 (17β-estradiol) قوی‌ترین اســتروژن طبیعی اولیه است. E_1 یک متابولیت حاصــل از E_2 و کمی ضــعیف‌تر است. اســتریول (E_3) (Estriol) متابولیت نهایی و ضعیف‌ترین اســتروژن طبیعی اســت که تنها ۱۰ درصــد قدرت E_2 را دارد. ۱۷آلــفــا- اتــینــیــل اســـترادیول (EE_2) (17α-ethynylestradiol) جزء اســتروژن‌های مصــنوعی است کــه در پیشـــگیری از بــارداری اســـتفــاده می‌شـــود و ســرطان‌های پســتان وابســته به این هورمون می‌باشــد (Zhuang *et al.*, 2008) که حتی در غلظت‌های بســیار کــم بــاعــث ایــجــاد برخی عوارض جــانبی بر روی ســیســتم‌های تولید مثلی و ایمنی می‌شوند (Sun *et al.*, 2019). E2 باعث کاهش تعداد اسپرم و از دســت دادن ســلامت جنســی در مردان و هم‌چنین ســرطان ســینه در زنان می‌شــود و در طبیعت بیشترین تداخلات جنسی در بین ماهیان نر به‌واســطه این هورمون گزارش‌شــده است (Ghaneian *et al.*, 2017). در بین هورمون‌های جنســی ماده، E_2 اغلب در فاضـــلاب دامپروری‌ها تشـــخیص داده‌شــده اســت که معمولاً در ترشــحات دفعی حیوانات ماده، خصــوصاً در دوره قاعدگی و دوران بارداری آن‌ها وجود دارد و به‌عنوان مهارکننده غدد درون‌ریز، حتی در مقــادیر کم ($<10^{-9}$ mg/ L) باعث اثرات منفی بر روی ارگانیسم‌های زنده می‌شود (Sakulthaew *et al.*, 2020).

انسان به‌طور مستقیم از طریق آب شرب و یا غیرمستقیم از طریق فرآورده‌هــای دامی و گیــاهی مقــداری از این ترکیبــات آلــاینــده را دریــافــت می‌کنــد (Hamid and Eskicioglu., 2012). ســازمان بازیافت اســترالیا حداکثر غلظت هورمون‌های اســتروژنی در آب را ۷٤ نانوگرم بر لیتر پیشــنهاد کرده و طبق نظر سازمان بهداشت جهانی و خواربار و کشاورزی ملل متحد میزان هورمون استروژن در آب آشــامیدنی ۰/۰۳ نانوگرم در لیتر و میزان دریافت روزانه توســط انســان حداکثر ۰/۰۰۰۸ میکروگرم در کیلوگرم وزن تعیین‌شــده اســت (Takdastan *et al.*, 2016). میزان هورمون اســتروژن در فاضــلاب بسیاری از کشـــورهــا از حــد مجاز بالاتر بوده و از ۱۲/۵ تا ۲۳/۷ نانوگرم بر لیتر اندازه‌گیری شــده اســت (Chang *et al.*, 2009). این استروئید در فاضلاب بریتانیا (Rujiralai *et al.*, 2011)، کره جنوبی (Ra *et al.*, 2011)، چین (Liu *et al.*, 2011)، هلنــد (Belfroid *et al.*, 2006)، ایتالیا (Pojana *et al.*, 2009) و آلمان (Hintemann *et al.*, 2006) و همچنین در آب آشـــامیدنی در برخی از نقاط ایالات‌متحده شــناســایی‌شــده اســت (Caldwell *et al.*, 2009). تحقیقاتی در خصــوص بررســی میزان ترکیبات

استروژنی در آب و فاضلاب در شهرهای تهران، همدان و شیراز انجام‌شده است که نشان می‌دهد این آب‌ها به هورمون‌های استروژنی آلوده هستند (Taghizadeh *et al.*, 2013). در تحقیقی که در اهواز صورت گرفته میانگین هورمون موجود در فاضلاب ورودی به تصفیه‌خانه فاضلاب بیمارستان گلستان ۶۹/۸۰ و میانگین هورمون موجود در ورودی تصفیه‌خانه بیمارستان ابوذر شهر اهواز ۷۰/۶۱ نانوگرم در لیتر گزارش‌شده است (Hassani *et al.*, 2016). همچنین در تحقیقی که بر روی رودخانه بالیخلی چای، منبع تأمین آب شرب اردبیل صورت گرفت نشان داد که در همه ایستگاه‌های مورد مطالعه، آلودگی به E_1 زیر حد تشخیص ولی در تمام فصول سال آلودگی به E_2 وجود داشت. کمترین آلودگی در فصل تابستان و پاییز در ایستگاه برجلو زیر حد تشخیص و بالاترین آلودگی در ایستگاه ایلانجوق در فصل زمستان ۶/۸۲ و خروجی سد یامچی ۶/۱۵ میکروگرم در لیتر اندازه‌گیری شد (Abbaszadeh Maroufan *et al.*, 2019). در ایران تاکنون استانداردی برای این هورمون‌ها تعیین نشده است.

