



کنگره علوم و مهندسی آب و فاضلاب ایران

دانشگاه تهران، تهران

۲۶ و ۲۷ بهمن ماه ۱۳۹۵



1203P-NWWCE

بررسی تخریب تتراسایکلین به وسیله از ناسیون در فاز آبی: ترکیبات واسط و مسیر تخریب

مهداد شمس کیلانی^۱، امیرحسین شرفی^۲، محمدرضا مهرنیا^۲، کامران شهرئی^۳، احمدرضا محمدی ده چشمه^۴

۱ و ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی شیمی، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشگاه تهران

۳- دانشیار، دانشکده مهندسی شیمی، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشگاه تهران

۴- معاونت نظارت بر بهره‌برداری، شرکت آب و فاضلاب استان تهران

shamskilani@ut.ac.ir

خلاصه

طی از ناسیون تتراسایکلین (TC) در بستر آبی در pHهای ۲،۲ و ۷، اثرات pH های مختلف، پروتن‌دهی و تجزیه گروه‌های عاملی و تغییرات در اعمال رادیکال‌های آزاد برای مشخص شدن مسیر تبدیل، بررسی شدند. گروماتوگرافی مایع- طیف سنجی جرمی چهار قطبی حدود ۱۵ محصول از ناسیون را شناسایی و الگوی تولید و تخریب آن‌ها را آشکار کرد. طی از ناسیون در pH ۲،۲، مسیر تخریب تتراسایکلین بر اساس ساختار، شیمی از ناسیون و اطلاعات طیف سنجی جرمی TC ارائه شد. از ناسیون TC در پیوندهای دوگانه C11a-C12 و C2-C3، حلقه آروماتیک و گروه آمین محصولاتی به ترتیب با نسبت m/z ۶۴۱، ۴۷۷، ۵۰۹ و ۴۱۶ تولید کرد. از ناسیون بیش تر ترکیبات ذکر شده در بالا ترکیباتی با m/z ۴۳۲، ۴۸۰، ۴۸۸، ۵۲۵ و ۴۹۶ تولید کرد. حذف TOC بعد از ۲ ساعت از ن‌زنی به بیشینه مقدار خود حدود ۴۰ درصد رسید درحالی که TC بعد از ۴ تا ۶ دقیقه از ن‌زنی در هر دو pH کاملاً حذف شده بود. بازده پایین حذف TOC ممکن است به دلیل تولید محصولات مقاوم باشد.

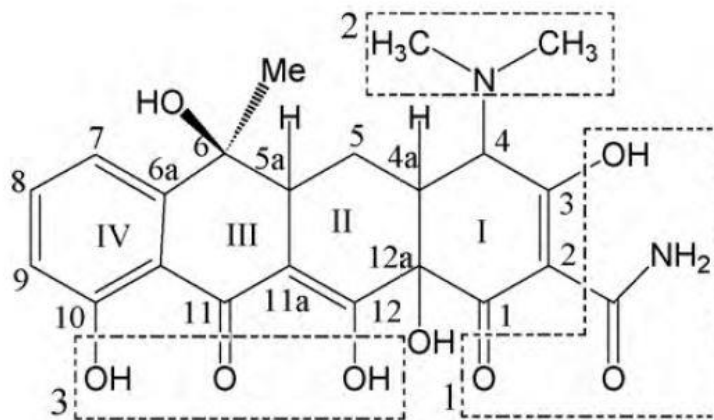
کلمات کلیدی: از ناسیون، تتراسایکلین، محصولات تخریب، مسیر تخریب

۱. مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها که شامل مقدار قابل توجهی از ترکیبات دارویی می‌شوند، به عنوان درمان انسان و دام و ارتفاع دهنده‌های رشد در دام‌پروری استفاده می‌شوند [۱]. در اروپا طی سال‌های ۱۹۹۹، تقریباً ۸۵۰۰ و ۴۷۰۰ تن از آنتی‌بیوتیک‌ها به ترتیب به عنوان داروهای انسانی و دام‌پزشکی استفاده شد، با تولید و مصرف جهانی تتراسایکلین در رتبه دوم [۲]. غلظت این آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط زیست بسیار کم ولی پایدار است ($\approx \text{ng L}^{-1}$ or $\approx \mu\text{g L}^{-1}$). مطالعات اخیر که حضور محیط زیستی و مدیریت آنتی‌بیوتیک‌ها را بررسی می‌کند، اثرات مخرب قابل توجه آن‌ها بر روی انسان و سامانه‌های محیط زیستی را آشکار کرده است [۳]. در مطالعه‌ای در آمریکا غلظت باقی‌مانده‌های TC پیدا شده در ورودی و خروجی تصفیه‌خانه‌ها به ترتیب بین $0.32 - 1.1$ و $0.075 - 0.41 \mu\text{g L}^{-1}$ داشتند [۴]. با استفاده از تصفیه لجن فعال متداول با زمان ماند جامد حدود چندین روز غلظت‌های پایین TC می‌تواند ۶۰ تا ۹۰ درصد کاهش پیدا کند که نتیجه‌اش تماس طولانی مدت باکتری‌های فاضلاب با آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود. این شرایط ممکن است به نفع تکامل مقاومت ضد باکتری پایین‌رده در اجتماعات باکتریایی متأثر شود [۵]. حذف TC از فاضلاب شهری واقعی با استفاده از UV آن‌چنان که قبلاً تصور می‌شد چندان مؤثر نبود [۴]؛ درحالیکه از ناسیون یک روش مؤثر برای حذف آنتی‌بیوتیک‌ها و آلاینده‌های مقاوم از فاضلاب می‌باشد حتی برای کربن آلی حل شده در اندازه ۲۳ میلی گرم بر لیتر [۵-۹]. بنابراین از ناسیون برای حذف TC از آب، تولید محصولات تبدیلی و مسیر اکسیداسیون که متأثر از pH می‌باشد بررسی شد.

