

علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره بیست و دوم، شماره چهار، تیر ماه ۹۹

تأثیر کمپوست کردن هوازی و بی هوازی بر حذف آنتی بیوتیک‌های انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین از کود مرغی

مهسا محمدزاده^۱

فروزان قاسمیان رودسری^۲

اکبر حسنی^{۳*}

Akbar.Hassani@znu.ac.ir

عباسعلی زمانی^۴

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۰۹

چکیده

زمینه و هدف: بخش زیادی از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در مرغداری‌ها از طریق فضولات آنها خارج می‌شود. این فضولات به‌عنوان کود آلی در کشاورزی استفاده شده و باعث انتشار آنتی‌بیوتیک‌های دامی در محیط زیست می‌شود. این ترکیب‌ها ممکن است سبب افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی جمعیت‌های میکروبی شود و یا به گیاهان رشد یافته در این خاک‌ها صدمه وارد کند. هدف از این پژوهش تعیین تأثیر کمپوست کردن کود مرغی به روش هوازی و بی‌هوازی بر مقدار آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین موجود در کود مرغی در دو سطح غلظتی بالا و پایین و مقایسه آنها با یکدیگر بوده است.

روش بررسی: این آزمایش در سال ۱۳۹۶ انجام شد. دو نمونه کود مرغی گوشتی تازه پس از اتمام دوره تیمار مرغ‌ها با آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین تهیه شد. این دو نمونه محتوی دو سطح غلظتی بالا و پایین از انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین بودند. عملیات کمپوست نمودن کودهای مرغی به روش آماری کاملاً تصادفی و با تیمارهای ۱- هوازی در سطح غلظتی پایین ۲- هوازی در سطح غلظتی بالا ۳- بی-هوازی در سطح غلظتی پایین و ۴- بی‌هوازی در سطح غلظتی بالا در پنج تکرار به مدت ۷۵ روز انجام یافت. در فواصل زمانی مشخص نمونه‌ها

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم محیط زیست، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه زنجان

۳- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان (نویسنده مسئول)

۴- استادیار گروه علوم محیط زیست، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

تهیه شده و غلظت انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین در آنها به روش HPLC اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده با معادله سنتیکی درجه اول برازش شده و نیمه‌عمر تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها محاسبه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در پایان دوره، در تیمارهای یک تا چهار به ترتیب ۵۴/۲، ۶۴/۳، ۶۵/۳ و ۶۹/۷ در صد از انروفلوکساسین و ۴۱/۰، ۵۷/۸، ۵۷/۸ و ۶۱/۸ در صد سیپروفلوکساسین باقی مانده بود. ضریب همبستگی به دست آمده از برازش معادله سنتیکی درجه اول در تیمارها (بین ۰/۷۱ تا ۰/۹۲) نشان داد که داده‌های آزمایش به خوبی با این معادله برازش می‌شوند. نیمه‌عمر تجزیه انروفلوکساسین بین ۹۶/۲۷ تا ۱۵۰/۶۸ روز به دست آمد. مقدار نیمه‌عمر تجزیه برای سیپروفلوکساسین نیز بین ۵۷/۲۸ تا ۱۱۷/۴۸ روز به دست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج نشان داد که فرایند کمپوست کردن موجب کاهش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها شده و از ورود آن به محیط زیست جلوگیری می‌کند. سرعت تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها در شرایط هوازی بیشتر از شرایط بی‌هوازی بود. نرخ تجزیه هر دو آنتی‌بیوتیک در غلظت اولیه بالا کمتر از نرخ تجزیه آن در غلظت پایین بود. نرخ تجزیه سیپروفلوکساسین نیز بیشتر از انروفلوکساسین بود. نتایج این پژوهش می‌تواند به ایجاد قوانین و مقررات مربوط در نهادهای مرتبط، در جهت کاهش ورود آنتی‌بیوتیک‌های دام و طیور به محیط زیست کمک کند.

واژه‌های کلیدی: انتشار آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط زیست، سینتیک تجزیه انروفلوکساسین، کود مرغی، هضم هوازی و بی‌هوازی.

Effect of Aerobic and Anaerobic Composting on the Removal of Antibiotics of Enrofloxacin and Ciprofloxacin in Broiler Chicken Manure

Mahsa Mohammadzadeh¹
Forouzan Ghasemian Roudsari²
Akbar Hassani^{3*}
Akbar.Hassani@znu.ac.ir
Abbasali Zamani⁴

Accepted: 2018.10.10

Received: 2018.04.29

Abstract

Background and Objective: Many of the antibiotics used in poultry farms are excreted in their feces. This waste is used as organic fertilizer in agriculture and causes the release of animal antibiotics in the environment. These compounds may increase the antibiotic resistance of microbial populations or damage plants grown in these soils. The aim of this study was to determine the effect of aerobic and anaerobic poultry manure composting on the amount of enrofloxacin and ciprofloxacin antibiotics in poultry manure at two levels of high and low concentration and compare them with each other.

Method: Two samples of fresh broiler chicken manure were prepared after the end of the chicken treatment with antibiotic enrofloxacin. The two samples contained two levels of high and low concentrations of Enrofloxacin and Ciprofloxacin. The composting of chicken manure was done using a completely randomized design with 4 treatments of 1- aerobic treatments at a low concentration, 2- aerobic treatments at high concentration 3- anaerobic treatments at low concentration 4- anaerobic treatments at a high concentration in five replicates in 75 days. Samples were prepared at specific intervals and the concentration of Enrofloxacin and Ciprofloxacin was measured by HPLC method. The obtained data were fitted with the first-order kinetic equation and the half-life of the antibiotic degradation was calculated.

Findings: The results showed that at the end of the period, in treatments 1 to 4, 54.2%, 64.3%, 65.3% and 69.7% of the Enrofloxacin and 41%, 57.8%, 57.8% and 61.8% Ciprofloxacin remained. The correlation coefficient (R^2) obtained from the fitting of the first-order kinetic equation in treatments (from 0.71 to 0.92) showed that the data fit well with this equation. The half-life of the Enrofloxacin degradation was

1 - M.Sc. Student, Environmental Science, Faculty of Science, University. of Zanjan, Iran

2 - Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University. of Zanjan, Iran

3 - Assistant Professor, Soil Sci. Dept., Faculty of Agriculture, University. of Zanjan, Iran

4 - Assistant Professor, Environmental Science, Faculty of Science, University. of Zanjan, Iran

obtained between 96.27 and about 150.68 days. The half-life of degradation for Ciprofloxacin was also found to be between 57.28 and 117.48 days.

