The Effect of Using Leonardite Organic Matter on Uptake of Antibiotic Ciprofloxacin by Leek *(Allium Iranicum*)

M. Sharifmand[1], E. Sepehr[*1], M.H. Rasouli-Sadaghiani[1] and S. Asri-Rezaei[2]

نسخه پیش از انتشار

Abstract

Ciprofloxacin, one of the fluoroquinolone antibiotics, accumulates as a pollutant in the soil environment and is uptake by plants due to the widespread use in human and veterinary medicine and its long half-life.

Therefore, this study investigated the effect of a type of organic material called leonardite on ciprofloxacin adsorption. This was considered as a method to reduce the mobility of this pollutant in the soil environment and its uptake by plants. For this purpose, an experiment was carried out with a concentration of ciprofloxacin (0.8 mmol L^{-1}) at different levels of leonardite (0, 2 and 5%) in a calcareous soil. Leek (*Allium Iranicum*) was then grown in a factorial experiment based on a completely randomized design with the treatment of leonardite (0, 2 and, 5 %) and ciprofloxacin (0 and 2 mmol L^{-1}) in three replications. The plants were harvested 42 days after planting and the concentration of CIP in the plants were determined using high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that application of leonardite increased the ciprofloxacin adsorption in the soil. So that the adsorption amount (q_e) of ciprofloxacin reached from 5102 to 5756 mg kg^{-1} with the use of 5% leonardite. In addition, the distribution coefficient (K_d) of ciprofloxacin in the presence of 5% leonardite increased 5 times compared to the control, which indicates the immobilization of ciprofloxacin due to its strong adsorption by leonardite. The uptake of ciprofloxacin by leek plants was significantly reduced through the use of leonardite, and it decreased from 4.5 µg g^{-1} to 3.2 and 1.7 µg g^{-1}, respectively, in the presence of 2% and 5% leonardite compared to the control. In general, it seems that leonardite usage can be effective to stabilize ciprofloxacin in polluted soil and to reduce its entry into crops, especially vegetables.

Keywords: Adsorbent, Distribution coefficient, Pollutant, Soil.

Background and Objective: Antibiotics are used in treating a wide spectrum of diseases, and are widely employed to promote animal growth (Cycon et al., 2019). As many of those pharmaceuticals are only partially absorbed by the digestive system, a considerable fraction is excreted in its original active form or only partially metabolized. Therefore, the use of animal excrement in agriculture represents one of the principal routes of insertion of antibiotics into the environment. Within that context, plants, principally those of agricultural interest, will be exposed to those compounds when present in the soil (Rocha et al., 2021).

1- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
2- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
* Corresponding author, Email: e.sepehr@urmia.ac.ir

Methods: An agricultural soil (0–20 cm deep) was collected from a farm in Urmia University, and air-dried. After removal of large pieces of plant materials by screening through a 2 mm sieve, the soil was mixed well and stored at 4 °C until use. Pot test had two treatments with leonardite (0, 2 and 5%), and ciprofloxacin (0 and 2 mmol L^{-1}) in three replicates. Into each pot seeds of leek (*Allium Iranicum*) were sown at a depth of 0.5 cm. During the test period, the treated pots were placed at a temperature of 25 °C and the soil water moisture was maintained everyday by adding appropriate amount of water. The plants were harvested at the 42th day and ciprofloxacin concentration was measured using HPLC (Liu et al., 2009).

Results: The results showed that the application of leonardite increased adsorption of ciprofloxacin in the calcareous soil, and decreased concentration of ciprofloxacin in leek plants. Therefore, leonardite application is a good choice for controlling ciprofloxacin in the soil environment and preventing its entry into crops, especially vegetables.

Conclusions: The solution to reduce pollution caused by ciprofloxacin is to use efficient and low-cost adsorbents such as leonardite. It will be necessary, however, to consider the co-occurrence of antibiotics in existing environmental matrices (instead of focusing on only a single contaminant).

References:

1. Cycon, M., Mrozik, A., Piotrowska-Seget, Z., 2019. Antibiotics in the Soil Environment-Degradation and Their Impact on Microbial Activity and Diversity. Front. Microbial. 338, 1–45.
2. Rocha, D.C., Rocha, C.S., Tavares, D.S., Calado, S.L.M., Gomes, M.P., 2021. Veterinary antibiotics and plant physiology: An overview. Sci. Total Environ. 767, 144902.
3. Liu, F., Ying, G., Tao, R., Zhao, J., Yang, J., Zhao, L., 2009. Effects of Six Selected Antibiotics on Plant Growth and Soil Microbial and Enzymatic Activities. Environ. Pollut. 157(5), 1636–42.

نسخه پیش از انتشار

تأثیر کاربرد ماده آلی لئوناردیت بر جذب آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین توسط گیاه تره (*Allium Iranicum*)

ماهرخ شریف‌مند[۱]، ابراهیم سپهر[۱*]، میرحسن رسولی صدقیانی[۱] و سیامک عصری رضائی[۲]