طیف سنجی جرمی چهارقطبی سه گانه برای شناسایی و تعیین مقدار محصولات تبدیلی طی ازتاسیون به کار گرفته شد. طیف سنجی جرمی چهارقطبی سه گانه با استفاده از سه مجموعه از میله‌های موازی به عنوان مثال، چهارقطبی، شش قطبی و چهارقطبی کار می‌کند. اولین چهارقطبی یون‌ها را به یون‌های پیشرو جدا می‌کند که در شش قطبی به یون‌های محصول تبدیل شده است که توسط چهار قطبی دوم جدا شده است. در این فرآیند یک یون پیشرو از اولین چهارقطبی انتخاب شده است و تکه‌هایش توسط چهارقطبی دوم اسکن می‌شود که باعث طیف جرمی آن یون پیشرو می‌شود. به این حالت، یون محصول اطلاق شده است. این طیف جرمی می‌تواند برای شناسایی اثرانگشت ترکیبات استفاده شود. گزینه دوم در طیف سنجی جرمی چهارقطبی سه گانه، شامل انتخاب یک یون پیشرو از اولین چهارقطبی با یون محصولش از دومین چهارقطبی انتخاب شده و اندازه‌گیری می‌شود. این حالت پایش واکنش‌های چندگانه نامیده می‌شود و حساس‌ترین حالت در سنجش کمی می‌باشد [۱۰].

ازن با گروه‌های عاملی غنی از الکترون مولکول هدف واکنش می‌دهد: پیوند دوگانه، گروه‌های آمینه و حلقه آروماتیک و غیره. واکنش ازن با الفین‌ها در محل‌های پیوند دوگانه به خوبی بررسی شده است و به طوری که مستقل از مقادیر مشخص می‌باشد گزارش شده است [۵]. واکنش ازن با TC در محل پیوند دوگانه و دو محصول تشکیل شده طی این واکنش در ادبیات گزارش شده است [۱۱]. همچنین واکنش ازن با آمین‌ها نیز با یک مسیر واکنش پیچیده تابع pH در ادبیات نشان داده شده است. در این پژوهش محصولات متنوع‌تری از ازتاسیون TC نسبت به پژوهش پیشین یافت شد.



شکل ۱- ساختار شیمیایی و pKa تتراسایکلین نسبت به ترکیب‌های گروه‌های مختلف

TC مقادیر pKa های ۳٫۳ (ترکیب ۱)، ۷٫۷ (ترکیب ۲) و ۹٫۷ (ترکیب ۳) را دارا می‌باشد (شکل ۱) [۱۲،۵]. تحت شرایط اسیدی، گروه هیدروکسیل در حلقه 'I' ممکن است غالباً غیر جدا باشد و گروه آمین در حالت پروتون گرفته باشد. این حالت پروتون گرفته غیر جدا، ممکن است غلظت الکترون را در پیوند دوگانه حلقه‌های C2-C3 و گروه‌های کتون و آمین در C1 از طریق اتصال کاهش دهد. در عوض کاهش دانسیته الکترون ممکن است احتمال حمله ازن به این سایت‌ها را کاهش دهد. در pH بالاتر، pKa ترکیب ۱ تفکیک پروتون‌ها از گروه‌های عاملی ممکن است بر سرعت و مسیر واکنش اثر بگذارد. در این بررسی pH های ۲٫۲ و ۷ آن‌چنان که به ترتیب بالا و پایین pKa ترکیب ۱ گروه‌ها در TC بودند انتخاب شدند.

۲. ازتاسیون تتراسایکلین

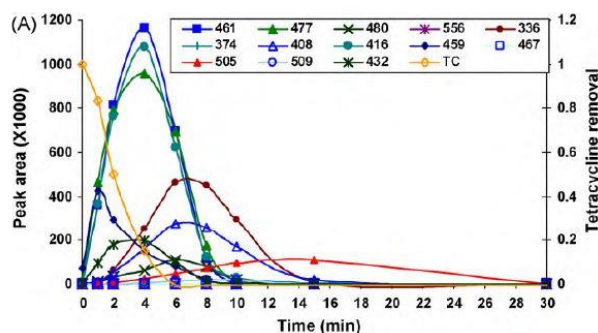
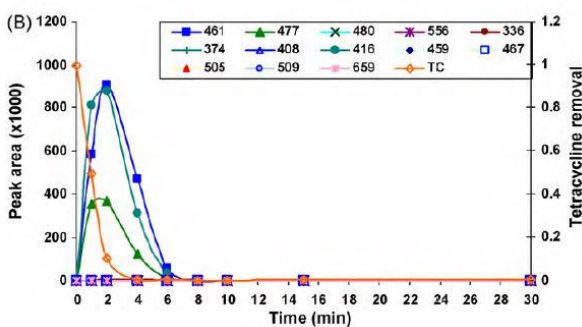
حذف TC در pH های مختلف: در pH ۲٫۲، پس از ۶ دقیقه TC به طور کامل با ازتاسیون حذف شد (شکل ۲) اما در pH ۷ پس از ۴ دقیقه حذف شد. افزایش سرعت واکنش در pH بالاتر ممکن است به دلیل پروتون‌زدایی و تفکیک TC باشد، اما می‌تواند تحت تأثیر ایجاد رادیکال‌های آزاد در طول ازن-زنی نیز قرار گیرد. در حین ازتاسیون در pH ۲٫۲، واکنش عمدتاً با TC است، که یک گروه هیدروکسیل غیر جدا در حلقه "I" دارد. در pH بالاتر از ۳٫۳،