Discussion and Conclusion: Overall, the results showed that the process of composting reduced the concentration of antibiotics and prevented its entry into the environment. The rate and total amount of antibiotic degradation in aerobic conditions was higher than anaerobic. The rate of degradation of both antibiotics at a high initial concentration was lower than its rate of degradation at low concentrations. The rate of ciprofloxacin degradation was also higher than Enrofloxacin. The results of this study can help to create relevant laws and regulations in relevant institutions, in order to reduce the release of veterinary antibiotics into the environment.

Key words: Aerobic and Anaerobic Digestion, Chicken Manure, Enrofloxacin Degradation Kinetics, Release of Antibiotics in the Environment

مقدمه

همراه با مواد خوراکی وارد بدن انسان شوند و اثرات سمی روی کلیه، کبد و مغز انسان بگذارند (۷).

انروفلوکسازین یک ترکیب فلوروکینولون می‌باشد که از طریق مهار غیرقابل برگشت آنزیم ژیراز سبب جلوگیری از همانندسازی و در نتیجه مرگ میکروارگانیسم‌ها می‌گردد. دفع این دارو از بدن طیور از طریق کلیه بدون تغییر و به شکل انروفلوکسازین و غیرکلیوی (صفر) با تبدیل به سیپروفلوکسازین انجام می‌شود (۳). گزارش شده است که ۷۴ درصد از انروفلوکسازین مصرفی در طیور به شکل انروفلوکسازین و ۲۴ درصد نیز به شکل سیپروفلوکسازین دفع می‌شود (۸). این آنتی‌بیوتیک در حال حاضر در کشور ایران به طور گسترده‌ای در پرورش طیور برای مقابله با بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. گونه‌های مختلف حیوانات، این ترکیب به هشت متابولیت مختلف متابولیزه شده که تنها سیپروفلوکسازین در میان آن‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشد (۹).

فرایند کمپوست نمودن کودهای حیوانی راهکاری مناسب برای آزادسازی عناصر غذایی موجود در کودها، کاهش عوامل بیماری‌زا و کاهش بوی نامطبوع کودهای حیوانی می‌باشد. یکی از روش‌های حذف آنتی‌بیوتیک‌ها از کود مرغی، تجزیه بیوشیمیایی آن‌ها از طریق کمپوست نمودن می‌باشد. طی فرایند کمپوست شدن، فعالیت‌های میکروبی و تغییرات بیوشیمیایی سبب تجزیه کامل آنتی‌بیوتیک‌ها و یا تبدیل آن‌ها به متابولیت‌های کم‌خطر می‌شود (۱۰). گزارش شده است که کمپوست کردن کود مرغی در شرایط مزرعه، منجر به تجزیه حداقل ۶۰ درصد انروفلوکسازین و ۸۹ درصد از سیپروفلوکسازین به متابولیت‌های اولیه می‌شود (۱۱). نوع تیمارهایی که قبل از ورود کود مرغی به مزرعه انجام می‌شود، تعیین کننده غلظت نهایی آنتی‌بیوتیک وارد شده به محیط زیست می‌باشد. مطالعات گسترده‌ای نشان داده است که کمپوست نمودن کود مرغی و هضم هوازی و یا بی‌هوازی آن به‌طور معنی‌داری غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها را در فضولات مرغی کاهش می‌دهد

آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور گسترده‌ای در دامداری‌ها برای پیشگیری از بیماری‌ها و افزایش رشد مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱) این آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان مکمل غذایی برای بهبود رشد به جیره‌ی دام‌ها اضافه می‌شوند (۲). با وجود ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره‌ی غذایی برای افزایش رشد در کشورهای عضو اتحادیه اروپا از سال ۱۹۹۸، همچنان این مواد در کشورهای دیگری مانند کانادا، ایالات متحده، کره جنوبی و ایران استفاده می‌شود (۳).

قسمت عمده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در دامداری‌ها از طریق ادرار و مدفوع دام‌ها خارج می‌شود (۱)، چرا که مقدار ترکیبات آنتی‌بیوتیکی از نظر تحرک در بدن دام‌ها بهینه نمی‌باشد (۴). بنابراین مقدار قابل توجهی از آن‌ها همراه با ادرار و مدفوع طی چند روز پس از مصرف دفع می‌شود (۱). در کنار ورود آنتی‌بیوتیک‌های حوزه دامپزشکی به محیط زیست، بخش زیادی از این مواد به دست عوامل انسانی وارد محیط زیست می‌شوند. استفاده از این فضولات حیوانی در خاک‌ها به‌عنوان کودهای آلی ممکن است سبب آلودگی محیط زیستی شود.

آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده نسبت به تجزیه میکروبی مقاوم می‌باشند (۳) و بر اثر نفوذ درون خاک و یا جریان‌های سطحی به آب‌های زیرزمینی و یا آب‌های سطحی وارد می‌شوند (۴). حضور دائمی و پایدار آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط زیست ممکن است جمعیت گروه‌های مفید باکتریایی خاک را تحت تأثیر قرار دهند. این ترکیب‌ها همچنین ممکن است سبب افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی جمعیت‌های میکروبی شوند چرا که حتی غلظت‌های کم آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک را ترغیب به بقا می‌کند (۵). حضور آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک‌ها به گیاهان رشد یافته در این خاک‌ها نیز صدمه وارد می‌کند. میگلور و همکاران (۶) گزارش کرده‌اند که وجود انروفلوکسازین در خاک در غلظت‌های ۵۰ تا ۵۰۰ میکروگرم بر گرم، سبب کاهش رشد در گیاهان می‌شود (۶). این مواد ممکن است توسط ریشه گیاهان جذب شده و

آلی، ۶۲/۶ در صد رطوبت اولیه، ۱/۴۷ در صد نیتروژن کل بود و مقدار pH آن نیز ۸/۱۱ اندازه گیری شد.

طراحی آزمایش

عملیات کمپوست نمودن کودهای مرگی به روش آماری کاملاً تصادفی و با تیمارهای ۱- هوازی در سطح غلظتی پایین ۲- هوازی در سطح غلظتی بالا ۳- بی‌هوازی در سطح غلظتی پایین و ۴- بی‌هوازی در سطح غلظتی بالا در پنج تکرار انجام یافت. در تیمار هوازی ۲ کیلوگرم کود مرگی داخل سطل‌های مخصوص ریخته شده و رطوبت آن در حد مناسب حفظ شد. ظرف‌های محتوی کود در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۵ روز قرار داده شده و هر پنج روز یک بار با کاردک پلاستیکی به هم زده شدند تا شرایط هوازی کامل برقرار باشد. در روزهای ۱، ۳، ۵، ۸، ۱۲، ۱۸، ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۵۵، ۶۵ و ۷۵ از ظرف مورد نظر برای آنالیز آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و انروفلوکساسین نمونه‌گیری شد. در تیمار بی‌هوازی، مقدار ۲ کیلوگرم کود مرگی تازه وارد ظرف‌های مخصوص شده و رطوبت آن به اندازه مناسب رسانده شد. درب ظرف به‌طور کامل بسته شد تا جریان هوا وارد آن نشود. ظرف‌های محتوی کود در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۵ روز قرار داده شد. در روزهای ۱، ۳، ۵، ۸، ۱۲، ۱۸، ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۵۵، ۶۵ و ۷۵ از ظرف مورد نظر برای آنالیز آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و انروفلوکساسین نمونه‌گیری شد.

