پتانسیل حذف و رشد مجدد باکتریهای شاخص آلودگی مدفوعی و سالمونلا در آبهای کدر تصفیه شده با استفاده از دانه گیاهی مورینگا اولیفرا

بیژن بینا

عضو هیأت علمی دانشکده بهداشت دانشگاه اصفهان

خلاصه:

امکان بالقوهٔ روشهای سنتی تصفیه آب چنانکه در کشورهای در حال توسعه از جمله سودان معمول است در حذف باکتریهای شاخص آلودگی مدفوعی و نیز سالمونلا مورد مطالعه قرار گرفت. این آزمایشات در درجه حرارت ۲۵C و با استفاده از سوسپانسیون تهیه شده از دانه گیاه وحشی مورینگا اولیفرا به عنوان منعقد کنندهٔ اصلی انجام گرفت. در این آزمایشات سعی شد که خواص فیزیکو شیمیایی آب و نیز روش عمل حتی‌الامکان مشابه با روشهای سنتی و مرسوم مناطق روستایی اطراف رود نیل باشد. حذف کدورت به مقدار ۹۰ تا ۸۰ درصد به موازات حذف باکتریها به میزان ۹۰ تا ۹۹/۹ درصد در خلال ۱ تا ۲ ساعت اول تصفیه آب مشاهده گردید. باکتریها در فرآیند تصفیه در رسوبات ته‌نشین شده و از بین نرفتند. بعد از ۲۴ ساعت رشد مجدد باکتریها ملاحظه گردید. البته رشد مجدد باکتریهایی نظیر کلستریدیوم پرفرژانس و فیکال استرپتوکوکی ملاحظه نگردید. بعضی از فاکتورهایی که در رشد باکتریها مؤثر می‌باشند مورد بحث قرار گرفت.

مقدمه:

در خلال بعضی از ماههای سال، بخصوص بین مرداد تا آبان ماه رود نیل خصوصاً در قسمت شمال خرطوم به علت بارندگی شدید به شدت کدر و آلوده می‌شود (Money & Hafez, 1974, Ramadan, 1972)

شدت کدورت گاهاً تا (FTU) ۴۰۰۰ گزارش شده است (Jahn & Elfadil, 1984).

زنان مناطق روستایی در جوار رودنیل که به دلایل مختلف مجبور به استفاده از آب این رودخانه جهت مصارف خانگی و آشامیدنی هستند قرنهاست که به روشهای سنتی نسبت به تصفیه این آب کدر مبادرت کرده‌اند. البته استفاده از روشهای سنتی تصفیه آب بیشتر مربوط به فصولی از سال است که کدورت رودخانه بالاست (Jahn, 1977) در این فصول به علت وجود ذرات کلوئیدی عمل تصفیه آب بدون استفاده از کواگولانت یا منعقد کننده غیر ممکن می‌باشد. استفاده از مواد منعقد کنندهٔ شیمیایی رایج در صنعت تصفیه آب مانند آلوم بدلائل اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی امکان پذیر نیست. در عوض اهالی این روستاها در تهیه و

به‌کارگیری مواد منعقد کنندهٔ طبیعی مانند قسمتهای مختلف گیاهان و نیز انواع خاصی از خاکها تبحر فراوان دارند. انواع و اقسام این مواد با ذکر مشخصات به طور کامل بحث گردیده است که علاقمندان می‌توانند به آن مراجعه نمایند (Jahn, 1977, 1981). یکی از معروفترین این منعقد کننده‌ها عصارهٔ دانه گیاهی بنام مورینگا اولیفرا(Moringa olifera) می‌باشد. مادهٔ اصلی انعقاد کنندگی این دانه مربوط به پلی پپتیدهای آن و نحوهٔ عمل انعقاد این ماده را شبیه به پلیمرهای کاتیونی گزارش کرده‌اند. (Barth ET.Al., 1982)

ضمناً گزارشات رسیده نشان می‌دهد که در روستاهایی که از این ماده به عنوان کواگولانت استفاده می‌کنند شیوع بیماریهای گوارشی بالنسبه از سایر نواحی کمتر است. لذا در این مقاله سعی شده است اثر کارایی این ماده را در حذف باکتریهای شاخص آلودگی مدفوعی و نیز سالمونلا به عنوان یک پاتوژن مورد ارزیابی قرار گیرد از آنجایی که مورینگا یک مادهٔ گیاهی بوده و می‌تواند به عنوان سوسترا توسط باکتریهایی باقیمانده مصرف گردد بنابراین اثرات این ماده در رشد مجدد باکتریها نیز ارزیابی خواهد شد.

