

## اعتماد شروط تحليلية جديدة لتقدير الحمولة الإستروجينية في مياه الصرف الصحي باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

الدكتور حسين جنيدي\*  
الدكتور أحمد قره علي\*\*  
صبا حاتم\*\*\*

(تاريخ الإيداع 13 / 11 / 2011. قُبِلَ للنشر في 16 / 1 / 2012)

### □ ملخص □

تتنمي الإستروجينات، موضوع البحث، إلى مجموعة المركبات المعطلة للإندوكرين، والتي أخذت تثير اهتماماً كبيراً ومنتزاهاً نتيجة لتزايد الأدلة على تأثيراتها السلبية في النظم المائية والإنسان. قيس تراكيز كل من 17 بيتا إستراديول (E2) و 17 ألفا إيتينيلإستراديول (EE2) في كل من مياه الدخل، ودفوق الترسيب الأولي والثانوي، ومياه الخرج في محطة معالجة مياه الصرف الصحي بعدرا، وذلك عبر اعتماد شروط تحليلية جديدة بنقانة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء. كان حد التقدير الكمي لكل من E2 و EE2 6.4 و7.6 نانوغرام/ل على التوالي. أظهرت النتائج أن تراكيز E2 و EE2 المقيسة في مياه الدخل كانت في المجالين (51 - 75) و (17 - 54) نانوغرام/ل على التوالي، وقد انخفض تركيز كل منهما مع تقدم المعالجة، حيث بلغت نسبة انخفاض التركيز في دفوق الترسيب الثانوي (46%) و (42.35%) من أجل E2 و EE2 على التوالي. ولم يتم الكشف عن المركبين في أي من العينات المأخوذة من الدفوق النهائية. تشير نتائج الدراسة إلى فعالية المعالجة الحيوية في إزالة الإستروجينين المذكورين بشكل تام ضمن حدود الكشف، بالرغم من ذلك نؤكد أهمية تطبيق معالجة متقدمة لضمان أفضل النتائج، أو تعزيز فعالية الإزالة للمعالجة الحيوية كخيار اقتصادي فاعل عبر تعديل شروط التشغيل.

**الكلمات المفتاحية:** الإستروجينات، المواد المعطلة للإندوكرين، الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء، مياه الصرف الصحي.

\*مدرس - المعهد العالي لبحوث البيئة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

\*\*مدرس - المعهد العالي للبحوث البحرية - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

\*\*\*طالبة دراسات عليا (ماجستير) - المعهد العالي لبحوث البيئة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

## Adopting a New Analytical Procedures for Estimating the Estrogenic Load in the Sewage Using HPLC.

Dr. Hussen Jenidi\*  
Dr. Ahmad Kara Ali\*\*  
Siba Hatim\*\*\*

(Received 13 / 11 / 2011. Accepted 16 / 1 / 2012)

### □ ABSTRACT □

Estrogens belong to the Endocrine disrupters of which there is growing concern in recent years, since more and more evidence has been gathered showing their adverse effects on both aquatic systems and humans.

Concentrations of 17 beta estradiol (E2) and 17 alpha ethinyloestradiol (EE2) were determined in the influent, effluents of primary and secondary settling tanks, and final effluent of the sewage treatment plant in Adra by applying a new analytical procedures using HPLC. Limits of Quantification (LOQ) were 6.4 and 7.6 ng/l for E2 and EE2 respectively. The results showed that levels of E2 and EE2 measured in the influent were in the range of (51-75) and (17-54) ng/l respectively. The concentration decreased with the progress of treatment, as the reduction ratio of E2 and EE2 in the secondary effluent were 46% and 42.35% respectively. No concentrations were detected in the final effluent.

The results indicate that conventional treatment is efficient in the removal of estrogens, stressing the Importance of applying advanced process to achieve the best results, or promoting the removal effectiveness for biological treatment as an efficient and cost effective option by modifying the operating parameters.

**Key words:** Estrogens, Endocrine disrupters, HPLC, Sewage.

---

\*Assistant Professor, Higher Institute for Environmental Researches, Tishreen University, Lattakia, Syria.

\*\*Assistant Professor, Higher Institute for Marine Researches, Tishreen University, Lattakia, Syria.

\*\*\*Postgraduate Student, Higher Institute for Environmental Researches, Tishreen University, Lattakia, Syria.

**مقدمة:**

لوحظ خلال العقد الأخير تنامي الاهتمام بمجموعة المركبات المعطلة للهرمونات Endocrine disrupting compounds التي تنتمي إليها الإستروجينات، موضوع البحث، والتي أخذت تثير اهتماماً كبيراً ومتزايداً نتيجة لتزايد الأدلة على تأثيراتها السلبية في النظم المائية والإنسان [1].

إن المركبات المعطلة للهرمونات عبارة عن مجموعة من المواد التي يمكن أن تسبب تأثيرات صحية سلبية في العضوية السليمة أو النسل عبر التداخل مع الهرمونات والطريقة التي تضبط فيها النمو والاستقلاب ووظائف الجسم. وهي قد تتفاعل مع النظم الهرمونية بطرق مختلفة كمواد مقلدة تحاكي تأثير الهرمونات، أو حاصرة تحجب تأثير هذه الهرمونات.

رغم أن مسألة التعطيل الهرموني حديثة النشأة في البيئة، فقد عرف العلماء قدرة هذه المركبات الطبيعية والصناعية على التداخل مع النظم الهرمونية للحيوانات منذ ما يزيد عن 80 سنة. فقد تم الكشف باكراً عن وجود مركبات محددة يمكن أن تقلد عمل الهرمونات الداخلية للحيوانات وذلك في عام 1930 [2، 3]. وفي عام 1948 [4]، سجلت قدرة المركبات الإستروجينية على التداخل مع النمو الطبيعي للبرمائيات. وفي السنوات الأخيرة، تم جمع أدلة متزايدة تظهر تأثيراتها السلبية في النظم المائية والإنسان لتؤكد بذلك الدراسات المبكرة التي عرضت سابقاً، حيث أشارت تقارير من إنكلترا وأميركا في عام 1990 إلى وجود شذوذات تناسلية مختلفة لدى أسماك تعيش تحت وحدات معالجة مياه الصرف الصحي [5، 6]. كما ذكر أحد البحوث أن تعريض الأسماك إلى مركبي (E2 و EE2) ( $17 \beta$ -estradiol) و ( $17 \alpha$ -ethynylestradiol) تحت شروط مخبرية بتركيز 2 نانوغرام/ل قد أحدث تغييرات في التكاثر قابلة للقياس [7، 8]. ويكون EE2 فاعلاً حيوياً لدى الأسماك حتى بتركيز 0.1 نانوغرام/ل [9، 10].