اندازه‌گیری آنتی‌بیوتیک

ابتدا عصاره‌گیری از نمونه کود مرگی به روش سلنا و همکاران (۲۰۱۴) انجام یافت. (۸). اندازه‌گیری آنتی‌بیوتیک در عصاره‌ها در دمای اتاق ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) با دستگاه HPLC شرکت آجیلنت مجهز به آشکارساز فلورومتتری به روش سلنا و همکاران (۲۰۱۴) انجام یافت. طول موج مورد استفاده ۲۷۸ نانومتر بود. جریان فاز متحرک (آب، استونیتریل و متانول با نسبت ۱۶۰، ۷۰، ۲۰ حجمی همراه با اضافه کردن اسید فسفریک) ۱/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه بود.

(۱۴- ۱۱). نرخ تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها در طی زمان تجزیه به نوع آنتی‌بیوتیک، نوع کود دامی و شرایط تجزیه بستگی دارد (۱۵). استفاده از تیمارهای مختلف در فرآیند کمپوست نمودن می‌تواند یکی از راه‌های جلوگیری از انتقال آن به خاک باشد. با توجه با افزایش مقاومت میکروبی، مقدار دوز مصرفی آنتی‌بیوتیک‌ها نیز به مرور زمان افزایش می‌یابد و غلظت آنتی‌بیوتیک دفع شده از مدفوع نیز افزایش می‌یابد. تاثیر سطح غلظت اولیه آنتی‌بیوتیک بر روند تجزیه آن به اندازه کافی مورد بررسی قرار نگرفته است و نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. هدف از این پژوهش تعیین تاثیر کمپوست کردن کود مرگی به روش هوازی و بی‌هوازی بر مقدار آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین موجود در کود مرگی در دو سطح غلظتی بالا و پایین و مقایسه آنها با یکدیگر می‌باشد.

روش بررسی

تهیه نمونه‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ انجام شد. ابتدا دو نمونه کود مرگی تازه از یک مرغداری گوشتی تهیه شد. در بخشی از مرغ‌ها سطح پایینی از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین در برنامه غذایی طیور استفاده شده بود. در بخش دیگر سطح بالایی از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین استفاده شده بود. نمونه کود مرگی به صورت تازه پس از اتمام دوره تیمار با آنتی‌بیوتیک از بستر مرغداری تهیه شده و به سرعت به آزمایشگاه منتقل شد. پس از آن غلظت آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین در نمونه‌های تهیه شده اندازه‌گیری شد. غلظت انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین در نمونه‌های تهیه شده از مرغ‌هایی که سطح بالای آنتی‌بیوتیک را دریافت کرده بودند به ترتیب ۲/۲۶ و ۳/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و غلظت آنها در نمونه‌های تهیه شده از مرغ‌هایی که سطح پایین آنتی‌بیوتیک را دریافت کرده بودند به ترتیب ۲۳/۴ و ۸۸/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. کود مرگی تهیه شده محتوی ۱۹/۷ کربن

تئوری و محاسبه نیمه عمر

پس از حصول داده‌های آزمایش، تحلیل نتایج با استفاده از آنالیز رگرسیون توسط نرم افزار Sigma Plot v 12 انجام یافت و برای این منظور معادله سنتیکی درجه اول (معادله ۱) به داده‌های حاصل برازش داده شد.

$$C_t = C_0 e^{-kt} \quad \text{معادله ۱}$$

که در آن C_t غلظت آنتی‌بیوتیک (میلی‌گرم بر کیلوگرم) در زمان t ، C_0 غلظت اولیه آنتی‌بیوتیک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)، k سرعت تجزیه آنتی‌بیوتیک (میلی‌گرم بر کیلوگرم کود در روز) و t نیز زمان (روز) می‌باشد (۱۶). با استفاده از داده‌های به دست آمده، نیمه عمر (DT_{50}) و زمان لازم برای تجزیه ۹۰ درصد آنتی-

بیوتیک (DT_{90}) با توجه به سرعت تجزیه (k) آن از طریق معادله‌های ۲ و ۳ محاسبه شد (۱۶).

$$DT_{50} = \ln(2)/k \quad \text{معادله ۲}$$

$$DT_{90} = \ln(10)/k \quad \text{معادله ۳}$$

یافته‌ها

برخی پارامترهای اندازه‌گیری انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین در عصاره‌های کود مرغی به روش HPLC در جدول ۱ دیده می‌شود. نتایج حاصل از دقت روزانه و بازیابی عصاره‌ها نشان داد که این روش برای اندازه‌گیری انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین مناسب می‌باشد.

جدول ۱- پارامترهای اعتبارسنجی روش اندازه‌گیری انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین. اعداد داخل پرانتز مقدار RSD بر حسب درصد می‌باشد.

Table 1- Validation parameters of enrofloxacin and ciprofloxacin measurement methods. The numbers in brackets are RSD values in percent.

سیپروفلوکساسین	انروفلوکساسین	پارامتر مورد بررسی
۰/۱۰	۰/۰۶۳	حد تشخیص پایین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱۰۴ (۵/۷)	۱۰۷ (۴/۴)	دقت حد تشخیص پایین با سه تکرار (در صد)
۰/۱۲-۱۵/۱	۰/۰۶۳-۱۴/۷	محدوده خطی بودن (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱۰۳/۲ (۵/۶)	۹۷/۳ (۶/۸)	دقت روزانه (غلظت ۲/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با ۳ تکرار (در صد)
۹۷/۲ (۵/۱)	۹۶/۹ (۷/۳)	دقت روزانه (غلظت ۸/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با ۳ تکرار (در صد)
۸۲/۸ (۶/۴)	۸۸/۴ (۳/۳)	بازیابی از عصاره (غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (در صد)
۸۹/۳ (۴/۷)	۹۱/۹ (۶/۵)	بازیابی از عصاره (غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (در صد)
۹۱/۲ (۴/۱)	۹۳/۳ (۸/۸)	بازیابی از عصاره (غلظت ۱۲/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (در صد)

همچنین در غلظت‌های بالا، تجزیه هر دو آنتی‌بیوتیک نسبت به غلظت پایین کمتر بود. غلظت سیپروفلوکساسین بین روزهای ۸ تا ۱۸ یک روند افزایشی نشان داد که به نظر می‌رسد به دلیل تجزیه انروفلوکساسین و تبدیل آن به سیپروفلوکساسین به عنوان یک

نتایج غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در نمونه‌های مورد استفاده در تیمارهای هوازی در جدول ۲ و در تیمارهای بی‌هوازی در جدول ۳ دیده می‌شود. بر اساس نتایج به دست آمده، در پایان آزمایش سیپروفلوکساسین بیشتر از انروفلوکساسین تجزیه شده بود.