مواد و روش کار:

قسمت اعظم بحث پیرامون تشریح مواد و روشها عیناً در مقاله قبلی اینجانب آمده است (بیژن بینا ۱۳۷۱).

در این جا تنها به ذکر مواد و یا روشهای اضافه شده در این قسمت تحقیق اکتفا می‌گردد.

کشت و شمارش فیکال استرپتوکوکی ۷۷۵ و سالمونلاتیفی موریوم به روش پلیت زدن به همان شیوهٔ کشت و شمارش E.Coli انجام شد.

آگار KF استرپتوکوکی (oxoid CM701) به عنوان محیط کشت انتخابی برای کشت S. faecalis انتخاب گردید. پلیتها به طور وارونه در درجه حرارت 0.5C+ 44.5 برای مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. کلنیهای قرمز رنگ به عنوان گروه D فیکال استرپتوکوکی شمارش گردید. تایید کلنیها به وسیله رنگ آمیزی گرام نیز توسط میکروسکوپ انجام گردید.

برای شمارش سالمونلا تیفی موریوم از محیط کشت آگار XLD به مشخصات (oxoid CM469) استفاده گردید. این پلیتها در درجه حرارت ۳۷+۰/۵C برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند. بعد از این مدت کلنیهای قرمز با مرکز سیاه رنگ شمارش گردید.

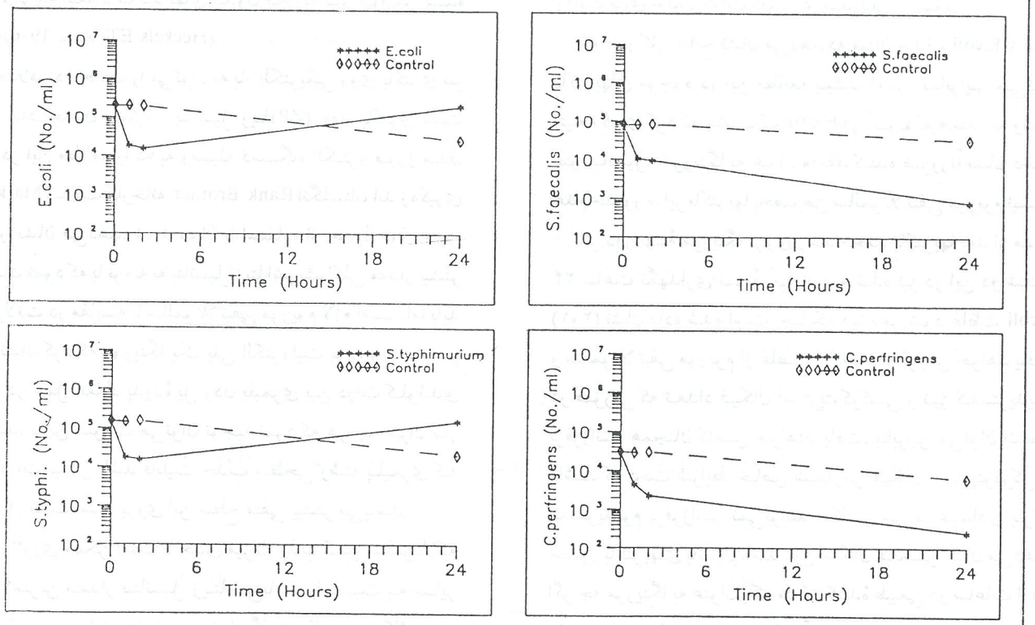
اثر دوز بهینهٔ مورینگا بروی حذف و رشد مجدد باکتریها در آب مصنوعی تهیه شده با غلظتهای مختلف کائولین به عنوان مدل سوسپانسیون بررسی گردید. باکتریهای اندیکاتور و سالمونلای پاتوژن با غلظت مشخص به آب اضافه شد. در هر آزمایش غلظتهای مختلف مورینگا به نمونه‌ها اضافه و بعد از اضافه کردن منعقدکننده مقدار کدورت و تعداد باکتریها در زمانهای مختلف تا ۲۴ ساعت شمارش گردید.