چکیده

سیپروفلوکساسین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های گروه فلوروکینولون‌ها، به دلیل نیمه عمر طولانی و استفاده گسترده در پزشکی و دامپزشکی، به‌عنوان آلاینده در محیط خاک تجمع یافته و توسط گیاه جذب می‌گردد. از این‌رو در این مطالعه، تأثیر نوعی ماده آلی به نام لئوناردیت بر جذب سیپروفلوکساسین، به‌عنوان روشی برای کاهش تحرک این آلاینده در محیط خاک و کاهش ورود آن به گیاه بررسی گردید. به این منظور آزمایشی با غلظت ۰/۸ $mmol\ L^{-1}$ سیپروفلوکساسین در مقادیر مختلف لئوناردیت (صفر، ۲ و ۵ درصد وزنی) در یک خاک آهکی انجام گرفت. سپس تره (*Allium Iranicum*) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمار لئوناردیت (صفر، ۲ و ۵ درصد) و سیپروفلوکساسین (صفر و ۲ $mmol\ L^{-1}$) در سه تکرار در گلخانه کشت شد. گیاهان پس از ۶ هفته برداشت و غلظت سیپروفلوکساسین با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد با مصرف لئوناردیت جذب سیپروفلوکساسین در خاک افزایش می‌یابد. به‌طوری‌که با کاربرد ۵ درصد لئوناردیت میزان جذب (q_e) سیپروفلوکساسین از ۵۱۰۲ به ۵۷۵۶ $mg\ kg^{-1}$ رسید. همچنین ضریب توزیع (K_d) سیپروفلوکساسین در حضور ۵ درصد لئوناردیت نسبت به شاهد ۵ برابر افزایش یافت که بیانگر کاهش تحرک سیپروفلوکساسین به‌علت جذب شدید آن توسط لئوناردیت می‌باشد. جذب سیپروفلوکساسین توسط گیاه تره با مصرف لئوناردیت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و در حضور ۲ و ۵ درصد لئوناردیت در مقایسه با شاهد از ۴/۵ $\mu g\ g^{-1}$ به‌ترتیب به ۳/۲ و ۱/۷ $\mu g\ g^{-1}$ رسید. در کل، به‌نظر می‌رسد کاربرد لئوناردیت می‌تواند برای کنترل سیپروفلوکساسین در محیط خاک و کاهش ورود آن به گیاهان زراعی به‌ویژه سبزیجات مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: آلاینده، جاذب، خاک، ضریب توزیع.

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها که از انواع آلاینده‌های نوظهور با منشاء آلی هستند، تهدیدی جدی برای محیط زیست به شمار می‌روند (Abdi et al., 2022). بقایای ترکیبات دارویی در محیط بسته به

۱- گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: e.sepehr@urmia.ac.ir

نسخه پیش از انتشار

نوع و مقدار مصرف‌شان در غلظت‌های مختلفی یافت می‌شوند. در بین گروه‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی، تتراسایکلین‌ها، فلوروکینولون‌ها و سولفونامیدها در غلظت قابل توجهی در محیط خاک حضور دارند (Cycon et al., 2019). سیپروفلوکساسین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های گروه فلوروکینولون‌ها هستند که برای درمان عفونت باکتریایی در پزشکی و دامپزشکی مصرف می‌گردد (Samadi et al., 2016). این آنتی‌بیوتیک در دوزهای مختلف برای درمان عفونت دستگاه ادراری، تنفسی و گوارشی به‌کار می‌رود (Ji et al., 2014). سیپروفلوکساسین به‌دلیل نیمه عمر طولانی (۳۴۶۶ روز) در محیط یافت می‌شود (Cycon et al., 2019)، به‌طوری‌که غلظت آن در فضولات دامی ۳۱/۷۸ $mg\ kg^{-1}$، در فاضلاب ۳۰ $mg\ L^{-1}$ و در پساب بیمارستان ۱۵۰ $mg\ L^{-1}$ گزارش شده است (Selvam et al., 2012). ورود این آنتی‌بیوتیک از طریق آب آشامیدنی یا مصرف محصولات زراعی آلوده به بدن انسان باعث سردرد، تهوع، استفراغ، اسهال و واکنش‌های آلرژیک می‌شود، و در شرایط حادتر به بروز بیماری‌های درمان ناپذیر نظیر آپلازی مغز استخوان، لوسمی، سرطان و در نهایت مرگ منجر می‌گردد (Dein and Elhearon, 2010).

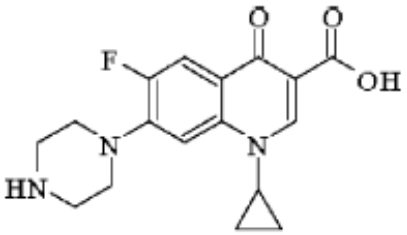
آلودگی خاک با بقایای ترکیبات دارویی به‌عنوان آلاینده‌های درحال ظهور، امروزه به یکی از نگرانی‌های زیست محیطی مبدل شده است. این آلاینده‌های آلی در محیط خاک خطرات قابل توجهی برای میکروارگانیسم‌های خاک دارند (Sharifmand et al., 2023). همچنین امکان انتقال آن‌ها به آب‌های زیرزمینی و یا ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی وجود دارد (Cycon et al., 2019). از این‌رو تکنیک‌های مختلفی (بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی) برای کاهش خطرات بالقوه آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده شده است. جذب سطحی یک روش فیزیکی با رویکرد غیرمخرب در حذف آنتی‌بیوتیک‌ها است (Patel et al., 2019). ساختار و خواص فیزیکی و شیمیایی جاذب‌ها و آلاینده‌ها و همچنین شرایط محیطی بر کارایی فرآیند جذب تأثیر می‌گذارد. از این‌رو انتخاب جاذب مناسب برای حذف آلاینده‌ها مهم است. چرا که فرآیند جذب زمانی می‌تواند کارآمد و مفید باشد که جاذب با نوع آلاینده مطابقت داشته باشد.