برای تصفیه آب و فاضلاب از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود در مرحله تصفیه اولیه، استروژن حذف نمی‌شود بلکه بیشتر حذف استروژن در مرحله تصفیه ثانویه (بیولوژیکی) صورت می‌گیرد (Taghizadeh *et al.*, 2013). در سال‌های اخیر به دلیل نگرانی از خطرات مربوط به به‌کارگیری ضدعفونی‌کننده‌های کلره در صنعت غذا، توجه به استفاده از عوامل جایگزین نظیر ازون معطوف شده است. ازون یک آلوتروپ نسبتاً ناپایدار از اکسیژن است که از سه اتم اکسیژن تشکیل‌شده است و به‌عنوان ضدعفونی‌کننده آب، غذا، سطوح فرآوری غذا و تجهیزاتی که با مواد غذایی در تماس مستقیم هستند، پیشنهاد شده است (Hemmati Moghadam *et al.*, 2005). نتایج تحقیقی نشان داده استروژن‌های موجود در آب (E_1، E_2 و EE_2) توسط ازون‌دهی قابل تخریب می‌باشد (Sun *et al.*, 2019). امروزه ازون در فرآیند تصفیه آب به یک ماده ضدعفونی‌کننده و اکسیدان معروف تبدیل شده است (Wang *et al.*, 2018). هدف از تحقیق حاضر بهینه‌سازی پارامترهای عملیاتی ازون‌دهی شامل غلظت گاز ازون، مدت زمان ازون‌دهی، pH و غلظت هورمون‌های E_1 و E_2 در نمونه‌های آب به‌منظور حذف هورمون‌های E_1 و E_2 و تعیین میزان کارایی ازون‌دهی تحت شرایط بهینه تمام پارامترهای عملیاتی فوق در حذف هورمون‌های E_1 و E_2 بود.

مواد و روش‌ها

- مواد شیمیایی

هورمون استرون و ۱۷بتا- استرادیول از شرکت سیگما آلدریچ آمریکا (Sigma-Aldrich)، حلال‌های مختلف ازجمله آب و است و نتریل (acetonitrile) گرید HPLC و ان اکتانول (N-Octanol) و پتاسیم هیدروکسید از شرکت (Merk, Germany) و فیبرهای هالو پلی پروپیلن (Polypropylene hollow fiber) از شرکت (Membrana, Germany) تهیه شدند.

- دستگاه‌ها

برای تعیین مقدار هورمون‌ها در آب از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالای (HPLC) مدل L3000 شرکت ریگول (Rigol) چین با آشکارساز ماورا

بنفش استفاده شد (HPLC-UV). این دستگاه مجهز به آشکارساز UV، پمپ چهارتایی، گاززدای خلاء و شیر تزریق با حجم ۲۰ میکرولیتر و ستون جداسازی شرکت نائور(Knauer) آلمان با فاز ساکن اکتادسیل سیلان (ODS)، طول ستون ۲/۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ٤/٦ میلی‌متری و اندازه ذرات ۵ میکرومتر بود. مخلوط استونیتریل و آب به نسبت ۸۰ به ۲۰ با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه به‌عنوان فاز متحرک در شویش ایزوکراتیک و طول‌موج ۲۸۰ نانومتر برای آشکارساز به کار رفت. هیتر استایرر مدل F20510413 شرکت (VELP Scientific, Italia)، حمام اولتراسونیک شرکت (max machine, Chine)، برای فرآیند استخراج مورداستفاده قرار گرفت. ژنراتور ازون مدل TYO124 با ظرفیت ۱۸۰ mg/ h و توان wat ٤۰ و ۷۰ آمپر، ساخت کشور چین برای تولید گاز ازون مورد استفاده قرار گرفت.