کلستریدیوم پرفرژانس بر روی آگار پرفرژانس (oxoid CM587) به همراه تکمیل کننده TSC (oxoid SR88) بدون استفاده از زردهٔ تخم مرغ کشت داده شد. کلستریدیوم کلنیهای سیاه رنگی به قطر ۴-۲ میلی متر روی این محیط ایجاد می‌کردند. پلیتها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۴ ـ ۱۸ ساعت در درون یک جار بی هوازی که حاوی یک بسته مادهٔ تولید کنندهٔ گاز H_2/CO_2 (oxoid BR38) و یک کاتالیست بود قرار داده شد.

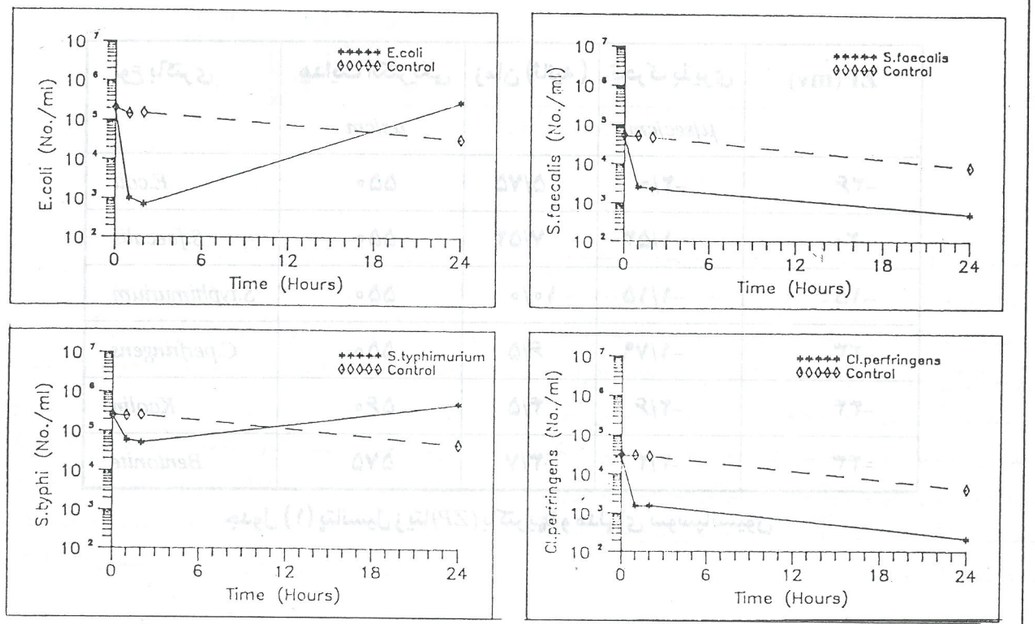
نتایج و بحث.