إن التأثيرات غير المتوقعة للتراكيز الزهيدة للمركبات المعطلة للإندوكرين على الحياة البرية أثارت قلقاً حول التأثيرات المحتملة لهذه المركبات الكيميائية في البشر [11]، لاسيما أن هذه المركبات شديدة الثبات وقد تبقى في البيئة زمناً طويلاً دون أن تتحلل، كما تتمتع بخاصية التراكم الحيوي في النسيج الشحمية الأمر الذي يضاعف من خطورة هذه المواد. لكنها في الواقع مسألة مثيرة للجدل جداً. فقد عزا بعض الباحثين الانخفاض في جودة نطاف الإنسان إلى هذه المركبات في البيئة [12، 13]. كما اقترح أن الزيادات الحادة في أورام الصدر والبروستات والخصية مرتبطة بوجود هذه المركبات في البيئة [13، 14]، إلا أن علماء آخرين أنتجوا معطيات تدحض هذه النتائج. فمن المرجح أن تحدث الهرمونات الإستروجينية في المياه تأثيرات سلبية لدى البشر بصورة أقل من السمك نتيجة الفوارق في التعرضات، إذ يمكن للأسماك أن تتعرض بشكل ثابت بينما يتعرض الإنسان بشكل رئيس عبر ابتلاع كميات محدودة من مياه الشرب [15].

وحيث إنه لا يمكن لوحدها معالجة مياه الصرف الصحي التقليدية أن تتخلص من الإستروجينات بشكل كامل، لا تزال الدفوقات تشكل أحد المصادر الرئيسية للإستروجينات والتي تؤثر سلباً في تكاثر الحيوانات وصحة الإنسان نتيجة لفاعليتها الإستروجينية القوية، إذ إن كميات صغيرة منها قد تحدث تأثيرات إستروجينية سلبية على النظم المائية والإنسان. بالنتيجة، يجري التأكيد على استخدام تقنيات معالجة متقدمة على أمل الوصول إلى فعالية إزالة أعلى لهذه المركبات.

## أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية البحث في وضع شروط تحليلية جديدة ومناسبة لاستخلاص وتحديد الإستروجينات في مياه الصرف الصحي باستخدام أحدث التقانات المعتمدة في هذا المجال عالمياً، ولا سيما أنه لا توجد حتى الآن أية معلومات متوافرة حول تراكيز الهرمونات الإستروجينية في محطات معالجة مياه الصرف الصحي في المنطقة العربية. ويهدف البحث إلى الكشف عن الإستروجينات وتحديد تراكيزها في مراحل المعالجة المختلفة لمياه الصرف الصحي في محطة عدرا (سورية) بما يؤدي إلى تحديد العملية الأكثر فاعلية في إزالة الإستروجينات.

## طرائق البحث ومواده:

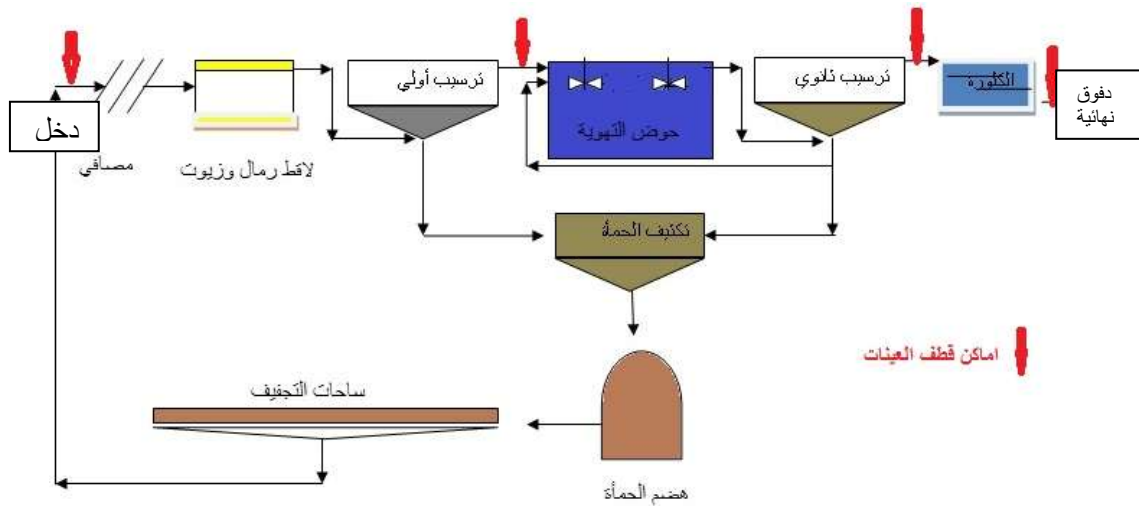
### 1- المواد والكواشف الكيميائية المستخدمة:

لإنجاز هذا البحث، استخدمت المواد والكواشف الكيميائية التالية:

- محاليل عيارية للهرمونين (E2), (EE2) نقاوتها (99 %) من شركة Sigma-Aldrich؛
- ميثانول عالي النقاء ( hplc grad ) من شركة Merck؛
- أسيتونتريل عالي النقاء ( hplc grad ) من شركة Merck؛
- ماء ثنائي التقطير منزوع الشوارد؛
- أسيتون عالي النقاء ( hplc grad ) من شركة Merck .

### 2- جمع العينات:

جمعت 20 عينة (بمعدل 5 عينات لكل موقع) من محطة معالجة الصرف الصحي بعدرا خلال شهري تموز وآب. ويوضح الجدول (1) الخصائص الأساسية لهذه المحطة. وقد شملت مواقع أخذ العينات كلاً من مياه الدخل ودفوق الترسيب الأولي والثانوي والدفوق النهائية الناتجة عن الكلورة في محطة عدرا، وفق ما هو موضح في الشكل(1).