تجزیه گروه هیدروکسیل در حلقه "I" از ساختار TC (شکل ۱) سرعت واکنش را افزایش می‌دهد [۵]. بعلاوه قسمت سوم گروه آمین در حلقه "I" از ساختار TC در pH بالاتر پروتون‌زدایی می‌شود که باعث افزایش سرعت تجزیه می‌شود. در pH‌های بالاتر، رادیکال‌های هیدروکسیل از تجزیه‌ی ازن بوجود می‌آیند، که با یون‌های هیدروکسیل در بستر آبی و گروه‌های عاملی بر روی مولکول TC تسریع می‌شود. این رادیکال‌های هیدروکسیل اکسیدان‌های بسیار قوی‌تری نسبت به ازن دارند [۱۷] و می‌توانند سرعت واکنش را افزایش دهند. بنابراین بیشترین سرعت واکنش ازن با TC، اثر رادیکال‌های آزاد را در حین حذف TC به حداقل می‌رساند [۵]. محصولات واکنش‌های ازناسیون TC در بخش‌های بعد بحث خواهند شد.

ترکیبات جدید ایجاد شده در حین ازناسیون: در pH ۲٫۲، کروماتوگرام‌های یون کل^۱ (TIC) نمونه‌های جمع‌آوری شده در زمان واکنش بین ۰ تا ۴ دقیقه مقایسه شده و محصولات ازناسیون TC مشخص شدند. (TIC) ها برای این نمونه‌ها در زمان‌های نگهداری مختلف در مشخصات معین داده می‌شوند. بیش از ۱۵ ترکیب عمده و جزئی با مقدارهای m/z و الگوهای تقسیم شدن MS منحصر به فرد شناسایی شدند. محصولات در pH ۲٫۲ با مقدارهای m/z ۴۱۶، ۴۶۱، ۴۷۷، ۴۸۰، ۴۸۳، ۴۸۹، ۴۹۰، ۴۹۵، ۵۰۹، ۵۲۵، ۵۲۷ و ۵۵۶ اندازه‌گیری شدند. زمانی که ازناسیون در pH ۷ انجام شد، فقط سه ترکیب، با مقدار m/z ۴۱۶، ۴۶۱ و ۴۷۷ شناسایی شد. غلظت سایر ترکیبات ایجاد شده بسیار پایین اندازه‌گیری شد.

در pH ۲٫۲، کاهش تراکم الکترون روی پیوند C2-C3، گروه آمید و گروه کتون در C1، با توجه به شکل غیر جدا و پروتون‌دار شده‌ی TC، احتمال حمله ازن به این محل‌ها را کاهش می‌دهد. بنابراین، سرعت کاهش TC در حین ازناسیون در pH پایین کاهش می‌یابد. در pH ۷، تفکیک پروتون‌ها از گروه‌های عاملی سرعت واکنش را تغییر می‌دهد. بخصوص در مورد گروه آمین. تحت شرایط اسیدی مسیر غالب کاهش TC محصولات ازناسیون به همراه ازناسیون مستقیم می‌باشد.

در مقابل، در pH بالاتر، مثل pH ۷، به این دلیل که TC و محصولات تخریب شده‌ی آن با ازناسیون مستقیم سریع‌تر از بین می‌روند محصولات ازناسیون دارای غلظت‌های پایین می‌باشند [۵]. علاوه بر این، رادیکال‌های آزاد بصورت غیر معمولی با محصولات ازناسیون TC واکنش می‌دهند و می‌توانند به هر بخشی از ساختار حمله و تعدادی محصول با وزن مولکولی کم تولید کنند. بر اساس نواحی ماکزیم همپوشانی شده ترکیبات جدید از تمام نمونه‌ها، یک الگوی مشخص از تولید و متعاقباً تجزیه فراهم شد (شکل ۲).



