

Comparing the Removal Efficiency of Four Widely Used Antibiotics from the Beta-Lactam Group in Two Municipal Wastewater Treatment Systems in Isfahan, Iran

Mehri Samandari¹, Hossein Movahedian-Attar², Karim Ebrahimpour³, Farzaneh Mohammadi⁴

Original Article

Abstract

Background: In recent decades, there has been a growing concern about the presence of antibiotics in water resources. The presence of these micropollutants even in low concentrations has significant effects on the environment and human health, and their entry into the soil and especially receiving waters should be prevented as much as possible. As effluents from wastewater treatment plants (WWTPs) are significant sources of antibiotics in the environment, this study aimed to investigate the efficiency of antibiotics removal in municipal WWTPs.

Methods: In this study, Isfahan East WWTP with a combination of stabilization ponds and an aeration lagoon, and Isfahan South WWTP with conventional activated sludge treatment were selected as well as four antibiotics from the beta-lactam group including ampicillin, amoxicillin, cephalixin, and penicillin, and their removal efficiency was investigated in both WWTPs. Samples were collected from the influent and effluent of both WWTPs on 13 occasions and analyzed immediately after being transferred to the laboratory. The concentration of antibiotics was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC).

Findings: In the Isfahan East WWTP, the average removal efficiency was $86.22 \pm 19.84\%$ for ampicillin, $34.35 \pm 31.38\%$ for amoxicillin, $78.75 \pm 23.81\%$ for cephalixin, and $89.80 \pm 19.42\%$ for penicillin. In the Isfahan South WWTP, the average removal efficiencies of amoxicillin, ampicillin, cephalixin, and penicillin were equal to $54.82 \pm 33.29\%$, $66.85 \pm 24.88\%$, $87.65 \pm 21.76\%$, and $82.76 \pm 21.85\%$, respectively.

Conclusion: The study's findings revealed that Isfahan municipal WWTPs were unable to fully eliminate antibiotics. According to statistical analysis, there were significant differences in the concentration of antibiotics in both WWTPs, and no critical correlation was observed between the removal efficiency of antibiotics and other principal wastewater parameters. Consequently, there is a need for stricter control over the discharge of effluent into the river or its use for agricultural irrigation.

Keywords: Antibiotics; Biodegradation; Wastewater treatment; Beta-lactams; High performance liquid chromatography

Citation: Samandari M, Movahedian-Attar H, Ebrahimpour K, Mohammadi F. Comparing the Removal Efficiency of Four Widely Used Antibiotics from the Beta-Lactam Group in Two Municipal Wastewater Treatment Systems in Isfahan, Iran. J Health Syst Res 2024; 20(1): 56-69.

1- MSc Student, Student Research Committee And Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Health And Environment Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-Communicable Disease, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Health And Environment Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-Communicable Disease, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hossein Movahedian-Attar; Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Health And Environment Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-Communicable Disease, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: movahedian@hlth.mui.ac.ir

مقایسه راندمان حذف چهار آنتی بیوتیک پرمصرف از دسته بتالاکتام‌ها در دو سیستم تصفیه فاضلاب شهری اصفهان

مهری سمندری^۱، حسین موحدیان عطار^۲، کریم ابراهیم‌پور^۳، فرزانه محمدی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در دهه‌های اخیر، وجود آلاینده‌های نوظهور و به ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها در منابع آب سطحی و زیرزمینی مورد توجه قرار گرفته است. وجود این ریزآلاینده‌ها حتی در غلظت‌های پایین، تأثیرات قابل توجهی بر محیط زیست و سلامت انسان دارد و باید تا حد امکان از ورود آن‌ها به خاک و به خصوص آب‌های پذیرنده جلوگیری کرد. از آنجایی که پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری یکی از مهم‌ترین منابع تخلیه آنتی‌بیوتیک‌ها به محیط محسوب می‌شوند، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی کارایی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری در حذف آنتی‌بیوتیک‌ها بود.

روش‌ها: در این مطالعه، تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان با سیستم برکه‌های تثبیت تلفیقی و تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان با سیستم لجن فعال متعارف و چهار آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، پنی‌سیلین و سفالکسین که همگی در گروه بتالاکتام‌ها قرار دارند، انتخاب گردید و راندمان حذف آن‌ها در هر دو تصفیه‌خانه مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها از فاضلاب ورودی و پساب خروجی هر دو تصفیه‌خانه در ۱۳ نوبت جمع‌آوری و بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه آنالیز شد. مقادیر آنتی‌بیوتیک‌ها به کمک دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC یا High-performance liquid chromatography) تعیین گردید.

یافته‌ها: میانگین راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف در تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان به ترتیب برای آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، پنی‌سیلین و سفالکسین $86/22 \pm 19/84$ ، $31/38 \pm 34/35$ ، $19/42 \pm 89/80$ و $23/81 \pm 78/75$ درصد به دست آمد. میانگین راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان برای آمپی‌سیلین $24/88 \pm 66/85$ درصد، آموکسی‌سیلین $33/29 \pm 54/82$ درصد، پنی‌سیلین $21/85 \pm 82/76$ درصد و سفالکسین $21/76 \pm 87/65$ درصد گزارش گردید.

نتیجه‌گیری: یافته‌های مطالعه نشان داد که تصفیه‌خانه‌های شهری اصفهان قادر به حذف کامل آنتی‌بیوتیک‌ها نیستند. بر اساس تجزیه و تحلیل‌های آماری، تفاوت معنی‌داری در غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در هر دو تصفیه‌خانه وجود داشت و بین راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر شاخص‌های اصلی فاضلاب همبستگی مهمی مشاهده نشد. در نتیجه، نیاز به کنترل شدیدتر بر تخلیه پساب به رودخانه یا استفاده از آن برای آبیاری کشاورزی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌بیوتیک؛ تجزیه زیستی؛ تصفیه فاضلاب؛ بتالاکتام‌ها؛ کروماتوگرافی مایع

ارجاع: سمندری مهری، موحدیان عطار حسین، ابراهیم‌پور کریم، محمدی فرزانه. **مقایسه راندمان حذف چهار آنتی‌بیوتیک پرمصرف از دسته بتالاکتام‌ها در دو سیستم تصفیه فاضلاب شهری اصفهان.** مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۴۰۳؛ ۲۰ (۱): ۵۶-۶۹

تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۱/۱۵

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۷/۹

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۲۶

شهری، یکی از منابع اصلی و ثابت تخلیه ترکیبات دارویی به محیط‌های آبی به شمار می‌روند (۴)؛ چرا که به طور کلی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری به منظور کنترل مواد آلی قابل تجزیه بیولوژیک طراحی شده‌اند و اغلب قادر به تخریب کامل (۵) و حذف مؤثر ترکیبات دارویی نمی‌باشند (۶).

آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از مهم‌ترین ترکیبات فعال دارویی محسوب می‌شوند که به طور وسیعی برای درمان بیماری‌های عفونی در انسان‌ها و حیوانات مورد استفاده

مقدمه

در دهه‌های اخیر، وجود آلاینده‌های نوظهور مانند ترکیبات فعال دارویی به طور فزاینده‌ای در محیط زیست افزایش یافته است (۱). دلایلی همچون افزایش استفاده از این ترکیبات و آگاهی از اثرات زیست محیطی ریزآلاینده‌ها (۲)، باعث شده است تا وجود، سرنوشت، و اثرات زیست محیطی سموم و داروها بیش از گذشته مورد توجه مجامع علمی قرار گیرد (۳). پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب

- ۱- دانشجوی کارشناس ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی و گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
 - ۲- استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات محیط زیست، پژوهشکده پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
 - ۳- دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات محیط زیست، پژوهشکده پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
 - ۴- استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- نویسنده مسؤول:** حسین موحدیان عطار؛ استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات محیط زیست، پژوهشکده پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: movahedian@hlth.mui.ac.ir

قرار می‌گیرند (۷، ۸). نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که در زمان کوتاهی پس از کشف بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، نسبت به آن‌ها مقاومت ایجاد شده (۷، ۹) و با تبدیل عفونت‌های قابل درمان به غیر قابل درمان (۱۰)، تهدید فزاینده‌ای برای پزشکی مدرن ایجاد شده است و یکی از نگرانی‌های بهداشتی مهم در قرن ۲۱ می‌باشد (۱۱). به ویژه در آغاز سال ۲۰۲۰ میلادی و با شیوع بیماری تنفسی کووید ۱۹ در سراسر جهان که منجر به مرگ و میر بالایی گردید (۱۲)، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها نیز در درمان و یا پیشگیری از عفونت‌های ثانویه افزایش یافت (۱۳، ۱۲). در نهایت، استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به وجود گسترده این ترکیب خطرناک در محیط‌های مختلف مانند آب‌های سطحی (۱۴، ۱۱، ۸) و زیرزمینی (۱۵، ۱۶)، سواحل دریاها (۱۷)، خاک (۱۱)، سزبج‌ات خوراکی (۵) و... شده است و تهدید بالقوه‌ای برای انسان و محیط زیست به شمار می‌رود (۸).

بر اساس داده‌های منتشر شده در کشورهای آسیایی، آنتی‌بیوتیک‌ها (و دیگر داروها) به راحتی در بازار دارویی در دسترس عموم می‌باشد (۱) و ایران در بین بیست کشور اول جهان از نظر میزان مصرف دارو قرار دارد (۹) و با کسب حدود ۱۳ درصد بازار دارویی این کشور (۱۸) مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در ایران به ۱۶ برابر استاندارد جهانی می‌رسد (۹، ۱۹). در میان آنتی‌بیوتیک‌های خوراکی، بتالاکتام‌ها پرکاربردترین گروه آنتی‌بیوتیکی در ایران محسوب می‌شوند (۲۰).