الشكل (1) : مواقع أخذ العينات في محطة عدرا

جُمعت العينات المائية في عبوات زجاجية سعة 1 لتر عاتمة غُسلت، وبصورة مسبقة، بالماء ثم بالأسيتون ومن ثم بالماء المقطر منزوع الشوارد، كما غُسلت هذه العبوات، وقبل عملية الاعتيان، بمياه الصرف الصحي المراد اعتيانها. نقلت العينات إلى المخبر في حاوية مبردة بالتلج، ليصار، بعد ذلك، إلى حفظها في البراد عند درجة حرارة +4 درجة مئوية.

الجدول (1): الخصائص الأساسية لمياه الصرف الصحي لمحطة معالجة مياه الصرف الصحي بعدرا.

المواد الصلبة العالقة TSS mg/L		متطلب الأوكسجين الحيوي BOD mg/L		الغزارة M3/day	
المخرج	المدخل	المخرج	المدخل	الفعلي	التصميمي
30	430	20	270	350 ألف	485 ألف

### 3- تحضير العينات:

في صباح اليوم الثاني من عملية الاعتيان، جرى تحضير العينات للتحليل عبر اتباع المراحل التالية:  
- **الترشيح**، وهذه الخطوة ضرورية لأن الاستخلاص اللاحق للعيينة يستند إلى طريقة استخلاص الطور الصلب (Solid Phase Extraction) حيث يمكن للمواد الصلبة المعلقة أن تسد مسام الخرطوشة بسهولة [16]. وفي هذا الإطار، فقد مررت العينات على شبكة خاصة بعيّنات البلاكتون بقطر مسامي قدره  $20\mu m$ .

- **الاستخلاص**، استخدمت طريقة الاستخلاص بالطور الصلب (SPE) باستعمال الخرطوشة من النوع ( $C_{18}$ ) والتي تحتوي على عامل الامتصاص الأكثر استخداماً مع طريقة الاستخلاص هذه (Octadecyl Silica) [16]. كمرحلة أولى، وبهدف غسل الطور الساكن ( $C_{18}$ ) وتنشيطه، مُررت على الخرطوشة المستخدمة المقادير التالية: 5 مل من الأسيتون ومن ثم 5 مل من الميثانول تلاها تمرير 10 مل ماء ثنائي التقطير منزوع الشوارد، ليصار بعد ذلك إلى تمرير 10 مل من المزيج (ماء - أسيتون) بنسبة (4:1). بعد ذلك مررت على الخرطوشة عينة مياه الصرف الصحي المعدة للاستخلاص والمرشحة بحجم 500 مل، ويتدفق 4 مل/دقيقة، ليصار بعد ذلك إلى مج (انتزاز) المركبات الإيستروجينية الهدف من خلال تمرير 10 مل من الأسيتون كمثل استخلاص ويتدفق 0.1 مل/دقيقة.

- **التبخير**، بالنظر لحدود الكشف المنخفضة للإيستروجينات، كان من الضروري تركيز الخلاصة الناتجة وبما يؤدي إلى زيادة حساسية الطريقة [16]. وفي هذا الإطار، جففت الخلاصة حتى تمام الجفاف باستخدام تدفق ضعيف من غاز الآزوت النقي جداً، ليصار بعد ذلك إلى حلها، من جديد، في 0.2 مل من الأسيتونتريل عالي النقاء كمحلول مستقبلي يُساق إلى التحليل بتقانة الـ HPLC.

وتجدر الإشارة إلى أنه تم اعتماد العديد من الطرائق العالمية لاستخلاص الإيستروجينات بالطور الصلب [16]، 17، 18، 19، 20، 21]، دون أن يؤدي ذلك إلى الكشف عن المركبات المطلوبة عبر التقانة التحليلية المستخدمة، الأمر الذي استدعى العمل على محورين اثنين متمثلين في زيادة حجم عينة الاستخلاص من جهة، وتعزيز تركيز الخلاصة الناتجة من جهة أخرى، ليصار بعدها لاعتماد شروط الاستخلاص سابقة الذكر.

## 4- الإجراء التحليلي:

## 4-1- جهاز التحليل:

استخدم في كشف وتحديد تراكيز الهرمونين (EE2), (E2) جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC-PDA) ماركة شيمادزو اليابانية (Shimadzu Corp. (Japan, Kyoto).

## 4-2- شروط العملية التحليلية:

يوضح الجدول (2) الشروط الكروماتوغرافية المعتمدة لفصل وتحديد الإستروجينين E2 و EE2.

الجدول (2): الشروط العملية لتحليل الإستروجينات باستخدام تقانة الـ HPLC.

HPLC- PDA	نوع HPLC	HPLC
عمود LiChrospher 100 RP-C18 أبعاده 25 سم*4.6 مم، نصف قطر الحبيبات 5 µm	عمود الفصل	
أسيتونتريل + ماء (35:65) (V/V).	الطور المتحرك	
30 م	حرارة الفرن	
0.8 مل/دقيقة باستخدام نظام الامتصاص متساوي الضغط (isocratic elution system)	معدل التدفق (flow rate)	
كاشف المصفوفة الضوئية (PDA)	الكاشف	
200 نانومتر	طول موجة الكشف	
100 ميكروليتر	حجم الحقنة	
500 مل	حجم العينة	

## 4-3- دراسة الخطية (linearity)

تم إنشاء منحنى المعايرة calibration curve للهرمون (E2) والهرمون (EE2) باستخدام طريقة المحلول العياري الخارجي External Standard. درست خطية الكاشف عند طول الموجة 200 نانومتر عند تراكيز مختلفة من المحاليل القياسية للهرمونين: (0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2) (ng/ml). حقن 100 µl من كل تركيز على جهاز HPLC-PDA تحت الشروط الموضحة في الجدول 2، ورسم منحنى الخطية بأخذ المنحنى المعياري لكل تركيز (Y) مقابل تركيز الحقن (X).