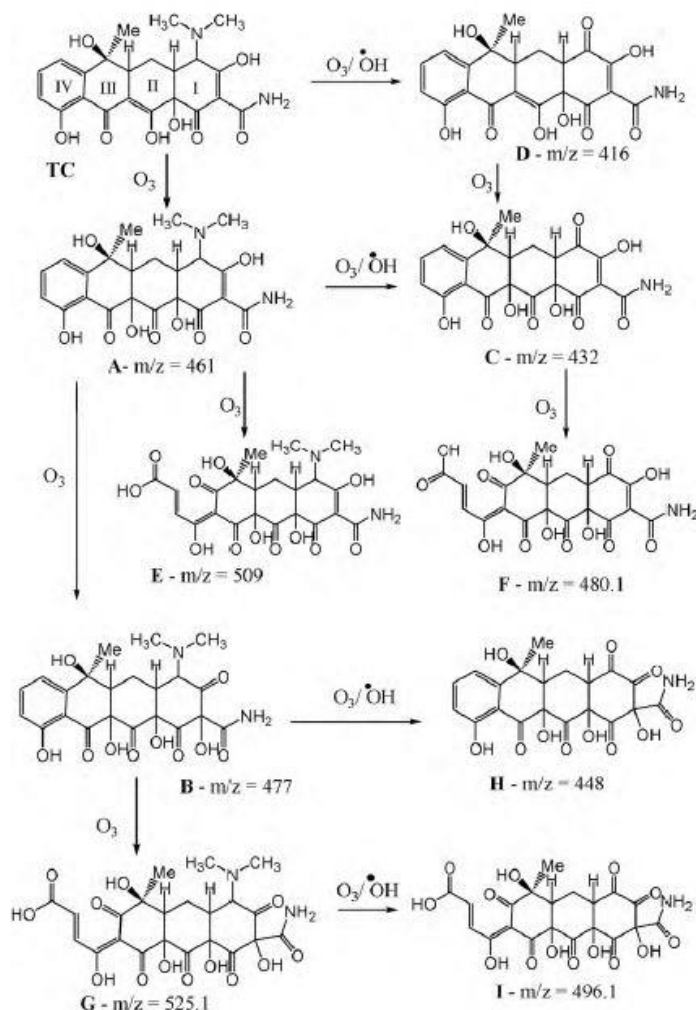
شکل ۲- حذف تتراسایکلین با ازناسیون و الگوی تولید و حذف محصولات با شاخص m/z. شرایط: غلظت تتراسایکلین ۰٫۵ میلی مول، دما ۲۰ درجه سانتی‌گراد، ازن تزریقی ۱۰ میلی گرم بر دقیقه، A در pH ۲٫۲ و B در pH ۷.

مسیر ازناسیون تتراسایکلین: سیگنال‌های جدید توسط HPLC/quadrupole MS در حین ازناسیون در pH ۲٫۲ تشخیص داده شد که نشان می‌دهد ازناسیون طبق یک مکانیزم خاص اتفاق می‌افتد. یکی از آن مکانیزم‌ها (طرح ۱) می‌تواند پیشنهادی بر پایه‌ی شیمی TC، و مکانیزم‌های ازناسیون و طیف MS از محصولات TC باشد. در حین ازناسیون، دو ترکیب با مقدارهای m/z ۴۶۱ و ۴۷۷ شناسایی شد. این ترکیبات در مطالعه پیشین گزارش داده شده‌اند [۱۱]. برای راحتی، در این مطالعه، این ترکیبات به عنوان A و B تعیین شدند.

¹ Total ion chromatogram

در طول دوره اولیه از ناسیون TC، سه نوع از گروه‌های عاملی برای ازن رقابت می‌کنند: پیوند دوگانه، گروه آمین، و گروه‌های فنولی. یک جانشین برای پیوند دوگانه C11a-C12 بر TC، با ازن با ثابت سرعت $10^6 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ واکنش می‌دهد [۵]. از ناسیون مستقیم گروه‌های آمین پرتون‌دار نشده با ثابت سرعت $10^3-10^6 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ اتفاق می‌افتد. گروه‌های آمینه پرتون‌دار شده با ازن در ثابت سرعت حدوداً کوچک‌تر از $0.1 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ واکنش می‌دهند [۱۸]. اگرچه هر دو pH در حین واکنش‌های از ناسیون پایین pKa گروه آمین در TC بودند. از ناسیون فنول یک واکنش وابسته به pH می‌باشد. در pH ۳، سرعت ثابت واکنش فنول ازن $10^3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ گزارش شده است [۱۹]، که منجر به این نتیجه می‌شود که پیوند دوگانه‌ی C11a-C12 بر مولکول TC واکنش‌پذیرترین محل برای از ناسیون مستقیم در pH ۲٫۲ بود که نتیجه‌ی دادن الکترون‌های عاملی مجاور است.

در طول ازن کافت کلاسیک، پیوندهای دوگانه برای ایجاد گروه‌های کربوکسیل، به طور کامل شکسته می‌شوند. تقسیم بخشی از پیوند دوگانه کربن با کربن (C-C) منجر به تشکیل اپوکسید و اکسیژن می‌شود و ترکیب کربونیل متناظر را نتیجه می‌دهد.

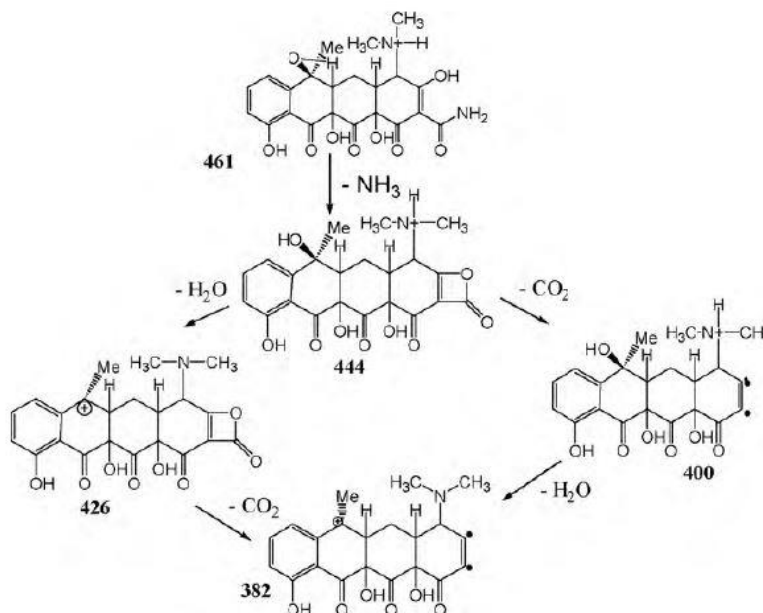


شکل ۳- طرح ۱- مسیر تخریب تتراسایکلین طی فرآیند از ناسیون. غلظت تتراسایکلین ۰٫۵ میلی مول، دما ۲۰ درجه سانتی گراد، ازن تزریقی ۱۰ میلی گرم بر دقیقه و pH ۲٫۲