- استخراج و شناسایی هورمون‌های استروژنی در نمونه‌های آب

از غشای فیبر توخالی پلی‌پروپیلنی(Hollow fiber) به‌اندازه ۲/۵ سانتی‌متر بریده و با استون در حمام اولتراسونیک شستشو داده شد تا آلودگی‌های موجود در آن رفع گردد. هالو فایبر به مدت ۵ دقیقه داخل حلال ان- اکتانل(N-octanol) قرار داده شد تا حفرات هالو فایبر به آن آغشته گردد. سپس مقدار اضافی موجود در سطح فیبر توخالی با آب مقطر شستشو داده شد. جهت استخراج هورمون‌های استروئیدی از آب، فیبر توخالی لود شده با حلال ان-اکتانل در داخل ۵۰ میلی‌لیتر از نمونه آبی در pH برابر ۱۰/٦ به مدت ۲۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. سپس فیبر توخالی دارای آنالیت استخراج شده در داخل ۲ میلی‌لیتر از حلال متانول (به‌عنوان حلال واجذبی) در حمام اولتراسونیک قرار گرفت تا آنالیت از هالو فایبر وارد حلال متانول گردد. جهت تغلیظ، نمونه‌ها تحت گاز نیتروژن حلال پرانی شده و به ظرف نمونه، ٤۰ میکرولیتر از فاز متحرک افزوده شد و جهت شناسایی به‌صورت مستقیم به دستگاه کروماتوگرافی مایع تزریق گردید.

برای بررسی میزان کارآیی ازون‌دهی در حذف هورمون‌های E_1 و E_2 ابتدا پارامترهایی نظیر غلظت گاز ازون، زمان،pH و غلظت اولیه محلول هورمون‌های E_1 و E_2 به‌عنوان متغیرهای مستقل، بهینه‌سازی شدند.

- تعیین غلظت بهینه گاز ازون در ورودی محلول

ابتدا غلظت‌های متفاوتی از گاز ازون (۱، ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. دیگر پارامترهای عملیاتی شامل غلظت اولیه هورمون، pH و مدت زمان به ترتیب در مقادیر ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، ٦ و ۵ دقیقه ثابت نگه‌داشته شد.

- تعیین زمان بهینه ازون‌دهی

زمان ازون‌دهی در ۲، ۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه مطالعه شد. غلظت گاز ازون در ورودی محلول ٤ میلی‌گرم در لیتر، pH مساوی ٦ و غلظت اولیه گاز ازون برابر ٤ میلی‌گرم در لیتر تنظیم گردید.

- تعیین pH بهینه

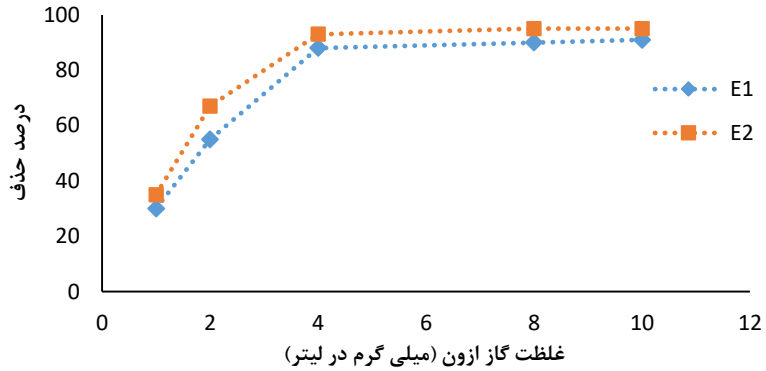
pH های ۲ تا ۱۰ مورد بررسی قرار گرفت. در تمام مراحل غلظت محلول اولیه هورمون‌ها، غلظت گاز ازون در ورودی و مدت‌زمان به ترتیب در مقادیر ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، ٤ میلی‌گرم بر لیتر و ۵ دقیقه ثابت نگه‌داشته شد.

- تعیین غلظت بهینه هورمون‌های E1 و E2 در محلول

در تمام مراحل غلظت گاز ازون در ورودی محلول، زمان و pH به ترتیب در مقادیر ٤ میلی‌گرم در لیتر، ٥ دقیقه و ٦ ثابت نگه‌داشته شد. غلظت محلول اولیه هورمون‌های E_1 و E_2 در مقادیر ٥، ١٠، ١٥ و ٢٠ میلی‌گرم در لیتر مورد آزمایش قرار گرفت.