حدود ۱۰ تا ۹۰ درصد از آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی، بسته به خواص شیمیایی آن‌ها، بدون تغییر یا به عنوان متابولیت از طریق ادرار و مدفوع از بدن دفع و به فاضلاب وارد می‌گردد (۱۰، ۶). دلایلی همچون تغییرات اقلیمی و آب و هوایی، گسترش شهرنشینی و به خصوص کمبود آب و پدیده خشکسالی، باعث شده است که استفاده از پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری برای آبیاری کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک معمول باشد (۲۱). به ویژه در کشور ایران و کلانشهر اصفهان که در منطقه نیمه خشک قرار دارد، این امر مستثنی نیست و بنابراین، آگاهی از مقادیر آنتی‌بیوتیک‌ها در فاضلاب و پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری و میزان کارایی آن‌ها در حذف این ترکیبات حایز اهمیت است (۲۲، ۲۳).

اندازه‌گیری غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهری موضوع مطالعات علمی متعددی بوده و نتایج تحقیقات نشان داده است که آنتی‌بیوتیک‌ها به طور کامل در تصفیه‌خانه‌های متداول فاضلاب شهری حذف نمی‌شوند (۲۴، ۲۶، ۴، ۲). Rodriguez-Mozaz و همکاران پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری در ۷ کشور اروپایی را آزمایش و ۱۷ نوع آنتی‌بیوتیک را در پساب شناسایی کردند (۷، Shi). همکاران در کشور چین، ۴۳ آنتی‌بیوتیک را در تصفیه‌خانه فاضلاب شهری آنالیز نمودند که در میان آن‌ها، ۲۳ آنتی‌بیوتیک هم در فاضلاب و هم در پساب یافت شد (۱۴، Tran) و همکاران در پژوهشی مروری گزارش کردند که غلظت ترکیبات فعال دارویی به ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها، در فاضلاب و پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری کشورهای آسیایی بسیار بیشتر از کشورهای اروپایی و آمریکای شمالی است (۱). Zafar و همکاران در کشور پاکستان، در پساب دو تصفیه‌خانه فاضلاب شهری که به رودخانه تخلیه می‌شد، پنج آنتی‌بیوتیک را شناسایی نمودند. مقادیر آنتی‌بیوتیک‌های شناسایی شده بسیار بالا و در محدوده میکروگرم در لیتر (۲۷) و بسیار بیشتر از غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در پساب دیگر تصفیه‌خانه‌ها (در محدوده نانوگرم در لیتر یا کمتر) بود. شکوهی و همکاران غلظت‌های بالایی از آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین، سفیکسیم و ایمی‌پنم را در پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری در محدوده ۱۰/۷-۱/۶ میکروگرم در لیتر شناسایی کردند (۶).

محققان در کشور چین در شهر پکن، غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها را در هشت تصفیه‌خانه فاضلاب مورد بررسی قرار دادند و از میان ۲۲ آنتی‌بیوتیک هدف، ۱۴ آنتی‌بیوتیک هم در فاضلاب و هم در پساب شناسایی شد (۲۸). در برخی مطالعات انجام شده، غلظت آنتی‌بیوتیک‌های شناسایی شده در پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب بیشتر از فاضلاب ورودی به تصفیه‌خانه بوده است (۲۹، ۲۸، ۲۴، ۳). میرزایی و همکاران ۷ آنتی‌بیوتیک از میان ۹ آنتی‌بیوتیک انتخابی را در فاضلاب و پساب دو تصفیه‌خانه فاضلاب شهری در شهر تهران شناسایی کردند. در برخی نمونه‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها تنها در پساب تصفیه‌خانه وجود داشت و در فاضلاب ورودی شناسایی نشد (۲۴). حیدری و همکاران در تحقیقی به بررسی کیفی وجود پنج آنتی‌بیوتیک در یک تصفیه‌خانه فاضلاب شهری در منطقه مرکزی ایران پرداختند و دریافتند که آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین، اکسی‌تراسیکلین و تایلوزین در هیچ یک از نمونه‌ها یافت نشد. با این حال، آمپی‌سیلین و سیپروفلوکساسین در هر دو نمونه‌های فاضلاب ورودی به تصفیه‌خانه و پساب خروجی از تصفیه‌خانه شناسایی گردید که ممکن است منجر به ظهور بالقوه باکتری‌های مقاوم شود (۳۰). نتایج پژوهش صفاری خوزانی و همکاران با هدف بررسی تأثیر بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و جنتامایسین بر میزان متان‌سازی بیومس بی‌هوازی نشان داد که آمپی‌سیلین در غلظت‌های مشابه نسبت به جنتامایسین، اثر بازدارندگی بیشتری بر بیومس بی‌هوازی دارد (۳۱). بهزادی و همکاران مطالعه‌ای را با هدف بهینه‌سازی فرایند فتنون جهت حذف کل کربن آلی از محیط آبی حاوی آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین با استفاده از روش آماری تاگوچی انجام دادند و حداکثر راندمان حذف آموکسی‌سیلین، ۹۹/۶۶ درصد به دست آمد (۳۲).

اگرچه غلظت‌های گزارش شده آنتی‌بیوتیک‌ها در پساب جزئی است، اما از آنجایی که این ترکیبات به طور مداوم به محیط زیست وارد می‌شوند، به عنوان ترکیبات شبه پایدار عمل می‌کنند و در بلندمدت خطراتی برای انسان و آب‌زیان به دنبال خواهند داشت. از سوی دیگر، قوانین و مقرراتی برای مقادیر آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات دارویی در محیط، نه در سطح ملی و نه در سطح بین‌المللی، وضع نشده و تنها برای برخی از آلاینده‌های نوظهور دستورالعملی در سطح اتحادیه اروپا تحت عنوان چارچوب آب وضع شده است (۳۳).

لازم به ذکر است که تمامی تحقیقات انجام شده پیش از شیوع کووید ۱۹ در جهان نشان می‌دهد که پس از شیوع کرونا مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها افزایش یافته است (۳۴، ۱۳). بنابراین، انتظار می‌رود غلظت آن‌ها در سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهری نیز افزایش یابد. قلی‌پور و همکاران در پژوهش خود، افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهری در شهر اصفهان در زمان شیوع کووید ۱۹ را گزارش کردند (۳۵).

هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی وجود آنتی‌بیوتیک‌ها در فاضلاب و پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری اصفهان در زمان شیوع کووید ۱۹ و ارزیابی کارایی سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهری در حذف آن‌ها بود. بیش از ۶۵ درصد آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی جهان را گروه بتالاکتام تشکیل می‌دهند. در ایران نیز ۳۲/۶ درصد مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها به گروه بتالاکتام‌ها (پنی‌سیلین، آموکسی‌سیلین و آمپی‌سیلین) تعلق دارد که آموکسی‌سیلین پرمصرف‌ترین آن‌ها می‌باشد (۳۶). بنابراین، چهار آنتی‌بیوتیک از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام شامل «آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، پنی‌سیلین جی و سفالکسین» که از متداول‌ترین داروهای ضد میکروبی در ایران هستند (۳۸، ۳۷)، انتخاب شدند.

روش لاگون هوادهای اختلاط ناقص ساخته شده است و فرایند تصفیه شامل لاگون‌های بی‌هوازی، هوادهی و اختیاری می‌باشد. پساب خروجی برکه اختیاری دارای استانداردهای آبیاری کشاورزی می‌باشد. تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان نیز به روش لجن فعال متعارف است و پساب خروجی حوضچه‌های ته‌نشینی ثانویه پس از گندزدایی به رودخانه تخلیه می‌شود. شکل ۱ جریان تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شرق و جنوب اصفهان را نشان می‌دهد.

روش نمونه‌برداری: در این تحقیق، طی دو ماه از هر محل نمونه‌برداری فاضلاب ورودی و پساب خروجی در طول فصل زمستان سال ۱۳۹۸، در مجموع ۱۳ نمونه ترکیبی به روش استاندارد (هر نوبت یک نمونه از ورودی و خروجی هر تصفیه‌خانه) گرفته شد و به دلیل این که دو تصفیه‌خانه مورد بررسی قرار گرفت، جمع کل نمونه‌ها از دو تصفیه‌خانه ۵۲ نمونه بود. جهت نمونه‌برداری، ظروف شیشه‌ای رنگی انتخاب گردید و به مدت ۲۴ ساعت پیش از نمونه‌گیری در ظرف حاوی اسید نیتریک ۱۰ درصد قرار گرفت و اسیدشویی شد (۴) و پس از اسیدشویی با آب لوله‌کشی و سپس سه مرتبه با آب مقطر شستشو و خشک گردید. در هنگام نمونه‌برداری، ظروف نمونه‌برداری سه مرتبه از نمونه فاضلاب یا پساب پر و خالی شد و سپس کاملاً پر گردید و به همراه یخ خشک در کلدباکس به آزمایشگاه انتقال یافت و بلافاصله مورد آنالیز قرار گرفت (۲۷). از آنجایی که pH نمونه‌ها نزدیک به مقادیر خنثی (۷/۶-۷/۲) بود، آنالیز بدون هیچ‌گونه تنظیم pH انجام شد.