بنابراین برای مقدار m/z ۴۶۱، ترکیب 11a-hydroxy-12-oxotetracycline معرف شده است. طرح ۲ نشان داد که تقسیم شدن 'A' با از دست دادن NH_3 ، یونی را با یک مقدار m/z ۴۴۴ نتیجه می دهد که در ادامه و با از دست دادن CO_2 به یونی با مقدار m/z ۴۰۰ و با از دست دادن H_2O به یونی با مقدار m/z ۴۲۶ تقسیم می شود. این دو یون با مقدارهای m/z ۴۰۰ و ۴۲۶، به ترتیب با از دست دادن H_2O و CO_2 ، یونی را با مقدار m/z ۳۸۲ نتیجه می دهند. این الگوی تقسیم شدن تأکید می کند که 'A' ساختار یونی با مقدار m/z ۴۶۱ بود.

گروه آسیب پذیر بعدی برای حمله ازن، پیوند دوگانه در موقعیت C2-C3 بود. این پیوند تراکم الکترون کمتری نسبت به پیوند دوگانه قطبی دارد. بنابراین ازن می تواند به این پیوند حمله کند و از اپوکسید جدا شود، که به این ترتیب شکسته و به یک گروه هیدروکسیل در C2 و یک گروه کتون در C3 تبدیل می شود. برای این سیگنال با مقدار m/z ۴۷۷، ترکیب 2,11a-dihydroxy-3,12-dioxotetracycline پیشنهاد شده است.

گروه بعدی حمله ازن به TC گروه آمین دی متیل در موقعیت C4 خواهد بود. ازن تنها با گروه های آمین آزاد وقتی که pH واکنش کمتر از گروه آمین باشد واکنش می دهد [۱۸].



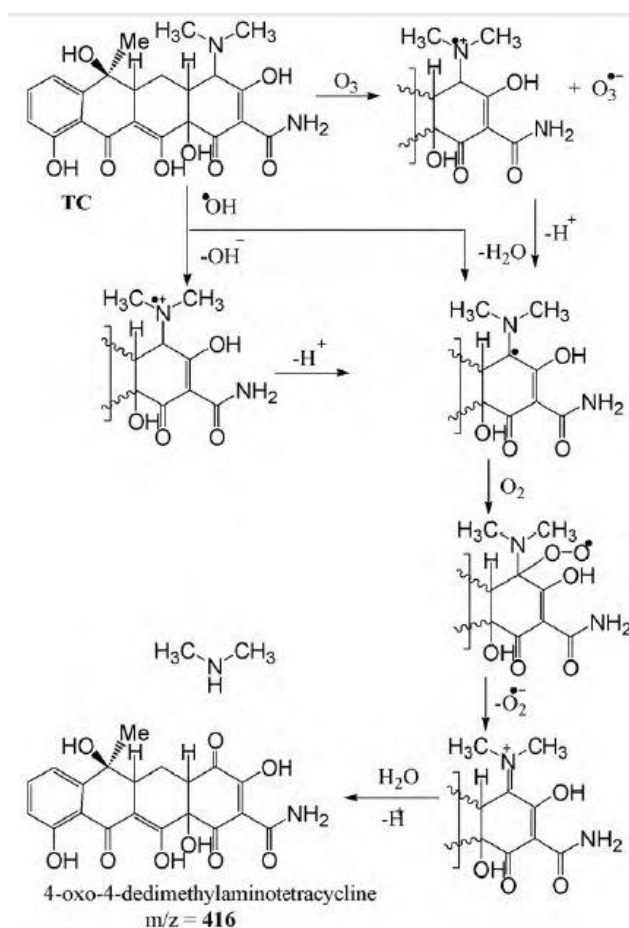
شکل ۴- طرح ۲. الگوی پیشنهادی تکه تکه شدن ترکیب A با نسبت m/z برابر ۴۶۱

بطور کلی در خلال از ناسیون آمین نوع سوم در محیط های آبی، ۲ محصول اولیه، آمینوآکساید (۹۰٪) با یک اکسیژن و رادیکال های آمین (۱۰٪) همراه با رادیکال ازن (طرح ۳) تولید می شود [۲۲]. حالت دوم با توجه به مسیر رادیکال آزاد مهم تر است. زمانی که پروتون دار شدن در pH پایین صورت می گیرد، ازن با دادن یک رادیکال هیدروکسیل تجزیه می شود. (به عنوان مثال توسط آب) [۲۳]، و پروتون زدایی رادیکال آمین به عملکرد رادیکال کربن مرکز بستگی دارد. این تبدیل به گروه های مجاور و پروتون زدایی فضایی کربن بستگی دارد. به دلیل تمایل رادیکال کربن مرکز به ترکیب مسطح، فشار زیاد می تواند مانع اعمال پروتون زدایی شود. علاوه بر این مولکول TC یک پیوند دوگانه ی مزدوج دارد (یک الفین و دو گروه oxo در حلقه ی I'). این ترکیب به یک رادیکال آزاد کربن مرکز گسترش خواهد یافت، که ممکن است در ایجاد ثبات و افزایش شکل گیری آن مؤثر باشد. واکنش یک آمین نوع سوم با رادیکال هیدروکسیل ممکن است بصورت مستقیم رادیکال های آزاد کربن مرکز، شبیه مکانیزم فوق را تولید کند. این رادیکال های آزاد کربن مرکز در یک نرخ کنترل نفوذ ($k = 2 \times 10^9$ $dm^3 mol^{-1} s^{-1}$) با دو اکسیژن واکنش می دهند و در نتیجه منجر به تشکیل یک رادیکال پروکسی می شوند. عمر این رادیکال ها بسیار کوتاه است. رادیکال های سوپراکسید واکنش داده و با تجزیه ی ازن به رادیکال های هیدروکسیل تبدیل می شوند.

