مقاله پژوهشی

بررسی روند تغییرات اندوتوکسین از منبع تامین آب آشامیدنی تا آب خروجی از تصفیه خانه (مطالعه موردی: رودخانه جاجرود)

ریحانه دهقان، خسرو پیری* و اصغر عبدلی

گروه تنوع زیستی، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

سابقه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی آلودگی اندوتوکسین به تفکیک اندوتوکسین کل، اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات از سرچشمه رودخانه جاجرود تا سد لتیان و ورودی آب این سد به تصفیه خانه تا آب خروجی و تصفیه شده به منظور شناسایی منبع و سرنوشت انواع اندوتوکسین، شناسایی نقاط کلیدی و بحرانی این آلاینده نوظهور در طول مسیر رودخانه جاجرود و همچنین تاثیر اجرای فرآیندهای تصفیه برکاهش اندوتوکسین تولید شده در هر مرحله و اطمینان از سطح پایین اندوتوکسین در آب آشامیدنی خروجی است؛ تا بر اساس آن نقاط کلیدی و بحرانی فعالیت اندوتوکسین شناسایی و مدیریت گردد.

مواد و روش‌ها: نمونه برداری در فصل پاییز ۱۴۰۱در طول رودخانه جاجرود با در نظر گرفتن اثر فعالیت‌های انسانی، ورود فاضلاب به رودخانه، عمق آب و مسیر رودخانه از ایستگاه‌های آب نیک، بین آب نیک و فشم، فشم، بین فشم و لواسان، لواسان، دریاچه سد لتیان، خروجی آب بعد از دریاچه سد و سعید آباد و همچنین آب ورودی سد لتیان، به تصفیه خانه از آب خام ورودی، آب ورودی کلرزنی شده، آب جداسازی، صافی‌ها، اختلاط سریع و در نهایت آب خروجی از تصفیه خانه انجام شد. جهت نمونه برداری از بطری‌های شیشه ای تیره رنگ یک لیتری استفاده شد. نمونه‌ها در جای خنک نگهداری شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت اندازه گیری فعالیت اندوتوکسین ابتدا خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب نمونه برداری اندازه گیری شد. سپس برای اندازه گیری اندوتوکسین به تفکیک اندوتوکسین کل، آزاد و متصل به ذرات از کیت LAL (Kinetic -Chromogeni LaL kit, Bioendo ™ KC0828) برای تعیین کمیت اندوتوکسین باکتری‌های گرم منفی استفاده شد.

نتایج و بحث: نتایج این پژوهش نشان داد سطح فعالیت اندوتوکسین در آب رودخانه جاجرود در ایستگاه‌های مختلف نمونه برداری متفاوت بود. میزان اندوتوکسین کل بین ۵۳ Eu/ml تا ۸۵ متغیر بود. اندوتوکسین آزاد و اندوتوکسین متصل به ذرات در ایستگاه‌های مختلف مقدار متفاوتی داشت. بیشترین میزان اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات به ترتیب در ایستگاه‌های خروجی دریاچه سد لتیان و

* Corresponding Author: *Email Address*. p_khosro@sbu.ac.ir

نسخه پیش انتشار

دریاچه سد لتیان مشاهده شد. فعالیت اندوتوکسین کل، آزاد و متصل به ذرات در طی فرآیند تصفیه نیز متغیر بود. میزان اندوتوکسین کل در طی فرآیندهای مختلف بین Eu/ml ۰.۶ تا ۹.۴ مشاهده شد. بیشترین فعالیت اندوتوکسین آزاد در آب صافی‌های ته نشینی مشاهده شد در حالی که فعالیت اندوتوکسین متصل به ذرات در آب اختلاط سریع نسبت به سایر نمونه‌ها بیشتر بود. همچنین یک فرآیند کلیدی که نقش مهمی در میزان فعالیت اندوتوکسین هم در طی فرآیند تصفیه و هم در آب خروجی از تصفیه خانه فرآیند کلرزنی بود. زیرا در طی این فرآیند ترکیب جامعه میکروبی تغییر پیدا می‌کند و بدین ترتیب کاهش و یا افزایش باکتری‌های گرم منفی می‌تواند بر افزایش یا کاهش اندوتوکسین موثر باشد. همچنین میزان کلر آزاد در آب تصفیه شده نیز یکی از موارد حائز اهمیتی است که می‌تواند بر میزان اندوتوکسین پس از خروج از تصفیه خانه موثر باشد. از سوی دیگر کلرزنی سبب لیزسلولی می‌شود که می‌تواند سبب افزایش اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات شود. با توجه به نتایج به دست آمده، ایستگاه‌های مجاور مناطق مسکونی و نسبت به سایر ایستگاه‌ها میزان اندوتوکسین آزاد و متصل بیشتری داشتند که می‌تواند ناشی از آلودگی بیشتر آب در این مناطق به دلیل مجاورت با مناطق مسکونی و ورود فاضلاب به آب رودخانه باشد.