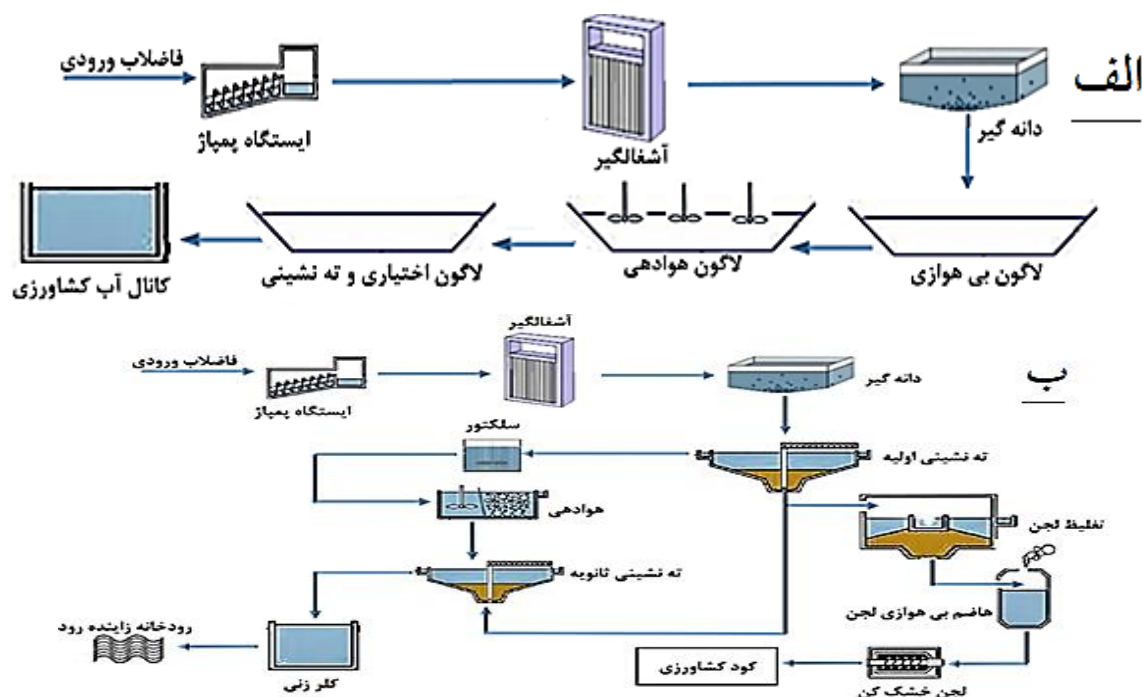
تهیه محلول‌های استاندارد و آماده‌سازی نمونه‌ها: برای تهیه محلول مادر استاندارد ۱۰۰۰ ppm، به صورت جداگانه از هر کدام از پودرهای استاندارد آنتی‌بیوتیک، ۰/۰۲۵ گرم به وسیله ترازوی دیجیتال به طور دقیق وزن گردید و در بالن ژوژه ۲۵ سی‌سی ریخته شد.

آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف می‌باشند و در درمان بسیاری از عفونت‌ها کاربرد دارند و علاوه بر تجویز بالای آن‌ها توسط پزشکان، ارزان و در دسترس هستند و بیشتر مردم ایران بدون تجویز پزشک و خودسرانه آن‌ها را از داروخانه‌ها خریداری و مصرف می‌نمایند. شیوع ویروس همه‌گیر کووید ۱۹ همراه با آنفولانزا که ویروس فصلی رایج در فصل زمستان است، می‌تواند منجر به استفاده بیش از حد آن‌ها گردد. در تحقیق حاضر با بررسی میزان این آنتی‌بیوتیک‌ها در فاضلاب ورودی به تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شرق و جنوب اصفهان و همچنین، تعیین مقادیر آن‌ها در پساب خروجی این دو تصفیه‌خانه و با توجه به راندمان حذف آن‌ها، می‌توان به عملکرد سیستم‌های متداول تصفیه فاضلاب شهری در حذف آنتی‌بیوتیک‌ها پی برد و میزان حذف آن‌ها را در سیستم‌های متفاوت مقایسه نمود.

روش‌ها

مواد شیمیایی مورد استفاده: چهار آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، پنی‌سیلین جی و سفالکسین همگی دارای درجه خلوص بالای ۹۹ درصد از شرکت Sigma-Aldrich (آلمان) خریداری شدند. نمک مونوسدیم دی‌هیدروژن فسفات از شرکت Sigma-Aldrich (آلمان)، استونیتریل HPLC grade و اسید استیک با خلوص ۸۵ درصد از شرکت Merck (آلمان)، فیلترهای سرسرنگی از شرکت Membrane Solutions (آمریکا) و آب مقطر دیونیزه نیز از شرکت اسکای (ایران) خریداری گردید.

تصفیه‌خانه‌های فاضلاب: مطالعه حاضر در ماه‌های بهمن و اسفند سال ۱۳۹۸ هم‌زمان با شیوع اپیدمی کووید ۱۹ در جهان و ایران، در دو تصفیه‌خانه فاضلاب شهری در اصفهان انجام شد. تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان به



شکل ۱. جریان تصفیه‌خانه فاضلاب شرق (الف) و جنوب (ب) اصفهان

اندازه‌گیری‌ها، محاسبه حد تشخیص (Limit of detection یا LOD) و حد کمی‌سازی (Limit of quantitation یا LOQ) می‌باشد و تمام نتایج گزارش شده باید بالاتر از آن‌ها باشند. مقادیر LOD و LOQ طبق روابط ۱ و ۲ محاسبه می‌گردد که در آن‌ها، S_y برابر با انحراف استاندارد داده‌ها و S برابر با شیب خط منحنی کالیبراسیون می‌باشد.

$$\begin{aligned} \text{رابطه ۱} \quad \text{LOD} &= 3.3(S_y/S) \\ \text{رابطه ۲} \quad \text{LOQ} &= 10(S_y/S) \end{aligned}$$

در نهایت، برای اطمینان از صحت نتایج به دست آمده، ضریب بازیافت روش اندازه‌گیری مورد کنترل قرار گرفت و ریکواری کل روش با استفاده از رابطه ۳ محاسبه گردید. نتایج روایی در جدول ۱ خلاصه شده و نمودارهای کروماتوگرام آنتی‌بیوتیک‌های هدف به دست آمده از روش HPLC نیز در شکل ۲ ارائه است.

$$\text{رابطه ۳} \quad \text{Recovery (\%)} = \frac{\text{غلظت بدست آمده}}{\text{غلظت ساخت شده}} \times 100$$

لازم به ذکر است که برای محاسبه غلظت آنتی‌بیوتیک‌های هدف در نمونه‌های واقعی که غلظت آن‌ها کمتر از مقدار LOD است، غلظت‌ها با استفاده از رابطه $\frac{\text{LOD}}{\sqrt{2}}$ محاسبه شده‌است (۲۴).

محاسبه راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف در دو تصفیه‌خانه فاضلاب:

پس از تزریق نمونه‌ها به دستگاه HPLC و محاسبه غلظت آنتی‌بیوتیک‌های هدف در نمونه‌های فاضلاب و پساب، راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف در فاز آبی با استفاده از رابطه ۴ محاسبه گردید (۲۸).

$$\text{رابطه ۴} \quad \text{غلظت خروجی - غلظت ورودی} = \text{غلظت ورودی} \times 100 = \text{درصد راندمان حذف}$$

مقادیر میانگین و انحراف معیار، میانه، حداقل و حداکثر داده‌ها محاسبه گردید. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها، آزمون Kolmogorov-Smirnov و به منظور مقایسه میانگین غلظت آنتی‌بیوتیک‌های ورودی به دو تصفیه‌خانه مورد بررسی، برای داده‌های نرمال از آزمون t و برای داده‌های غیر نرمال از آزمون Mann-Whitney استفاده شد. همچنین، همبستگی داده‌ها به روش ضریب Spearman مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت، داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (IBM Corporation, Armonk, NY) تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

ابتدا چند قطره آب مقطر دیونیزه به بالن ژوژه حاوی پودر استاندارد اضافه گردید و به آن زمان داده شد تا پودر استاندارد در آب مقطر به خوبی حل و کاملاً شفاف گردد. پس از حل شدن کامل پودر، با اضافه کردن تدریجی آب مقطر، به حجم رسانیده شد. محلول‌های مادر استاندارد به صورت روزانه تهیه می‌گردید و جهت جلوگیری از اثر احتمالی نور و گرمای محیط، در اطراف بالن ژوژه کاغذ آلومینیوم پیچیده شد و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری می‌شد (۴).

شیشه‌های حاوی نمونه به خوبی تکان داده شد و سپس ۱۰ سی‌سی از نمونه داخل لوله فالکون ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه در دستگاه سانتریفوژ شد. پس از جداسازی مواد معلق، از مایع شفاف تشکیل شده در بالای لوله فالکون به وسیله سرنگ به آرامی برداشته و نمونه آهسته توسط فیلتر سرسرنگی فیلتر شد و در نهایت، از نمونه فیلتر شده به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (High-performance liquid chromatography یا HPLC) تزریق گردید.

روش آنالیز نمونه‌ها: به منظور آنالیز غلظت آنتی‌بیوتیک‌های هدف در نمونه‌های مورد بررسی، از دستگاه HPLC (مدل PU-2080، شرکت Jasco، ژاپن) موجود در آزمایشگاه آنالیز دستگاهی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان استفاده شد. این دستگاه مجهز به یک پمپ مخلوط‌کننده کواترنر، تزریق‌کننده اتوماتیک، ستون C18 (به ابعاد $4/6 \times 150$ میلی‌متر) و دتکتور UV بود.

جهت تنظیم دستگاه HPLC، برنامه‌های متعددی به لحاظ طول موج دستگاه، نوع و نسبت فازهای متحرک، شدت جریان دستگاه، زمان کار و... مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت، بهترین شرایط برای اندازه‌گیری غلظت هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های هدف مورد استفاده قرار گرفت. فاز متحرک انتخابی شامل آب مقطر دیونیزه، استونیتریل، نمک مونوسدیم دی‌هیدروژن فسفات یک مولار و اسید استیک یک نرمال در حجم یک لیتر و به نسبت حجمی ۰.۹۰۹:۰.۸۰:۰.۱۰ تهیه شد. تنظیمات اختصاصی دستگاه برای آنالیز هر آنتی‌بیوتیک به صورت جداگانه در جدول ۱ ارائه شده است.

