غیر فعالسازی شاخصهای باکتریایی و ویروسی در پسابهای ثانویهٔ فاضلاب با استفاده از کلر و ازن *

ترجمه: حسن تیموری *

چکیده

در این مقاله غیر فعالسازی جمعیتهای بومی کلیفرمها، انتروکوکها، کلستریدیوم پرفرنژنس و دوگونه باکتریوفاژ[1] در پسابهای ثانویهٔ فاضلاب به وسیلهٔ دو عامل گندزدای کلر و ازن با هم مقایسه شده‌اند. شاخص کلیفرم مدفوعی به دلیل اعتبارش نسبت به تأثیرپذیری شاخصهای ویروسی به گندزدایی باکلر و ازن در پسابهای آلوده به فاضلاب مورد بررسی قرار گرفته است. نمونه‌های پساب از چندین سیستم تصفیهٔ فاضلاب در شرایط اقلیمی متفاوت که نمایانگر محدودهٔ وسیعی از کیفیت است، جمع‌آوری شدند. در پساب کلرینه شده بیش از ۱۰۰ برابر کاهش تعداد کلیفرم مدفوعی و انتروکوکها مشاهده شد در حالیکه کاهش میزان دوگروه باکتریوفاژ عموماً کمتر از ۱۰ برابر بود. در مقابل، نتیجهٔ گندزدایی به وسیلهٔ ازن در غیرفعالسازی ویروسهای باکتریوفاژ کاهش بیش از ۱۰۰ برابر را نشان داد. پسابهای ازن زنی شده کاهش کمتر (۳۰ برابر) دو نوع باکتری شاخص مذکور را نشان دادند. کلستریدیوم پرفرنژنس در برابر غیر فعالسازی توسط این دو نوع گندزدا نسبتاً غیر حساس است و با افزایش زمان تماس، جمعیت این باکتری شاخص ثابت بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که شاخص کلیفرم مدفوعی برای پیش‌بینی چگونگی تأثیر ویروسها از گندزدایی به وسیلهٔ کلر یا ازن مناسب نیست. در گندزدایی با ازن برای تشخیص حساسیت کلیفرمهای مدفوعی و انتروکوکها، زمان تماس و غلظت باقیماندهٔ آن در آزمایشهای نهایی به میزان قابل توجهی افزایش داده شد. به هر حال، افزایش این عوامل به تنهایی و یا با هم، سرعت کاهش جمعیت باکتریهای رویشی را افزایش نمی‌دهد.

مقدمه

گندزدایی فاضلاب یکی از سلاحهای اولیه بهداشت عمومی است که برای به حداقل رسانیدن بیماریهای عفونی که به وسیلهٔ آب و صدفها[2] منتقل می‌شوند به کار گرفته می‌شود. اطلاعات اپیدمیولوژیکی جدید نشان می‌دهد که ممکن است روش گندزدایی فعلی دارای نقاط ضعف جدی باشد. به نظر می‌رسد کلر که از لحاظ تاریخی سهم اصلی در گندزدایی دارد

---

* دانشجوی کارشناسی بهداشت محیط دانشگاه اصفهان

1- Somatic coliphage و Male - Specific Bacteriophage

2- Shellfish

در شکل ترکیبی خود در حذف ویروسهای بیماریزای پساب فاضلابها تقریباً بی‌تأثیر است. بنابراین عوامل بیماریزای روده‌ای که به طور معمول در خورها[1] تخلیه می‌شوند منجر به مشکلات بهداشت عمومی از یک گاسترو انتریت ویروسی ضعیف تا هپاتیت A می‌گردد. در طول دهۀ گذشته داده‌های اپیدمیولوژیکی افزایش قابل توجهی در افزایش ناگهانی میزان بیماریهای ویروسی روده‌ای که از طریق آبهایی که جهت مصارف تفریحی و پرورش صدفها منتقل می‌شوند، داشته است. این افزایش، لااقل تا اندازه‌ای نتیجۀ کلرزنی نامناسب توسط بیشتر سیستمهای تصفیۀ فاضلاب ایالات متحده برای غیرفعالسازی مؤثر بسیاری از عوامل ویروسی از قبیل هپاتیت A و ویروسهای نواک[2] می‌باشد.

علاوه بر اینکه مسائل بهداشت عمومی با بیماریهای عفونی در ارتباطند، در حین فرایندهای گندزدایی، کلر با دیگر مواد ترکیب شده و محصولات جانبی سمی را تشکیل می‌دهد که تعدادی از این محصولات جانبی جهش‌زا[3] و یا سرطانزا هستند. این محصولات در محیطهای آبی رها شده و حیات آبزیان و سلامت حیات را تهدید می‌نمایند. در ایالات متحده برای آبهایی که جنبه تفریحی داشته حداکثر تخلیه روزانه کل کلر باقیمانده کمتر از ۲ppm است. به هر حال، اخیراً ارائه معیارهای دقیق سازمانهای دولتی در ایالات متحده در خصوص تخلیه فاضلابها، تصفیه‌خانه‌های فاضلاب این کشور را به استفاده از گندزداهای جایگزین، برای بررسی مجدد روشهای گندزدایی آنها مجبور ساخته است. یکی از روشهای رسیدن به مقدار کمتر کلر تخلیه شده، کلرزدایی پساب نهایی است. البته این روش هزینه‌های راهبری را افزایش می‌دهد. به علاوه، فرایند کلرزدایی نیاز به افزایش مواد شیمیایی دیگر از قبیل سولفات بیسموت به پساب دارد که خود مشکل موجود آلودگی خورها با مواد شیمیایی خارجی را تشدید می‌نماید.