شکل شماره ۱ و ۲ اثر دوز بهینهٔ مورینگا را بروی حذف و رشد مجدد اشریشیاکلی، فیکال استرپتوکوکسی و کلستریدیوم پرفرژانس و نیز سالمونلا تیفی موریوم در کدورتهای NTU ۱۰۰ و NTU ۱۲۰۰ نشان می‌دهد. این شکلها عمل انعقاد با استفاده از مورینگا را بعد از مدت یک ساعت ته‌نشینی نشان داده است. همان طور که ملاحظه می‌گردد اختلاف زیادی در میزان حذف این باکتریها وجود دارد. اشریشیاکلی بیشتر از سایر باکتریها حذف می‌گردد. حداکثر حذف E.coli به میزان ۹۹/۵ درصد در خلال یک ساعت اول آزمایش حاصل گردید (شکل ۱). چنانکه ملاحظه می‌شود میزان حذف به غلظت کائولین (کدورت اولیهٔ آب) بستگی دارد که در این مورد قبلاً به طور کامل بحث شده است (بیژن بینا ۱۳۷۲). تنها متذکر می‌شود که میزان حذف با توجه به پدیدهٔ جذب سطحی با افزایش کدورت افزایش خواهد یافت. میزان حذف S.typhimurium کمتر از سایر باکتریهای تست شده در این تحقیق بود. میزان حذف حتی با استفاده از دوز mg/l ۴۰۰ مورینگا کمتر از ۹۰ درصد بود. علت این اختلاف در میزان حذف را می‌توان به اشکال مورفولوژی این چهار باکتری نسبت داد. به عنوان مثال اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم گرام منفی و متحرک با فلاژله‌های peritrichous می‌باشند. از طرفی فیکال استرپتوکوکسی و کلستریدیوم گرام مثبت می‌باشند و از نظر شکل ظاهری فیکال استرپتوکوکی از همه باکتریها کوچکتر و بدون

شکل شماره ۱ : اثر مورینگا اولیفرا (۲۰۰mg/L) در حذف و نیز رشد مجدد باکتریها در کدورت ۱۰۰NTU



شکل شماره ۲ : اثر مورینگا اولیفرا (۲۰۰mg/L) در حذف و نیز رشد مجدد باکتریها در کدورت ۱۲۰۰NTU



فلاژل ولی کلستریدیوم حاوی فلاژله می‌باشد. وجود فلاژله در جذب سطحی و عمل ته‌نشینی بخوبی شناخته شده است (Jones, 1978) گرچه انعقاد باکتریهای بدون فلاژله نیز گزارش شده است (Heckels ET. AL., 1976).

اختلاف در حذف را می‌توان به بار الکتریکی روی باکتری نیز نسبت داد. جدول شمارهٔ ۱ پتانسیل زیتا (ZP) چهار باکتری تست شده در این مطالعه را که به وسیله دستگاه الکترو فورز مدل Mark II ساخت کارخانه Rank Brother انگلستان اندازه‌گیری شده را نشان می‌دهد. شاید بتوان با استفاده از جدول فوق چنین برداشت نمود که با توجه به پتانسیل زیتا اشریشیاکلی مقدار بیشتر کواگولانت در مقایسه با سالمونلا تیفی موریوم لازم است. اما باید خاطرنشان کرد که مورینگا یک پلی الکترولیت بوده و مکانیسم اصلی در عمل انعقاد پدیدهٔ پل زدن پلیمری بین ذرات کلوئیدی می‌باشد. بدین صورت می‌توان توجیه نمود که هر چه میزان بار منفی ذرات بیشتر باشد قابلیت جذب سطحی رشته پلیمری که دارای بار مثبت است بروی این سطح منفی بیشتر می‌باشد.

این تئوری ممکن است تا حدی میزان جذب کمتر سالمونلا که دارای کمترین مقدار پتانسیل زیتا می‌باشد را نسبت به سایر باکتریها توجیه نماید. بنابراین می‌توان گفت رقابتی بین کائولین و باکتریها در جذب پلیمر وجود دارد و در این رقابت کلوئیدی موفق‌تر خواهد بود که بار مخالف بیشتری نسبت به پلیمر مورد نظر داشته باشد. ضمناً هر چه نقاط جذب پلیمری کمتر باشد این رقابت برای جذب ذرات کلوئیدی شدیدتر می‌شود.

به طور کلی نتایج نشان می‌دهد که میزان حذف E.coli از سایر باکتریهای موجود در این مطالعه بیشتر است. بنابراین می‌توان نتیجه گیری کرد که غلظت کم E.coli در آب تصفیه شده به وسیله سوسپانسیون مورینگا به عنوان منعقد کننده ضرورتاً نشان دهندهٔ عدم حضور سایر باکتریها بخصوص سالمونلا تیفی موریوم نیست.