نتیجه‌گیری: میزان آلودگی به اندوتوکسین در طول رودخانه جاجرود بسته به مکان نمونه برداری متفاوت بود. فرآیند تصفیه سبب کاهش ۶۱٪ میزان اندوتوکسین گردید. با افزایش آلودگی در طول رودخانه بر میزان اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات اضافه شد که این افزایش در میزان اندوتوکسین متصل بیش از اندوتوکسین آزاد بود.

واژه‌های کلیدی: آب آلوده، اکوسیستم آبی، باکتری هتروترف، خصوصیات شیمیایی و فیزیکی آب.

نسخه پیش انتشار

مقدمه

آلودگی محیط‌های آبی یک مشکل جدی جهانی و به ویژه چالشی فوری در کشورهای در حال توسعه است به طوری که دسترسی به آب آشامیدنی سالم به یکی از جدی ترین بحران های بهداشت عمومی در جهان تبدیل شده است (۲۰۱۸ Zhang *et al*.). بر اساس گزارش های منتشر شده WHO، بیش از یک میلیارد نفر در جهان از آب آشامیدنی سالم برخوردار نیستند. آلودگی آب سبب مرگ و بیماری بالقوه در هر یک نفر از پنج نفر بر روی زمین می‌گردد (Mirjani *et al*.۲۰۲۰). از طرف دیگر کنترل آلودگی آب در دهه‌های اخیر بیشتر بر روی آلودگی شیمیایی آب متمرکز بوده است. در حالی که، آسیب

های مربوط به آلاینده های میکروبی هنوز شدید، گسترده و فراوان است (Huang *et al*.۲۰۱۱) و آلاینده های میکروبی یکی از بحرانی ترین مشکلات بهداشتی در سلامت عمومی هستند (Gorbet and Sefton,۲۰۰۵). نکته قابل توجه و ضروری در آلودگی میکروبی آن است که برخی از پاتوژن ها و عوامل بیولوژیکی که در طی فرآیندهای مختلف کنترل آلودگی مانند تصفیه از آب حذف می شوند، سمومی تولید می‌کنند که می‌توانند در آب باقی بمانند که متاسفانه در حال حاضر اطلاعات کمی در مورد آنها در محیط های آبی و سایر محیط ها وجود دارد. برخی از این سموم ذکر شده در دسته آلاینده های نوظهور قرار می گیرند که سبب مشکلات شدیدی برای سلامتی انسان می شوند (Rasouli *et al*. ۲۰۲۳).

اندوتوکسین از جمله آلاینده‌های نوظهور است که بخشی از ترکیب پیچیده لیپوپلی ساکارید است (Buttke and ۱۹۷۵ Ingram,، Sykora and Keleti,۱۹۸۱). اندوتوکسین در غشای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی قرار دارد و به هنگام از بین رفتن سلول، هنگام رشد و تقسیم طبیعی سلول به محیط اطراف خود آزاد می‌شود. از این رو اندوتوکسین در آب، خاک و هوا و در سایر محیط‌ها حضور دارد (Trent *et al*. ۲۰۰۶). حضور اندوتوکسین در بدن سبب ایجاد علائمی همچون اسهال، استفراغ، فشار خون، تب و در غلظت های بالا سبب مرگ می گردد (Zamani *et al*. ۲۰۲۲). از طرف دیگر اندوتوکسین‌ها، مولکول‌هایی پایدار در برابر حرارت و شرایط اسیدی و قلیایی هستند و فعالیت های بیولوژیکی و واکنش‌های التهابی آنها حتی تحت شرایط محیطی سخت محیطی مانند دمای بالا و شرایط اسیدی و بازی شدید و با تقطیر و استریلیز کردن نیز از بین نمی روند. حذف اندوتوکسین نیازمند دمای بالای ۱۸۰تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد و شرایط فوق اسیدی یا قلیایی است (Zhang *et al*.۲۰۱۹).