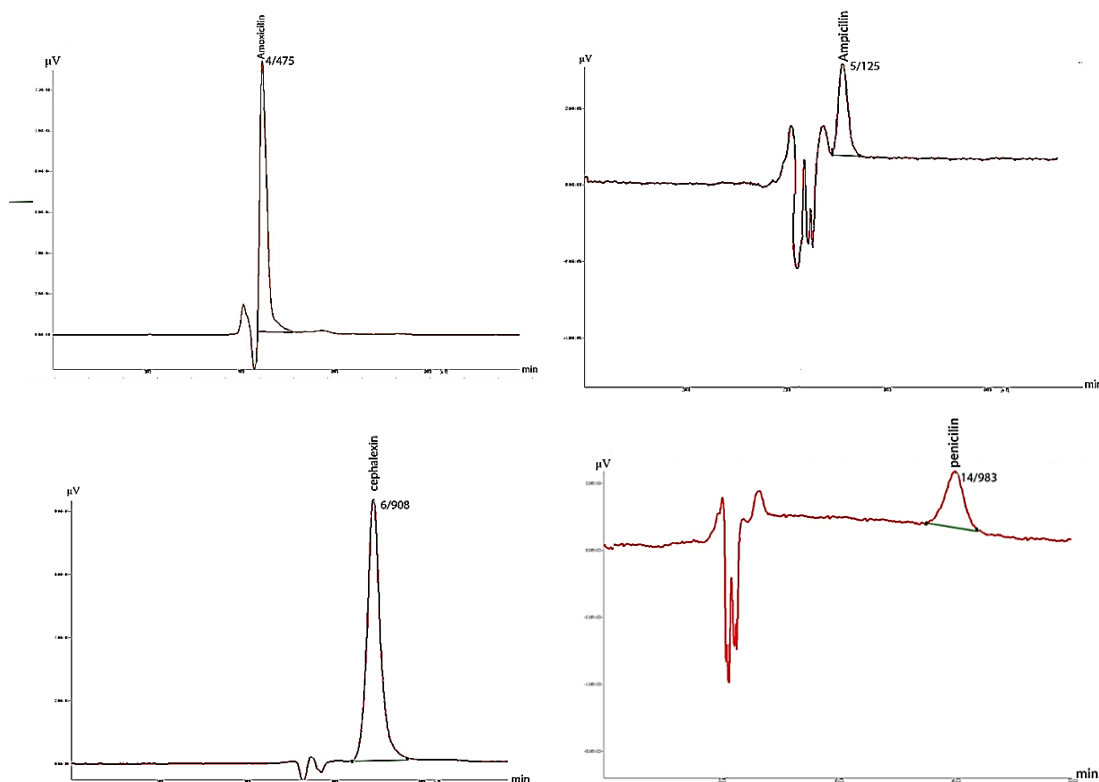
روایی نتایج: اعتبار روش بر اساس شاخص خطی بودن نتایج، ضریب رگرسیون و یا همان R^2 خط برازش شده بر روی نقاط می‌باشد که با استفاده از نرم‌افزار Excel محاسبه شد. بر اساس منابع موجود، ضریب رگرسیون بالای ۰/۹۹ بهترین شرایط برای اطمینان از خطی بودن نتایج می‌باشد و بر اساس جدول ۱، برای همه آنتی‌بیوتیک‌های هدف، R^2 بالاتر از ۰/۹۹ به دست آمد که حاکی از دقت مناسب در اندازه‌گیری است. شاخص بعدی برای اطمینان از دقت

جدول ۱. شرایط بهینه دستگاه High-performance liquid chromatography (HPLC) برای تجزیه و تحلیل آنتی‌بیوتیک‌های هدف.

منحنی‌های کالیبراسیون مربوط و مقادیر Limit of detection (LOD) دستگاه

آنتی‌بیوتیک	طول موج (نانومتر)	زمان نگهداری (دقیقه)	منحنی کالیبراسیون معادله خط	R^2	LOD (میکروگرم در لیتر)	LOQ (میکروگرم در لیتر)	بازیابی (درصد)
آمی‌سیلین	۲۵۴	۵	$y = 436/11.6x + 95/75$	۰/۹۹۵۲	۵۵/۵	۱۸۳/۲	۹۶/۴
آموکسی‌سیلین	۲۳۷	۴/۵	$y = 1419/7x + 70.37$	۰/۹۹۰۵	۳۱/۳	۱۰۳/۶	۹۱/۲
پنی‌سیلین	۲۵۴	۱۴/۹	$y = 91/342x + 2013/9$	۰/۹۹۹۴	۶/۰	۹۷/۷	۹۵/۴
سفالکسین	۲۷۴	۶/۹	$y = 1667/2x + 5140/6$	۰/۹۹۹۶	۸/۰	۹۸/۳	۹۳/۵

LOD: Limit of detection; LOQ: Limit of quantitation



شکل ۲. کروماتوگرام آنتی‌بیوتیک‌های هدف

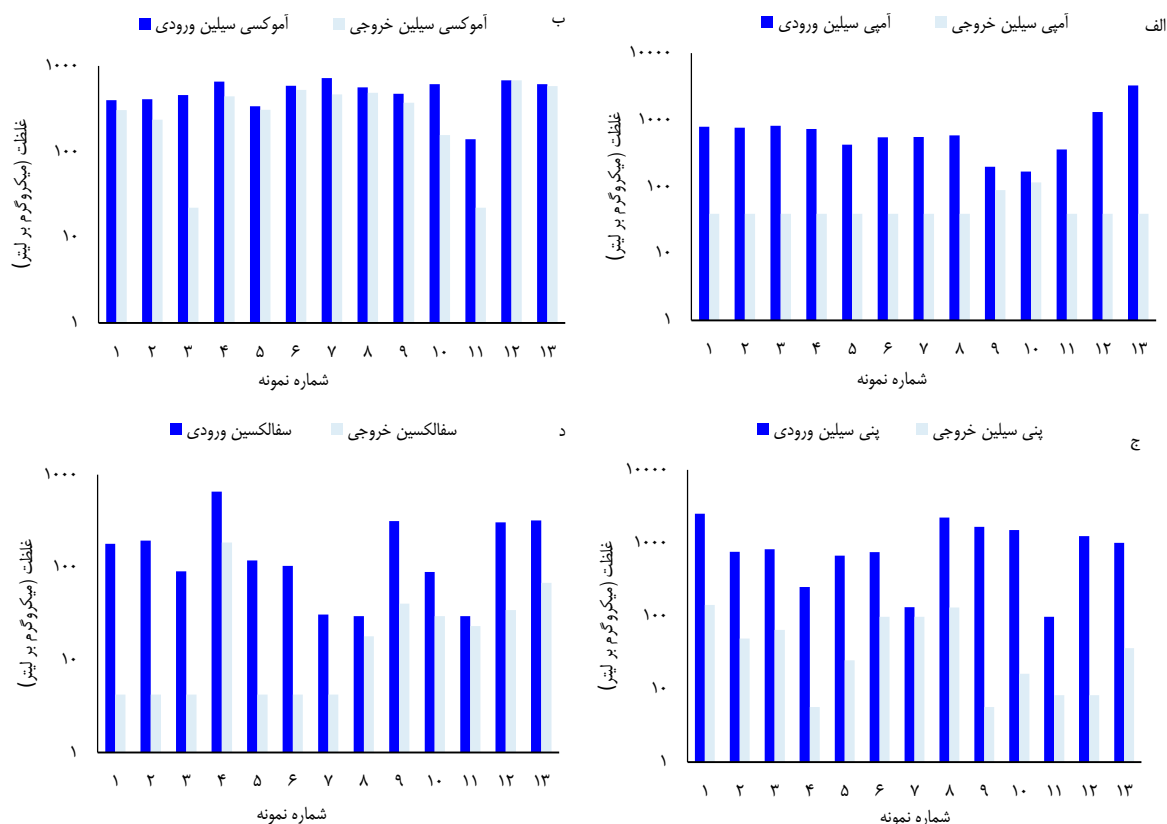
یافته‌ها

مقادیر آنتی‌بیوتیک‌های هدف در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب: آنتی‌بیوتیک‌های هدف شامل آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین، سفالکسین و پنی‌سیلین در نمونه‌های فاضلاب ورودی و پساب خروجی هر دو تصفیه‌خانه آنالیز شد و مقادیر به دست آمده در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. در تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان، پنی‌سیلین با میانگین غلظت $761/43 \pm 1050/54$ میکروگرم بر لیتر، بیشترین غلظت را در ورودی این تصفیه‌خانه داشت. پس از آن، آمپی‌سیلین با میانگین غلظت $796/44 \pm 809/6$ میکروگرم بر لیتر و آموکسی‌سیلین با میانگین غلظت $161/97 \pm 509/64$ میکروگرم بر لیتر، در رتبه‌های دوم و سوم قرار گرفت. سفالکسین نیز با میانگین غلظت $176/06 \pm 189/42$ میکروگرم بر لیتر، پایین‌ترین غلظت را در ورودی این تصفیه‌خانه به خود اختصاص داد. در فاضلاب ورودی به تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان، آموکسی‌سیلین با میانگین غلظت $303/1/53 \pm 2134/82$ میکروگرم بر لیتر، بیشترین غلظت را در ورودی این تصفیه‌خانه داشت و سپس پنی‌سیلین با میانگین غلظت $1788/08 \pm 2055/12$ میکروگرم بر لیتر و آمپی‌سیلین با میانگین غلظت $322/39 \pm 447/10$ میکروگرم بر لیتر در رتبه‌های دوم و سوم قرار داشتند و سفالکسین نیز با میانگین غلظت $123/48 \pm 183/69$ میکروگرم بر لیتر کمترین غلظت را در ورودی این تصفیه‌خانه داشت.

در پساب خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان، آموکسی‌سیلین با

میانگین غلظت $203/88 \pm 352/96$ میکروگرم بر لیتر بیشترین و سفالکسین با میانگین غلظت $49/59 \pm 32/60$ میکروگرم بر لیتر کمترین مقدار را در پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شرق داشتند. پنی‌سیلین با میانگین غلظت $49/27 \pm 52/89$ میکروگرم بر لیتر و آمپی‌سیلین با میانگین غلظت $24/25 \pm 48/94$ میکروگرم بر لیتر به ترتیب رتبه‌های دوم و سوم را به خود اختصاص دادند. در پساب خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان، آموکسی‌سیلین با میانگین غلظت $205/86 \pm 401/09$ میکروگرم بر لیتر بیشترین و سفالکسین با میانگین غلظت $40/71 \pm 23/01$ میکروگرم بر لیتر کمترین مقدار را در پساب این تصفیه‌خانه داشتند. پنی‌سیلین با میانگین غلظت $162/59 \pm 143/01$ میکروگرم بر لیتر در رتبه دوم و آمپی‌سیلین با میانگین غلظت $75/91 \pm 90/31$ میکروگرم بر لیتر در رتبه سوم قرار گرفت.

راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف در دو تصفیه‌خانه فاضلاب: شکل ۵ راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف در دو تصفیه‌خانه فاضلاب را نشان می‌دهد. در تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان، پنی‌سیلین با میانگین راندمان حذف $19/42 \pm 89/8$ درصد بیشترین راندمان حذف را در این تصفیه‌خانه داشت. آمپی‌سیلین و سفالکسین به ترتیب با میانگین راندمان حذف $19/84 \pm 86/22$ و $23/81 \pm 78/75$ درصد در رتبه‌های دوم و سوم قرار داشتند. در نهایت، آموکسی‌سیلین با میانگین $31/38 \pm 34/35$ درصد، کمترین راندمان حذف را در این تصفیه‌خانه به خود اختصاص داد.



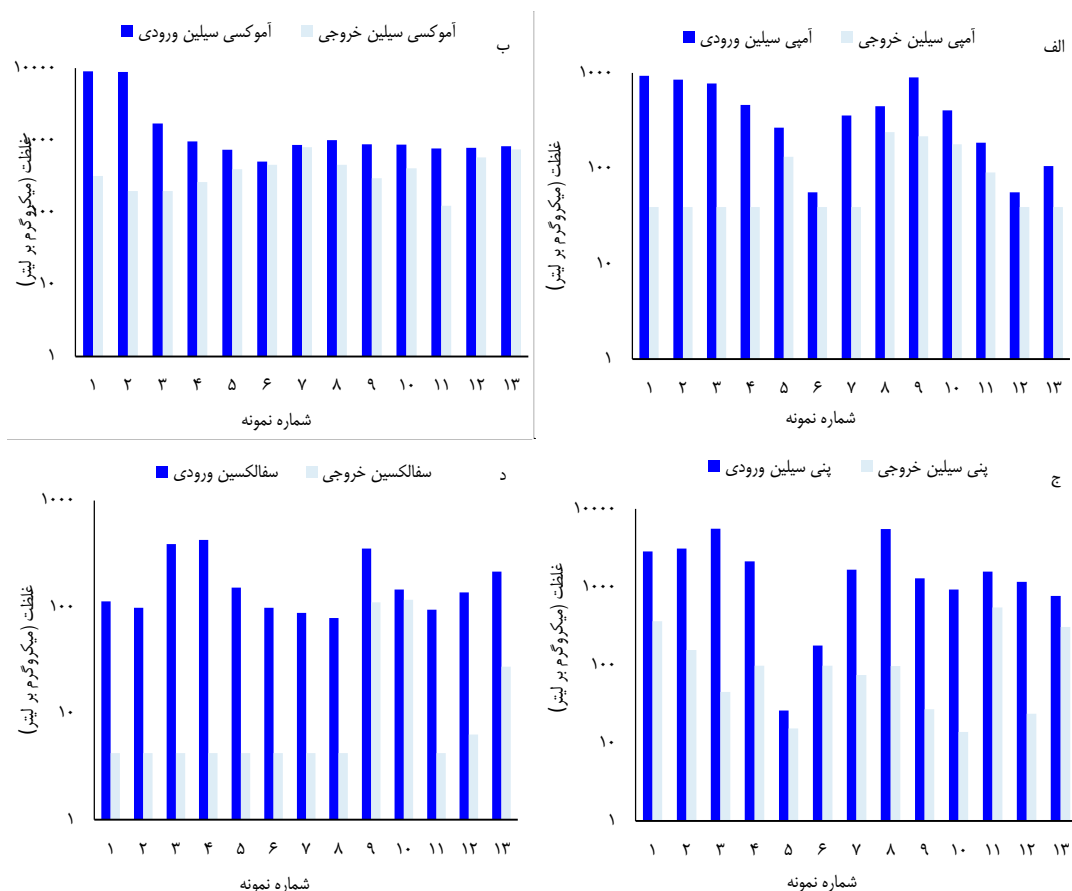
شکل ۳. غلظت آنتی‌بیوتیک در تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان؛ آمپی‌سیلین (الف)، آموکسی‌سیلین (ب)، پنی‌سیلین (ج)، سفالکسین (د)

با توجه به نتایج آزمون Kolmogorov-Smirnov و از آن جایی که در هر دو تصفیه‌خانه بیشتر توزیع نرمال پیروی نکردند، آزمون‌های فرضیه ناپارامتری بر روی آن‌ها انجام شد. آزمون Kruskal-Wallis بین آنتی‌بیوتیک‌های ورودی به تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شرق و جنوب اصفهان انجام گرفت و نتایج نشان داد که در هر دو تصفیه‌خانه مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ داشتند. سپس با انجام آزمون Mann-Whitney بین گروه‌ها، میانگین غلظت چهار آنتی‌بیوتیک هدف دو به دو در دو تصفیه‌خانه فاضلاب مورد بررسی با یکدیگر مقایسه گردید و نتایج این آزمون در جدول ۲ ارائه شده است.

در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان، سفالکسین با میانگین $21/76 \pm 87/65$ درصد، بیشترین راندمان حذف را داشت پنی‌سیلین با میانگین $21/85 \pm 82/76$ درصد در رتبه دوم و آمپی‌سیلین با میانگین $24/88 \pm 66/85$ درصد در رتبه سوم قرار گرفت. در نهایت، آموکسی‌سیلین با میانگین $23/29 \pm 54/82$ درصد دارای کمترین راندمان حذف در این تصفیه‌خانه بود. در مجموع، به نظر می‌رسد که تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان در حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف بهتر عمل کرده و میانگین راندمان حذف آن‌ها در این تصفیه‌خانه بالاتر بوده است.

جدول ۲. نتایج آزمون Mann-Whitney بین دو تصفیه‌خانه فاضلاب شرق و جنوب اصفهان

شاخص	تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان		تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان	
	آزمون آماری	مقدار P	آزمون آماری	مقدار P
آموکسی‌سیلین - آمپی‌سیلین	-۲۲/۱۵۴	۰/۰۰۱	-۱۴/۰۷۷	۰/۱۰۷
آموکسی‌سیلین - سفالکسین	۱۲/۶۹۲	۰/۱۹۶	۱۸/۸۴۶	۰/۰۰۹
آموکسی‌سیلین - پنی‌سیلین	-۱/۱۵۴	> ۰/۹۹۹	-۲/۱۵۴	> ۰/۹۹۹
آمی‌سیلین - سفالکسین	۳۴/۸۴۶	< ۰/۰۰۱	۳۲/۹۲۳	< ۰/۰۰۱
آمی‌سیلین - پنی‌سیلین	۲۱/۰۰	۰/۰۰۲	۱۱/۹۲۳	۰/۲۶۹
سفالکسین - پنی‌سیلین	-۱۳/۸۴۶	۰/۱۱۹	-۲۱/۰۰	۰/۰۰۲



شکل ۴. غلظت آنتی بیوتیک در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان: آمپنی سیلین (الف)، آموکسی سیلین (ب)، پنی سیلین (ج)، سفالکسین (د)

(COD) و کل مواد جامد معلق (Total suspended solids یا TSS) در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شرق و جنوب اصفهان انجام شد (جدول ۳). لازم به ذکر است که مقادیر شاخص‌های COD، BOD₅ و TSS در روزهای نمونه‌برداری از تصفیه‌خانه‌ها از اداره آب و فاضلاب اصفهان اخذ گردیده است.

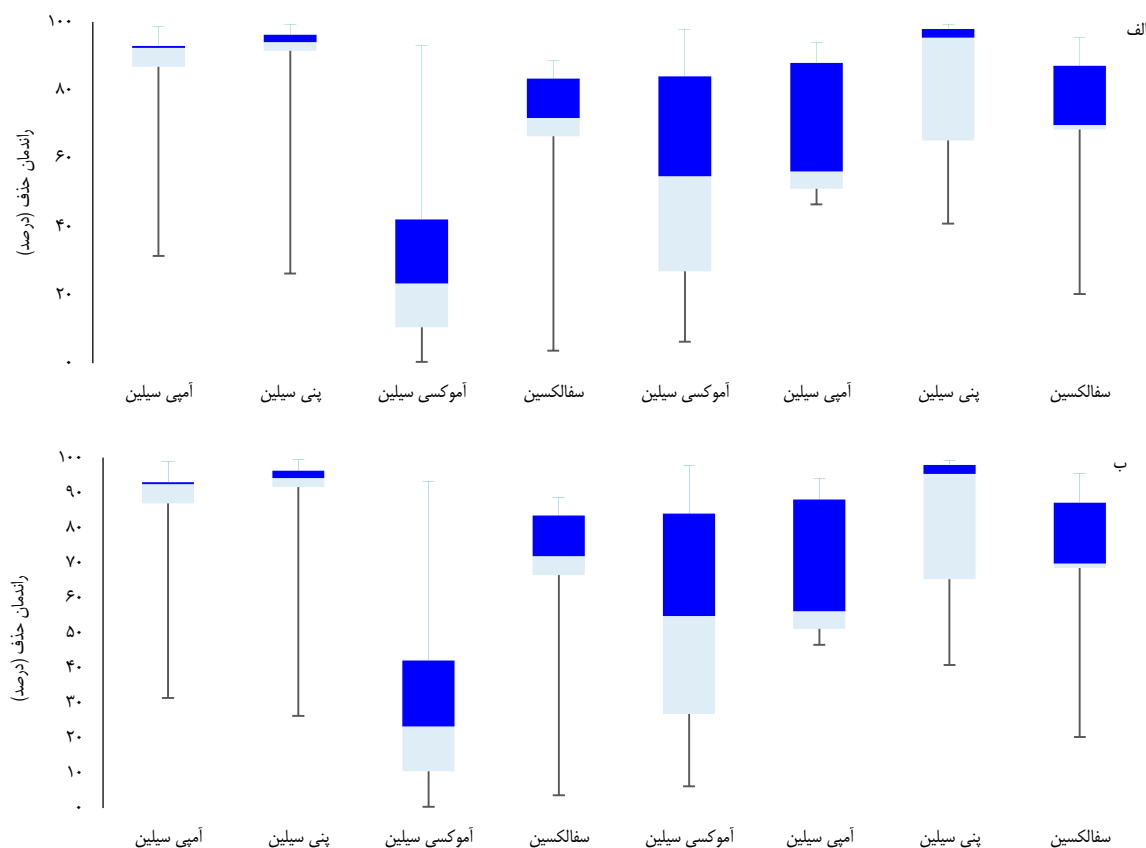
سپس آزمون همبستگی Spearman بین راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف و راندمان حذف سایر شاخص‌های تأثیرگذار فاضلاب [نیاز بیولوژیکی اکسیژن در طول ۵ روز (Biological oxygen demand over 5 days یا BOD₅)، اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (Chemical oxygen demand یا