انروفلوکساسین و تبدیل آن به سیپروفلوکساسین بین روزهای ۱۸ تا ۳۵ یک روند افزایشی نشان داد که در مقایسه با تیمار هوازی این روند دیرتر شروع شد.

متابولیت ثانویه باشد. در تیمارهای بی‌هوازی نیز تجزیه سیپروفلوکساسین بیشتر از انروفلوکساسین بود و مقدار تجزیه در غلظت‌های بالا کمتر از غلظت‌های پایین بود. غلظت سیپروفلوکساسین در تیمار بی‌هوازی به دلیل تجزیه

جدول ۲- غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها بر حسب درصد باقی‌مانده در نمونه‌های کود مرغی در تیمارهای هوازی در دو غلظت متفاوت

Table 2- The concentration of antibiotics in terms of percentage of residues in chicken manure samples in aerobic treatments at two different concentrations

غلظت بالا		غلظت پایین		روز
سیپروفلوکساسین %	انروفلوکساسین %	سیپروفلوکساسین %	انروفلوکساسین %	
۱۰۰ (۱/۲)	۱۰۰ (۰/۸)	۱۰۰ (۱/۴)	۱۰۰ (۱/۱)	۰
۹۴/۱ (۴/۱)	۹۳/۸ (۳/۶)	۹۷/۳ (۵/۹)	۹۸/۲ (۳/۴)	۱
۹۵/۱ (۶/۸)	۹۲/۱ (۵/۴)	۹۵/۴ (۳/۰)	۹۶/۳ (۴/۶)	۳
۹۴/۴ (۳/۲)	۹۱/۶ (۶/۵)	۹۳/۸ (۷/۵)	۹۳/۶ (۴/۸)	۵
۸۸/۳ (۴/۱)	۹۱/۱ (۷/۲)	۸۸/۸ (۵/۸)	۹۴/۰ (۳/۳)	۸
۹۳/۳ (۳/۴)	۹۰/۵ (۸/۳)	۹۴/۲ (۵/۹)	۸۷/۳ (۵/۱)	۱۲
۹۵/۲ (۵/۰)	۸۳/۲ (۶/۵)	۹۳/۳ (۴/۲)	۸۱/۷ (۷/۳)	۱۸
۸۸/۴ (۴/۹)	۸۰/۱ (۵/۸)	۸۴/۴ (۶/۵)	۷۹/۷ (۸/۲)	۲۵
۷۷/۲ (۵/۲)	۷۸/۸ (۶/۱)	۷۲/۱ (۳/۹)	۷۷/۳ (۴/۸)	۳۵
۶۵/۲ (۷/۰)	۷۵/۷ (۷/۸)	۵۱/۹ (۲/۱)	۷۶/۱ (۵/۳)	۴۵
۶۳/۳ (۵/۷)	۷۳/۲ (۳/۱)	۴۷/۴ (۴/۸)	۶۶/۳ (۴/۳)	۵۵
۵۹/۴ (۴/۱)	۷۰/۱ (۶/۸)	۴۳/۷ (۵/۵)	۶۱/۷ (۳/۵)	۶۵
۵۷/۸ (۵/۷)	۶۴/۳ (۵/۲)	۴۱/۰ (۴/۲)	۵۴/۲ (۳/۸)	۷۵

جدول ۳- غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها بر حسب درصد باقی‌مانده در نمونه‌های کود مرغی در تیمارهای بی‌هوازی در دو غلظت متفاوت

Table 3- The concentration of antibiotics in terms of percentage of residues in chicken manure samples in anaerobic treatments at two different concentrations

غلظت بالا		غلظت پایین		روز
سیپروفلوکساسین %	انروفلوکساسین %	سیپروفلوکساسین %	انروفلوکساسین %	
۱۰۰ (۱/۱)	۱۰۰ (۰/۹)	۱۰۰ (۰/۸)	۱۰۰ (۰/۶)	۰
۹۷/۳ (۶/۳)	۹۳/۳ (۳/۳)	۹۵/۲ (۵/۲)	۹۱/۲ (۵/۱)	۱
۹۳/۳ (۴/۱)	۹۰/۴ (۵/۹)	۸۳/۷ (۷/۰)	۸۱/۷ (۷/۲)	۳
۸۷/۵ (۳/۹)	۸۹/۷ (۶/۸)	۷۵/۷ (۵/۵)	۸۱/۵ (۵/۸)	۵
۷۶/۱ (۶/۱)	۸۰/۹ (۵/۱)	۷۴/۷ (۴/۷)	۸۰/۳ (۴/۳)	۸
۷۵/۵ (۵/۵)	۸۰/۸ (۴/۸)	۷۲/۰ (۲/۹)	۷۷/۴ (۷/۴)	۱۲
۷۶/۱ (۶/۲)	۷۸/۸ (۶/۷)	۷۲/۱ (۷/۱)	۷۶/۳ (۳/۶)	۱۸
۷۸/۳ (۷/۳)	۷۷/۰ (۵/۷)	۷۴/۶ (۶/۵)	۷۲/۵ (۲/۱)	۲۵
۷۸/۸ (۵/۷)	۷۵/۲ (۲/۵)	۷۶/۸ (۶/۸)	۷۰/۱ (۷/۸)	۳۵
۶۹/۴ (۴/۲)	۷۰/۱ (۱/۹)	۶۳/۴ (۳/۴)	۶۸/۸ (۴/۶)	۴۵
۶۵/۱ (۵/۲)	۶۹/۶ (۵/۹)	۶۴/۸ (۵/۱)	۶۸/۹ (۶/۸)	۵۵
۶۲/۳ (۶/۲)	۶۸/۸ (۷/۲)	۵۸/۱ (۵/۲)	۶۶/۰ (۵/۵)	۶۵
۶۱/۸ (۱/۸)	۶۹/۷ (۵/۶)	۵۷/۸ (۴/۱)	۶۵/۳ (۳/۰)	۷۵

داشت. نتایج برازش نیز نشان داد که سرعت تجزیه (k) در سیپروفلوکساسین بیشتر از انروفلوکساسین بود. نیمه‌عمر به دست آمده از داده‌های معادله سنتیکی درجه اول برای انروفلوکساسین بین ۹۶/۲۷ تا ۱۵۰/۶۸ روز به دست آمد. مقدار نیمه‌عمر برای سیپروفلوکساسین نیز بین ۵۷/۲۸ تا ۱۱۷/۴۸ روز به دست آمد. کمترین نیمه‌عمر تجزیه انروفلوکساسین در تیمار هوازی غلظت پایین و بیشترین نیز در تیمار بی‌هوازی غلظت بالا دیده شد.