به دلیل نگرانیهای بهداشت عمومی، سمیت کلرزنی و محدودیت بیشتر معیارهای تخلیه، عوامل گندزدایی جایگزین شونده از قبیل ازن، اشعه ماوراء بنفش، پراکسید هیدروژن و دی‌اکسید کلر برای گندزدایی پسابهای فاضلاب پیشنهاد شده‌اند. از گروه فوق، به نظر می‌رسد ازن مؤثرترین گندزدا باشد به دلیل آنکه کمترین مقدار محصولات جانبی سمی را تولید می‌کند. ازن زنی ممکن است به چندین دلیل جایگزین مؤثر و قابل اعتمادی برای کلرزنی باشد. تجزیه ازن در محلول آبی سریعتر از کلر صورت می‌گیرد و ممکن است ازن زنی نسبت به فرایند کلرزنی ترکیبات جانبی سمی معمول را ایجاد نکند، اگرچه محصولات جانبی فاضلابهای گندزدایی شده با ازن و اثرات آنها بر روی محیط آبی به خوبی قابل استناد نیست. با این حال، تعدادی از مواد شیمیایی سمی، جهش‌زا یا سرطانزا شامل بی‌فنیل‌های چندکلره و هیدروکربنهای چند حلقه‌ای پس از ازن زنی آسانتر تحت عمل تجزیه بیولوژیکی قرار می‌گیرند. به علاوه چنین به نظر می‌رسد که ازن یک عامل اکسیدکننده قوی بوده و عوامل بیماریزای ویروسی و باکتریایی را سریعتر و بیشتر غیرفعال می‌سازد.

اکثر مطالعات انجام شده در ارتباط با گندزدایی به وسیله ازن در محیط مصنوعی و با تلقیح باکتریهای خالص، ویروسهای روده‌ای و یا شاخص‌های میکروبی در بافر فسفات انجام شده است. نتایج این مطالعات کاهش ۶-۳ لگاریتم تعداد کلیفرمهای مدفوعی و ویروسهای روده‌ای را در مدت چند ثانیه پس از گندزدایی نشان می‌دهد. ولی مؤثر بودن ازن نسبت به کلر در کاهش کلیفرمهای مدفوعی و ویروسهای شاخص تحت شرایط واقعی به وضوح قابل استناد نیست. این مطالعه میزان کاهش باکتریهای بومی و شاخصهای ویروسی پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری را در حضور گندزداهای ازن و کلر در غلظتهای کاربردی عملی بررسی می‌نماید.

مواد و روشها

تصفیه‌خانه‌های فاضلاب:

در این مطالعه از چهار تصفیه‌خانۀ فاضلاب در ایالت رود آیلند[4] نمونه‌برداری شده است. تمام تصفیه‌خانه‌های مذکور با سیستم تصفیۀ ثانویه، شامل: آشغالگیری، شن‌گیری، ته‌نشینی اولیه، تصفیۀ بیولوژیکی، ته‌نشینی ثانویه و کلرزنی عمل می‌نمایند. لجن فعال به عنوان تصفیۀ بیولوژیکی در سه

1- Estuaries
2- Norwalk
3- Mutagenic
4- Rhode Island

تصفیه‌خانه بلاک استون[1]، ایست پراویدنس[2] و ناراگانست‌بی[3] به کار می‌رود. در چهارمین تصفیه‌خانه به نام ایست گرینویچ[4]، تماس دهنده‌های بیولوژیکی دوار[5] (RBC) تصفیۀ بیولوژیکی را انجام می‌دهند. تصفیه‌خانه‌های بلاک استون و ناراگانست‌بی بزرگتر بوده و برای فاضلابهایی با جریان حداکثر ۲۶۴ و ۱۱۷هزار مترمکعب در روز برای آب و هوای خشک طراحی شده‌اند. تصفیه‌خانه‌های ایست پراویدنس و ایست گرینویچ کوچکتر بوده و به ترتیب برای جریانهای ۳۹ و ۵هزار مترمکعب در روز تحت شرایط آب و هوای خشک طراحی شده‌اند. متوسط جریان برای این تصفیه‌خانه‌ها در حین مطالعه به این صورت می‌باشد: $BVDC = 1m^3/sec$، $NBC = ۲/۳m^3/sec$، $EP = ۰/۲m^3/sec$ و $EG=۰/۰۳m^3/sec$.

جمع‌آوری نمونه:

برای هر آزمایش گندزدایی تقریباً ۱۶ لیتر نمونه از پساب ثانویه در یک ظرف غیر استریل پلی‌اتیلنی ۲۰ لیتری جمع‌آوری می‌گردید. در مواقع غیر بارندگی، از زلالسازهای ثانویه در دو زمان جداگانه برای هر آزمایش در تصفیه‌خانه‌های بلاک استون، ناراگانست‌بی، ایست گرینویچ و ایست پراویدنس نمونه‌برداری انجام شده است.

نمونه‌های دیگری از پسابهای ثانویه در فرصتهای مختلف از تصفیه‌خانه‌های بلاک استون و ناراگانست‌بی در حین بارندگی (با بیش از ۱۳میلی‌متر بارندگی ۲۴ساعته) جمع‌آوری شده‌اند. در جریان هر آزمایش تمام پسابها در دمای اتاق در ظرف نمونه‌گیری اصلی به مدت ۱۲ ساعت نگهداری شده و آزمایشها عموماً ۶ ساعت پس از نمونه‌گیری انجام می‌شدند.

آنالیزهای فیزیکی و شیمیایی:

هر یک از پسابها به منظور تعیین پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آنالیز شدند: اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD)، pH، دما، نیترات و کل جامدات معلق (TSS)، COD، pH، TSS و دما همگی بر اساس کتاب روشهای استاندارد تعیین شده‌اند. مقادیر نیترات بر اساس روش رنگ سنجی احیاء کادمیوم با استفاده از یک کیت آزمایش نیترات هاک[6] اندازه‌گیری شده است. تمام پارامترهای فیزیکی و شیمیایی ۳ ساعت پس از جمع‌آوری پسابها اندازه‌گیری شده‌اند.

آزمایشات گندزدایی:

عمل کلرزنی و ازن‌زنی به طور همزمان بر روی پساب هر کدام از تصفیه‌خانه‌ها انجام شده است. آزمایشات برای گندزدایی کلر و ازن در $20^\circ C$ در ظروف بیوراکتور پر و خالی شونده[7] حاوی ۲ لیتر پساب ثانویه که به طور مداوم به وسیلۀ یک همزن مغناطیسی با سرعت کمی بهمزده می‌شد انجام شده‌اند. پس از گذشت زمان تماس برای حذف مقدار ازن و کلر باقیمانده به پساب گندزدایی شده تیوسولفات سدیم اضافه می‌گردید [نسبت وزن به حجم ۰/۱ درصد، غلظت نهایی].