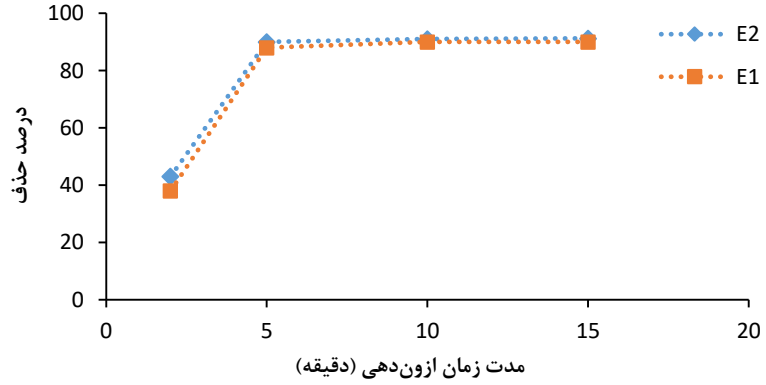
یافته‌ها

نتایج مربوط به بهینه سازی غلظت گاز ازون در نمودار (١) نشان داده شده است. همانطوری‌که مشاهده می‌شود در غلظت‌های بالاتر از ٤ میلی‌گرم در لیتر ازون، راندمان حذف E_1 و E_2 تقریباً ثابت مانده است لذا ٤ میلی‌گرم در لیتر ازون به‌عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.



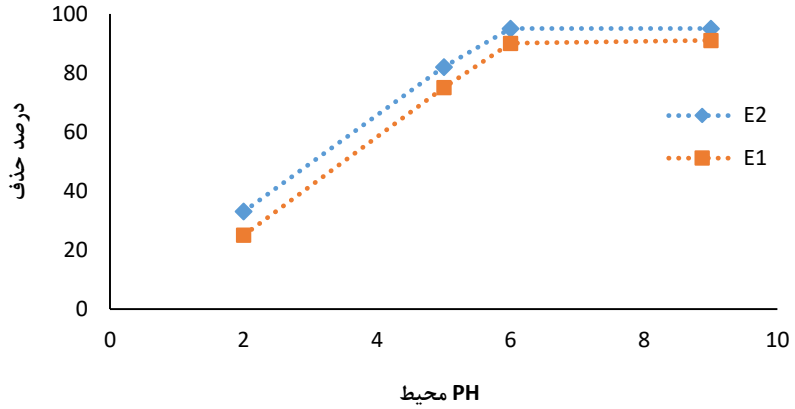
نمودار (١)- اثر غلظت گاز ازون در ورودی بر روی حذف E_1 و E_2، در شرایط با غلظت اولیه هورمون برابر ١٠ میلی‌گرم در لیتر، pH برابر ٦ و ازون‌دهی به مدت ٥ دقیقه

در نمودار (٢) نتایج مربوط به بهیته سازی مدت زمان ازون‌دهی نشان داده شده است. براساس این یافته‌ها بالاترین درصد حذف E_1 و E_2 بعد از ٥ دقیقه ازون‌دهی حاصل شده است.



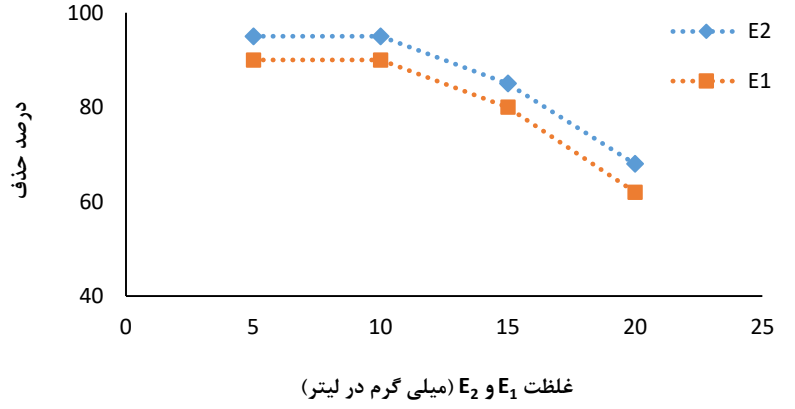
نمودار (٢)- اثر مدت زمان ازون‌دهی بر میزان حذف E_1 و E_2 در شرایط گاز ازون با غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر، pH برابر ٦ و ازون‌دهی به مدت ٥

یافته‌های مربوط به بهینه سازی pH در نمودار (۳) نشان داده شـده است. همانطوری که مشاهده می شود درصد حذف E_1 و E_2 با افزایش pH از ۲ تا ٦ افزایش یافته و در pH های بالاتر از ٦ حدودا ثابت مانده اســت لذا pH برابر ٦ به‌عنوان pH بهینه لحاظ شد.