جدول ۳. همبستگی Spearman بین راندمان‌های حذف در دو تصفیه‌خانه فاضلاب

آنتی‌بیوتیک	تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان				تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان			
	آمپی‌سیلین	آموکسی‌سیلین	پنی‌سیلین	سفالکسین	آمپی‌سیلین	آموکسی‌سیلین	پنی‌سیلین	سفالکسین
آمپی‌سیلین	۱/۰۰۰	۰/۳۵۷	*۰/۵۶۰	-۰/۰۸۲	۱/۰۰۰	۰/۳۰۸	۰/۰۵۵	۰/۵۰۳
آموکسی‌سیلین	-۰/۳۵۷	۱/۰۰۰	*۰/۵۹۳	-۰/۵۱۱	۰/۳۰۸	۱/۰۰۰	۰/۰۷۷	۰/۰۴۱
پنی‌سیلین	*-۰/۵۶۰	*-۰/۵۹۳	۱/۰۰۰	۰/۲۸۰	۰/۰۵۵	۰/۰۷۷	۱/۰۰۰	-۰/۱۱۳
سفالکسین	-۰/۰۸۲	-۰/۵۱۱	۰/۲۸۰	۱/۰۰۰	۰/۵۰۳	۰/۰۴۱	-۰/۱۱۳	۱/۰۰۰
BOD ₅	۰/۲۴۲	۰/۲۱۵	۰/۰۵۴	۰/۱۶۱	-۰/۰۷۵	۰/۰۴۷	۰/۳۳۲	-۰/۰۰۶
COD	۰/۲۴۸	۰/۲۵۵	۰/۰۰۷	-۰/۱۷۴	۰/۴۲۱	-۰/۰۲۸	-۰/۱۲۹	*۰/۷۱۳
TSS	*-۰/۱۱۷	-۰/۱۷۴	۰/۳۶۸	۰/۳۱۵	۰/۴۰۷	۰/۴۲۳	۰/۲۳۱	۰/۲۸۳

* همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ** همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۰۱

BOD₅: Biological oxygen demand over 5 day; COD: Chemical oxygen demand; TSS: Total suspended solids



شکل ۵. راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف در تصفیه‌خانه فاضلاب شرق (الف) و جنوب (ب) اصفهان

آنتی‌بیوتیک‌ها در طی همه‌گیری کووید ۱۹ در زمان حال و آینده در کشور اسپانیا انجام دادند، دریافتند که در دوران همه‌گیری این بیماری، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان یا پیشگیری از عفونت‌های ثانویه افزایش یافت و این نگرانی وجود دارد که اشتباهات و یا افراط و تفریط فعلی در استفاده از آن‌ها می‌تواند ظهور بحران جهانی بهداشت عمومی آینده ناشی از مقاومت در برابر انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها در برابر طیف دارویی را تسریع کند (۱۲). Chen و همکاران در کشور چین نیز نسبت به دز بالای آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده در کنار غلظت زیاد ضد عفونی‌کننده‌ها در طی بیماری همه‌گیر کووید ۱۹ هشدار دادند (۱۳). قلی‌پور و همکاران نیز در پژوهش خود، افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها را در فاضلاب شهر اصفهان در دوران شیوع کووید ۱۹ گزارش کردند. بر اساس توزیع بیماران و بیمارستان‌ها در شهر اصفهان، بیشترین ورود فاضلاب بیماران مبتلا به کووید ۱۹ به تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان اختصاص داشت و تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شمال و شرق اصفهان در رتبه‌های دوم و سوم قرار داشتند (۳۵). بنابراین، انتظار می‌رود که غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب جنوب اصفهان بیشتر باشد که این مطلب کاملاً صحیح است و غلظت آنتی‌بیوتیک‌های هدف در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان بیشتر از تصفیه‌خانه‌ها فاضلاب شرق اصفهان بود که با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی داشت.

بحث

در پژوهش حاضر، مقادیر آنتی‌بیوتیک‌های هدف (آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین، سفالکسین و پنی‌سیلین) در فاضلاب ورودی و پساب خروجی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شرق و جنوب اصفهان اندازه‌گیری گردید. به منظور مطالعه بهتر و دسترسی آسان‌تر، مقادیر آنتی‌بیوتیک‌های هدف در محیط‌های آبی مختلف در سایر تحقیقات و بررسی حاضر در جدول ۴ ارائه شده است.

با توجه به نتایج ارائه شده در سایر پژوهش‌ها به خصوص مطالعات انجام شده در ایران، مشاهده می‌شود که میانگین غلظت آنتی‌بیوتیک‌های هدف در فاضلاب و پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری شهر اصفهان به مراتب بالاتر بود و این امر نشان دهنده مصرف بالای آنتی‌بیوتیک‌ها در کشور ایران و شهر اصفهان می‌باشد. البته لازم به ذکر است که در تحقیق حاضر، اندازه‌گیری غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در دوران بروز کووید ۱۹ انجام گرفت و در این دوران مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها افزایش داشت و سایر پژوهش‌های انجام شده در تهران، کرج و همدان مربوط به پیش از شیوع کووید ۱۹ می‌باشند. این افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در فاضلاب با افزایش فروش و مصرف داروهای ضد میکروبی در دوران کرونا همخوانی دارد. افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در هنگام بروز کووید ۱۹ در مطالعاتی ذکر شده است.

Miranda و همکاران در تحقیقی که با هدف پیامدهای استفاده از

جدول ۴. بررسی و مقایسه غلظت آنتی بیوتیک‌های هدف در محیط‌های مختلف آبی

منطقه انجام مطالعه	محیط اندازه‌گیری	غلظت (میکروگرم بر لیتر)
آموکسی‌سیلین		
کشورهای آسیایی (۱)	فاضلاب	۶/۵۱۶
	پساب	۱/۶۷۰
	پساب	۰/۱۹۰
ایران - تهران (۳۳)	فاضلاب	۰/۱۱۵-۰/۵۸۳
	پساب	۰/۲۴۵-۰/۹۴۶
	رودخانه	۰/۰۱۶
ایران - همدان (۶)	فاضلاب	۱/۶۰۰
	پساب	۰/۷۵۰
ایران - کرج (۳۹)	فاضلاب	۷/۲۴۰
	پساب	۵/۲۸۹
	رودخانه	۳۰۵/۲۰۰
تصفیه‌خانه فاضلاب شرق (مطالعه حاضر)	فاضلاب	۵۰۹/۶۴۰
	پساب	۳۵۲/۹۶۰
	فاضلاب	۲۱۳۴/۸۲۰
	پساب	۴۱/۰۹۰
آمپی‌سیلین		
نایروبی - کنیا (۸)	فاضلاب	۰/۲۰۰
	پساب	۰/۲۰۰
	آب	۰/۱۸۰-۰/۲۲۰
	پساب داروسازی	۰/۱۸۰
	رودخانه	۰/۱۰۰-۰/۲۴۰
اسلام‌آباد - پاکستان (۲۷)	فاضلاب	۱۲-۳۲۵۷
کشورهای اروپایی (۷)	پساب	۰/۰۶۸-۰/۰۹۹
مصر (۵)	فاضلاب	۰/۴۹۸
تصفیه‌خانه فاضلاب شرق (مطالعه حاضر)	فاضلاب	۸۰۹/۶۰۰
	پساب	۴۸/۹۴۰
تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب (مطالعه حاضر)	فاضلاب	۴۴۷/۱۰۰
	پساب	۹۰/۳۱۰
سفالکسین		
کشورهای اروپایی (۷)	پساب	۰/۰۳۷-۰/۳۸۰
ایران - تهران (۲۴)	فاضلاب	۰/۱۲۲-۰/۴۶۰
	پساب	۰/۰۲۹
	رودخانه	۰/۱۸۴
عربستان - مدینه (۴)	فاضلاب	۱/۶۰۰
	پساب	۰/۷۵۰
ایران - کرج (۳۹)	فاضلاب	۶/۷۹۹
	پساب	۴/۶۰۸
	رودخانه	۲/۳۲۵

جدول ۴. بررسی و مقایسه غلظت آنتی‌بیوتیک‌های هدف در محیط‌های مختلف آبی (ادامه)

منطقه انجام مطالعه	محیط اندازه‌گیری	غلظت (میکروگرم بر لیتر)
تصفیه‌خانه فاضلاب شرق (مطالعه حاضر)	فاضلاب	۱۸۹/۴۲۰
	پساب	۳۲/۶۰۰
تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب (مطالعه حاضر)	فاضلاب	۱۸۳/۶۹۰
	پساب	۲۳/۰۱۰
پنی‌سیلین		
نایروبی - کنیا (۸)	فاضلاب	۰/۲۲ >
	پساب	۰/۲۲ >
	آب	۰/۲۲ >
	پساب داروسازی	۰/۲۲ >
	رودخانه	۰/۲۲ >
تهران - ایران (۲۴)	فاضلاب	۰/۰۱۳ - ۰/۳۶۴
	پساب	۰/۰۷۶ - ۰/۳۱۲
	رودخانه	۰/۱۵۶
تصفیه‌خانه فاضلاب شرق (مطالعه حاضر)	فاضلاب	۱۰۵۰/۵۴۰
	پساب	۵۲/۸۹۰
تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب (مطالعه حاضر)	فاضلاب	۲۰۵۵/۱۲۰
	پساب	۱۴۳/۰۱۰

حاضر، به نظر می‌رسد که تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان به روش لجن فعال متعارف، در حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف بهتر عمل کرده و میانگین راندمان حذف آن‌ها در این تصفیه‌خانه بالاتر بوده است. Shi و همکاران در کشور چین، میانگین راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌ها را در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری ۵۷-۹۵ درصد برآورد کردند (۱۴). از آنجایی که بیشترین راندمان‌های حذف به دست آمده در این محدوده قرار دارد، با وجود غلظت بالای آنتی‌بیوتیک‌ها در فاضلاب، در کل تصفیه‌خانه‌های مورد بررسی عملکرد خوبی در حذف آنتی‌بیوتیک‌ها داشتند. شکوهی و همکاران عملکرد تصفیه‌خانه فاضلاب شهری شهر همدان در حذف آموکسی‌سیلین را ۵۵/۶۶ درصد گزارش کردند (۶).