روش کلرزنی:

گندزدایی کلر با اضافه کردن مقادیر متفاوت محلول خالص هیپوکلریت سدیم (۰/۵۳٪) به ۲ لیتر از پساب ثانویه برای ایجاد کل کلر باقیماندۀ نهایی کمتر از ۲ppm انجام گرفته است. پسابهای گندزدایی شده در زمانهای ۱، ۲، ۵ و ۱۵ دقیقه جمع‌آوری و با روش DPD در کیت آزمایش کلر آزاد و کل کلر هاک آنالیز شده‌اند. کل زمان تماس پس از کلرزنی ۱۵ دقیقه بود.

زیر نمونه‌های[8] پساب گندزدایی شده عموماً برای آنالیزهای میکروبی در دقایق ۲، ۵ و ۱۵ جمع‌آوری شده‌اند. این زمانهای تماس و غلظتهای کلر به دو منظور انتخاب شده‌اند؛ اولاً بر اساس توصیه سازمان حفاظت محیط‌زیست آمریکا، ۱۵ دقیقه حداقل زمان تماس مورد نیاز برای فرایند کلرزنی می‌باشد و ثانیاً حداکثر مجاز کل کلر باقیمانده در پسابها که توسط سازمان حفاظت محیط‌زیست آمریکا ۲ppm تعیین شده است.

روش ازن زنی: ازن از اکسیژن داده شده به ژنراتور

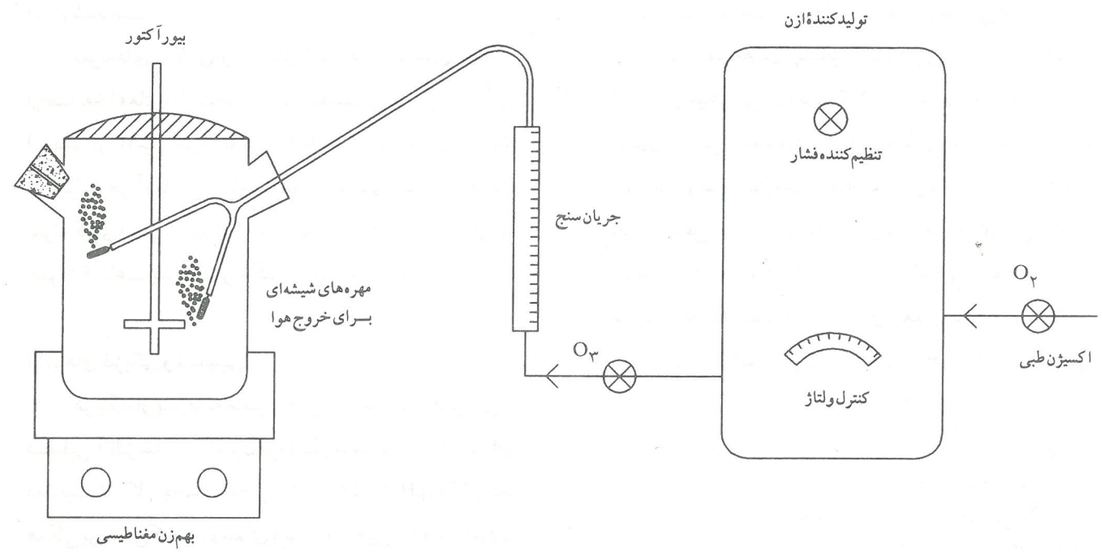
1- Blackstone Valley District Commission (BVDC)
2- East Providence (EP)
3- Narragansett Bay Commission (NBC)
4- East Greenwich (EG)
5- Rotating Biological Contactor (RBC)
6- Hach Nitrate Test Kit
7- Batch Bioreactor
8- Subsamples

تی - ۴۰۸ ولزباخ[1] تولید می‌شد (شکل ۱). این ژنراتور با استفاده از اکسیژن خالص و خشک (نقطه انجماد C° ۵۱-) به عنوان گاز مصرفی در هر ساعت حداقل ۸گرم ازن تولید می‌کرد. اکسیژن طبی برای تمامی آزمایشات به عنوان گاز مصرفی استفاده می‌شد. جهت به حداقل رساندن اتلاف ازن در مسیر ژنراتور تا ظرف بیورآکتور از لوله‌های تفلون استفاده می‌شد. همچنین در پوش بیورآکتور نیز از لایه تفلون پوشیده شده بود. گاز ازن به شکل حباب از میان دو مهره شیشه‌ای ریز که تقریباً در ته هر ظرف حاوی پساب ثانویه تعبیه شده بود، برای مدت تقریباً ۲دقیقه (بسته به کیفیت پساب) خارج می‌شد تا ازن باقیمانده به حد ppm۰/۴۵-۰/۲ برسد.

برای دستیابی به غلظت مورد نظر ppm۰/۴۵-۰/۲ ازن، در پسابهایی با کیفیت متفاوت، ولتاژ ژنراتور برای تولید نسبت مورد نیاز ازن به اکسیژن تنظیم شده و همچنین جریان توسط روتامتر گیلمونت[2] اندازه گیری می‌شد که در ml/min ۲۶۰ ثابت نگه داشته شده بود. هنگامی که به میزان ازن باقیماندهٔ مورد نظر در مدت ۲ دقیقه می‌رسیدیم، ازن زنی قطع می‌شد.

ازن باقیماندهٔ پساب به طور دوره‌ای پایش می‌شد. پساب گندزدایی در دقایق ۱، ۱/۵، ۲، ۴، ۶، ۱۰ و ۱۵ جمع آوری شده و برای اندازه گیری ازن باقیمانده به روش رنگ سنجی ایندیگو[3] آنالیز می‌شدند. تمام نمونه‌ها برای به حداقل رساندن ذرات تداخل کننده با آنالیزهای اسپکتروفتومتری به مدت ۴ دقیقه سانتریفوژ (g×۴۴۰) شدند. برای خواندن میزان جذب از سلولهایی با قطر ۴۰ میلیمتر استفاده شد. به دلیل اکسیداسیون پساب حین ازن زنی رنگ زرد یا تیره ذاتی فاضلاب ثانویه تغییر یافته و یا ناپدید می‌شد. یک نمونهٔ دیگر جمع آوری شده در فواصل زمانی معین به عنوان شاهد[4] حین آنالیز طیف‌سنجی پسابها استفاده می‌شد.