نمودار (۳)- اثر pH بر میزان حذف هورمون‌های E_1 و E_2 در شرایط غلظت اولیه هورمون برابر ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، گاز ازون با غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر و ازون‌دهی به مدت ٥

نمودار (٤) تاثیر غلظت اولیه E_1 و E_2 بر میزان حذف آن‌ها در فرآیند ازون‌دهی را نشان می‌دهد. همانطوری‌که مشـاهده می‌شـود حداکثر غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از E_1 و E_2 می‌توانـد بـه عنوان غلظـت اولیـه بهینه جهت ازون‌دهی مورد اســتفـاده قرار گیرد در این شـــرایط به ترتیب ۹۰ و ۹۵ درصــد از E_1 و E_2 در فرآیند ازون‌دهی حذف می‌شـــود. این نمودار عملا نتایج مربوط به میزان عملکرد ازون‌دهی در شـــرایط بهینـه از نظر غلظت گاز ازون، مدت زمان ازون‌دهی، pH و نهایتا غلظت اولیه E_1 و E_2 را نشان داد است.



نمودار (٤)- اثر غلظت اولیه E_1 و E_2 بر میزان حذف آن‌ها در شـــرایط pH برابر ٦، گاز ازون با غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر و ازون‌دهی به مدت ٥

بحث و نتیجه‌گیری

همان‌طور که در نمودار (۱) مشاهده می‌شود غلظت ٤ میلی‌گرم بر لیتر گاز ازون به‌عنوان غلظت بهینه عمل نمود. در این شرایط ۹۰ درصد از E_1 و ۹۵ درصد از E_2 حذف شد. این میزان تفاوت در حذف E_1 و E_2می‌تواند در نتیجه تبدیل E_2 به E_1 در جریان ازون‌دهی باشد (Sun *et al.*, 2019). ازون‌دهی برای حذف E_2 در محلول‌های آبی بسیار کارآمد است و حتی در دوزهای کم تحت شرایط بهینه حذف تا ۹۹ درصد ممکن است (Bila *et al.*, 2007). در تحقیق دیگری مطرح شده است که با افزایش دوز ازون اثر تخریب افزایش هم روی E_1 و هم روی E_2افزایش می‌یابد. (Lin *et al.*, 2009).

نتایج در نمودار (۲) حاکی از به حداکثر رسیدن حذف هورمون‌ها در مدت‌زمان ۵ دقیقه و ثابت ماندن آن پس از ۵ دقیقه است. در تحقیقی تخریب کامل E_1، E_2 و EE_2 در۲۵ دقیقه گزارش‌شده است و دلیل عمده تخریب این ترکیبات ساختار مولکولی آن‌ها بیان‌شده است. استروژن‌ها حاوی پیوندهای غیراشباع مانند حلقه معطر، پیوند مضاعف و پیوند سه‌گانه هستند که مستعد اضافه شدن الکتروفیلیک با مولکول‌های ازون هستند (Li *et al.*, 2015). مدت‌زمان ازون‌دهی برای تخریب کامل این هورمون‌ها در تحقیق دیگر ٤ دقیقه به‌دست‌آمده است (Lin *et al.*, 2009). در مطالعه‌ای که از سیلیس پوسته برنج برای حذف هورمون‌های E_1 و E_2 استفاده‌شده، مدت‌زمان‌های ۳۰، ٦۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه مورد ارزیابی قرارگرفته و گزارش‌شده است که مدت‌زمان ٦۰ دقیقه زمان بهینه بوده و حداکثر راندمان حذف هورمون‌های E_1 و E_2 به ترتیب ۹۳/۱ و ۹۵/۵ درصد به‌دست‌آمده است (Zarghi *et al.*, 2019). لذا با توجه به این نتایج به نظر می‌رسد روش ازون‌دهی ازنظر مدت‌زمان و متأثر از آن ازنظر اقتصادی نسبت بهاین روش قابلیت اجرایی بیشتری دارد.