اثر دوز بهینهٔ مورینگا بروی رشد مجدد باکتریها بعد از مدت ۲۴ ساعت نگهداری نمونهٔ آب تصفیه شده نیز در این دو شکل (۱و۲) نشان داده شده است. چنانکه دیده می‌شود غلظت E.coli و سالمونلا تیفی موریوم از غلظت اولیه خود افزایش خواهد یافت در صورتی که تعداد فیکال استرپتوکوکسی و نیز کلستریدیوم پرفرژانس همچنان کاهش خواهند یافت. بنابراین می‌توان انتظار داشت که تحت شرایط خاص شمارش فیکال استرپتوکوکی و کلستریدیوم پرفرژانس نمی‌توانند ایکاتور مورد اعتمادی برای حضور باکتریهای پاتوژن باشد. این اشکال همچنین نشان می‌دهند اگر چه مورینگا به عنوان یک منعقد کنندهٔ طبیعی در ساعات اولیه مؤثری باشد ولی در صورتی که آب تصفیه شده برای مدت ۲۴ ساعت نگهداری شود می‌تواند کاملاً خطرناک باشد. در این

نوع باکتری	هدایت الکتریکی $\mu s/cm$	زمان (ثانیه)	تحرک پذیری $\mu/sec/cm$	ZP(mv)
E.coli	۵۵۰	۵/۷۵	-۲/۰	-۲۶
S.faecalis	۵۵۰	۷/۵۴	-۱/۵۳	-۲۰
S.typhimurium	۵۵۰	۱۰/۰	-۱/۱۵	-۱۵
C.perfringens	۵۵۰	۶/۵	-۱/۷۹	-۲۳
Kaolin	۵۶۰	۴/۵	-۲/۶	-۳۴
Bentonite	۵۷۵	۳/۷	-۳/۳	-۴۳

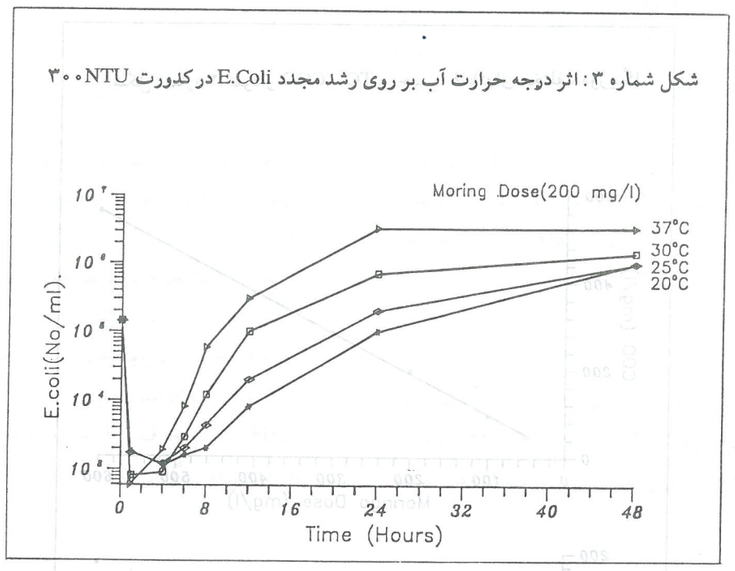
جدول (۱) پتانسیل زیتا (ZP) باکتریها و مدلهای سوسپانسیون

آزمایشات درجه حرارت آب در درجه حرارت محیط آزمایشگاه ۱+۲۰C بود.

طبق نظریهٔ اویسون و جیمز (۱۹۷۷) رشد مجدد کلیفرمها را در آبهای آلودهٔ مناطق گرمسیری زمانی که درجه حرارت از ۲۰ درجه سانتی گراد بیشتر می‌شود می‌بایست انتظار داشت. لذا در این قسمت مطالعه لازم بود اثر درجه حرارت آب بررسی رشد مجدد باکتریها بعد از عمل انعقاد با مورینگا بروی گردد. ضمناً سعی گردید رنج وسیعی از درجه حرارت را که احتمال دارد در آبهای سطحی مناطق گرمسیری اتفاق افتد را ایجاد نمود. به همین خاطر درجه حرارت آب در درجه حرارت ۲۰C و ۲۵C و ۳۰C و ۳۷C تنظیم گردید.