بحث بالا نشان می‌دهد که حتی در pH پایین برخی از آمین‌ها می‌توانند در خلال ازناسیون از طریق مسیر رادیکال‌های آزاد واکنش دهند. برخی ترکیب‌ها شامل گروه‌های آمین مانند EDTA، ایمینودیاسیتیک اسید و کلاریدرومیزن حتی در محیط‌های با pH پایین نیز واکنش می‌دهند. [۲۳،۲۵،۲۶]

Davies et al. گزارش دادند که گروه دی‌متیل آمین در TC و در محلول آبی از TC تحت نور UV به گروه کتون اکسید شد. به واسطه‌ی از دست دادن بیشتر آب یک ترکیب به نام ترکیب قرمز تولید شد. گروه دی‌متیل آمین در موقعیت C4 از TC می‌تواند در خلال ازناسیون واکنش دهد. به محض اکسیداسیون گروه آمین در TC به یک گروه کتون، یک مولکول با مقدار m/z ۴۱۶ باید تولید شود.

در شکل 2a و b، بیشترین غلظت بدست آمده برای هر ترکیب، هم به نرخ تولید و هم به نرخ تجزیه بستگی دارد. بنابراین در pH ۲،۲، بیشترین غلظت برای سیگنال با مقدار m/z برابر با ۴۱۶، به دلیل تجزیه آرام‌تر در مراحل بعدی، پس از ۴ دقیقه ازن دهی اتفاق افتاده است. در pH ۷ بخش کمی از TC پروتون-دهی شده است. نرخ تولید محصول با m/z برابر با ۴۱۶ در طی اولین دقیقه ازن دهی، با افزایش pH از ۲،۲ تا ۷، دوبرابر افزایش یافت. (داده‌ها در اینجا نشان داده نشده‌اند). این امر ممکن است به دلیل از دست دادن پروتون گروه آمین و افزایش حمله رادیکال‌های آزاد باشد. بر اساس حقایق بالا، برای مقدار m/z برابر با ۴۱۶، 4-oxo-4-dedimethylaminotetracycline، به عنوان ترکیب پیشنهاد شده است و در این مطالعه با "D" نشان داده شده است.



شکل ۵- طرح ۳. مسیر اکسیداسیون تتراسایکلین به وسیله رادیکال‌های آزاد به 4-oxo-4-dedimethylaminotetracycline با مکانیسم‌های مختلف

پیوند دوگانه در موقعیت C11a-C12 ترکیب "D" ممکن است توسط ازن با مکانیسمی شبیه آنچه برای تولید "A" بود، مورد حمله قرار گیرد. این امر می‌تواند ترکیبی با مقدار m/z برابر با ۴۳۲ تولید کند که در این تحقیق بدست آمد. اگر "A" توسط ازن یا رادیکال‌های آزاد، در گروه‌های دی‌متیل آمین در

موقعیت C4 مورد حمله قرار گیرد، همان ترکیب می تواند تولید شود. با این وجود، همانطور که در شکل 2a نشان داده شده است، مقدار "B" بیشتر از "C" بوده و نشان می دهد که "A" با واکنش سریعتری به "B" تجزیه می شود. بنابراین می توان نتیجه گرفت که اکثر "A" توسط ازن دهی مستقیم به "B" تجزیه می شود و همچنین تولید "C" نسبت به "D" برجسته تر است. امکان واکنش "D" با ازن، نسبت به واکنش "A" با رادیکال آزاد، به دلیل وجود سه ناحیه ای که بیشتر با ازن واکنش می دهد، بیشتر است.

گروه دیگری که ممکن است مورد حمله ازن قرار گیرد، حلقه آروماتیک TC است. اگر این حلقه در پیوند C6a-C7 مورد حمله قرار گیرد، حلقه بنزن TC می تواند بوجود آید. لذا نتیجه آن، تشکیل گروه کتون در موقعیت C6a و گروه کربوکسیلیک در موقعیت C7 است. این امر باید سیگنال با مقدار m/z ۵۲۵ بدهد که در این تحقیق بدست آمد. در این مطالعه یک الگوی چند تکه ای برای طیف MS این سیگنال، مشاهده شد. سیگنالی با مقدار m/z برابر با ۴۶ برای این ماده، شهادی بر حضور گروه کربوکسیلیک است. لذا ۱۱a و ۱۲a دی هیدروکسو-۳ و ۱۲ و ۱۶a تری اکسو تتراسیکلین-۸- کربوکسیلیک اسید به عنوان ترکیبی با m/z برابر با ۵۲۵ پیشنهاد شده است که در این مطالعه با "G" نشان داده شده است.