میرزایی و همکاران نیز در شهر تهران، میانگین راندمان حذف آموکسی‌سیلین در تصفیه‌خانه فاضلاب اکباتان به روش لجن فعال متداول اصلاح شده (A^2/O) را ۷۵/۲۱ درصد و در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب تهران با فرایند تصفیه ترکیب لجن فعال به همراه فیلتر چکنده پربار را ۶۵/۴۶ درصد عنوان کردند. همچنین، میانگین راندمان حذف پنی‌سیلین در تصفیه‌خانه اکباتان، ۵۹/۴۰ درصد و در تصفیه‌خانه جنوب تهران، ۵۰/۴۳ درصد گزارش گردید (۲۴). با مقایسه نتایج پژوهش میرزایی و همکاران (۲۴) با اعداد به دست آمده از راندمان حذف پنی‌سیلین در مطالعه حاضر، مشاهده می‌شود که هر دو تصفیه‌خانه مورد بررسی با راندمان بالای ۸۰ درصد، عملکرد خوبی در حذف آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین داشتند. میزان راندمان حذف آموکسی‌سیلین در تحقیق مذکور (۲۴) با یافته‌های به دست آمده از پژوهش حاضر، راندمان تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب در حذف آموکسی‌سیلین با میزان عملکرد تصفیه‌خانه فاضلاب شهر همدان مطابقت داشت، اما در کل به نظر می‌رسد که هر دو تصفیه‌خانه مورد بررسی در حذف

به منظور مقایسه بهتر غلظت آنتی‌بیوتیک‌های هدف در دو تصفیه‌خانه فاضلاب شرق و جنوب اصفهان، مقادیر حداقل، حداکثر، میانه و انحراف معیار داده‌ها محاسبه گردید. با توجه به داده‌های به دست آمده، در تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان، پنی‌سیلین در محدوده ۹۷/۷ تا ۲۵۲۲/۳۷ میکروگرم در لیتر و با میانگین ۱۰۵۰/۵۴ میکروگرم در لیتر، بیشترین و سفالکسین با حداقل غلظت ۲۹/۷۰ میکروگرم در لیتر و حداکثر غلظت ۶۵۵/۲۱ میکروگرم در لیتر و با میانگین ۱۸۹/۴۲ میکروگرم در لیتر کمترین مقدار را در ورودی تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان داشتند. در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان، آموکسی‌سیلین در محدوده ۵۰/۱۷۷ تا ۹۰۳۲/۴۱ میکروگرم در لیتر و با میانگین ۲۱۳۴/۸۲ میکروگرم در لیتر، بیشترین مقدار و سفالکسین در محدوده ۷۸/۶۱ تا ۴۲۵/۴۳ میکروگرم در لیتر و با میانگین ۱۸۳/۶۹، کمترین مقدار را در ورودی تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان به خود اختصاص دادند. مشاهده می‌شود که در هر دو تصفیه‌خانه، سفالکسین کمترین مقدار را در ورودی تصفیه‌خانه داشته است. از این مطلب چنین می‌توان استنباط کرد که در کلانشهر اصفهان، در میان آنتی‌بیوتیک‌های هدف که در گروه بتالاکام‌ها قرار دارند، سفالکسین کمترین میزان مصرف را داشت و از لحاظ بیشترین مقادیر مصرفی، آموکسی‌سیلین و آمپی‌سیلین حایز اهمیت هستند.

از نظر راندمان حذف، تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری قادر به حذف کامل ترکیبات دارویی به ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها نیستند و راندمان حذف آن‌ها در سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهری متفاوت است. در بیشتر مطالعات قبلی، راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهری کمتر از ۸۰ درصد بوده و به‌ندرت راندمان حذف ۱۰۰ درصد مشاهده شده است (۶). در مجموع، در تحقیق

۹۵ درصد همبستگی معنی‌داری را نشان داد و این همبستگی به صورت معکوس می‌باشد. همچنین، در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان، بین راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌ها با راندمان حذف هیچ یک از شاخص‌ها همبستگی مشاهده نشد و تنها بین راندمان حذف سفالکسین با راندمان حذف COD در سطح ۹۹ درصد اطمینان همبستگی معنی‌داری وجود داشت.

نتیجه‌گیری

مشاهده می‌شود که میانگین غلظت آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، پنی‌سیلین و سفالکسین در فاضلاب و پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شرق و جنوب اصفهان بسیار بیشتر از سایر کشورها بود و این امر نشان دهنده مصرف و تجویز بی‌رویه و در برخی موارد، خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها در کشور ایران و کلانشهر اصفهان می‌باشد. در بیشتر مطالعات انجام شده در سایر کشورها به ویژه کشورهای پیشرفته، غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در محدوده نانوگرم در لیتر می‌باشد. این در حالی است که در تحقیق حاضر، غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در محدوده میکروگرم در لیتر گزارش شده است. یکی از دلایل افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در فاضلاب، ناشی از بروز کوئید ۱۹ و افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در این دوران می‌باشد. از آنجایی که عموماً پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری مورد استفاده مجدد قرار می‌گیرد، وجود این میزان آنتی‌بیوتیک‌ها در پساب بسیار حایز اهمیت است و نیاز به کنترل بیشتری در استفاده از این فرآورده دارویی وجود دارد. با این حال، راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شرق و جنوب اصفهان نسبتاً بالا بود و این تصفیه‌خانه عملکرد به نسبت خوبی در حذف آنتی‌بیوتیک‌ها از فاضلاب داشتند. راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف در این دو تصفیه‌خانه کاملاً مستقل عمل کرد و همبستگی معنی‌داری بین راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌ها و راندمان حذف سایر شاخص‌های فاضلاب مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از دو طرح تحقیقاتی با شماره‌های ۳۹۷۶۳۹ و ۱۳۰۱۳، مصوب کمیته پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به جهت حمایت مالی تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. همچنین، از شرکت آبفای اصفهان به جهت همکاری در نمونه‌برداری سپاسگزاری می‌گردد.

آموکسی‌سیلین ضعیف‌تر از سایر پژوهش‌ها عمل کرده‌اند. مطالعات پیشین نیز کارایی فرایند لجن فعال متعارف در حذف آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین و سفالکسین را به ترتیب ۸۴ و ۷۶ درصد گزارش کرده‌اند (۳۳). بنابراین، به نظر می‌رسد که تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان به روش لجن فعال، سفالکسین را نسبتاً خوب حذف نموده، اما در حذف آموکسی‌سیلین ضعیف عمل کرده است. Shraim و همکاران در عربستان سعودی، راندمان حذف سفالکسین در سیستم تصفیه فاضلاب شهری شهر مدینه منوره را ۱۸/۱۶ درصد برآورد کردند (۴). با مقایسه این عدد با راندمان‌های حذف به دست آمده در تحقیق حاضر، راندمان حذف سفالکسین در هر دو تصفیه‌خانه قابل قبول می‌باشد.

باتوجه به نتایج آزمون و مقادیر P (کمتر از ۰/۰۵)، مشخص گردید که در تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان، شاخص‌های آموکسی‌سیلین ورودی و خروجی و پنی‌سیلین ورودی ($P = ۰/۲۰۰$) و سفالکسین ورودی ($P = ۰/۱۹۴$) و در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان تنها شاخص‌های آمپی‌سیلین ورودی و آموکسی‌سیلین خروجی ($P = ۰/۲۰۰$) و همچنین، پنی‌سیلین ورودی ($P = ۰/۱۴۵$) از توزیع نرمال پیروی کرده است و سایر شاخص‌های از توزیع نرمال پیروی نکردند. نتایج نشان داد که در هر دو تصفیه‌خانه مد نظر، مقدار P کمتر از ۰/۰۵ بود. بنابراین، مشخص گردید که تفاوت معنی‌داری بین میانه‌های چهار آنتی‌بیوتیک مورد نظر در هر دو تصفیه‌خانه وجود داشت.

با توجه به نتایج به دست آمده، بین میانگین گروه ۲ (آمپی‌سیلین) با دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها در تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان تفاوت معنی‌داری وجود داشت و مقدار آن نیز از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر بود. این مطلب نشان می‌دهد که مصرف آمپی‌سیلین از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر بوده است، اما سایر آنتی‌بیوتیک‌ها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر در میانه نداشتند. بین میانگین گروه ۳ (سفالکسین) با دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها در تصفیه‌خانه فاضلاب جنوب اصفهان تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و مقدار آن نیز از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر بود، اما سایر آنتی‌بیوتیک‌ها تفاوت معنی‌داری در میانه نداشتند.