1- Welsbach Corp. Philadelphia, و Pa.
2- Gilmont Instruments, Inc.
3- Indigo
4- Blank



شکل ۱- طرح شماتیک دستگاه گندزدایی ازن

همزمان با اندازه گیری ازن باقیمانده، نمونه‌برداری برای آنالیز میکروبی نیز صورت می‌گرفت. زیر نمونه‌های گندزدایی شدهٔ پساب در فواصل ۱، ۲، ۶ و ۱۰ دقیقه جمع آوری می‌شدند.

نمونه‌هایی با افزایش زمان تماس به ۱۰ دقیقه در حضور ازن باقیمانده تحت آزمایش قرار گرفتند تا میزان غیرفعالسازی شاخصهای باکتریایی رویشی مطالعه شود. این آزمایشات اضافی به دلیل اینکه باکتریهای رویشی یافت شده در نمونه‌های اولیه نسبت به تحریکات سادهٔ ازن نسبتاً مقاوم بودند، صورت گرفت. پسابهای ثانویه با کیفیت مشابه از تصفیه‌خانهٔ ایست‌گرینویچ در دو زمان متفاوت جمع آوری شدند. نمونه‌های دوتایی گندزدایی برای مقایسهٔ اثرات مداوم ازن با تحریک سادهٔ ازن آزمایش شدند. مقدار غلظت ازن در دو مورد از آزمایشات بیشتر از نمونه‌های انجام شده در آزمایشات قبلی بود (محدودهٔ ppm ۱/۱-۰/۴۵). برای این نمونه‌ها، پساب گندزدایی شده در زمانهای ۲/۷۵، ۳ و ۸ دقیقه جمع آوری و برای تعیین ازن باقیمانده آنالیز شدند. زیر نمونه‌های پساب گندزدایی شده برای آنالیز میکروبی در زمانهای ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۰ دقیقه جمع آوری گردیدند.

آنالیزهای میکروبی:

تحت شرایط طبیعی زیر نمونه‌های پساب گندزدایی شده وگندزدایی نشده (t=o) در مجاورت یخ به مدت ۶ ساعت قبل از آنالیزهای میکروبی نگهداری می‌شدند. تعداد شاخصهای باکتریایی در پسابهای کلرینه و یا ازن زنی شده با استفاده از روشهای صافی غشایی افتراقی و انتخابی و اختصاصی تعیین می‌شد. تعداد کلیفرمهای مدفوعی با روش mTEC، دافور و همکاران (۱۹۸۱) تعیین می‌گردید. برای تعیین دانسیتهٔ انتروکوکها از روش اصلاح شدهٔ صافی غشایی ۲۴ ساعته با افزودن اندوکسیل D-βگلوکوزید استفاده شده است. اسپورهای کلستریدیوم پرفرنژنس با استفاده از روش mCp بیسون وکابلی (۱۹۷۹) شناسایی شده‌اند. شاخصهای ویروس تعیین شده شامل هر دوگونه باکتریوفاژ (MSB و SC)[1] می‌باشند؛ دانسیتهٔ MSB با استفاده از روش اصلاح شدهٔ پوشش دو لایهٔ آگار[2] تعیین شده است. ازگونه برگزیده اشریشیا کلی یعنی E.coli HS[pFamp] به عنوان میزبان گروه فاژها استفاده شده است. شمارش SCبا استفاده از میزبان E.coli K۱۲ بدون پیلی در یک روش پوشش دو لایه آگار تعیین شده که توسط آدامز (۱۹۵۹) شرح داده شده است.

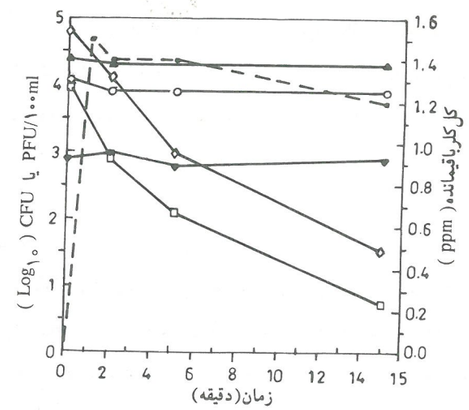
نتایج

پارامترهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی پسابهای ثانویه فاضلاب در جدول ۱ خلاصه شده است و محدودهٔ وسیعی ازکیفیت پسابهای ثانویهٔ استفاده شده برای آزمایشهای گندزدایی را نشان می‌دهد.کیفیت پسابهای جمع آوری شده در شرایط آب و هوای مرطوب باکیفیت پسابهای جمع آوری شده در شرایط خشک چندان تفاوت نداشت. pH بطور مداوم در تمام تصفیه‌خانه‌ها خنثی و حداکثر آن ۷/۶ در تصفیه‌خانه بلاک‌استون تعیین گردید.

غلظت‌های نیترات در پساب هر یک از تصفیه‌خانه‌ها کاملاً ثابت بود. اما در تصفیه‌خانه‌های مختلف با یکدیگر فرق داشت. پساب ثانویه تصفیه‌خانه ایست پراویدنس با متوسط غلظت ppm۸ نیترات و پساب ثانویه تصفیه‌خانه‌های نارا گانست‌بی و بلاک‌استون با متوسط غلظت ppm۱/۷ نیترات به ترتیب بیشترین و کمترین اکسیداسیون را نشان دادند. پساب ایست پراویدنس دارای کمترین میزان TSS (ppm۲/۹) بود. حداکثر مقدار TSS تصفیه‌خانه بلاک‌استون از ۱۰ برابر حداقل مقدار TSS موجود در تصفیه‌خانه ایست‌پراویدنس بیشتر بود. محدودهٔ گسترده‌ای از COD اندازه گیری شد به طوری که اختلاف بین COD موجود در پسابهای با بهترین کیفیت و در بدترین کیفیت تا ۷ برابر مشاهده شد (ppm۱۳۸-۲۰). به طور کلی تصفیه‌خانه ایست‌پراویدنس بهترین کیفیت پساب را داشت در حالی که تصفیه‌خانه‌های نارا گانست‌بی و بلاک‌استون بدترین و ضعیف‌ترین کیفیت پساب را نشان دادند.