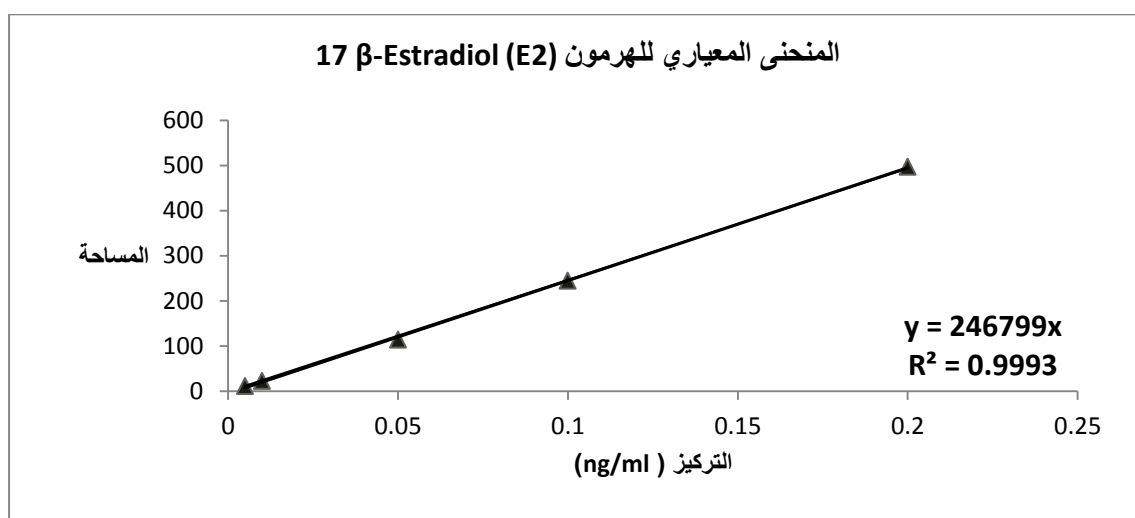
## 4-4- دراسة الاسترداد (كفاية الاستخلاص study Recovery)

اختبرت كفاية الاستخلاص والتنقية للهرمونين (EE2), (E2) عند مستويي تقوية مختلفين هما 50 - 250 نانوغرام/ل. تمت التقوية (fortification) بإضافة كميات من المحلول العياري للهرمونين (EE2), (E2) إلى عينات من الصرف الصحي. بعد ذلك أجريت عمليات الاستخلاص والتنقية وفق الطريقة المتبعة، وحسب معدل الاسترداد وفق المعادلة التالية:

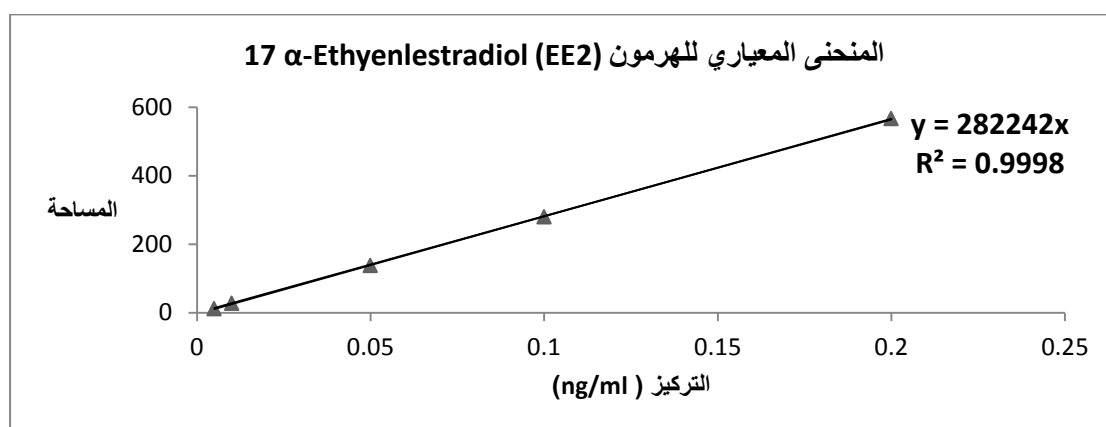
$$\text{معدل الاسترداد \%} = \left( \frac{\text{كمية الهرمون المستردة}}{\text{كمية الهرمون المضافة}} \right) \times 100$$

## النتائج والمناقشة:

1- بينت نتائج دراسة الخطية، وفق ما هو موضح في الشكلين (2) و (3)، أن استجابة الكاشف كانت خطية ضمن مجال التراكيز المحقونة على الجهاز حيث أعطت معادلة الانحدار الخطية للهرمون (E2) من الشكل:  $y = 24679x$  مع معامل ارتباط جيد:  $R^2 = 0.999$ . أما بالنسبة للهرمون (EE2) فكانت معادلة الانحدار الخطية من الشكل:  $y = 28224x$  مع معامل ارتباط جيد:  $R^2 = 0.999$ .



الشكل (2). المنحنى المعياري للهرمون E2



الشكل (3). المنحنى المعياري للهرمون EE2

2-لدى دراسة كفاية الاسترداد تم الحصول على معدل الاسترداد للهرمونين عند مستويي التقوية 50 و 25 نانوغرام/ل وفقاً للنتائج المبينة في الجدول (3).

الجدول (3): معدل الاسترداد للإستروجينين E2 و EE2 عند مستويي التقوية 50 و 250 نانوغرام/ل.

مستوى التقوية (ng/l)	معدل الاسترداد (%) (SD±)	
	17 $\beta$ -Estradiol (E2)	17 $\alpha$ -Ethyenlestradiol (EE2)
50	77(±11)	79(±9)
250	80(±6)	84(±7)

3- في إطار تقدير كل من حد الكشف (Limit of Detection (LOD) وحد التقدير الكمي (Limit (LOQ) of quantification، ومن خلال إجراء تمديد عدة عينات معروفة التركيز حتى الوصول إلى أقل تركيز يمكن تقديره، كان حد التقدير الكمي، وفقاً لذلك، 6.4 و 7.6 نانوغرام/ل، وكان حد الكشف 1.6 و 1.9 نانوغرام/ل للهرمونين (E2) و (EE2) على التوالي.