ترکیبات پیشنهاد شده در بالا، بعداً در طی فرایند ازناسیون با مکانیسم هایی مشابه آنچه در بالا ذکر شد، می توانند تجزیه شوند. حلقه آروماتیک ترکیب "C" ممکن است توسط ازن در پیوند C6a-C7 مورد حمله قرار گیرد که می تواند باعث تشکیل یک گروه کتون و یک گروه کربوکسیلیک به ترتیب در موقعیت های C6a و C7 شود که در تشکیل "G" پیشنهاد شد و باید مقدار m/z برابر با ۴۸۰ داشته باشد که در این تحقیق نیز بدست آمد. این ترکیب یک سیگنال با m/z برابر با ۴۶ در طیف MS نشان داد که نشان از حضور یک گروه کربوکسیلیک دارد. بنابراین، ۱۲ و ۱۶a تری اکسو-۱۱a هیدروکسو- دی میتیل آمینو تتراسیکلین-۸- کربوکسیلیک اسید به عنوان ترکیب مربوط به این سیگنال پیشنهاد شده است که در این مطالعه با "F" نشان داده شده است. فقط در pH ۲٫۲ می تواند بدست آید، زیرا ازناسیون مستقیم ممکن است شامل تبدیل "D" به "C" و سپس به "F" باشد. در pH ۷ باید واکنش ازناسیون در مقابل واکنش رادیکال های آزاد غالب باشد. لذا "F" در این pH قابل تشخیص نیست.

"A" می تواند توسط ازن در حلقه آروماتیک با واکنش شبیه "C" مورد حمله قرار گیرد که نتیجه آن یک گروه کتون و یک گروه کربوکسیلیک به ترتیب در موقعیت های C6a و C7 است. این امر می تواند سیگنالی با مقدار m/z برابر با ۵۰۹ بدهد که در این تحقیق بدست آمد. طیف MS سیگنالی با m/z برابر با ۴۶ دارد که تقسیم شدن گروه های کربوکسیلیک از ترکیب را نشان می دهد.

بر اساس حقایق بالا، ۱۱a-هیدروکسو-۱۲ و ۱۶a- دی اکسو تتراسیکلین-۸- کربوکسیلیک اسید در این مطالعه با "E" نشان داده شود. ترکیب "B" می تواند توسط ازن در موقعیت C4 مورد حمله قرار گیرد و یک گروه کتون تشکیل دهد و سیگنالی با m/z برابر با ۴۴۸ تولید کند که در این تحقیق بدست آمد. لذا، ۱۱a و ۱۲a دی هیدروکسو-۳ و ۱۲ و ۱۶a تری اکسو-۴- دی دی میتیل آمینو تتراسیکلین به عنوان ترکیب مربوط به سیگنال با m/z برابر با ۴۴۸ پیشنهاد شده است که در این مطالعه با "H" نشان داده شده است. با مکانیسم مشابه، حمله ازن به "G" باید مقدار m/z برابر با ۴۹۶ بدهد که در تحقیق ما بدست آمد. طیف MS این ترکیب یک سیگنال با مقدار m/z برابر با ۴۶ را نشان داد که شهادی بر تشکیل گروه های کربوکسیلیک است. لذا، ۱۱a و ۱۲a دی هیدروکسو-۳ و ۱۲ و ۱۶a تری اکسو-۴- دی میتیل آمینو تتراسیکلین-۸- کربوکسیلیک اسید به عنوان ترکیب مربوط به سیگنال با m/z برابر با ۴۹۶ پیشنهاد شده است که در این مطالعه با "I" نشان داده شده است.

۴. نتیجه گیری

حذف کامل تتراسایکلین طی ۶-۴ دقیقه ازناسیون فرآیندی بسیار مؤثر برای تخریب تتراسایکلین یافت شد. از کروماتوگرافی مایع برای شناسایی محصولات ازناسیون تتراسایکلین استفاده شد. در pH ۲٫۲ حدود ۱۵ محصول شناسایی شد، شامل ۲ ترکیب که در ادبیات شناسایی شده بود. در pH ۷٫۰ فقط ۳ محصول شناسایی شد. به دلیل اینکه در pH ۷ رادیکال های آزاد ممکن است به صورت غیر انتخابی با محصولات ازناسیون تتراسایکلین واکنش دهند که نتیجه اش محصولات نهایی با جرم مولکولی و غلظت بسیار کم می شود که با روش آنالیز استفاده شده در این مطالعه نمی توان شناسایی کرد.

مسیر تخریب تتراسایکلین بر اساس ساختارش، شیمی ازناسیون و اطلاعات طیف سنجی جرمی در این مطالعه ارائه شده است. مشخص شد که ازن به پیوندهای دوگانه، حلقه آروماتیک و گروه آمینه برای تولید محصول با مقادیر m/z به ترتیب ۴۶۱، ۴۷۷، ۵۰۹ و ۴۱۶ حمله می کند. ازناسیون انتخابی این

محصولات تحت شرایط اسیدی انجام شد که نتیجه‌اش محصولاتی با مقادیر m/z ۴۳۲، ۴۸۰، ۴۴۸، ۵۲۵ و ۴۹۶ بود. الگوی سینتیکی برای تخریب تتراسایکلین، تولید محصولات و تخریب متعاقب آن‌ها بر اساس زمان از ناسیون ارائه شد. حذف کربن آلی کل با افزایش مقدار pH افزایش پیدا می‌کند.