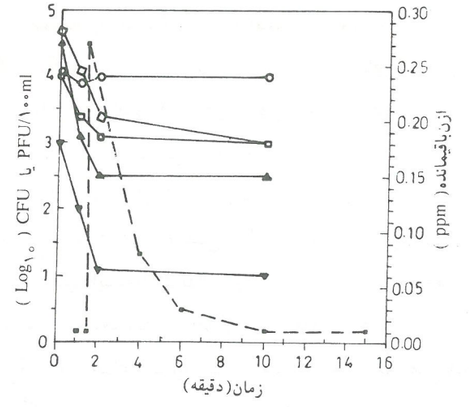
نتایج غیر فعالسازی ارگانیسم‌های شاخص میکروبی باکلر در یک پساب باکیفیت ضعیف در شکل ۲ نمایش داده شده

1 -Male - Specific Bacteriophage (MSB) & Somatic Coliphage (SC)
2- Double - agar-over lay



شکل ۲ غیرفعالسازی ارگانیسم‌های شاخص توسط کلر در پساب ثانویه با کیفیت ضعیف. شاخصهای میکروبی:

- ○ کلستریدیوم پرفرنژنس
- ▲ (SC)
- ■ کل کلر باقیمانده (ppm)
- ▼ (MSB)
- ◇ کلیفرم مدفوعی
- □ انتروکوکها



شکل ۳ غیرفعالسازی ارگانیسم‌های شاخص توسط ازن در پساب ثانویه با کیفیت ضعیف. شاخصهای میکروبی:

- ○ کلستریدیوم پرفرنژنس
- ▲ (SC)
- ■ ازن باقیمانده (ppm)
- ▼ (MSB)
- ◇ کلیفرم مدفوعی
- □ انتروکوکها

است. به جز یک استثنا این نتایج معرف تمام آزمایشات گندزدایی با کلر است. همچنین کاهش لگاریتمی شاخصهای ویروسی SC در تصفیه‌خانه ایست پراویدنس در مقایسه با دیگر تصفیه‌خانه‌ها بیشتر است. اگر چه کاهش شاخصهای باکتریایی و MSB از یک سیستم به سیستم دیگر تفاوت قابل توجهی ندارد ($P > 0/05$) میزان غیر فعالسازی ارگانیسم‌های شاخص در پسابهای باکیفیت خوب به طور محسوس با آنچه که در مورد پسابهای باکیفیت ضعیف رخ می‌دهد مشابه است (داده‌ها ارائه نشده‌اند). پس از این که میزان باقیمانده مورد نظر تثبیت گردید با گذشت زمان کیفیت پساب به میزان بسیار کمی بر کلر و ازن باقیمانده تأثیر خواهد گذاشت.

در یک دورهٔ ۱۵ دقیقه‌ای که تعداد ارگانیسم‌های شاخص پایش می‌شدند کل کلر باقیمانده به طور نسبی ثابت بود. در ۱۵ دقیقه زمان تماس، متوسط کل کلر باقیمانده برای تمامی نمونه‌های گندزدایی شده ۱/۲ppm بود ($SD = 0/15$ و محدوده ۰/۹-۱/۴۴ppm). نتایج متفاوت و چشمگیری میان ارگانیسم‌های شاخص در حساسیت به کلرزنی مشاهده گردید. به استثناء برخی نتایج از تصفیه‌خانه ایست پراویدنس، گندزدایی با کلر به طور قابل توجهی در کاهش باکتریهای رویشی نسبت به دو گروهٔ باکتریوفاژ مؤثرتر است. همان طور که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود تعداد نهایی باکتریهای رویشی عموماً بیشتر از ۱۰۰۰ برابر و به سطح کمتر از ۲۰۰cfu/۱۰۰ml کاهش یافتند، در حالی که دانسیتهٔ MSB و SC (به جز چند استثناء در تصفیه‌خانهٔ ایست‌پراویدنس) کمتر از ۱۰ برابر کاهش یافته بودند. در برخی موارد فاژهای MSB تحت تأثیر گندزدایی با کلر قرار نگرفتند. در مقابل در تصفیه‌خانه ایست‌پراویدنس میزان غیرفعالسازی MSB و SC نسبت به دیگر تأسیسات بیش از ۱۰ برابر بوده است، و این در حالی است که کل کلر باقیمانده در تمامی پسابهای گندزدایی شده مشابه بود.

نتایج غیرفعالسازی ارگانیسم‌های شاخص میکروبی توسط ازن در پسابهای باکیفیت ضعیف در شکل ۳ نشان داده شده است. این نتایج که نمایانگر یکی از پسابهای با بدترین کیفیت بود بدون توجه به کیفیت پساب معرف تمام نمونه‌های گندزدایی شده با ازن می‌باشد ($P > 0/05$). مقاومت نسبی ارگانیسم‌های شاخص در برابر ازن به طور محسوسی با نتایج مشاهده شده از آزمایشات کلرزنی تفاوت دارد. در پسابهای ازن‌زنی شده، جمعیت ویروسی بسیار سریعتر از جمعیت با کتریهای رویشی غیر فعال شده‌اند. در ۲ دقیقه اول

جدول ۱ - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پسابهای ثانویهٔ فاضلاب قبل از گندزدایی

پارامتر	BVDC			NBC			EG		EP	
	آزمون			آزمون			آزمون		آزمون	
	*۱	۲	۳	*۱	۲	۳	۱	۲	۱	۲
pH	۶/۹	۷/۵	۷/۶	۶/۸	۷	۷/۱	۶/۷	۷/۱	۶/۹	۶/۸
NO_3 (میلی‌گرم در لیتر)	۱/۵	۲	۱/۵	۱/۵	۲	۱/۵	۵	۳	۸	۸
TSS (میلی‌گرم در لیتر)	۱۵/۷	۳۴/۷	۱۳/۸	۳۹	۲۳/۷	۴/۹	۷/۴	۹/۷	۶/۳	۲/۹
COD (میلی‌گرم در لیتر)	۵۵/۷	۱۳۸	۳۶/۴	۸۵/۹	۵۵/۵	۲۶/۶	۳۵/۲	۵۷/۸	۳۲/۲	۲۰
لگاریتم کلیفرم مدفوعی در ۱۰۰ میلی‌لیتر	۴/۸	۴/۸	۴/۱	۴/۹	۴/۴	۳/۷	۳/۹	۵	۴/۳	۳/۸