کربن فعال برای از بین بردن آلاینده‌های آلی و معدنی مفید است (Gil Bravo et al., 2019). جاذب‌هایی با پایه کربن با در نظر گرفتن جنبه تجاری همراه با امکان اصلاح گسترده، در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (Mohan et al., 2014; Tyteak et al., 2015). از این‌رو مطالعات زیادی در مورد حذف آلاینده‌های معدنی توسط مواد مبتنی بر کربن از جمله مواد هیومیکی، بیوچار و بیوچار مهندسی شده (بیوچار اصلاح شده از نظر فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی) انجام شده است. مواد هیومیکی برای جذب کروم سه ظرفیتی از آب (Grohlich et al., 2017) و جذب مس از خاک کشاورزی آلوده (Hwang et al., 2015) به‌کار برده شده است. نوعی ماده آلی به‌نام لئوناردیت نیز برای حذف روی از محیط‌های آبی (Sole et al., 2003) و کاهش تحرک‌پذیری فلزات بالقوه سمّی در خاک‌های آلوده استفاده شده است (Meunier, 2007). در واقع لئوناردیت یک ماده کاملاً طبیعی، حاوی مقادیر بالای اسید هیومیک (حداکثر ۸۶ درصد) و مواد مغذی ماکرو و میکرو بوده و به شکل زغال سنگ نرسیده می‌باشد (Şahin, 2023). این ماده آلی دارای pH ۳ تا ۵ بوده و حلالیت کمی در آب دارد (Engin and Cocen, 2012).

اگر چه مطالعات زیادی در مورد کاربرد کربن فعال و لئوناردیت به‌عنوان جاذب زیستی برای حذف فلزات بالقوه سمّی انجام شده، اما در رابطه با جذب آنتی‌بیوتیک‌ها توسط لئوناردیت تاکنون پژوهشی صورت نگرفته است. همچنین با توجه به اهمیت حذف آنتی‌بیوتیک‌ها از خاک به‌دلیل امکان انتقال آن‌ها به چرخه غذایی از طریق مصرف محصولات زراعی به‌ویژه سبزیجات آلوده، تحقیقی در مورد حذف این ترکیبات دارویی از خاک انجام نشده است. لذا این مطالعه با هدف به حداقل رساندن آلودگی ناشی از آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین در محیط خاک و همچنین به‌منظور بررسی اثر متقابل مواد آلی با خاک از طریق کاربرد لئوناردیت با مقادیر مختلف (۰، ۲ و ۵ درصد وزنی) در خاک آهکی آلوده به سیپروفلوکساسین تحت

نسخه پیش از انتشار

کشت گیاه تره (*Allium Iranicum*) انجام شد.



شکل ۱. ساختار شیمیایی سیپروفلوکساسین

Fig. 1. Chemical structure of ciprofloxacin

مواد و روش‌ها

خاک مورد مطالعه و لئوناردیت

یک نمونه خاک زراعی از عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متری، واقع در اراضی کشاورزی دانشگاه ارومیه نمونه‌برداری گردید. تاکنون هیچ نوع کود دامی در این اراضی استفاده نشده است و نمونه خاک مورد بررسی براساس پیش آزمایشات عاری از آنتی‌بیوتیک می‌باشد. پس از هوا خشک کردن خاک از الک ۲ mm عبور داده شد. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن نظیر بافت خاک به روش هیدرومتری (Gee and Bauder, 1986)، pH در سوسپانسیون یک به ۵ خاک به آب، کربن آلی به روش والکلی و بلک (۱۹۳۴) و کربنات کلسیم معادل به روش خنثی‌سازی با اسیدکلریدریک (Rayment and Higginson, 1992) اندازه‌گیری گردید. لئوناردیت مورد استفاده نیز از شرکت بیوتار ترکیه تهیه گردید.

آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه

سیپروفلوکساسین با درجه خلوص بالا (Purity > 98%) از شرکت سیگما آلدریچ آلمان تهیه گردید. فرمول شیمیایی آن $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ و وزن مولکولی آن ۳۳۱/۳۴ $g\ mol^{-1}$ می‌باشد. ساختار شیمیایی این ترکیب دارویی در شکل (۱) نشان داده شده است.

آزمایش جذب سطحی

برای تعیین تأثیر لئوناردیت بر جذب سیپروفلوکساسین در خاک، آزمایشی با یک g خاک در ۲۰ mL محلول حاوی سیپروفلوکساسین (۰/۸ $mmol\ L^{-1}$) در سه سطح لئوناردیت (صفر، ۲ و ۵ درصد وزنی) انجام شد. پس از شیک و سانتریفیوژ (۴۰۰۰ rpm)، محلول رویی با فیلتر سرسرنگی جدا و غلظت سیپروفلوکساسین با دستگاه HPLC قرائت گردید.

دستگاه HPLC مورد استفاده در این پژوهش مدل Knauer با دتکتور فلورسانس (برانگیختگی در طول موج ۲۸۰ نانومتر و طول موج نشری در ۴۵۰ نانومتر) متصل به رایانه می‌باشد. فاز متحرک شامل اسید فسفریک ۰/۰۵ $mol\ L^{-1}$ (تنظیم pH با تری‌اتیل آمین) و استونیتریل با نسبت حجمی ۸۲:۱۸، با سرعت جریان ۰/۲ $mL\ min^{-1}$ می‌باشد. حجم تزریق ۲۰ µL و سرعت ۰/۳ $mL\ min^{-1}$ بود. دمای ستون (۲۶ °C) در طول آنالیز کنترل گردید.

راندمان جذب و ظرفیت جذب جاذب با استفاده از معادلات ۱ و ۲ و ضریب توزیع با معادله ۳ محاسبه شد (Mutavdžić Pavlović et al., 2014):

$$RE\% = \left(\frac{Ci - Ce}{Ci}\right) \times 100 \quad (۱)$$

$$q_e = (Ci - Ce) \times V / m \quad (۲)$$

در معادلات فوق، RE کارایی حذف، Ci و Ce به‌ترتیب غلظت اولیه و غلظت تعادلی جذب‌شونده ($mg\ L^{-1}$)، qe وزن جذب شونده در واحد وزن جذب‌کننده ($mg\ g^{-1}$)، V و m به‌ترتیب حجم محلول (L) و وزن خاک (g) و K_d ضریب توزیع ($L\ kg^{-1}$) می‌باشد.