برازش معادله سنتیکی درجه اول در شکل ۱ و ۲ دیده می‌شود. پارامترهای مرتبط با برازش داده‌های به دست آمده نیز در جدول ۴ و ۵ دیده می‌شود. ضریب همبستگی به دست آمده در تیمارهای هوازی (بیش از ۰/۹۲) نشان داد که داده‌های آزمایش به خوبی با این معادله برازش شده و پارامترهایی به دست آمده قابل مقایسه با یکدیگر می‌باشند. برازش این معادله با داده‌های تیمارهای بی‌هوازی همبستگی کمتری (بین ۰/۷۱ تا ۰/۸۵)

جدول ۴- پارامترهای معادله سنتیکی درجه اول برای تجزیه آنتی بیوتیک‌ها در شرایط هوازی

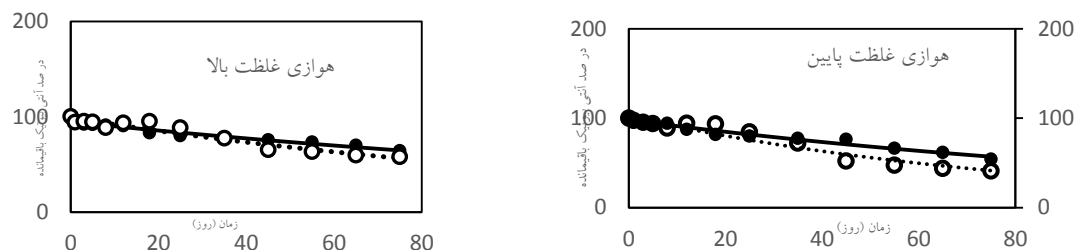
Table 4- Parameters of the simple first-order kinetic equation for the analysis of antibiotics under aerobic conditions

غلظت بالا		غلظت پایین		روز
سیپروفلوکساسین	انروفلوکساسین	سیپروفلوکساسین	انروفلوکساسین	
۰/۰۰۷۵	۰/۰۰۵۱	۰/۰۱۲۱	۰/۰۰۷۲	k
۹۸/۹۸	۹۴/۷۵	۱۰۲/۲۶	۹۷/۹۹	Co
۹۲/۴۲	۱۳۵/۹۱	۵۷/۲۸	۹۶/۲۷	DT50
۳۰۷/۰۱	۴۵۱/۴۸	۱۹۰/۳۰	۳۱۹/۸۰	DT90
۰/۹۲	۰/۹۵	۰/۹۳	۰/۹۷	R ²

جدول ۵- پارامترهای معادله سنتیکی درجه اول برای تجزیه آنتی بیوتیک‌ها در شرایط بی‌هوازی

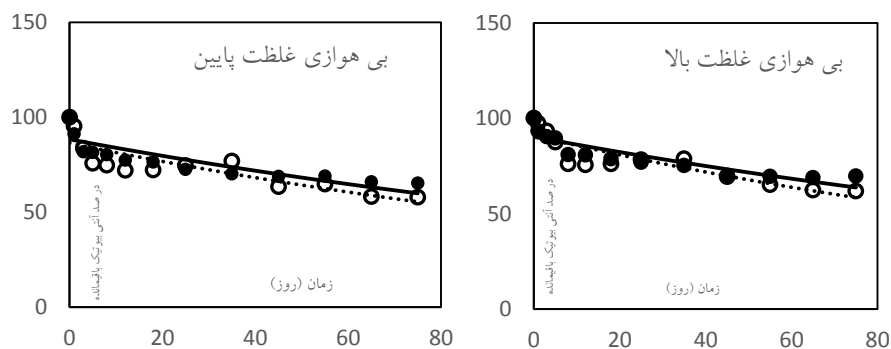
Table 5- Parameters of the simple first-order kinetic equation for the analysis of antibiotics under anaerobic conditions

غلظت بالا		غلظت پایین		روز
سیپروفلوکساسین	انروفلوکساسین	سیپروفلوکساسین	انروفلوکساسین	
۰/۰۰۵۹	۰/۰۰۴۶	۰/۰۰۵۹	۰/۰۰۵۲	k
۹۱/۰۱	۹۰/۳۲	۸۶/۳۴	۸۸/۳۳	Co
۱۱۷/۴۸	۱۵۰/۶۸	۱۱۷/۴۸	۱۳۳/۲۹	DT50
۳۹۰/۲۶	۵۰۰/۵۶	۳۹۰/۲۶	۴۴۲/۰	DT90
۰/۷۹	۰/۸۰	۰/۷۱	۰/۷۸	R ²



شکل ۱- سنتیکی تجزیه آنتی بیوتیک‌ها در شرایط هوازی و خط برازش شده با معادله درجه اول

Figure 1- Antibiotics degradation in aerobic conditions and fitted line with first order equation



شکل ۲- سنتیک تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها در شرایط بی‌هوازی و خط برازش شده با معادله سنتیکی درجه اول

Figure 2- Antibiotics degradation in anaerobic conditions and fitted line with first order equation