*تأثیرباران

NO_3 : نیترات، TSS : کل مواد جامد معلق، COD : اکسیژن مورد نیاز شیمیایی، FC : کلیفرم مدفوعی

آزمایش در نمونه‌ها به طور متوسط ۰/۳ppm ازن باقیمانده ($SD = 0/8$ و در محدودهٔ ۰/۴۵-۰/۲۲ppm) تولید شده و پس از آن تزریق ازن متوقف گردید. اثرات غیرفعالسازی ارگانیسم‌های شاخص به وسیله ازن در تمامی نمونه‌ها مشاهده شده، و با گزارشات اخیر سازگار است. عدم غیرفعالسازی بیشتر ارگانیسم‌های شاخص بعد از زمان تماس اولیه ازن ثابت می‌کند که هر دو زیر جمعیت SC و باکتریهای رویشی، فعال باقی می‌مانند. عموماً تعداد MSB و SC بیش از ۱۰۰ برابر و در تعدادی از نمونه‌ها بیش از ۱۰۰۰ برابر کاهش می‌یابند (جدول ۲). نشان داده شده که باکتریهای رویشی شاخص شامل کلیفرم‌های مدفوعی و انتروکوکها به طور قابل توجهی نسبت به گندزدایی با ازن از حساسیت کمتری برخوردارند. تعداد این ارگانیسمها فقط به میزان ۷۰-۸ برابر (جدول ۲) کاهش می‌یابد و تعداد نسبتاً زیادی از این دو گروه بعد از گندزدایی زنده می‌مانند. اسپورهای کلستریدیوم پرفرنژنس نسبت به گندزدایی با ازن بسیار مقاومند.

جدول ۲ - متوسط کاهش لگاریتمی (و انحراف معیارهای مربوطه) شاخصهای میکروبی در پسابهای گندزدایی شده به وسیلهٔ کلر و ازن

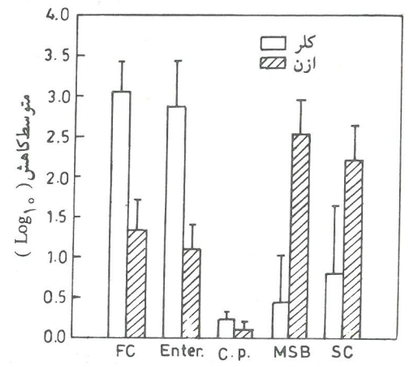
شاخص	BVDC		NBC		EG		EP	
	کلر	ازن	کلر	ازن	کلر	ازن	کلر	ازن
کلیفرمهای مدفوعی	۲/۹(۰/۴)	۱/۴(۰/۵۲)	۳/۲(۰/۲۶)	۱/۱(۰/۲۶)	۲/۹(۰/۷۱)	۱/۵(۰/۱۴)	۳/۲(۰/۲۸)	۱/۵(۰/۴۹)
انتروکوکها	۳/۱(۰/۵۳)	۱/۱(۰/۳۲)	۲/۴(۰/۵۹)	۱(۰/۴)	۳/۱(۰/۵۷)	۱/۲(۰/۴۲)	۳/۱(۰/۲۸)	۱/۲(۰/۲۱)
کلستریدیوم پرفرنژنس	۰/۲(۰/۰۶)	۰/۱(۰/۰۶)	۰/۳(۰/۰۶)	۰/۲(۰/۱)	۰/۲(۰/۰۷)	۰/۱(۰/۰۷)	۰/۳(۰/۲۱)	۰/۱(۰/۰۷)
کلی فاژ F^+[1]	۰/۱(۰/۰۱)	>۲/۴(۰/۳۲)	۰/۱(۰/۱۵)	>۲/۸(۰/۴)	۰/۶(۰/۴۹)	>۲/۸(۰/۷۱)	>۱/۳(۰/۸۵)	>۲/۲(۰/۱۴)
فاژ سوماتیک[2]	۰/۳(۰/۲)	>۱/۹(۰/۵)	۰/۴(۰/۱۲)	۲/۲(۰/۳۵)	۰/۶(۰/۴۲)	>۲/۸(۰/۰۷)	>۲/۴(۰/۲۱)	>۲/۱(۰/۴۲)

متوسط کل کلر باقیمانده ۱/۲ppm (انحراف معیار ۰/۱۵)

متوسط ازن باقیمانده برای تمام آزمونهای گندزدایی با تحریک ساده ۰/۳ppm (انحراف معیار ۰/۰۸) می‌باشد

1- F+ Coliphage

2- Somatic Phage



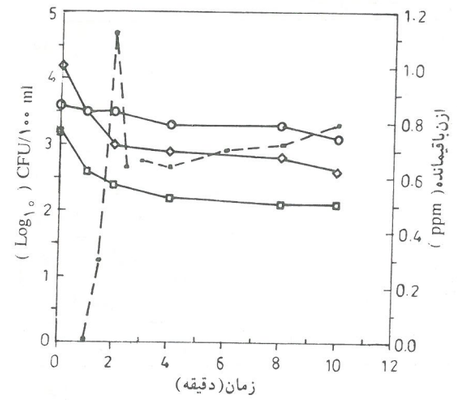
شکل ۴- متوسط کاهشهای لگاریتمی ارگانیسم‌های شاخص برای هر دو عامل گندزدا برای تمام تصفیه‌خانه فاضلاب.

شاخصهای میکروبی:

FC: کلیفرم مدفوعی　　Enter: انتروکوکها

C.p.: کلستریدیوم پرفرنژنس　　SC: Somatic Coliphage

MSB: Male - Specific Bacteriophage



شکل ۵- غیرفعالسازی شاخصهای باکتریایی در پسابهای ثانویه از جریان مداوم ازن ورودی.