آزمایش گلخانه‌ای

بذر تره (*Allium Iranicum*) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور غلظت سیپروفلوکساسین در دو سطح (صفر و ۲ $mmol\ L^{-1}$) و لئوناردیت در سه سطح (صفر، ۲ و ۵ درصد) در سه تکرار کاشت شد و گلدان‌های بدون استفاده از سیپروفلوکساسین و لئوناردیت به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. دمای گلخانه در طول دوره کشت بین ۱۸ تا ۲۵

نسخه پیش از انتشار

جدول ۱. برخی ویژگی‌های نمونه خاک و لئوناردیت (Piri et al., 2023)

Table 1. Some characteristics of soil and Leonardite sample

نمونه خاک Soil sample		نمونه لئوناردیت Leonardite sample	
بافت خاک Texture	لومی سیلتی	اسیدهیومیک + اسید فولیک Humic acid + folic acid (%)	55
CCE (%)	22	CEC ($Cmol_c.kg^{-1}$)	67
شوری EC ($dS\ m^{-1}$)	0.89	سطح ویژه Specific surface area ($m^2.g^{-1}$)	17
OC (%)	0.65	OC (%)	32.3
pH	7.98	pH	3.5

CEC ظرفیت تبادل کاتیونی، CCE کربنات کلسیم معادل و OC کربن آلی می‌باشد.

CEC, CCE and OC are cation exchange capacity, Calcium carbonate equivalent and organic carbon, respectively.

°C و رطوبت نسبی آن روی ۵۰ تا۶۰ درصد تنظیم شد. پس از ۴۲ روز کاشت، تره‌ها برداشت شدند و از هر گلدان یک نمونه مرکب گیاهی تهیه و برای اندازه‌گیری محتوای سیپروفلوکساسین با دستگاه HPLC به آزمایشگاه منتقل گردید.

آماده‌سازی نمونه گیاهی

پس از اینکه بوته‌های تره از سطح خاک برداشت شد، برخی صفات مورفولوژیکی مانند وزن تر، وزن خشک، قطر ساقه و ارتفاع بوته لندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌های مرکب تهیه و لیوفیلایز گردید. به ۰/۱ g سبزیجات لیوفیلایز شده، ۰/۲ mL (0.01 M) HCl -CH_3OH (۶۰ + ۴۰) و ۱/۷ mL استات آمونیوم–اسید فرمیک (۹۰ + ۱۰) اضافه شد و پس از همگن کردن و سانتریفیوژ به مدت ۵ min، مایع رویی برای آنالیز سیپروفلوکساسین جذب شده به دستگاه HPLC تزریق گردید (Eggen et al., 2011).

نتایج و بحث

ویژگی‌های خاک مورد مطالعه و لئوناردیت

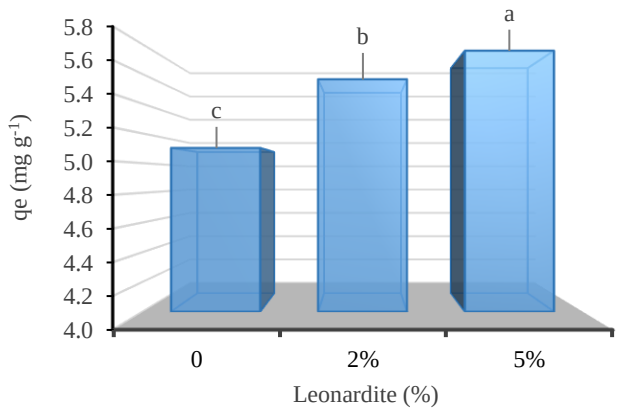
خاک مورد مطالعه دارای ۰/۶۵ درصد ماده آلی، pH ۷/۸۹، شوری ۰/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر بود، میزان کربنات کلسیم معادل حدوداً ۲۰ درصد بود که ماهیت آهکی خاک را نشان داد. بافت خاک نیز به‌عنوان لوم سیلتی (۹ درصد رس، ۵۳ درصد سیلت و ۳۸ درصد شن) طبقه‌بندی شد.

برخی ویژگی‌های خاک مورد مطالعه و خواص لئوناردیت مورد استفاده در جدول (۱) خلاصه شده است. لئوناردیت با وجود pH پایین، حاوی اسید هیومیک بسیار بالایی است و به دلیل تخلخل بالا و اندازه ریز ذرات (در حد نانومتر) می‌تواند به‌عنوان جاذب عمل کند. فولویک و هیومیک اسید، ترکیبات پایدار مواد هیومیکی هستند که به دلیل CEC بالا و داشتن گروه‌های عاملی آلی شامل فنولیک‌ها، اسید کربوکسیلیک، فتالات و گروه‌های نیتروژن‌دار مانند ایندول، تمایل زیادی به تشکیل کمپلکس‌های متعدد با ترکیبات موجود در خاک دارند (Ricca et al., 2000).

تأثیر لئوناردیت بر جذب سیپروفلوکساسین توسط خاک

میزان جذب سیپروفلوکساسین در حضور مقادیر مختلف لئوناردیت (۰، ۲ و ۵ درصد) به‌منظور تعیین نقش مواد آلی بر میزان جذب این آنتی‌بیوتیک در خاک مورد بررسی در شکل (۲) نشان داده شده است. میزان جذب، کارایی حذف و ضریب توزیع سیپروفلوکساسین در خاک تحت تأثیر لئوناردیت نیز در جدول (۲) آورده شده است. براساس نتایج، با کاربرد ۲ و ۵

نسخه پیش از انتشار



شکل ۲. تأثیر درصدهای مختلف لئوناردیت بر جذب سیپروفلوکساسین در خاک (حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۱ درصد می‌باشد).

Fig. 2. The effect of different percentages of Leonardite on the adsorption of ciprofloxacin in soil (different letters indicate statistically significant differences at the 1% level).