4- تم فصل الهرمونين (E2 و EE2) وتحديدتهما في العينات المحضرة، ويوضح كل من الجدولين (4 و 5) نتائج تحديد الهرمونين المذكورين. كما يبين الكروماتوغرام (الشكل 4) تركيز E2 و EE2 في إحدى عينات الترسيب الأولي.

الجدول (4): تراكيز E2 في مختلف مراحل عملية معالجة مياه الصرف الصحي في محطة عدرا.

رقم العينة	زمن الاعتيان	الدخل ng/l	دفعو الترسيب الأولي ng/l	دفعو الترسيب الثانوي ng/l	مياه الخرج
1	2011/7/16	53	41	28	ND
2	2011/7/22	58	57	25	ND
3	2011/7/30	75	51	39	ND
4	2011/8/6	74	86	29	ND
5	2011/8/17	51	58	47	ND
	الوسطي	62.2	58.6	33.6	-
	نسبة الإزالة %		%5.79	%46	

الجدول (5): تراكيز EE2 في مختلف مراحل عملية معالجة مياه الصرف الصحي في محطة عدرا.

رقم العينة	زمن الاعتيان	الدخل ng/l	دفعو الترسيب الأولي ng/l	دفعو الترسيب الثانوي ng/l	مياه الخرج
1	2011/7/16	30	38	32	ND
2	2011/7/22	18	44	15	ND
3	2011/7/30	51	47	15	ND
4	2011/8/6	17	28	17	ND
5	2011/8/17	54	41	19	ND
	الوسطي	34	39.6	19.6	-
	نسبة الإزالة %			%42.3	



يُلحظ من الجدولين (4) و (5) مايلي:

أولاً- كانت التراكيز المقيسة في مياه الدخل:

- للإيستروجين E2 في المجال (51-75) نانوغرام/ل، بمعدل وسطي قدره (62.2) نانوغرام/ل.

- للإيستروجين EE2 في المجال (17-54) نانوغرام/ل بمعدل وسطي قدره (34) نانوغرام/ل.

وقد أظهرت الدراسات السابقة في دول أخرى أن تراكيز E2 في مياه الدخل تراوحت ما بين (11.1 - 17.4) نانوغرام/ل في فرنسا [23]، و (9.7-12) نانوغرام/ل في إيطاليا [24-25]، و (>30.4-5) نانوغرام/ل في إسبانيا [26]. بينما تراوحت تراكيز EE2 ما بين (2.5-7.1) نانوغرام/ل في فرنسا [27-2] و (0.5-13) نانوغرام/ل في إيطاليا [24-25]، و (>5) نانوغرام/لتر في إسبانيا [26]، و (6.2-10.1) نانوغرام/ل في ألمانيا [28].

إن تراكيز الدخل في البحث الحالي أعلى من النتائج المذكورة، وهذا قد يعود إلى أسباب مختلفة أهمها التباين الحاصل في معدلات استهلاك المياه في المنازل وكميات المياه المتاحة الأمر الذي سينعكس على التركيز بشكل مباشر حيث نجد أن معدلات استهلاك المياه في بعض الدول الأوروبية قد يصل في بعض الحالات إلى ضعف ما هو عليه في سوريا أو ثلاثة أضعافه إضافة إلى العوامل المناخية الأخرى كالأمتار ومعدلات البخر والتي تكون سبباً إضافياً آخر في تباين التراكيز بين بلد وآخر. كما أن معدلات الحمل العالية للنساء في سورية مقارنة مع أوروبا، قد تلعب دوراً في هذا المجال حيث تزداد بنتيجتها نسبة إطرار الهرمونات الإيستروجينية وتركيزها في مياه الصرف.

ثانياً- انخفض تركيز E2 مع تقدم المعالجة لكن نسبة انخفاض التركيز في دقوق الترسيب الأولي كانت منخفضة (5.79%)، في حين لوحظ وجود زيادة في تركيز EE2 في هذه الدقوق، وتعزى الإزالة في هذه المرحلة إلى طبيعة العمليات الفيزيائية التي تحدث في هذا الحوض كالامتزاز والترسيب وإلى زمن مكوث المياه ضمن أحواض الترسيب الأولي والتي قد تتجاوز الساعتين.

في دراسات سابقة، سجلت في أحواض الترسيب الأولي آليات إزالة الإيستروجين عبر الامتزاز. تعتمد درجة الإزالة هنا على كره الهرمونات للماء، ومحتوى المواد الصلبة المعلقة، وزمن المكوث. إذ يمكن للمركبات المحبة للدهن أن تمتص كمية هامة من المركبات الكارهة للماء بما فيها العديد من المواد المعطلة للإنزيمات، لكن الإيستروجينات بطبيعتها محبة للدهن بصورة معتدلة الأمر الذي يقترح امتزازاً ضئيلاً وبالتالي فإن إزالة الإيستروجينات في هذه المرحلة تكون ضئيلة [29]، كما تفسر نسبة الإزالة المنخفضة بالتنافس على مواقع الامتزاز على الحمأة والتدافع الإلكترونياتيكي من قبل جسيمات ذات شحنة مماثلة. وهذا يتوافق مع نتائج البحث الحالي فيما يتعلق بالإيستروجين E2. أما بالنسبة للإيستروجين EE2 والذي أشارت نتائج هذا البحث إلى زيادة تركيزه في دقوق الترسيب الأولي (في ثلاث عينات)، فقد أظهرت نتائج دراسة يابانية زيادة تراكيز EE2 المقيسة في دقوق الترسيب الأولي مقارنة بتراكيزها في مياه الدخل، وذلك في ثلاث محطات معالجة للنفايات السائلة من أصل أربع محطات مدروسة دون مناقشة هذه النتيجة حيث تم التركيز على مناقشة النتائج المتعلقة بدقوق الترسيب الثانوي والدقوق النهائية [30] والتي تشمل على نسب الإزالة المرتفعة للإيستروجينات. وعلى العموم يمكن تفسير الزيادة الناتجة بتحرر جزء من مركب EE2 من معقداته مع السلفات أو الغلوكورونيد في شروط ملائمة من درجة الحموضة (PH)، في حوض الترسيب الأولي.