برای بررسی اثر pH، غلظت گاز ازون و مدت‌زمان ازون‌دهی در شرایط بهینه به‌دست‌آمده و غلظت اولیه هورمون‌ها در مقدار ثابت تنظیم گردید. بعد از ۵ دقیقه ازون‌دهی در pH مساوی ۲، میزان حذف ۲۵ و ۳۳ درصد (کمترین مقدار) و در pH مابین ۲ تا ۵ به ۷۵ و ۸۲ درصد و در pH مابین ۵ تا ٦ به ۹۰ و ۹۵ درصد به ترتیب برای E_1 و E_2 رسید. در pH مابین ٦ تا ۱۰ میزان حذف، تغییر چندانی نکرد. همچنین شواهد نشان می‌دهد در pH پایین‌تر میزان تخریب محلول آبی ازون خیلی آهسته اتفاق می‌افتد. حذف هورمون در ابتدا حاصل واکنش با ازون آبی می‌باشد. با افزایش pH تخریب محلول آبی ازون افزایش می‌یابد. درنتیجه با افزایش pH میزان رادیکال OH افزایش‌یافته و به‌تبع آن میزان حذف هورمون‌ها نیز بیشتر می‌شود (نمودار ۳). در تحقیقی گزارش‌شده است که در شرایط افزایش pH محلول اولیه از ۲ به ۷، میزان حذف E_1 ۲۷۱/٤ و E_2 ۱٤۹/۷درصد افزایش می‌یابد (Sun *et al.*, 2019). در مطالعه دیگری میزان حذف هورمون‌ها در محلول با pH برابر ٤ بیشتر از میزان حذف آن‌ها در محلول با pH برابر ۹ گزارش‌شده است (Zarghi *et al.*, 2019). در تحقیق دیگر گزارش‌شده است که در pH برابر ۹ میزان تخریب

E_1 پس از ۸ دقیقه و میزان تخریب E_2 بعد از ٤ دقیقه به حدود ۹٤ درصد رسیده است (Lin *et al.*, 2009).

غلظت اولیه محلولE_1 و E_2 در ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شد. تفاوت قابل‌توجهی در حذف هورمون‌ها برای غلظت‌های محلول اولیه ۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نشد و میزان حذف E_1 و E_2 به ترتیب به حدود ۹۰ و ۹۵ درصد رسید (نمودار ٤). میزان حذف در غلظت محلول اولیه ۱۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش نشان داد. با افزایش غلظت اولیه هورمون، نسبت مولی ازون به هورمون کاهش می‌یابد که درنتیجه سرعت تخریب نیز کاهش نشان می‌دهد. در پایان ۲۰ دقیقه ازون‌دهی در غلظت اولیه ۲۰ میلی‌گرم در لیتر راندمان حذف به ٦۸ درصد کاهش یافت؛ بنابراین هرچه آلودگی آب کمتر باشد میزان حذف بیشتر خواهد بود.

در تحقیقی گزارش‌شده است که غلظت اولیه E_1، E_2 و EE_2 تأثیر چشمگیری در حذف آن‌ها توسط ازون‌دهی دارد و با افزایش غلظت اولیه، راندمان حذف E_1، E_2 و EE_2 در طی فرآیند ازون‌دهی به‌صورت ناگهانی کاهش می‌یابد. هنگامی‌که غلظت اولیه محلول مخلوط ۵۰ میکروکرم در لیتر بود، راندمان حذف E_1 در طی ۱۰ دقیقه به ۹۸/٤ درصد رسیده است. ولی وقتی غلظت اولیه محلول مخلوط به ۱۰۰،۲۰۰ و ۳۰۰ میکروکرم در لیتر افزایش یابد، بازده حذف E_1 به ترتیب به ۹۲/۸، ۷۳/٦ و ۵۱/۹ درصد کاهش می‌یابد و وقتی غلظت اولیه محلول از ۵۰ به ۳۰۰ میکروکرم در لیتر افزایش‌یافته سرعت حذف E_1 و E_2 به ترتیب ٦۵/۹ و ٦٦/۵ درصد کاهش یافت (Sun *et al.*, 2019). در مطالعه‌ای که از سیلیس پوسته برنج برای حذف هورمون‌های E_1 و E_2 استفاده می‌شد تأثیر غلظت‌های اولیه ۱۰، ٤۰، ۷۰ و ۱۰۰ نانوگرم در لیتر از هورمون‌های E_1 و E_2 مورد آزمایش قرارگرفته و بیشترین درصد حذف هورمون‌ها در غلظت ۱۰ نانوگرم در لیتر مشاهده‌شده است (Zarghi *et al.*, 2019). دلایل زیر ممکن است برای این پدیده پاسخگو باشند. ازیک‌طرف، تحت شرایط عملیاتی یکسان، میزان تولید رادیکال هیدروکسیل تقریباً در هر سیستم با غلظت‌های مختلف اولیه تقریباً ثابت است و مقدار محدودی از هورمون‌های استروژنی توسط ازون‌دهی در یک‌زمان واکنش، حذف می‌شود (Dai *et al.*, 2014) از طرف دیگر، واسطه‌های بیشتری با افزایش غلظت اولیه تولید می‌شوند و غلظت بالاتر واسطه‌ها نیز رقابت بین استروژن‌های استروئیدی و اکسیدان‌ها را تشدید می‌کند درنتیجه راندمان حذف را کاهش می‌دهد. همچنین غلظت اولیه بالاتر ممکن است احتمال برخورد بین آلاینده‌ها و رادیکال‌های ازون یا هیدروکسیل را افزایش دهد که باعث افزایش استفاده از رادیکال‌های ازون و هیدروکسیل می‌شود، بنابراین زمان حذف افزایش می‌یابد (Sun *et al.*, 2019).