شاخصهای میکروبی:

○ کلستریدیوم پرفرنژنس　　◇ کلیفرم مدفوعی

□ انتروکوکها　　■ ازن باقیمانده (ppm)

حساسیت MSB و SC نسبت به ازن از کلر بیشتر است. اگرچه ازن به طور کامل SC را حذف نمی‌نماید، با این همه در تمام نمونه‌های ازن‌زنی شده کاهش بیش از ۲ لگاریتم از SC مشاهده شد، اما به طور پیوسته جمعیت مقاومی از SC در پسابهای ازن زنی شده یافت می‌شدند (شکل ۳). تعداد MSB حداقل ۱۰۰ برابر کاهش یافته و تقریباً به طور عمومی زیر حد حساسیت روش آزمایش بود (۶/۷pfu/۱۰۰ml). تعداد اولیه MSB در نمونهٔ گندزدایی شده باکلر و ازن به طور تقریبی ۱۰ برابر کمتر از تعداد SC بود.

متوسط کاهش لگاریتمی برای هر ارگانیسم شاخص در تمامی تأسیسات تصفیه فاضلاب در شکل ۴ نشان داده شده است. میزان غیر فعالسازی شاخصهای تحت اثر کلر و فقط یک بار تحریک ازن به طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت می‌باشد ($P<0/01$). در پسابهای گندزدایی شده به وسیلهٔ کلر برای باکتریهای رویشی شاخص، کاهش کلیفرم مدفوعی ۷۰ برابر و انتروکوکها ۹۰ برابر بیشتر از کاهش آنها در پسابهای گندزدایی شده به وسیلهٔ ازن بوده است. بر عکس در پسابهای ازن زنی شده کاهش MSB و SC به میزان ۱۰۰ برابر نسبت به پسابهای کلرزنی شده بیشتر بوده است. کلستریدیوم پرفرنژنس در برابر هر دو گندزدا نسبتاً غیر حساس است و جمعیتهای این گونه‌های باکتریایی اسپورزا برای دوره‌های تماس طولانی مقاوم باقی می‌مانند.

این نتایج ثابت می‌کند که ازن‌زنی به مقدار کم، برای کاهش تعداد کلیفرمها به کمتر از مقادیر مجاز کنونی ۲۰۰FC/۱۰۰ml که توسط سازمان حفاظت محیط‌زیست آمریکا برای آبهای پذیرنده مقرر شده است کافی نمی‌باشد. در کوشش برای افزایش اثر گندزدایی در مورد غیرفعالسازی کلیفرم‌های مدفوعی همانند انتروکوکها، جریان مداومی از ازن به ظروف آزمایش تعدادی از نمونه‌ها وارد گردید تا کل زمان تماس را به ۱۰ دقیقه افزایش دهد. به دلیل ناپایداری ازن، مقدار ازن باقیمانده در پسابهای ثانویه فاضلاب برای نمونه‌های گندزدایی اخیر از ۰/۱ppm به ۱/۴ppm رسید.

نتایج نشان داده شده در شکل ۵ همگی بیان کننده ورود مداوم ازن به نمونه‌های گندزدایی می‌باشند. غیرفعالسازی باکتریهای رویشی در ۲ دقیقه اول تماس با ازن صورت می‌گیرد. در این شکل به طور آشکار مقاومت کلستریدیوم پرفرنژنس به

گندزدایی با ازن مشخص شده است. کل کاهش باکتریهای رویشی با افزایش زمان تماس به طور قابل توجهی از آنچه که در نمونه‌های با تحریک ساده ازن تعیین شده است، بیشتر نیست.

بحث

با توجه به خطر ویروسهای بیماری‌زا به عنوان عامل نگران کنندهٔ بهداشت عمومی برای مصرف کنندگان غذاهای دریایی و تفریح کنندگان در دریا، توجه و علاقه به شیوه‌های بهینه جایگزین گندزدایی فاضلاب افزایش یافته است. کلر که به عنوان گندزدا به طور وسیعی برای فاضلابهای تصفیه شده استفاده می‌شد، در برابر اغلب عوامل ویروسی غیر مؤثر بوده است. بنابراین تحقیقات بر روی استفاده از گندزداهای جایگزین شونده از قبیل ازن، برای گندزدایی فاضلاب به عمل آمده است. مطالعات انجام شده تحت شرایط مختلف، توانایی ازن را برای غیر فعالسازی باکتریها و ویروسهای بیماریزا نشان داده‌اند. تعدادی از محققین برای تعیین اثرات گندزدایی ازن از محیطهای میکروبی تلقیح شده در محلولهای بافر[1] استفاده کرده‌اند. به علاوه برخی مطالعات صحرایی اثرات مقدار ازن بر روی جمعیتهای باکتریایی بومی در پسابهای ثانویه را آزمایش نموده‌اند. نظر به این که تعداد کمی از مطالعات غیرفعالسازی، باکتریهای رویشی بومی و ویروسهای روده‌ای را در فاضلاب گندزدایی شده به وسیلهٔ ازن و کلر با هم مقایسه کرده‌اند و نیز از داده‌های موجود، مقایسه‌های مشخصی از مقاومت گروههای فاژ نسبت به گندزدایی با کلر و ازن به دست نمی‌آید.

این مطالعه جهت مقایسهٔ جامع‌تر مقاومت نسبی ارگانیسم‌های شاخص به هر دو عامل گندزدایی و برای ارزیابی گروه کلیفرم مدفوعی به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی انجام شد. این نتایج نشان می‌دهد که برای یک شاخص مورد نظر میزان غیرفعالسازی برای تمامی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب با کیفیت متنوع پساب بسیار مشابه است. و لیکن این میزان بسته به نوع گندزدای مصرفی تفاوت آشکاری با هم دارند.

کلر ترکیبی اندازه گیری شده به طور مؤثری با کتریهای رویشی را غیر فعال کرده و مقدار کلیفرمهای مدفوعی را به راحتی به حدود تعیین شده توسط سازمان حفاظت محیط‌زیست آمریکا کاهش می‌دهد.