جدول ۲. میزان جذب (q_e)، کارایی حذف (RE) و ضریب توزیع (K_d) سیپروفلوکساسین در خاک تحت تأثیر لئوناردیت

Table 2. Adsorption rate (q_e), removal efficiency (RE) and distribution coefficient (K_d) of ciprofloxacin in soil under the influence of Leonardite

Leonardite (%)	q_e (mg kg^{-1})	RE (%)	K_d (L kg^{-1})
0	5102	85	113.6
2	5564	93	225.0
5	5756	96	471.7

درصد لئوناردیت میزان جذب سیپروفلوکساسین در خاک از ۵۱۰۲ به‌ترتیب به ۵۵۶۴ و ۵۷۵۶ (mg kg^{-1}) رسید که نشان می‌دهد با افزودن ۲ و ۵ درصد لئوناردیت، میزان جذب نسبت به شاهد به‌ترتیب حدود ۱۰ و ۱۳ درصد افزایش یافت. به‌طور کلی، خاک‌های حاوی لئوناردیت بیشتر و به تبع آن محتوای آلی بیشتر، سرعت جذب سریعتر و اتصال آنتی‌بیوتیک بیش‌تری را در خاک نشان دادند (Sukul et al., 2008). اهمیت مواد آلی طبیعی در جذب سولفونامیدها به خاک نیز گزارش شده است (Thiele-Bruhn et al., 2004). اگر چه سرنوشت و انتقال یک آلاینده در محیط خاک تا حد زیادی به تعامل آن با مواد جامد خاک بستگی دارد ولی Gao و Pedersen (۲۰۰۵) بیان کردند که بخش معدنی خاک جاذب بسیار ضعیف تری نسبت به مواد آلی برای سولفونامیدها می‌باشد.

براساس نتایج، در مطالعه حاضر لئوناردیت به‌عنوان نوعی ماده آلی در جذب آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین، به‌عنوان آنتی‌بیوتیک پرمصرف، کارایی بالایی نشان داد، به‌طوری‌که با کاربرد ۵ درصد لئوناردیت کارایی حذف (RE) بیش از ۱۰ درصد افزایش پیدا کرد و از ۸۵ درصد به ۹۶ درصد رسید (جدول ۲). ساختار پایدار آنتی‌بیوتیک‌ها تجزیه زیستی آن‌ها را در شرایط طبیعی دشوار می‌کند و تجزیه با روش‌های شیمیایی به انرژی و هزینه بالایی نیاز دارد. در مقایسه با این دو روش، روش جذب سطحی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد و راندمان بالا، مقرون به صرفه بودن و بهره برداری آسان از مزایای این روش محسوب می‌شود (Bangari et al., 2019; Maged et al., 2020).

ضریب توزیع (K_d) برای جذب یک آلاینده آلی منفرد روی ذرات خاک را می‌توان با محتوای آلی جاذب مرتبط دانست. مقادیر K_d برای سیپروفلوکساسین در مطالعات مختلف بسیار

جدول ۳. برخی پارامترهای رشد تره در سطوح مختلف لئوناردیت (صفر، ۲ و ۵ درصد)

Table 3. Some growth parameters of leek at different levels of Leonardite (0, 2 and 5%)

لئوناردیت Leonardite (%)	وزن تر Fresh weight (g pot^{-1})	وزن خشک Dry weight (g pot^{-1})	ارتفاع بوته Plant height (cm)	قطر ساقه Stem diameter (mm)
0	8.83e	0.84d	11.93d	2.30d
2	10.85d	1.10c	16.00c	3.00c
5	17.53c	1.50b	19.63b	4.07b

در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند. LSD در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون

In each column, numbers with similar letters are not significantly different (LSD, $p < 0.05$).

متفاوت گزارش شده است. در برخی پژوهش‌ها این مقادیر (۷۲۷–۱۲۷۸ L kg^{-1}) بالاتر از مقادیر به‌دست آمده در مطالعه حاضر می‌باشد (Leal et al., 2013). در مطالعه دیگر نیز مقدار K_d ۴۸۴۴ L kg^{-1} به‌دست آمد (Conkle et al., 2010). در خاک‌های مطالعه شده توسط Wang و همکاران (۲۰۱۵) مقادیر K_d شبیه به مقادیر مطالعه حاضر به‌دست آمد (حدود ۲۱۰ L kg^{-1}). Rodríguez-López و همکاران (۲۰۲۲) نیز میانگین K_d سیپروفلوکساسین را ۳۶۴ L kg^{-1} گزارش نمودند. هرچه مقدار K_d بیشتر باشد تحرک آنتی‌بیوتیک کاهش یافته و مقاومت بالایی در برابر تخریب در خاک از خود نشان می‌دهد بنابراین برای حذف آن از محیط، مدت زمان زیادی نیاز است. از این‌رو آنتی‌بیوتیک‌هایی با K_d کوچک‌تر در خاک کاملاً متحرک بوده و تمایل کمی برای جذب شدن به ترکیبات آلی و غیر آلی دارند و قابل حذف هستند (Rodríguez-López et al., 2022). به بیان دیگر، تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها به‌شدت تحت تأثیر ویژگی‌های خاک از جمله مواد آلی می‌باشد. به‌طوری‌که DT_{50} اکسی‌تتراسایکلین در دو خاک کشاورزی اصلاح نشده و اصلاح شده با کود دامی به‌ترتیب ۳۰ و ۳۹ روز به‌دست آمد (Li et al., 2010). Sukul و همکاران (۲۰۰۸) با مقایسه داده‌های جذب سولفادیازین در خاک با و بدون کود دامی نقش عمده مواد آلی را در جذب سولفادیازین تأیید کردند.