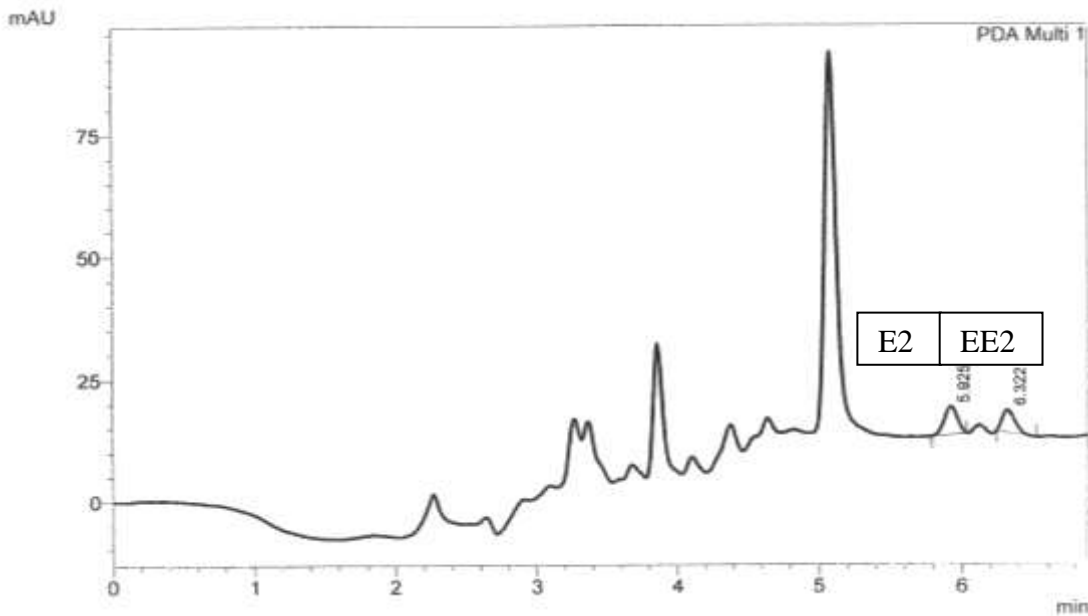
ثالثاً- كانت نسبة انخفاض تركيز E2 و EE2 في دقوق الترسيب الثانوي جيدة (46 % و 42.35 %) على التوالي.

وتؤكد الدراسات السابقة أن المعالجة الحيوية الثانوية هي العملية الرئيسية التي تكمن خلف قدرة بعض وحدات المعالجة على إزالة جزء هام من الفعالية الإستروجينية. حيث يلعب التحول والتفكك الحيوي دوراً هاماً في إزالة الإستروجينات، إذ إن بعض العضويات الدقيقة الموجودة في العمليات الحيوية يملك القدرة على استخدام الإستروجينات مع غيرها من الملوثات الأخرى، كمصادر للكربون من أجل عملية الاستقلاب [29]. وتختلف درجة إزالة الإستروجينات في المعالجة الحيوية اعتماداً على طرق المعالجة. حيث وجد أن طريقة المعالجة بالحماة المنشطة (وهي الطريقة المتبعة في محطة عدرا) هي الأكثر فاعلية في إزالة الإستروجينات. واتفقت دراسات مختلفة على معدلات إزالة وسطية للإستروجينات الستيروئيدية من قبل وحدات المعالجة هذه تقدر بحوالي 85% لكل من E2 و EE2، وهي تفوق معدلات الإزالة المذكورة في البحث الحالي، وقد لوحظ في هذا الإطار فوارق كبيرة في معدلات إزالة الإستروجينات بين وحدات مستقلة للمعالجة [31]. ولمعرفة سبب الاختلافات، فقد تمت الإشارة إلى بعض الشروط مثل درجة الحرارة، وزمن المكوث الهيدروليكي، وعمر الحماة وبيئة النترة كمحددات هامة لإزالة الإستروجينات خلال المعالجة الحيوية للنفايات السائلة [31]. ويبدو أن زمن مكوث المواد الصلبة Solid Retention Time في نظم الحماة المنشطة (SRT) أو عمر الحماة عامل هام بشكل خاص لإزالة المعطلة للإندوكرين، حيث لاحظ العديد من الباحثين تحسن الإزالة مع زيادة SRT [28، 32، 33]، وقد اقترح زمن مكوث للمواد الصلبة يقدر بـ 10 إلى 12.5 يوماً كفترة مطلوبة لنمو العضويات التي تفكك الإستروجينات [34]. ونشير هنا إلى أن زمن مكوث المواد الصلبة في محطة معالجة الصرف الصحي بعدرا هو بحدود ستة أيام الأمر الذي قد يفسر انخفاض نسبة الإزالة. كما أن تحليل معطيات الدخل والخرج في محطة معالجة عدرا يظهر بشكل واضح تدني كفاية المعالجة البيولوجية وهي بنتائجها تمثل معالجة بيولوجية بسيطة ليس أكثر حيث نجد التراكيز العالية للأمونيا في الخرج مع التراكيز المنخفضة للنترات وهذه الحالة تكون عادة نتيجة لنقص في منظومة التهوية التي تكون عاجزة عن تأمين الكمية اللازمة من الأوكسجين لعمليات تفكك وأكسدة المركبات الكربونية والأزوتية.

رابعاً- لم يتم الكشف عن المركبين E2 و EE2 في أي من العينات المأخوذة من الدقوق النهائية الناتجة عن عملية الكلورة.

تعتبر عملية الكلورة معالجة كيميائية متقدمة تستخدم بشكل شائع كعامل تعقيم وأكسدة في المياه وعمليات معالجة النفايات السائلة. وفي هذا الإطار فقد أشار Etoh وآخرون [35] إلى أن الكلورة المنجزة في العديد من وحدات المعالجة تخفض من المركبات الإستروجينية المستقلة بشكل كبير لكنها تزيد من التأثير الإستروجيني الإجمالي، [36]. و أظهرت دراسات حديثة التفكك السريع لكل من E1 و E2 و E3 و EE2 نتيجة الكلورة، وهذا قد ترافق مع تشكل بعض المنتجات الجانبية للتعقيم المسرطنة أو المطفرة أو الإستروجينية مثل 4-كلورو E2 و 4-كلورو EE2. لذلك فمن الهام تحديد المستقلبات أو المنتجات الناتجة عن تفاعل الإستروجينات مع الكلورين الموجود، وتحديد فعاليتها الإستروجينية المرافقة [37-38].