بحث و نتیجه‌گیری

۶۶۳ روز ماندن در پشته‌ها فقط ۲۷/۱ درصد از آن باقی مانده بود (۲۴). به نظر می‌رسد فرایند حذف آنتی‌بیوتیک‌ها از کود دامی در طی کمپوست شدن برابندی از مجموعه فرایندهای زیستی و غیرزیستی باشد. جذب سطحی و تشکیل کلات از فرایندهای غیرزیستی می‌باشد که در حذف آنتی‌بیوتیک‌ها نقش عمده‌ای دارند (۱، ۲۵). گفته می‌شود که در طی فرایند کمپوست شدن مکان‌های جذب سطحی بیشتری برای آنتی‌بیوتیک ایجاد می‌شود (۲۶) و در نتیجه غلظت‌های قابل عصاره‌گیری آنتی‌بیوتیک‌ها و متابولیت‌های آنها با گذشت زمان در فرایند کمپوست شدن کاهش می‌یابد (۲۰). در پژوهشی کاهش نرخ رشد مشابه کلروتتراسایکلین در کود گاوی استریل شده و غیراستریل نشان داد که حذف این آنتی‌بیوتیک بیشتر به فرایندهای وابسته به دما و غیرزنده بستگی داشته است (۲۰). بر خلاف این، سلنا و همکاران (۲۰۱۶) کود مرغی را در شرایط هوازی و بی‌هوازی در آزمایشگاه به مدت ۱۰ روز در دو حالت استریل و غیر استریل تجزیه نموده و گزارش کردند که در شرایط غیراستریل کمتر از ۴۵ درصد از انروفلوکسازین در کود باقی مانده بود اما در شرایط استریل بیش از ۸۰ درصد آن در کود باقی مانده بود و این نشان می‌دهد که حداقل در مورد انروفلوکسازین فرایندهای زیستی نقش عمده‌ای در تجزیه آن دارند (۱۳). همچنین گاولچین و کاتز

در مجموع نتایج نشان داد که فرایند کمپوست کردن در هر دو حالت هوازی و بی‌هوازی موجب کاهش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها شده است. در تعداد زیادی از پژوهش‌های پیشین نیز مشخص شده بود که کمپوست کردن موجب کاهش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در کود دام و طیور می‌شود (۲۱، ۲۰، ۱۹، ۱۳، ۱۱، ۱۰) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. نرخ تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها در طی زمان تجزیه به نوع آنتی‌بیوتیک، نوع کود دامی و شرایط تجزیه بستگی دارد. در یک پژوهش تجزیه انروفلوکسازین تولید شده با کربن ۱۴ در تیمار بی‌هوازی کود گاوی به مدت ۶۴ روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در پایان روز ۶۴ بین ۵۴ تا ۷۸ درصد از انروفلوکسازین کاهش یافت و فقط مقدار ناچیزی گاز کربنیک محتوی کربن ۱۴ ($^{14}\text{CO}_2$) تولید شده بود (۲۲). در پژوهش مشابه دیگری روند تجزیه کود گاوی به مدت ۲۱۰ روز طول کشید و در پایان فقط بین ۱۱ تا ۱۵ درصد از انروفلوکسازین در کود گاوی باقی مانده بود. (۲۳). در تحقیق دیگری انروفلوکسازین در یک مرغداری به مدت ۵ روز و با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورد استفاده قرار گرفت و در پایان، کود مرغی تولید شده به مدت ۶۳ روز به صورت پشته در فضای باز نگهداری شد. غلظت اولیه انروفلوکسازین و سیپروفلوکسازین در این کود به ترتیب ۲۲ و ۱/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود و پس از

هوازی (حداکثر ۶۹/۱ در صد) بیشتر از شرایط بی‌هوازی (حداکثر ۵۵/۱ در صد) بوده است. به طور کلی به نظر می‌رسد کمپوست کردن هوازی تاثیر بیشتری در حذف آنتی‌بیوتیک‌های کوئینولون نسبت به هضم بی‌هوازی داشته باشد. این ممکن است به دلیل فعالیت‌های زیستی موثر میکروارگانیسم‌ها و دمای محیط باشد. در شرایط هوازی در داخل توده در حال تجزیه، به دلیل فعالیت‌های زیستی و ایجاد شرایط ترموفیلی، نوسانات دمایی بالا بوده و طیف گسترده‌تری از میکروارگانیسم‌ها قادر به فعالیت هستند در حالی- که در شرایط بی‌هوازی نوسانات دمایی کمتر است. سارا و همکاران (۲۰۱۳) نقش دما و فعالیت زیستی را در حذف برخی داروهای دامی مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که دمای بیشتر موجب افزایش فعالیت زیستی و در نتیجه حذف بیشتر داروهای دامی شد (۳۳). میچل و همکاران (۲۰۱۵) نیز تجزیه برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در کود دامی را در دماهای مختلف بررسی نموده و گزارش کردند که تجزیه در دمای بالاتر بیشتر از دمای پایین بوده است (۳۴). یانگ و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند که سهم عمده‌ای (بین ۶۴/۷ تا ۹۲/۹ در صد) از کاهش فلوکوئینولون‌ها در کود مرغی به مرحله ترموفیلی تعلق داشت (۳۵). از طرف دیگر با توجه به این‌که تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر بر عهده قارچ‌ها می‌باشد و از آن‌جایی‌که قارچ‌های تجزیه کننده ترکیبات آلی اغلب هوازی می‌باشند، به نظر می‌رسد در شرایط هوازی این قارچ‌ها تاثیرگذاری بیشتری در تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها داشته باشند (۳۶).

در این پژوهش مشخص شد که نرخ تجزیه هر دو آنتی‌بیوتیک در غلظت اولیه بالا کمتر از نرخ آن در غلظت پایین می‌باشد. این در حالی است که پژوهش‌گران قبلی در این مورد نتایج متفاوتی را گزارش نموده‌اند. یانگ و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که در صد کاهش انروفلوکسازین در کود مرغی طی یک دوره ۴۲ روزه در غلظت‌های بالا (۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کمتر از مقدار آن در غلظت‌های پایین (۲ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود اگرچه این موضوع در پژوهش آنان در مورد سیپروفلوکسازین صادق