۵. مراجع

1. H.Y. Park, Y.K. Choung, Degradation of antibiotics (Tetracycline, Sulfathiazole, Ampicillin) using enzymes of Glutathion S-Transferase, Hum. Ecol. Risk Assess. 13 (2007) 1147–1155.
2. G. Hamscher, S. Sczesny, H. Hoper, H. Nau, Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry, Anal. Chem. 74 (2002) 1509–1518.
3. C. Reyes, J. Fernandez, J. Freer, M.A. Mondaca, C. Zaror, S. Malato, H.D. Mansilla, Degradation and inactivation of tetracycline by TiO₂ photocatalyst, J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 184 (2006) 141–146.
4. A.L. Batt, S. Kim, D.S. Aga, Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations, Chemosphere 68 (2007) 428–435.
5. M.C. Dodd, M.O. Buffle, U. von-Gunten, Oxidation of Antibacterial Molecules by Aqueous Ozone: Moiety-specific reaction kinetics and application to Ozonebased wastewater treatment, Environ. Sci. Technol. 40 (2006) 1969–1977.
6. M.M. Huber, S. Canonica, G.Y. Park, U. vonGunten, Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation process, Environ. Sci. Technol. 37 (2003) 1016–1024.
7. M.M. Huber, A. Gobel, A. Joss, N. Hermann, D. Loffler, C.S. McArdell, A. Ried, H. Siegrist, T.A. Ternes, Urs vonGunten, Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater effluents: a pilot study, Environ. Sci. Technol. 39 (2005) 4290–4299.
8. M.H. Khan, J.Y. Jung, Ozonation catalyzed by homogeneous and heterogeneous catalysts for degradation of DEHP in aqueous phase, Chemosphere 72 (2008) 690–696.
9. C. Adams, M. Asce, Y. Wang, K. Loftin, M. Meyer, Removal of antibiotics from surface and distilled water in conventional water treatment processes, J. Environ. Eng. 128 (2002) 253–260.
10. Manual: Agilent 6410 triple quad LC/MS; Concepts guide, the Big Picture, 2nd ed., Agilent Technologies Inc., 2006.
11. I. Dalmazio, M.O. Almeida, R. Augusti, Monitoring the degradation of Tetracycline by ozone in aqueous medium via atmospheric pressure ionization mass spectrometry, J. Am. Soc. Mass. Spectrom. 18 (2007) 679–687.
12. Z. Qiang, C. Adams, Potentiometric determination of acid dissociation constants (pKa) for human and veterinary antibiotics, Water Res. 38 (2004) 2874–2890.
13. APHA, Standards Methods for Examination of Water and Wastewater, 5th ed., American Public Health Association, Washington, DC, 1998.
14. S. Reverte, F. Borrull, E. Pocurull, R.M. Marce, Determination of antibiotic compounds in water by solid-phase extraction high-performance liquid chromatography–(electrospray) mass spectrometry, J. Chromatogr. A 1010 (2003) 225–232.
15. K. Froehner, T. Backhaus, L.H. Grimme, Bioassays with *Vibrio fischeri* for the assessment of delayed toxicity, Chemosphere 40 (2008) 821–828.
16. V.L.K. Jennings, M.H. Rayner-Brandes, D.J. Bird, Assessing chemical toxicity with the bioluminescent photo-bacterium (*Vibrio fischeri*): A comparison of three commercial systems, Water Res. 35 (2001) 3448–3456.
17. B. Kasprzyk-Hordern, M. Ziolk, J. Nawrocki, Catalytic ozonation and methods of enhancing molecular ozone reactions in water treatment, Appl. Catal. B 46 (2003) 639–669.
18. J. Hoigne, H. Bader, Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water - II, Water Res. 17 (1983) 185–194.



کنگره علوم و مهندسی آب و فاضلاب ایران

دانشگاه تهران، تهران

۲۶ و ۲۷ بهمن ماه ۱۳۹۵



19. E. Mvula, C.v. Sonntag, Ozonolysis of phenols in aqueous solution, *Org. Biomol. Chem.* 1 (2003) 1749–1756.
20. P.S. Bailey, H.H. Hwang, C.-Y. Chiang, Mechanisms of epoxidation during ozonation of carbon-carbon double bond, *J. Org. Chem.* 50 (1985) 231–234.
21. P.S. Bailey, A.G. Lane, Competition between complete and partial cleavage during ozonation of olefins, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 4473–4478.
22. U. von-Gunten, Ozonation of drinking water. Part I. Oxidation kinetics and product formation, *Water Res.* 37 (2003) 1443–1467.
23. F. Munoz, C. von-Sonntag, The reactions of ozone with tertiary amines including the complexing agents nitrilotriacetic acid (NTA) and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in aqueous solution, *J. Chem. Soc. Perkin 2* (2000) 2029–2033.
24. M.O. Buffle, U. von-Gunten, Phenols and amines induced HO₂ generation during the initial phase of natural water ozonation, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 3057–3063.
25. E. Gilbert, S. Hoffmann-Glewe, Ozonation of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in aqueous solution, influence of pH value and metal ions, *Water Res.* 24 (1990) 39–44.
26. F. Lange, S. Cornelissen, D. Kubac, M.M. Sein, J.v. Sonntag, C.B. Hannich, A. Golloch, H.J. Heipieper, M. Moder, C.v. Sonntag, Degradation of macrolide antibiotics by ozone: A mechanistic case study with clarithromycin, *Chemosphere* 65 (2006) 17–23.