بالاستناد إلى هذه المعطيات، وحسب نتائج بحثنا الحالي، يمكن القول بتفكك نسبة كبيرة من الإستروجينيين المدروسين E2 و EE2 في وحدة الكلورة، في حين كان الجزء غير المتفكك منهما خارج حدود الكشف.



الشكل (4). كروماتوغرام يظهر فصل وتحديد الإستروجينين في عينة الترسيب الأولي

#### الاستنتاجات والتوصيات:

- 1- إن المعالجة الحيوية التقليدية لمياه الصرف الصحي المكونة من ثلاث مراحل (تشمل كلاً من المعالجة التمهيديّة، والترسيب الأولي، والمعالجة الثانوية) فاعلة في إزالة جزء هام من الإستروجينات، حيث تلعب العمليات الحيوية مثل التفكك الحيوي بشكل رئيس والامتزاز على الحمأة دوراً هاماً في هذا المجال.
- 2- عملية التعقيم بالكlor فاعلة في إزالة الإستروجينات، حيث لم يتم الكشف عن أي من المركبين المدروسين في الدفوقات النهائية الناتجة عن عملية الكلورة (ضمن حدود الكشف للطريقة المعتمدة HPLC)، لكن أشارت العديد من البحوث إلى عدم جدوى الجهود المبذولة للسيطرة على الإستروجينات بواسطة الكلورة نتيجة تولد منتجات جانبية سامة قد تكون إستروجينية بتركيز أكبر من المركبات الإستروجينية. من هنا، تبرز ضرورة تقويم التأثير الإجمالي الإستروجيني بمقارنة الفعالية الإستروجينية المتزايدة والمتناقصة نتيجة الكلورة.
- 3- تتوفر معالجات متقدمة عديدة فاعلة في إزالة الإستروجينات لكن الكلفة واعتبارات التشغيل قد لا تجعل منها حلاً مستداماً. من هنا، نؤكد أهمية المعالجة الحيوية كخيار اقتصادي وفعال في إزالة الإستروجينات. مع دراسة إمكانية تعزيز فاعلية الإزالة عبر تعديل شروط التشغيل التي تحكم عملية المعالجة.
- 4- من الضروري تعزيز هذا العمل الباكوري بدراسات لاحقة حول الإستروجينات البيئية لتوفير معطيات تتعلق بتأثيرها في الأحياء المائية المعرضة لدفوق الصرف الصحي، والطرق الملائمة لإزالتها بصورة فاعلة وكلفة معقولة.

## المراجع:

- [1] HUAJING, W. *Removal of Estrone from Water with Adsorption and UV Photolysis*. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Science in Environmental Engineering at Worcester Polytechnic Institute, England, May, 2006, .
- [2] COOK, J.W.; DODDS, E.C.; HEWETT, C.L. and LAWSON, W. *Estrogenic activity of some condensed ring compounds in relation to their other biological activities*. *Proceed. R. Soc. Lond.* B114, 1934, 272-286.
- [3] WALKER, B.S.; JANNEY, J.C. *Estrogenic substances. II Analysis of plant sources*. *Endocrinology* 14, 1930, 389-392.
- [4] SLUCZEWSKI, A.; ROTH, P. *Effects of androgenic and estrogenic compounds on the experimental metamorphoses of amphibians*. *Gynecol. Obstet.* 47, 1948, 164-176.
- [5] BEVANS, H.E., GOODBRED, S.L.; MIESNER, J.F., WATKINS, S.A., GROSS, T.S., DENSLOW, N.D., and SCHOEB, T. *Synthetic organic compounds and carp endocrinology and histology in Las Vegas Wash and Las Vegas and Callville Bays of Lake Mead, Nevada, 1992 and 1995*. *Water-Resource Investigat. Rep.* 1996, 96-4266.
- [6] JOBLING, S.; NOYLAN, M., TYLER, C.R., BRIGHTY, G., and SUMPTER, J.P. *Widespread sexual disruption in wild fish*. *Environ. Sci. Technol.* 32, 1998, 2498-2506.
- [7] ROUTLEDGE, E.J.; SHEAHAN, D., DESBROW, C., BRIGHTY, G.C., WALDOCK, M., and SUMPTER, J.P. *Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach*. *Environ. Toxicol. Chem.* 32, 1998, 1559-1565.
- [8] PANTER, G.H.; THOMPSON, R.S., and SUMPTER, J.P. *Adverse reproductive effects in male fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to environmentally relevant concentrations of natural oestrogens, oestradiol and oestrone*. *Aquat. Toxicol.* 42, 1998, 243-253.
- [9] PURDOM, C.E., HARDIMAN, P.A., BYE, V.J., ENO, N.C., TYLER, C.R., and SUMPTER, J.P. *Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works*. *Chem. Ecol.* 8, 1994, 275-285.
- [10] THORPE, K.L.; CUMMINGS, R.I., HUTCHINSON, T.H.; SCHOLZE, M.; BRIGHTY, G., SUMPTER, J.P. and TYLER, C.R. *Relative potencies and combination effects of steroidal estrogens in fish*. *Environ. Sci. Technol.* vol.37, 2003, 1142-1149.
- [11] COLBORN, T.; DUMANOSKI, D.; and MYERS, J.P. *Our Stolen Future*. New York: Plume Publishing. 1997,
- [12] SHARPE, R.M., and SKAKKEBAEK, N.E.. *Are estrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract?* *Lancet* 341, 1993, 1392-1395.
- [13] CARLSEN, E., GIWERCMAN, A., KEIDING, N., and SKAKKEBAEK, N.E. (1995). *Declining sperm quality and increasing incidence of testicular cancer: Is there a common cause?* *Environ. Health Perspect.* 130, 1995, 137-139.
- [14] GILLESBY, B.E.; ZACHAREWSKI, T.R. *Exoestrogens: mechanisms of action and strategies for identification and assessment*. *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 1998, 3-14.
- [15] SNYDER, S.A.; WESTERHOFF, P.; YOON, Y.; SEDLAK, D.L. *Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: implications for the water industry*. *Environmental Engineering Science* 20, 2003, 449-469.