در شکل ۳ همچنین رشد مجدد E.coli را در درجه حرارتهای مختلف آب تصفیه شده توسط مورینگا را نشان می‌دهد. الگوی کلی رشد مجدد در تمام دماهای تست شده مشابه می‌باشد. اختلاف اصلی تنها در رشد سریع در زمان بین ۸ تا ۱۲ ساعت نمونه‌هایی است که دارای دمای ۳۰ و ۳۷ درجه سانتی گراد می‌باشند. اگر چه نمونه‌های آب ۳۰ و ۳۷ درجه سانتی گراد حداکثر حذف را در ساعات اول آزمایش داشتند ولی رشد مجدد باکتریها از همان ساعات اولیه آغاز گشته و بعد از مدت هشت ساعت تعداد باکتریها با تعداد باکتریهای آب تصفیه نشده برابر شده و پس از طی مدت زمان ۱۲ ساعت از تعداد اولیه خود بیشتر خواهند شد. لذا می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در آبهای گرم مناطق

شکل شماره ۳ : اثر درجه حرارت آب بر روی رشد مجدد E.Coli در کدورت ۳۰۰ NTU



شکل ۳ (۶۰۱۱) اثر درجه حرارت بروی خاصیت انعقادپذیری و نیز رشد مجدد باکتریها را بعد از عمل انعقاد نشان می‌دهد و همان گونه که در شکل مشخص است با افزایش درجه حرارت کارایی مورینگا در حذف کائولین و نیز E.coli افزایش می‌یابد. در آزمایشی که درجه حرارت آب ۵C سانتی گراد نگهداری شده بود ملاحظه گردید که مورینگا به عنوان یک منعقدکننده اصلی تقریباً بی اثر است. اثر درجه حرارت بروی خاصیت ویسکوزیته آب و نهایتاً عمل انعقاد روشن شده است (camp ET.AL., 1940).

گرمسیری استفاده از مورینگا در فصول گرم سال که درجه حرارت آب نسبتاً بالا می‌باشد می‌تواند خطرناک باشد.

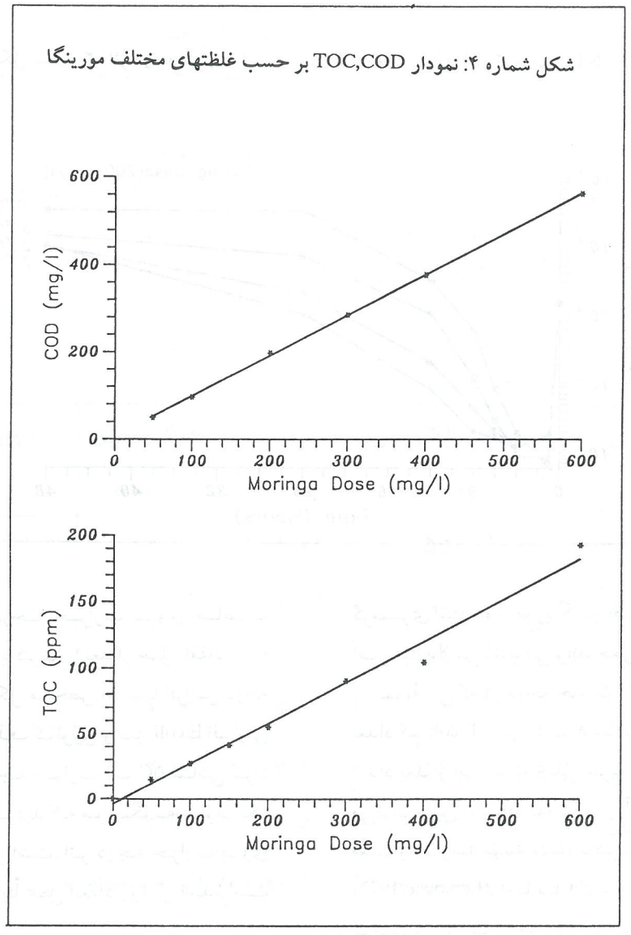
نمونهٔ آبی که در درجه حرارت ۲۰C ثابت نگهداشته شده بود تعداد کم E.coli را در مدت ۸ ساعت از خود نشان داد. افزایش تعداد بعد از این مدت خیلی سریع اتفاق افتاد. از این موضوع می‌توان چنین استنباط نمود که در آبی که دارای دمای بالا باشد مدت زمان رشد نهفته (lag) باکتریها بسیار کوتاه خواهد بود (Lemoyne/1972). اما باید توجه نمود که حتی در مناطق گرمسیری بندرت درجه حرارت آبهای سطحی از ۳۰C افزایش