نتایج آزمون همبستگی بین راندمان حذف آنتی‌بیوتیک‌های هدف و راندمان حذف سایر شاخص‌های تأثیرگذار فاضلاب (BOD_5 , COD, TSS) در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شرق و جنوب اصفهان نشان داد که در تصفیه‌خانه فاضلاب شرق اصفهان، تنها بین راندمان حذف پنی‌سیلین با راندمان حذف آمپی‌سیلین و سفالکسین در سطح ۹۵ درصد همبستگی معنی‌داری وجود داشت. راندمان حذف آمپی‌سیلین نیز با راندمان حذف پنی‌سیلین و TSS در سطح

References

- Tran NH, Reinhard M, Gin KY. Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review. *Water Res* 2018; 133: 182-207.
- Verlicchi P, Galletti A, Petrovic M, Barcelo D, Al Aukidy M, Zambello E. Removal of selected pharmaceuticals from domestic wastewater in an activated sludge system followed by a horizontal subsurface flow bed - analysis of their respective contributions. *Sci Total Environ* 2013; 454-455: 411-25.
- Jelic A, Fatone F, Di FS, Petrovic M, Cecchi F, Barcelo D. Tracing pharmaceuticals in a municipal plant for integrated wastewater and organic solid waste treatment. *Sci Total Environ* 2012; 433: 352-61.
- Shraim A, Diab A, Alsuhaimi A, Niazzy E, Metwally M, Amad M, et al. Analysis of some pharmaceuticals in municipal wastewater of Almadinah Almunawarah. *Arab J Chem* 2017; 10: S719-S729.
- Patel M, Kumar R, Kishor K, Mlsna T, Pittman CU, Mohan D. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: Chemistry, occurrence, effects, and removal methods. *Chem Rev* 2019; 119(6): 3510-673.
- Shokoohi R, Dargahi A, Khamutian R, Vaziri Y. Evaluation of the efficiency of wastewater treatment plants in

- the removal of common antibiotics from municipal wastewater in Hamadan, Iran. *Avicenna J Environ Health Eng* 2017; 4(1): 10921.
7. Rodriguez-Mozaz S, Vaz-Moreira I, Varela Della GS, Llorca M, Barcelo D, Schubert S, et al. Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. *Environ Int* 2020; 140: 105733.
 8. Ngigi AN, Magu MM, Muendo BM. Occurrence of antibiotics residues in hospital wastewater, wastewater treatment plant, and in surface water in Nairobi County, Kenya. *Environ Monit Assess* 2019; 192(1): 18.
 9. Aali R, Fouladifard R, Yeganeh J, Hashemzadeh B, Fanaei F. Antibiotics and antibiotic resistance in water and wastewater resources: A review. *Journal of Water and Wastewater Science and Engineering* 2019; 4(4): 5-15. [In Persian].
 10. Sulfikar, Honda R, Noguchi M, Yamamoto-Ikemoto R, Watanabe T. Effect of sedimentation and aeration on antibiotic resistance induction in the activated sludge process. *Journal of Water and Environment Technology* 2018; 16(2): 94-105.
 11. Hanna N, Sun P, Sun Q, Li X, Yang X, Ji X, et al. Presence of antibiotic residues in various environmental compartments of Shandong province in eastern China: It's potential for resistance development and ecological and human risk. *Environ Int* 2018; 114: 131-42.
 12. Miranda C, Silva V, Capita R, Alonso-Calleja C, Igrejas G, Poeta P. Implications of antibiotics use during the COVID-19 pandemic: Present and future. *J Antimicrob Chemother* 2020; 75(12): 3413-6.
 13. Chen Z, Guo J, Jiang Y, Shao Y. High concentration and high dose of disinfectants and antibiotics used during the COVID-19 pandemic threaten human health. *Environ Sci Eur* 2021; 33(1): 11.
 14. Shi Y, Liu J, Zhuo L, Yan X, Cai F, Luo W, et al. Antibiotics in wastewater from multiple sources and surface water of the Yangtze River in Chongqing in China. *Environ Monit Assess* 2020; 192(3): 159.
 15. Focazio MJ, Kolpin DW, Barnes KK, Furlong ET, Meyer MT, Zaugg SD, et al. A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States--II) untreated drinking water sources. *Sci Total Environ* 2008; 402(2-3): 201-16.
 16. Barnes KK, Kolpin DW, Furlong ET, Zaugg SD, Meyer MT, Barber LB. A national reconnaissance of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States--I) groundwater. *Sci Total Environ* 2008; 402(2-3): 192-200.
 17. Dougherty JA, Swarzenski PW, Dinicola RS, Reinhard M. Occurrence of herbicides and pharmaceutical and personal care products in surface water and groundwater around Liberty Bay, Puget Sound, Washington. *J Environ Qual* 2010; 39(4): 1173-80.
 18. Rezazadeh H. Surveying the Performance of β -cyclodextrin functionalized graphene oxide/ag nanocomposite for metronidazole removal from aqueous solutions [MSc Thesis]. Ahvaz, Iran: Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences; 2016. [In Persian].
 19. Neisi A, Farhadi M, Takdastan A, Babaei AA, Yari AR, Mohammadi MJ, et al. Removal of oxytetracycline antibiotics from hospital wastewater. *Fresenius Environmental Bulletin* 2017; 26(3): 2422-9.
 20. Zaboli P, Ala S, Zadeh A, Abdollahiasl A, Nikfar S. PHP25 market analysis of antibiotics consumption in northern part of Iran During 2001-2010. *Value Health* 2012; 15(7): A613-A614.
 21. Pan M, Chu LM. Transfer of antibiotics from wastewater or animal manure to soil and edible crops. *Environ Pollut* 2017; 231(Pt 1): 829-36.
 22. Lacey C, Basha S, Morrissey A, Tobin JM. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater process streams in Dublin, Ireland. *Environ Monit Assess* 2012; 184(2): 1049-62.
 23. Kim S, Aga DS. Potential ecological and human health impacts of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2007; 10(8): 559-73.
 24. Mirzaei R, Yunesian M, Nasserli S, Gholami M, Jalilzadeh E, Shoeibi S, et al. Occurrence and fate of most prescribed antibiotics in different water environments of Tehran, Iran. *Sci Total Environ* 2018; 619-620: 446-59.
 25. Karthikeyan KG, Meyer MT. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. *Sci Total Environ* 2006; 361(1-3): 196-207.
 26. Chang X, Meyer MT, Liu X, Zhao Q, Chen H, Chen JA, et al. Determination of antibiotics in sewage from hospitals, nursery and slaughter house, wastewater treatment plant and source water in Chongqing region of Three Gorge Reservoir in China. *Environ Pollut* 2010; 158(5): 1444-50.
 27. Zafar R, Bashir S, Nabi D, Arshad M. Occurrence and quantification of prevalent antibiotics in wastewater samples from Rawalpindi and Islamabad, Pakistan. *Sci Total Environ* 2021; 764: 142596.

28. Gao L, Shi Y, Li W, Niu H, Liu J, Cai Y. Occurrence of antibiotics in eight sewage treatment plants in Beijing, China. *Chemosphere* 2012; 86(6): 665-71.
29. Yan Q, Gao X, Chen YP, Peng XY, Zhang YX, Gan XM, et al. Occurrence, fate and ecotoxicological assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants in Chongqing, the Three Gorges Reservoir Area. *Sci Total Environ* 2014; 470-471: 618-30.
30. Heidari M, Bina B, Ebrahimi A, Kazemipour M, Ansari M, Amin MM. A qualitative survey of five antibiotics in influent and effluent of a wastewater treatment plant in central plateau of Iran. *J Health Syst Res* 2015; 10(1): 126-41. [In Persian].
31. Saffari Khouzani H, Heidari M, Amin MM, Nabavi BF. Deterrent effect of ampicillin and gentamicin antibiotics on methanogenic activity of anaerobic biomass. *J Health Syst Res* 2011; 6(5): 1038-47. [In Persian].
32. Behzadi S, Dehghani M, Sekhavatjoo MS, Hashemi H. Optimization of fenton process for total organic carbon removal from aqueous solution includes amoxicillin antibiotic by using taguchi experimental design. *J Health Syst Res* 2014; 9(11): 1186-200. [In Persian].
33. Mirzaei R, Yunesian M, Mesdaghinia AR, Nasser S, Gholami M, Jalilzadeh E, et al. The efficiency of the conventional wastewater treatment plant in antibiotics removal and the determination of their concentration in Ekbatan and Southern Tehran wastewater treatment plants: a case report. *Iran J Health Environ* 2018; 11(3): 321-36. [In Persian].
34. Usman M, Farooq M, Hanna K. Environmental side effects of the injudicious use of antimicrobials in the era of COVID-19. *Sci Total Environ* 2020; 745: 141053.
35. Gholipour S, Mohammadi F, Nikaeen M, Shamsizadeh Z, Khazeni A, Sahbaei Z, et al. COVID-19 infection risk from exposure to aerosols of wastewater treatment plants. *Chemosphere* 2021; 273: 129701.
36. Yazdanbakhsh AR, Paseban A, Ghorbanpoor R. Inhibitory effects of the amoxicillin on treatment efficiency of synthetic wastewater in a sequencing batch reactor. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2015; 7(3): 669-82. [In Persian].
37. Benito-Pena E, Urraca JL, Moreno-Bondi MC. Quantitative determination of penicillin V and amoxicillin in feed samples by pressurised liquid extraction and liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Pharm Biomed Anal* 2009; 49(2): 289-94.
38. Verdier MC, Tribut O, Tattevin P, Le TY, Michelet C, Bentue-Ferrer D. Simultaneous determination of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by high-performance liquid chromatography with UV detection: application to therapeutic drug monitoring. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(10): 4873-9.
39. Mortazavi S, Norozi Fard P. Tracing antibiotic compounds (amoxicillin, erythromycin, gentamicin and cephalixin) in Karaj River, Iran 2015. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2017; 27(155): 141-56. [In Persian].