- [16] *Evaluation of analytical chemical methods for detection of estrogens in the environment*, Danish Environmental Protection Agency, Danish Ministry of the Environment, Working Report No. 44, 2003, 37 – 39.
- [17] SOLÉ, M.; LÓPEZ DE ALDA MJ, CASTILLO M, PORTE C, LADEGAARD-PEDERSEN K, BARCELÓ D. Estrogenicity Determination in Sewage Treatment Plants and Surface Waters from the Catalanian Area (NE Spain). *Environ SciTechnol* 34:5076-5083 (2000).
- [18] XIAO, X.Y.; MCCALLEY, D.V;MCEVORY, J. *Analysis of estrogens in river water and effluents using solid – phase extraction and gas chromatography – negative chemical ionization mass spectrometry of the pentafluorobenzoyl*, *Journal of Chromatography A*, 923 (1 – 2), 2001, 195 – 204.
- [19] LOPEZ DE ALDA, M.J.; BARCELO, D., *Use of solid – phase extraction in various of its modalities for sample preparation in the determination of estrogens and progestogens in sediment and water*, *Journal of Chromatography A*, vol. 938, 2001, 145 – 153.
- [20] YING, G.G.; KOOKANA, R.S.; RU, Y.J., *Occurrence and fate of hormone steroids in the environment*, *Environment International*, 28, 2002, 545 551.
- [21] SUN, Y; WADA, M.; KURODA, N.; HIRAYAMA, K.; NAKAZAWA, H.; NAKASHIMA, K., *Simultaneous determination of phenolic xenoestrogens by solid – phase extraction and high – performance liquid chromatography with fluorescencedetection*. *Analytical Science*, vol. 17, 2001, 697 – 702.
- [22] LI, Z.; WANG, S.; LEE, N.A.; ALLAN, R.D.; KENNEDY, I.R., *Development of a solid – phase extraction – enzyme – linked immunosorbent assay method for the determination of estrone in water*. *AnalyticaChimicaActa*, 503, 2004, 171 – 177.
- [23] CARGOUËT, M., PERDIZ, D;MOUATASSIM-SOUALI, A;TAMISIER-KAROLAK, S. AND LEVI, Y. *Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area(France)*. *Sci. Total Environ*, vol.324,2004, 55-66.
- [24] BARONTI, C., CURINI, R., D.ASCENZO, G., DI CORCIA, A., GENTILI, A. and SAMPERI, R. *Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plantsand in receiving river water*. *Environ. Sci. Technol*. Vol.34, 2000, 5059-5066.
- [25] JOHNSON, A.C., BELFROID, A. and DI CORCIA, A. *Estimating steroidestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent*. *Sci. Total Environ*. 256,2000,163-173.
- [26] PETROVIC, M., SOLÉ, M., LÓPEZ DE ALDA, M.J. and BARCELÓ, D. Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. *Environ. Toxicol. Chem*. vol.21,2002,2146-2156.
- [27] BRUCHET, A., PROMPSY, C., FILIPPI, G., SOUALI, A. *A broad spectrum analyticalscheme for the screening of endocrine disruptors (Eds)*. pharmaceuticals and personal care products in wastewater and natural waters, *Water Science and Technology*, vol. 46,N<sup>o</sup>. 3,2002, 97-104.
- [28] ANDERSEN, H;SIEGRIST, H;HALLING-SORENSEN, B;TERNES, T. A. Fate of estrogens in a municipal sewage treatment plant, *Environmental Science and Technology*, vol.37,N<sup>o</sup>.18,2003, 4021-4026.
- [29] Y.K.K. KOHI , T.Y. CHIU B , A. BOOBIS A , E. CARTMELL B , M.D. SCRIMSHAW C & J.N. LESTER B. *Treatment and removal strategies for estrogens from wastewater*, *Environmental Technology*, vol.29, 2008, 245-267.

- [30] KOMORI, K; OKAYASU, Y; SUZUKI, Y. *Occurrence of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol in wastewater in Japan*. Water Environment Research Group, Public Works Research Institute (PWRI), 2005, 1-6.
- [31] ZE-HUA LIU, YOSHINORI KANJO, SATOSHI MIZUTANI. *Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment -physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: A review*, Science of Total Environment, vol.407, 2009, 731-748.
- [32] TERNES, T.A; STUMPF, M; MUELLER, J; HABERER, K., WILKEN, R.D. and SERVOS, M. *Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - I. Investigations in Germany, Canada and Brazil*. Sci. Total Environ, vol.225, 1999, 81-90.
- [33] HOLBROOK, R.D; NOVAK, J.T; GRIZZARD, T.J; LOVE, N.G. *Estrogen receptor agonist fate during wastewater and biosolids treatment processes: A mass balance analysis*. Environ. Sci. Technol., vol.36, 2002, 4533-4539.
- [34] SAINO, H., JAMAGATA, H; NAKAJIMA, H; SHIGEMURA, H; SUZUKI, Y. *Removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater by SRT control*. J. Japan Soc. Water Environ, vol.27, 2004, 61-68.
- [35] ITOH, S; YOSHIMURA, Y; OKADA, T; TSUJIMURA, Y. *Detection of estrogenic effect formation potential in chlorinated drinking water*. In: 2nd IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Treatment Technologies. IWA, Prague, Czech Republic, 2004, 60-62.
- [36] DEBORDE, M; RABOUAN, S; GALLARD, H; LEGUBE, B. *Aqueous chlorination kinetics of some endocrine disruptors*. Environ. Sci. Technol., vol.38, 2004, 5577-5583.
- [37] MORIYAMA, K; MATSUFUJI, H; CHINO, M; TAKEDA, M. *Identification and behavior of reaction products formed by chlorination of ethynylestradiol*. Chemosphere, 2004, 839-847.
- [38] HU, J.Y; CHENG, S.J; AIZAWA, T; TERAOKA, Y; KUNIKANE, S. *Products of aqueous chlorination of 17 beta-estradiol and their estrogenic activities*. Environ. Sci. Technol., vol.37, 2003, 5665-5670.