درمجموع یافته‌های این تحقیق نشان داد که هر کدام از پارامترهای عملیاتی در میزان کارایی ازون‌دهی در حذف هورمون‌های استرون و ۱۷بتا- استرادیول تاثیر دارد. مقدار بهینه برای پارامترهای غلظت گاز ازون برابر ٤ میلی‌گرم در لیتر، مدت زمان ازون‌دهی برابر ۵ دقیقه، pH برابر با ٦ و غلظت اولیه هورمون حداکثر۱۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. اجرای ازون‌دهی تحت شرایط بهینه تمام پارامترهای عملیاتی بطور هم‌زمان منجر به کاهش ۹۲ درصد از ۱۷بتا- استرادیول و ۹۵ درصد از نمونه های آب شد. در کل می‌توان نتیجه

گرفت که ازون‌دهی تحت شـــرایط بهینه روش کارآمدی در کاهش این هورمون‌ها در آب می‌باشد.

تعارض منافع

نویســـنـدگـان هیچ‌گونـه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Abbaszadeh Maroufan, KH., Mirzaei, H., Abbas Matin, A., Javadi, A., Amani-gadim, A. (2019). Environmental Monitoring of 17β- estradiol and Estrone in Ardabil's Drinking Water Source as Endocrine Disrupting Chemicals.Journal of Archives of Pharmacy Practice. 10(3): 98-106.
- Baldigo, B P., George, S D., Phillips, P J., Hemming, J D., Denslow, N D and Kroll, KJ. (2015). Potential estrogenic effects of wastewaters on gene expression in Pimephales promelas and fish assemblages in streams of southeastern New York. Environmental Toxicology and Chemistry, 34 (12): 2803-2815.
- Belfroid AC., Schrap SM and de Voogt P .(2006). Occurrence of estrogenic hormones, bisphenol-A and phthalates in the aquatic environment of The Netherlands, In: Vethaak AD (Ed.) Estrogens and xenoestrogens in the aquatic environment: an integrated approach for field monitoring and effect assessment. pensacola FL: SETAC Press.31(2): 53-75.
- Bila, D., Montalvao Antonio, F., Azevedo Debora de, A and Dezotti, M. (2007). Estrogenic activity removal of 17β-estradiol by ozonation and identification of by- products. Chemosphere, 69: 736-746.
- Caldwell DJ., Mastrocco F., Nowak E., Johnston J., Yekel H., Pfeiffer D and et al. (2009). An assessment of potential exposure and risk from estrogens in drinking water. Environ Health Perspect, 118: 338-44.
- Chang, H., Wan, Y and Hu, J. (2009). Determination and source apportionment of five classes of steroid hormones in urban rivers. Environmental Science & Technology, 43(20): 7691-7698.
- Ciocan, CM., Cubero-Leon, E., Puinean, AM., Hill, E M., Minier, C., Osada, M and Rotchell, JM. (2010). Effects of estrogen exposure in mussels, Mytilus edulis, at different stages of gametogenesis. Environmental Pollution, 158 (9): 2977-2984
- Dai, S., and Seol, Y. (2014). Water permeability in hydrate-bearing sediments: A pore-scale study. Geophysical Research Letters., 41, 4176– 4184.
- Doshi, T., Mehta, S S., Dighe, V., Balasinor, N and Vanage, G. (2011). Hypermethylation of estrogen receptor promoter region in adult testis of rats exposed neonatally to bisphenol A. Toxicology, 289 (2): 74-82.
- Ghaneian, MT., Peirovi, R and Ebrahimi, AA . (2017). A review on the importance of hormones monitoring and their removal in conventional wastewater treatment systems. Journal of Environmental Health and Sustainable Development, 2 (2). pp. 310-318.
- Hamid, H and Eskicioglu, C. (2012). Fate of estrogenic hormones in wastewater and sludge treatment: A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix. Water Research, 46(18): 5813-5833.
- Hassani, G., Babaei, A.A., Takdastan, A., shirmardi, M., Yousefian, F., Mohammadi, M.J. (2016). Occurrence and fate of 17β-estradiol in water resources and weste water in Ahvaz, Iran. Global NEST journal, 18 (4): 855-866.
- Hemmati Moghaddam, A., Asefi N and Hanifian, SH. (2017). Study of the effect of treatment on the qualitative and microbial characteristics of sumac, cumin, and pepper. Journal of Food Hygiene, 27: 37-47. [In Persian].