تأثیر لئوناردیت بر جذب سیپروفلوکساسین توسط گیاه

برخی پارامترهای رشد گیاهان تره در خاک آلوده به سیپروفلوکساسین تحت تأثیر مقادیر مختلف لئوناردیت در جدول (۳) نشان داده شده است. براساس نتایج، با اضافه کردن ۲ درصد لئوناردیت، وزن تر، وزن خشک، ارتفاع بوته و قطر ساقه تره به‌ترتیب ۲۳، ۳۱، ۳۴ و ۳۰ درصد نسبت به شاهد (صفر درصد لئوناردیت) افزایش یافت، این ویژگی‌ها با کاربرد ۵ درصد لئوناردیت، حدود ۲ برابر نسبت به شاهد افزایش یافتند که نشان‌دهنده تأثیر مثبت لئوناردیت بر پارامترهای رشد گیاه تره می‌باشد. این جاذب طبیعی، به‌دلیل سطح ویژه بالا، مواد آلی و CEC بالا (جدول ۱) علاوه حذف آلاینده‌های خاک، حاصلخیزی و جذب عناصر غذایی را بهبود بخشیده و رشد گیاه را افزایش می‌دهد (Piri et al., 2023). نتایج مشابهی توسط Sarıyıldız et al. (2020) در مورد اثرات لئوناردیت بر رشد و کیفیت سیر (*Allium sativum L.*) گزارش شده است. همچنین در مطالعه‌ای نتایج بررسی تأثیر مواد هیومیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیک دو گیاه زینتی شمعدانی و سینداپسوس نشان داد که استفاده از هیومیک اسید و فولویک اسید سبب بهبود اکثر ویژگی‌های فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در این گیاهان شد، به‌طوری‌که کاربرد هیومیک اسید در غلظت کم، به‌تنهایی توانست ویژگی‌های رشدی گیاه شعمدانی را بهبود بخشد (Abbaszadeh et al., 2020).

تجزیه و تحلیل آماری غلظت سیپروفلوکساسین اندازه‌گیری شده در نمونه‌های گیاهی (اندام هوایی تره) تحت‌تأثیر سطوح مختلف لئوناردیت، در جدول (۴) خلاصه شده است. براساس نتایج کاربرد لئوناردیت به‌عنوان یک ماده اصلاحی، در جذب و

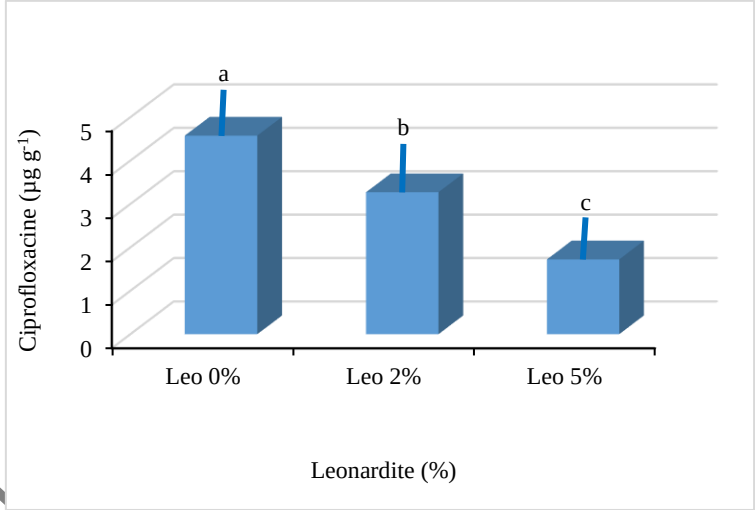
جدول ۴. تجزیه واریانس غلظت سیپروفلوکساسین جذب شده توسط تره تحت تأثیر سطوح مختلف لئوناردیت

Table 4. Variance analysis of the concentration of adsorbed ciprofloxacin by leek under the influence of different levels of Leonardite

میانگین مربعات Mean square	درجه آزادی Degree of freedom	منبع تغییر Source of variation
6.10**	2	لئوناردیت Leonardite
0.10	6	خطا Error
10.34		ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)

** نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

** indicates significance at $p < 0.01$.



شکل ۳. مقایسه میانگین تأثیر لئوناردیت بر میزان جذب سیپروفلوکساسین توسط تره (حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد).

Fig. 3. The effect of different levels of Leonardite on the amount of ciprofloxacin uptake by leek (different letters indicate statistically significant differences at the 1% probability level).

کاهش تحرک سیپروفلوکساسین و در نتیجه جلوگیری از ورود آن به سبزیجاتی مانند تره مؤثر می‌باشد. انتخاب جاذب کارایی فرآیند جذب را تعیین می‌کند (Ren et al., 2023). بنابراین جذب سطحی با جاذب مناسب، رایج‌ترین روش برای حذف آنتی‌بیوتیک‌ها از خاک و جلوگیری از ایجاد آلودگی می‌باشد.

آلودگی سبزیجات به آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است از منابع مختلفی مانند کود، خاک، آب آبیاری و ... ناشی شود (Johannessen et al., 2002). مصرف این سبزیجات منجر به انتقال باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و ژن‌های مقاوم آن‌ها به بدن انسان می‌شود که نهایتاً باعث بروز عفونت‌های باکتریایی می‌گردد. تأثیر لئوناردیت بر میزان جذب سیپروفلوکساسین توسط تره در شکل (۳) نشان داده شده است. بر این اساس، غلظت سیپروفلوکساسین در تره بدون لئوناردیت ۴/۶ µg g^{-1} گیاه بود، اما با افزودن ۲ و ۵ درصد لئوناردیت به خاک، به‌طور قابل توجهی غلظت جذب شده این آنتی‌بیوتیک توسط گیاه کاهش یافت. سبزیجاتی مانند تره در طول دوره رشد چندین بار