خواهد یافت و بطور متوسط درجه حرارت آبهای سطحی کمتر از ۲۰C می‌باشد. همچنین گزارش شده است که معمولاً آبهای تصفیه شده توسط اهالی در همان ۸ ساعت اولیه مصرف شده لذا امکان رشد ثانویه باکتریها بعد از تصفیه با مورینگا بسیار کم است.

برای اینکه مشخص شود که چه مقدار مواد آلی در نتیجه استفاده از مورینگا به آب اضافه می‌گردد تست COD و TOC انجام گردید. شکل ۴ (6.6) نتایج آزمایشات COD و TOC را نسبت به مقادیر مختلف غلظت مورینگا نشان می‌دهد. اگر چه متذکر می‌شود که قسمت اعظم COD در خلال عمل انعقاد حذف می‌گردد. به عنوان مثال TOC حدود ۲۰mg/l بعد از یک ساعت از عمل انعقاد با دوز ۲۰۰mg/l مورنیگا بدست آمد.

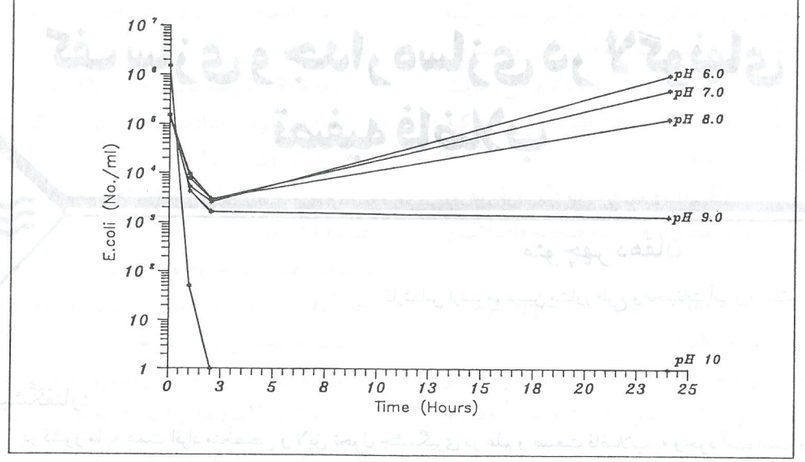
اثر PHهای مختلف در حذف و نیز رشد مجدد باکتریها در شکل شمارهٔ ۵ (6.12) نشان داده شده است. این تستها در آبی با کدورت ۳۰۰NTU با دوز بهینهٔ مورینگا یعنی ۲۰۰mg/l انجام گرفت. PH آب با اضافه نمودن محلول H_2So_4 O.IN و یا NaoH O.IN تنظیم گردید. PH آب بدین طریق بین ۶ تا ۱۰ ثابت گردید غیر از آبی با PH ۹ و ۱۰ رشد مجدد بعد از ۲۴ در ساعت سایر نمونه‌ها اتفاق افتاد. در PH برابر با ۹ تعداد باکتریها ثابت باقی ماند که این نشان دهندهٔ شرایط نامساعد برای رشد آنها در این PH می‌باشد. نتایج حاصل در PH برابر با ۱۰ حذف کامل E.coli راحتا بعد از ۲ ساعت نشان می‌دهد. از نتایج این قسمت مطالعه می‌توان چنین برداشت نمود که تغییرات PH که به طور معمول در آبهای