(۱۹۹۴) نشان دادند که ۴۴، ۸۸ و ۱۰۰ در صد از کلروتتراسایکلین موجود در مخلوط خاک و کود مرغی به ترتیب در دمای ۳۰، ۲۰ و ۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ روز در بستر باقی مانده و حذف نشدند (۲۷). نیمه‌عمر به دست آمده برای تجزیه انروفلوکسازین در این پژوهش قابل مقایسه با داده‌های سلنا و همکاران (۲۰۱۶) است که بین ۵۹/۱ تا ۱۹۰/۸ گزارش نمودند (۱۳). همچنین وتسزین و همکاران (۲۰۰۲) نیز نیمه‌عمر تجزیه انروفلوکسازین در کود گاوی در شرایط هوازی را ۸۴ روز به دست آوردند که به داده‌های این آزمایش نزدیک می‌باشد (۲۳). این پژوهش‌گران افزایش غلظت متابولیت‌های انروفلوکسازین مانند سیپروفلوکسازین را در حین تجزیه انروفلوکسازین نیز گزارش کردند (۲۳). با این وجود گالگلیانو و مک نامارا (۱۹۹۶) مقادیر نیمه‌عمر را برای تجزیه انروفلوکسازین (۱۴۲ تا ۴۶۸ روز) در کود گاوی بیشتر از مقادیر این پژوهش و پژوهش‌های مشابه به دست آوردند. در مقابل هو و همکاران (۲۰۱۳) نیمه‌عمر تجزیه انروفلوکسازین در کود مرغی مخلوط با علوفه را در شرایط هوازی در یک دوره ۴۰ روزه ۲/۸ روز به دست آوردند (۱۹). سلوام و همکاران (۲۰۱۲) نیز نیمه‌عمر تجزیه سیپروفلوکسازین در کود خاکی مخلوط با خاک اره را بین ۱۵/۸ تا ۲۰/۸ روز گزارش نمودند (۲۸). به نظر می‌رسد نیمه‌عمر کوتاه در پژوهش آنان به دلیل اضافه شدن یک منبع کربن آلی، افزایش دما و تسریع فعالیت میکروارگانیسم‌ها باشد. (۲۹). رانها و کولار (۲۰۱۱) گزارش نمودند که برخی سویه‌های قارچ‌های *Mucor* و *Rhizopus* که در سیستم گوارشی گاوها زندگی می‌کنند قادر هستند انروفلوکسازین را تجزیه کنند (۳۰). تجزیه بالای فلور کوئینولون‌ها توسط هر دو خانواده (تا ۷۸ در صد) توسط پژوهش‌گران گزارش شده است (۳۱، ۳۲).

به طور کلی در پژوهش حاضر، سرعت و مقدار کلی تجزیه آنتی-بیوتیک‌ها در شرایط هوازی بیشتر از شرایط بی‌هوازی بود. سلنا و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش نمودند که تجزیه انروفلوکسازین در کود مرغی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی در شرایط

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که کمپوست نمودن کود مرغی قبل از کاربرد آن در مزارع موجب کاهش غلظت آنتی-بیوتیک‌های انروفلوکسازین و سیپروفلوکسازین در کود شده و از ورود آن به خاک‌های کشاورزی و محیط زیست جلوگیری می‌کند. کمپوست کردن به روش هوازی تاثیر بیشتری در حذف آنتی-بیوتیک نسبت به هضم بی‌هوازی داشت. نتایج این پژوهش می‌تواند به ایجاد قوانین و مقررات مربوطه در نهادهای مرتبط، در جهت کاهش ورود آنتی‌بیوتیک‌های دام و طیور به محیط زیست کمک کند.

Reference

1. Aust, M.O., Godlinski, F., Travis, G.R., Hao, X., McAllister, T.A., Leinweber, P., Thiele-Bruhn, S., 2008. Distribution of sulfamethazine, chlortetracycline and tylosin in manure and soil of Canadian feedlots after subtherapeutic use in cattle. *Environmental Pollution*, 156(3), pp.1243-1251.
2. Kumar, K., Gupta, S.C., Chander, Y., Singh, A.K., 2005. Antibiotic use in agriculture and its impact on the terrestrial environment. *Advances in agronomy*, 87, pp.1-54.
3. Troughon, T., Lefebvre, S., 2016. A review of enrofloxacin for veterinary use. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 6(2), pp.40-58.
4. Thiele-Bruhn, S., 2003. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166(2), pp.145-167.
5. McKinney, C.W., Dungan, R.S., Moore, A., Leytem, A.B., 2018. Occurrence and abundance of antibiotic resistance genes

نمود (۳۵). بانو و همکاران (۲۰۰۹) تجزیه آنتی‌بیوتیک کلروتتراسایکلین را در کود مرغی در سه سطح غلظتی پایین (۵۳/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، متوسط (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و بالا (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) طی یک دوره کمپوستینگ ۴۲ روزه بررسی نموده و گزارش کردند که ۱۰۰ درصد از آنتی‌بیوتیک در سطح غلظتی پایین و بیش از ۹۴ درصد از سطوح غلظتی متوسط و بالا تجزیه شده بود. در تناقض با این نتایج، سلوام و همکاران (۲۰۱۲) سیپروفلوکسازین را در دو سطح غلظتی ۱ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به کود مرغی آغشته نموده و در پایان یک دوره ۵۶ روزه کمپوستینگ، گزارش نمودند که ۶۹ درصد از سطح غلظتی پایین و ۸۲ درصد از سطح غلظتی بالا از سیپروفلوکسازین تجزیه شده بود (۲۸). کیم و همکاران (۲۰۱۲) نیز سه آنتی‌بیوتیک کلروتتراسایکلین، سولفامتازین و تایلوزین را در سه سطح غلظتی ۲، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با کود خاکی مخلوط با خاک آره آغشته نموده و گزارش کردند که پس از یک دوره کمپوستینگ ۳۵ روزه در شرایط هوازی در آزمایشگاه و مزرعه غلظت همه آنها در همه سطوح غلظتی به کمتر از حد مجاز رسیده بود (۳۷). به نظر می‌رسد عوامل موثر بر تجزیه آنتی-بیوتیک‌ها در غلظت‌های متفاوت ناشناخته باشد. احتمالاً غلظت بالای این دو آنتی‌بیوتیک بر روی میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده تاثیر داشته است.

با توجه به نتایج این پژوهش، نرخ تجزیه سیپروفلوکسازین بیشتر از انروفلوکسازین بود. به نظر می‌رسد نوع ساختار مولکولی و رفتارهای شیمیایی این ترکیبات و همچنین شرایط محیطی بر نرخ تجزیه آنها موثر باشد. در پژوهشی یانگ و همکاران (۲۰۱۸) تجزیه پنج نوع فلوروکوئینولون را در کود مرغی با یکدیگر مقایسه کرده و گزارش نمودند که روند تجزیه در همه آنها تقریباً مشابه بود، اما نرخ تجزیه در آنها متفاوت بوده است. (۳۵). نرخ حذف آنتی‌بیوتیک‌ها از کودهای دام و طیور به ساختار مولکولی آنها، مقاومت دمایی و مقاومت به تجزیه زیستی در آنها بستگی دارد (۳۷، ۳۸).