برداشت می‌شوند، از این‌رو آنتی‌بیوتیک بیش‌تری در آن‌ها تجمع می‌یابد. براســاس مطالعات انجام شــده تجمع آنتی‌بیوتیک‌ها در قسمت‌های فوقانی گیاهان نسبت به ریشه‌ها بیش‌تر است (Liu et al., 2009). ممکن است مکانیسم جذب برخی از آلاینده‌های آلی انتقال از طریق کانال‌های کاتیونی غیرانتخابی باشــد (Demidchik and Maathuis, 2007). بقایای آنتی‌بیوتیکی به‌ویژه سیپروفلوکساسین برای رشد گیاه بسیار سمّی هستند. بنابراین ارزیابی ایمنی مواد غذایی از نظر وجود آنتی بیوتیک‌ها بسیار ضروری می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در ایــن پــژوهــش بــرای کــاهــش تــحــرک آنــتــی‌بــیــوتــیــک سیپروفلوکساسین در محیط خاک از مواد آلی طبیعی لئوناردیت به‌عنوان جاذب استفاده گردید. براساس نتایج، سیپروفلوکساسین تمایل بالایی برای جذب توسط لئوناردیت نشان داد به‌طوری‌که مقادیر K_d در حضــور لئوناردیت به‌طور معنی‌داری نســبت به شاهد افزایش یافت که نشان‌دهنده پیوند قوی این آنتی‌بیوتیک با مواد آلی خاک اســت. در خاک بدون لئوناردیت (شــاهد) غلظت سیپروفلوکساسین در گیاه تره ۴/۶ $\mu g\ g^{-1}$ اندازه‌گیری شد ولی با کاربرد ۲ و ۵ درصــد لئوناردیت غلظت آنتی‌بیوتیک به‌ترتیب ۲۸ و ۶۲ درصــد نســبت به شــاهد کاهش یافت. در نتیجه تحرک و حلالیت آن در محیط خاک توســط لئوناردیت کنترل می‌گردد و ورود آن به گیاه کاهش می‌یابد. با توجه به یافته‌های این پژوهش پیشــنهــاد می‌گردد کــارایی این جــاذب زیســتی بر جــذب آنتی‌بیوتیک‌های دیگر نیز بررسی گردد.

تشکر و سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه ارومیه تشکر می‌کنند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اذعان دارند هیچ‌گونه تضاد منافعی با شــخص، شرکت یا سازمانی برای این پژوهش ندارند.

منابع مورد استفاده

1. Abbaszadeh Farují, R., Shoor, M., Tehranifar, A., Abedi, B., 2020. Effects of Humic and Fulvic Acids on Some Physiological Characteristics of Two Ornamental Plants of Granium (*Plargonium spp.)* and Scindapsus (*Scindapsus spp.*). J. Soil and Plant Interactions. 11(1), 45–58. (In Persian with English abstract)
2. Abdi, J., Esmaeili-Faraj, S.H., Mazloom, G., Pirhoushyaran, T., 2022. Metal-Organic Frameworks for Remediation of Noxious Pollutants. Sustainable Materials for Sensing and Remediation of Noxious Pollutants. 13, 209–228. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99425-5.00007-4.
3. Bangari, R.S., Sinha, N., 2019. Adsorption of Tetracycline, Ofloxacin and Cephalexin Antibiotics on Boron Nitride Nanosheets from Aqueous Solution. J. Mol. Liq. 293, 111376. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019. 111376.
4. Conkle, J.L., Lattao, C., White, J.R., Cook, R.L., 2010. Competitive sorption and desorption behavior for the three fluoroquinolone antibiotics in a wastewater treatment wetland soil. Chemosphere. 80, 1353–1359.
5. Cycon, M., Mrozik, A., Piotrowska-Seget, Z., 2019. Antibiotics in the Soil Environment-Degradation and Their Impact on Microbial Activity and Diversity. Front. Microbial. 338, 1–45.
6. Dein, A.K., Elhearon, E.R., 2010. Antibiotic residue in eggs of laying hens following injection with gentamicin. New York Science Journal. 3, 135–140.
7. Demidchik, V., Maathuis, F.J.M., 2007. Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. New Phytol. 175, 387–404. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02128.x.
8. Dovlati, B., doğru Ok, S., Moradi, N., 2020. Effect of Leonardite on the desorption kinetics of heavy metals in in contaminated soils with different maternal materials. J. Natural Environ. 73(1), 23–36. https://doi.org/10.22059/jne.2020.279043.1690. (In Persian)
9. Eggen, t., Normann Asp, t., Grave, K., Hormazabal, V., 2011. Uptake and translocation of metformin, ciprofloxacin and narasin in forageand crop plants. Chemosphere. 85, 26–33. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.041.
10. Engin, V.T., Cöcen, E., 2012. Leonardite and humic matters. J. Underground Resources. 1, 1–8.