شکل شماره ۴: نمودار TOC,COD بر حسب غلظتهای مختلف مورینگا



شکل شماره ۵ :

اثر pH برای کواگولاسیون و رشد مجدد E.Coli ، ۲۰۰mg/L مورینگا درکدورت ۳۰۰NTU



سطحی اتفاق می‌افتد تأثیر چندانی در عمل حذف باکتریها در خلال فرآیند انعقاد توسط مورینگا ایجاد نخواهد نمود. همچنین نتایج نشان می‌دهد که در PH بین ۸ ـ ۶ حداکثر رشد مجدد باکتریها بعد از ۲۴ ساعت را می‌توان انتظار داشت.

نتیجه گیری

ـ حذف بیش از ۹۹ درصد از باکتریها در خلال ۱ تا ۲ ساعت اول عمل انعقاد حاصل گردید. اگر چه در خلال ۲۴ ساعت نگهداری آب تصفیه شده با مورینگا رشد مجدد باکتریها اتفاق افتاد.

ـ رشد مجدد باکتریها تنها در مورد E.coli و سالمونلا تیفی موریوم دیده شد و در مورد S.faecalis و C.Perfeingens مشاهده نگردید.

ـ علت رشد مجدد باکتریها حل قسمتی از مواد آلی مورینگا در آب و تشکیل سوبسترا برای باکتریها می‌باشد

ـ رشد مجدد باکتریها تحت تأثیر درجه حرارت آب بوده و با افزایش دمای آب افزایش خواهد یافت

ـ PH آب در حذف و یا رشد مجدد باکتریها در خلال فرآیند انعقاد آب با مورینگا بی اثر است.

References

1- Barth, V.H., Habs, M., Klute, R., Muller, S. & Tauscher, B. Trinkwasseraufbereitung mit Samen von Moringa Oleifera Lam. *Chemiker - Zeitung, 106(2), 75-78 (1982).*

2- Camp, T. R. and Stein, P. C. Velocity Gradient and Internal Work in Fluid Motion., *J. Boston Soc. Civ. Engrs. 30, 219-224 (1943).*

3- Evison, L. M. & James, A. "Microbiological Criteria for Tropical Water Quality." *Water, Wastes and Health in Hot Climates.* (ed. Feachem, R., McGarry, M. & Mara, D.) pp 30-51. John Wiley & Sons, Chichester (1977).

4- Heckels, J. E., Blackett, B., Everson, S. J. and Ward, M. E. The Influence of Surface Charges on the Attachment of Neisseria Gonorhoeae to Human Cells. *J. of. General Microbiology, 36, 359-364 (1976).*

5- Jahn, S. A. A. & El Fadil, E. O. Water Quality Fluctuations in the Blue and White Nile and Green-belt Irrigation Canal South of Khartoum. *Water Quality Bulletin 9,* 149-155 (1984).

6- Jahn, S. A. A. *Traditional Water Purification in Tropical Developing Countries.* Publ. 117 GTZ (1981).

7- Jahn, S. A. A. African Plants Used for the Improvement of Drinking Water. *(Curare 2*(3) 183-199 (1977).

8- Jones, G. W. The Attachment of Bacteria to the Surfaces of Animal Cells. *Microbial Interactions,* (ed. Reissig, J. L.) Chapman Hall, London (1978).

9- Lemoyne, R. *The Effect of Environmeental Factors on the Growth and Death of Intestinal Bacteria.* M.Sc. Thesis, University of Newcastle Upon Tyne (1972).

10- Ramadan, E. F., Characterization of Nile Waters Prior to the High Dam. *Wasser und Abwasser Forschung 1,* 21-24 (1972).

بیژن بینا (۱۳۷۱)، استفاده از گیاه وحشی مورینگااولیفرا در حذف کدورت و E.Coli در آبهای بسیارکدر. نشریه آب و فاضلاب شماره ۹، ص ۱۱