حد مجاز روزانه و هفتگی تخلیه کلیفرم مدفوعی حداکثر ۴۰۰MPN/۱۰۰ml بوده و حداکثر متوسط ماهیانه نبایستی از ۲۰۰MPN/۱۰۰ml بیشتر شود. اگر چه کلرزنی در کاهش MSB و SC از پسابهای ثانویه، جز برای تعداد معدودی از پسابهای یک تصفیه‌خانه غیر مؤثر می‌باشد، زمان ماند بیشتر در پساب این تصفیه‌خانه (ایست‌پراویدنس)، پساب اکسید شده‌تری را ایجاد خواهد کرد. بنابراین ممکن است نسبت بیشتری از کل کلر باقیمانده به صورت آزاد وجود داشته باشد که احتمال می‌رود به طور مؤثری ذرات ویروسی را غیر فعال سازد. میزان غیرفعالسازی ویروسی افزایش یافته در این تصفیه‌خانه با دیگر یافته‌های حاصل از مطالعات دیگر محققان سازگاری دارد. ناتوانی کلر برای حذف شاخصهای ویروسی در این مطالعه دلایل بیشتری از ضعف گروه کلیفرم مدفوعی به عنوان شاخص خطرات بهداشتی ناشی از پسابهای آلوده شده به مدفوع را نشان می‌دهد. اخیراً با کتریوفاژها و به ویژه گروه MSB، به عنوان شاخصهای حضور ویروسهای روده‌ای بیماریزا و کارایی گندزدایی فاضلاب مورد توجه قرار گرفته‌اند. این که گروه MSB یا گروه بزرگتر و متنوع‌تر SC کدام با دقت بیشتری حساسیت ویروسهای روده‌ای بیماری‌زا را حین فرایند گندزدایی مشخص می‌کند، ناشناخته است. بیش از ۹۹٪ غیرفعالسازی در هر دو گروه شاخص ویروسی در ۲ دقیقه از زمان تماس ازن صورت می‌گیرد. بنابراین به نظر می‌رسد ازن گندزدای بسیار مؤثری برای ویروس می‌باشد، به ویژه هنگامی که باکلر برای کاربرد در تصفیه ثانویه پسابهای فاضلاب مقایسه شود. ممکن است نگرانی از ناتوانی ازن در غیرفعالسازی کامل جمعیتهای ویروسی ناشی از مقدار خیلی پایین آن جهت برخی از ویروسها باشد. همچنین ازن به ویژه در کاهش باکتریهای رویشی از پسابها مؤثر نبود. تعداد نهایی کلیفرمهای مدفوعی پسابهای ازن زنی شده همواره از معیارهای مقرر شده توسط سازمان حفاظت محیط‌زیست آمریکا برای تخلیه فاضلابهای تصفیه شده به محیط خیلی بیشتر است.

در گذشته مهمترین مانع استفاده از ازن برای گندزدایی

1- Buffered

فاضلابها، فقدان اطلاعات کافی برای هزینه نصب و بهره‌برداری از سیستم تولید ازن در تصفیه‌خانه‌ها بود. به هرحال ممکن است تأثیر مقدار کم ازن باقیمانده که به اندازه مقدار زیاد آن در حذف باکتریهای رویشی و ویروسهای روده‌ای از پسابها مؤثر است باعث کاهش هزینهٔ تولید ازن گردد. نتایج این مطالعه این یافته‌ها را تأیید می‌کند.

نمودارهای غیرفعالسازی ازن با نمودارهای کلرزنی تفاوت فاحشی دارند. در حین کلرزنی غیرفعالسازی باکتریهای رویشی تا هنگامی که کلر باقیمانده در پساب باقی می‌ماند، ادامه می‌یابد. در مقابل غیرفعالسازی باکتریایی و ویروسی در پسابهای گندزدایی شده با ازن در حین ۲ دقیقه اول رخ می‌دهد و پس از آن کاهش بیشتری مشاهده نمی‌شود. فرضیات قبلی با دیگر گندزداها نشان داده‌اند که برای ادامه غیرفعالسازی میکروبی با یک گندزدای خاص بایستی زمانهای تماس افزایش یابند. بر اساس این نتایج و یافته‌های محققین دیگر هنگامی که ازن به عنوان عامل گندزدایی به کار برده می‌شود می‌بایست در مورد زمانهای تماس تجدید نظری صورت گیرد.

به دلیل این که ازن در از بین بردن ویروسها بسیار مؤثر است اما مثل کلر در غیرفعالسازی با کتریهای رویشی مؤثر نیست، راهبردهایی برای تعیین تأثیر عوامل گندزدایی ترکیبی از قبیل کلر و ازن یا ازن و اشعه ماوراء بنفش توسعه یافته است. غیرفعالسازی سریع ویروسها و باکتریها با سمیت محدود به هنگام استفاده از ترکیب مناسب گندزداها گزارش شده است. استفاده از مقدار کم کلر به دنبال گندزدایی پساب ثانویه با ازن تعداد باکتریها را به طور بسیار چشمگیری کاهش خواهد داد. همچنین گندزدایی با ازن به دنبال گندزدایی با اشعه ماوراء بنفش می‌تواند مقدار ازن مصرفی را تا ۸۰٪ کاهش داده و باعث تخلیه کلیفرمهای مدفوعی با غلظت بسیار کمی گردد. نتایج این مطالعه با گزارشات مختلفی که عقیده دارند گندزدایی پسابهای ثانویه فاضلاب با کلر در غیر فعالسازی جمعیتهای ویروسی غیر مؤثر است همخوانی دارد. در نتیجه کلرزنی به عنوان سدی برای حفاظت عموم از بیماریهای ویروسی روده‌ای منتقل شونده به وسیلهٔ آبهای تفریحی و مصرف صدفهای خام یا پخته شده مورد تردید است. در مقابل ازن یک ویروس‌کش بسیار قوی است، اما به طور ضعیفی در کاهش جمعیتهای باکتریایی مؤثر است. مطالعات بیشتری جهت استفاده ترکیبی از گندزداها برای درک و ارائه بهتر فرایندهای گندزدایی مناسب مورد نیاز می‌باشد.

* Tyrrell, S.A., Rippey, S.R., and Watkins, W.D. (1995). " Inactivation of Bacterial and Viral Indicators in Secondary Sewage Effluents, Using Chlorine and Ozone ", Wat. Res. Vol. 29, No.11, pp. 2483-2490.