نسخه پیش از انتشار

11. Gao, J., Pedersen, J.A., 2005. Adsorption of sulfonamide antimicrobial agents to clay minerals. Environ. Sci. Technol. 39, 9509–9516.
12. Gee, G.H., Bauder, J.W., 1986. Methods of Soil Analysis. Soil Science Society of America, Madison.
13. Gil Bravo, A., Taoufik, N., García Mora, A.M., Korili, S.A., 2019. Comparative removal of emerging contaminants from aqueous solution by adsorption on an activated carbon. Environ. Technol. 40, 3017–3030.
14. Gröhlich, A., Langer, M., Mitrakas, M., Zouboulis, A., Katsoyiannis, I., Ernst, M., 2017. Effect of organic matter on Cr (VI) removal from groundwater by Fe (II) reductive precipitation for groundwater treatment. Water. 9, 389.
15. Hwang, B.R., Kim, E.J., Yang, J.S., Baek, K., 2015. Extractive and oxidative removal of copper bound to humic acid in soil. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 22, 6077–85.
16. Ji, Y., Ferronato, C., Salvador, A., Yang, X., Chovelon, J.M., 2014. Degradation of ciprofloxacin and sulfamethoxazole by ferrous-activated persulfate: Implications for remediation of groundwater contaminated by antibiotics. Sci. Total Environ. 472, 800–8.
17. Johannessen, G., Loncarevic, S., Kruse. H., 2002. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. Int. J. Food Microbiol. 77, 199–204. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00051-X.
18. Leal, R.M.P., Alleoni, L.R.F., Tornisielo, V.L., Regitano, J.B., 2013. Sorption of fluoroquinolones and sulfonamides in 13 Brazilian soils. Chemosphere. 92, 979–985.
19. Li, L.L., Huang, L.D., Chung, R.S., Fok, K.H., Zhang, Y.S., 2010. Sorption and dissipation of tetracyclines in soils and compost. Pedosphere. 20, 807–816. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(10)60071-9.
20. Liu, F., Ying, G., Tao, R., Zhao, J., Yang, J., Zhao, L., 2009. Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities. Environ. Pollut. 157(5), 1636–1642. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.12.021.
21. Maged, A., Iqbal, J., Kharbish, S., Ismael, I., Bhatnagar, A., 2020. Tuning Tetracycline Removal from Aqueous Solution Onto Activated 2: 1 Layered Clay Mineral: Characterization, Sorption and Mechanistic Studies. J. Hazard. Mater. 384, 121320. https://doi.org/10. 1016/j.jhazmat.2019.121320.
22. Meunier, A., 2007. Soil hydroxy-interlayered minerals: A re-interpretation of their crystalloid chemical properties. Clay Miner. 55, 380–388.
23. Mohan, D., Sarswat, A., Ok, Y.S., Pittman Jr, C.U., 2014. Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent–a critical review. Bioresour. Technol. 160, 191–202.
24. 24. Mutavdžić Pavlović, D., Ćurković, L., Blažek, D., Zupan, J., 2014. The sorption of sulfamethazine on soil samples: Isotherms and error analysis. Sci. Total Environ. 5, 497–498. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.018.
25. Patel, M., Kumar, R., Kishor, K., Mlsna, T., Pittman Jr, C.U., Mohan, D., 2019. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: chemistry, occurrence, effects, and removal methods. Chem. Rev. 119, 3510–3673.
26. Piri, M., Sepehr, E., Zamanzad Ghavidel, S., 2023. Dosing of leonardite/struvite compounds as phosphorus fertilizers increased biomass and nutrient uptake in a calcareous soil. J. Clean. Prod. 430,139723. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.139723.
27. Rayment, G.E., Higginson, F.R., 1992. Australian Laboratory Handbook of Soil and Water Chemical Methods. Melbourne, Inkata Press.
28. Ren, S., Wang, S., Liu, Y., Wang, Y., Gao, F., Dai, Y., 2023. A review on current pollution and removal methods of tetracycline in soil. Sep. Sci. Technol. 58(14), 2578–2602. https://doi.org/10.1080/01496395.2023.2259079.
29. Ricca, G., Severini, F., Di Silvestro, G., Yuan, C.M., Adani, F., 2000. Derivatization and structural studies by spectroscopic methods of humic acids from Leonardite. Geoderma. 98, 115–125.
30. Rocha, D.C., Rocha, C.S., Tavares, D.S., Calado, S.L.M., Gomes, M.P., 2021. Veterinary antibiotics and plant physiology: An overview. Sci. Total Environ. 767, 144902.
31. Rodríguez-López, L., Santás-Miguel, V., Cela-Dablanca, R., Núñez-Delgado, A., Álvarez-Rodríguez, E., Pérez-Rodríguez, P., Arias-Estévez, M., 2022. Ciprofloxacin and Trimethoprim Adsorption/Desorption in Agricultural Soils. Int. J. Environ. Res. Public Health. 19, 8426. https://doi.org/10.3390/ijerph19148426.
32. Şahin, D., 2023. Effect of a natural adsorbent mixture (zeolite and leonardite) on the reduction of ammonia caused by fish feed. J. Prod. Agric. 4(1), 56–62. https://doi.org/10.56430/japro.1273000.
33. Samadi, M.T., Shokohi, R., Harati, R., 2016. Comparison of heterogeneous fenton process and adsorption process on magnetic nanocomposite for ciprofloxacin removal from aqueous solutions. J. Qazvin Univ. Med. Sci. Health Serv. 20(1), 4–13. (In Persian with English abstract)
34. Sarıyıldız, T., 2020. Effects of Leonardite and Mineral Fertilizer Applications on Plant Growth and Soil Quality of Garlic (*Allium sativum L.*). Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology. 8(8), 1763–1772. https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i8.1763-1772.3504.
35. Selvam, A., Zhao, Z., Wong, J.W., 2012. Composting of swine manure spiked with sulfadiazine, chlortetracycline and ciprofloxacin. Bioresour. Technol. 126, 412–7.
36. Sharifmand, M., Sepehr, E., Rasouli-Sadaghiani, M.H., Asri-Rezaei, S., 2023. Antibiotic residues in the soil; a threat

to human health. Applied Soil Research. 11(1), 58–72. (In Persian with English abstract)
37. Solé, M., Casas, J. M., Lao, C., 2003. Removal of Zn from aqueous solutions by low-rank coal. Water Air Soil Pollut. 144, 57–65.
38. Sukul, P., Lamshöft, M., Zühlke, S., Spiteller, M., 2008. Sorption and desorption of sulfadiazine in soil and soil-manure systems. Chemosphere. 73, 1344–50. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.06.066.
39. Thiele-Bruhn, S., Seibicke, T., Schulten, H.R., Leinweber, P., 2004. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions. J. Environ. Qual. 33, 1331–1342.
40. Tyteak, A., Oleszczuk, P., Dobrowolski, R., 2015. Sorption and desorption of Cr (VI) ions from water by biochars in different environmental conditions. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 22, 5985–5994.
41. Walkley, A., Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci. 37(1), 29–38.
42. Wang, S., Wang, H., 2015. Adsorption behavior of antibiotic in soil environment: A critical review. Front. Environ. Eng. Sci. 9, 565–574.

نسخه پیش از انتشار