12. Bao, Y., Zhou, Q., Guan, L., Wang, Y., 2009. Depletion of chlortetracycline during composting of aged and spiked manures. *Waste Management*, 29(4), pp.1416-1423.
13. Slana, M., Sollner-Dolenc, M., 2016. Enrofloxacin degradation in broiler chicken manure under various laboratory conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(5), pp.4422-4429.
14. Stone, J.J., Clay, S.A., Zhu, Z., Wong, K.L., Porath, L.R., Spellman, G.M., 2009. Effect of antimicrobial compounds tylosin and chlortetracycline during batch anaerobic swine manure digestion. *Water research*, 43(18), pp.4740-4750.
15. Selvam, A., Wong, J., 2017. Degradation of Antibiotics in Livestock Manure During Composting, In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. 2017, Elsevier. pp.267-299.
16. Boesten, J., Aden, K., Beigel, C., Beulke, S., Dust, M., Dyson, J., et al. 2005. Guidance document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration. The Final Report of the Work Group on Degradation Kinetics of FOCUS.Sanco/10058/2005, version 2.0 pp. 1-434.
17. Dolliver, H., Gupta, S., Noll, S., 2008. Antibiotic degradation during manure composting. *Journal of environmental quality*, 37(3), pp.1245-1253.
6. Migliore, L., Cozzolino, S., Fiori, M., 2003. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants. *Chemosphere*, 52(7), pp. 1233-1244.
7. Slana, M., Dolenc, M.S., 2013. Environmental risk assessment of antimicrobials applied in veterinary medicine—a field study and laboratory approach. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35(1), pp.131-141.
8. Slana, M., Pahor, V., Cvitkovič Maričič, L., Sollner-Dolenc, M., 2014. Excretion pattern of enrofloxacin after oral treatment of chicken broilers. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 37(6), pp.611-614.
9. Xu, W., Zhu, X., Wang, X., Deng, L., Zhang, G., 2006. Residues of enrofloxacin, furazolidone and their metabolites in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 254(1), pp.1-8.
10. Liu, H., Pu, C., Yu, X., Sun, Y., Chen, J., 2018. Removal of tetracyclines, sulfonamides, and quinolones by industrial-scale composting and anaerobic digestion processes. *Environmental Science and Pollution Research*, pp.1-10.
11. Slana, M., Žigon, D., Sollner-Dolenc, M., 2017. Enrofloxacin degradation in broiler chicken manure under field conditions and its residuals effects to the environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(15), pp.1-10.

- concentrations of fluoroquinolones and of ciprofloxacin-resistant Enterobacteriaceae in chicken feces and manure stored in a heap. *Journal of Environmental Quality*, 41(3), pp.754-763.
25. Chadwick, D.R., Chen, S., 2002. Manures, in *Agriculture, hydrology and water quality*, P.M. Haygarth and S.C. Jarris, Editors., CABI Publishing: Wallington, UK.
 26. Hartlieb, N., Ertunc, T., Schaeffer, A., Klein, W., 2003. Mineralization, metabolism and formation of non-extractable residues of ¹⁴C-labelled organic contaminants during pilot-scale composting of municipal biowaste. *Environmental Pollution*, 126(1), pp.83-91.
 27. Gavalchin, J., Katz, S.E., 1994. The persistence of fecal-borne antibiotics in soil. *Journal of AOAC International (USA)*, 77, pp.481-485.
 28. Selvam, A., Xu, D., Zhao, Z., Wong, J.W., 2012. Fate of tetracycline, sulfonamide and fluoroquinolone resistance genes and the changes in bacterial diversity during composting of swine manure. *Bioresource technology*, 126, pp.383-390.
 29. Su, J.Q., Wei, B., Ou-Yang, W.Y., Huang, F.Y., Zhao, Y., Xu, H.J., et al. 2015. Antibiotic resistome and its association with bacterial communities during sewage sludge composting. *Environmental science & technology*. 49(12), pp.7356-7363.
 18. Ramaswamy, J., Prasher, S.O., Patel, R.M., Hussain, S.A., Barrington, S.F., 2010. The effect of composting on the degradation of a veterinary pharmaceutical. *Bioresource Technology*, 101(7), pp.2294-2299.
 19. Ho, Y.B., Zakaria, M.P., Latif, P.A., Saari, N., 2013. Degradation of veterinary antibiotics and hormone during broiler manure composting. *Bioresource technology*, 131, pp.476-484.
 20. Arikan, O.A., Mulbry, W., Rice, C., 2009. Management of antibiotic residues from agricultural sources: use of composting to reduce chlortetracycline residues in beef manure from treated animals. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2-3), pp.483-489.
 21. Kim, K.R., Owens, G., Kwon, S.I., So, K.H., Lee, D.B., Ok, Y.S., 2011. Occurrence and environmental fate of veterinary antibiotics in the terrestrial environment. *Water, Air, & Soil Pollution*, 214(1-4), 163-174.
 22. Gagliano, G., McNamara, F., 1996. Environmental assessment for enrofloxacin BAYTRILÒ 3.23% concentrate antimicrobial solution. *Guidel. 21CFR Part 25*, pp.1-119.
 23. Wetzstein, H., Schneider, S., Karl, W., 2002. Kinetics of the biotransformation of enrofloxacin in aging cattle dung. in 102nd General Meeting of the American Society for Microbiology, Salt Lake City, UT.
 24. Moraru, R., Pourcher, A.M., Jadas-Hecart, A., Kempf, I., Ziebal, C., Kervarrec, M., et al. 2012. Changes in

- Antibiotic degradation during thermophilic composting. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(2), pp.13.
35. Yang, B., Meng, L., Xue, N., 2018. Removal of five fluoroquinolone antibiotics during broiler manure composting. *Environmental technology*, 39(3), pp.373-381.
36. Berg, B., McLaugherty, C., 2003. *Plant litter*. Springer.
37. Kim, K.R., Owens, G., Ok, Y., Park, W.K., Lee, D., Kwon, S.I., 2012. Decline in extractable antibiotics in manure-based composts during composting. *Waste Management*. 32(1), pp.110-116.
38. Prieto, A., Möder, M., Rodil, R., Adrian, L., Marco-Urrea, E., 2011. Degradation of the antibiotics norfloxacin and ciprofloxacin by a white-rot fungus and identification of degradation products. *Bioresource technology*, 102(23), pp.10987-10995.
30. Randhawa, G.K., Kullar, J.S., 2011. Bioremediation of pharmaceuticals, pesticides, and petrochemicals with gomeya/cow dung. *ISRN pharmacology*.
31. Martens, R., Wetzstein, H.G., Zadrazil, F., Capelari, M., Hoffmann, P., Schmeer, N., 1996. Degradation of the fluoroquinolone enrofloxacin by wood-rotting fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(11), pp.4206-4209.
32. Parshikov, I.A., Freeman, J.P., Lay, J.O., Beger, R.D., Williams, A.J., Sutherland, J.B., 2000. Microbiological transformation of enrofloxacin by the fungus *Mucor ramannianus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), pp.2664-2667.
33. Sara, P., Michele, P., Maurizio, C., Luca, C., Fabrizio, A., 2013. Effect of veterinary antibiotics on biogas and bi-methane production. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, pp.205-209.
34. Mitchell, S., Ullman, J., Bary, A., Cogger, C., Teel, A., Watts, R., 2015.