- Hintemann T., Schneider C., Schöler HF and Schneider RJ. (2006). Field study using two immunoassays for the determination of estradiol and ethinylestradiol in the aquatic environment. Water Research, 40: 2287-2294.
- Li, X., Guo, F., Li, H., Li, G. (2015). Nonthermally dominated electron acceleration during magnetic reconnection in a low β plasma. The Astrophysical Journal Letters. 2: 24-30.
- Lin, Y., Peng, Z and Zang, X. (2009). Ozonation of estrone, estradiol, diethylstilbestrol in waters. Desalination, 30: 235-240.
- Liu S., Ying G G., Zhao J L., Chen F., Yang B., Zhou LJ and Lai HJ. (2011). Trace analysis of 28 steroids in surface water, wastewater and sludge samples by rapid resolution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1218: 1367-1378.
- Lopez de Alda MJ., Gil A., Paz E and Barcelo D. (2002). Occurrence and analysis of estrogens and progestogens in river sediments by liquid chromatography-electrospraymass spectrometry. Analyst, 127: 1299-1304.
- Pojana G., Gomiero A., Jonkers N and Marcomini A. (2009). Natural and synthetic endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, sediment and biota of a coastal lagoon. Environment International, 33: 929-936.
- Ra JS., Lee SH., Lee J., Kim HY., Lim., Kim SH and Kim SD. (2011). Occurrence of estrogenic chemicals in South Korean surface waters and municipal wastewaters. Journal of Environmental Monitoring, 13: 101-109.
- Rujiralai, Th., Bull, I., Llewellyn, N and Evershed, R. (2011). *In situ* polar organic chemical integrative sampling (POCIS) of steroidal estrogens in sewage treatment works discharge and river water. Journal of Environmental Monitoring. 13: 1427-1434.
- Runnalls, TJ., Beresford, N., Losty, E., Scott, A P and Sumpter, J P. (2013). Several synthetic progestins with different potencies adversely affect reproduction of fish. Environ. Environmental Science & Technology, 47 (4): 2077-2084.
- Sakulthaew, C., Chokejaroenrat, C., Satapanajaru, T and et al. (2020). Removal of 17β-estradiol using persulfate synergistically activated using heat and ultraviolet light. Water, Air & Soil Pollution. 231**,** 247.
- Sun, Q., Zhu, G., Wang, C. et al. (2019). Removal characteristics of steroid estrogen in the mixed system through an ozone-based advanced oxidation process. Water, Air & Soil Pollution. 218-230.
- Taghizadeh, M., Mohebzadeh, T., Takdastan, A and Dehghani, M. (2013). Comparing the performance of wastewater treatment using activated sludge and aerated lagoons processes in the removal efficiency of estradiol hormones. Jundishapur Journal of Health Sciences, 5(3): 149-156.
- Takdastan, A., Nazarzadeh, A., Oroogi, N and Javanmardi, P. (2016). Performance of Municipal and Hospital Wastewater Treatment Plants in Removal of Estrogenic Compounds. Mazandaran University Medical Science journal, 26(139): 103-110. [In Persian].
- Tubbs, C W. (2016). California condors and DDT: examining the effects of endocrine disrupting chemicals in a critically endangered species. Endocrine Disruptors. 4(1): 117-125.
- Vandenberg, LN., Colborn, T., Hayes, T B., Heindel, J J., Jacobs, J., Lee, D H and et al. (2012). Hormones and endocrine-disrupting chemicals: lowdose effects and nonmonotonic dose responses. Endocrine reviews. 33 (3): 378-455
- Wang, H., Zhan, J., Yao, W., Wang, B., Deng, S., Huang, J. Yu, G and Wang, Y. (2018). Comparison of pharmaceutical abatement in various water matrices by conventional ozonation, peroxone (O_3/H_2O_2) and an electro-peroxone process. Water Research. 130: 127-138.
- Zarghi, MH., Roudbari, A., Jorfi, S and Jaafarzadeh, N. (2019). Removal of estrogen hormones (17β-estradiol and estrone) from aqueous solutions using rice husk silica. Chemical and biochemical engineering quarterly. 31;33(2):281-93.
- Zhuang, Y., zhang, T and Ping, G. (2008). Stacking and simultaneous determination of estrogens in water samples by CE with electrochemical detection. Journal of Separation Science, 55: 994-1000.