بررسی فعالیت‌های اندوتوکسین در محیط‌های آبی و سرنوشت آنها در فرآیند تصفیه و آب خروجی، از دهه ۱۹۷۰ توجه زیادی را از سوی جامعه علمی به سوی خود جلب کرد. در اولین مطالعات (۱۹۷۳) Luzio and Friedmann اندوتوکسین موجود در آب‌های سطحی، زیرزمینی، آشامیدنی و نوشیدنی های مختلف را در ایالت متحده مورد بررسی قرار دادند و سطح اندوتوکسین را µg/mL ۱- ۴۰۰ گزارش دادند. Hass *et al.* (۱۹۸۳) نیز یک مطالعه در دو سیستم تصفیه و توزیع آب در ایالت متحده انجام دادند و سطوح اندوتوکسین را بین µg/mL ۳ تا ۱۴ بیان کردند. پس از دهه ۱۹۸۰ به دلیل تفاوت در فعالیت اندوتوکسین در بین گونه‌های مختلف باکتریایی واحد فعالیت در حجم (Eu/ml) جایگزین واحد وزن بر حجم شد (ng/ml). Rapala *et al.* (۲۰۰۲) غلظت اندوتوکسین در منابع آبی و تصفیه خانه‌های آب آشامیدنی در فنلاند را در آب ورودی بین ۱۸تا Eu/ml۳۵۶ و در آب تصفیه شده بین Eu/ml ۳ - ۱۵ برآورد کردند.

به دلیل خاصیت آمفیفیلیک بودن اندوتوکسین این آلاینده می‌تواند به ذرات معلق متصل شود. از این رو تنها تعداد باکتری‌های موجود در آب منعکس کننده میزان اندوتوکسین نیست و میزان ذرات معلق نیز با میزان اندوتوکسین مرتبط است. با توجه به موارد ذکر شده فعالیت کلی اندوتوکسین در آب شامل فعالیت اندوتوکسین آزاد (اندوتوکسین محلول در آب) و اندوتوکسین متصل به ذرات می‌شود (Anderson *et al.*۲۰۰۲).

با توجه به خطراتی که اندوتوکسین برای انسان ایجاد می‌کند و از آنجایی که رودخانه ها منبع اصلی آب برای تصفیه خانه های آب آشامیدنی هستند، ارزیابی سطح اندوتوکسین و سرنوشت آن در طول رودخانه و فرآیند تصفیه، برای اطمینان از سلامت آب بسیار مهم است. علاوه بر این، اتصال اندوتوکسین به ذرات موجود در آب می‌تواند بر راندمان انتقال و حذف آن در طول تصفیه تأثیر بگذارد از این رو ارزیابی توزیع اندوتوکسین‌های آزاد و متصل به ذرات در طی فرآیند تصفیه ضروری است. موارد ذکر شده سبب گردیده تا در مطالعات اخیر به فعالیت اندوتوکسین در منابع آبی به خصوص رودخانه‌ها و همچنین و بررسی میزان اندوتوکسین آزاد و اندوتوکسین متصل به ذرات توجه ویژه ای صورت گیرد. از جمله مطالعات انجام شده در بررسی اندوتوکسین در رودخانه‌ها می‌توان به مطالعات Ohkouchi *et al.* (۲۰۱۵) اشاره کرد. آنها در مطالعه خود محتوای اندوتوکسین باکتریایی و سیانوباکتری‌ها را در منابع آب و سیستم‌های توزیع آب آشامیدنی، و همچنین باکتری‌های بومی در یک رودخانه در ژاپن را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این بررسی نشان داد که باکتری های بومی بالاترین محتوای اندوتوکسین را را در بین موارد بررسی شده داشتند و همچنین نتایج بیانگر آن بود که فلور باکتریایی/سیانوباکتری طبیعی در محیط‌های آبی و سیستم‌های توزیع آب پتانسیل ایجاد پاسخ‌های التهابی نسبتاً قوی در انسان را دارد. بنابراین، پایش بیشتر اکوسیستم های آبی و بررسی کیفیت آب نه تنها از منظر میزان اندوتوکسین بلکه از نظر تاثیری که بر سلامت انسان و سیستم ایمنی می‌گذارد، ضروری است. Can *et al.*(۲۰۱۳) نیز آلودگی اندوتوکسین را در تصفیه خانه آب در پکن و آب تامین کننده این تصفیه خانه در چین را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد فرآیند تصفیه سبب کاهش ۳۱ درصدی در اندوتوکسین آزاد و ۷۱ درصد کاهش در اندوتوکسین متصل می‌گردد. اما فیلتراسیون کربن فعال دانه‌ای و کلرزنی به ترتیب باعث افزایش اندوتوکسین متصل و آزاد می‌شوند. همچنین در مطالعه ای Simazaki *et al.* (۲۰۱۸) به بررسی میزان اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات در چندین تصفیه خانه و منبع آب ورودی این تصفیه خانه‌ها در دو فصل پاییز و زمستان در طول سال‌های ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۶ و تاثیر فرآیندهای تصفیه در کاهش اندوتوکسین پرداختند. نتایج این پژوهش نشان داد ته نشینی بیشترین تاثیر را در حذف اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات دارد در حالی که کلرزنی سبب کاهش متوسط در

نسخه پیش انتشار

اندوتوکسین متصل و کاهش کم در اندوتوکسین آزاد می‌گردد. اما فیلتراسیون کربن میزان اندوتوکسین را در طول فرآیند تصفیه افزایش می‌دهد. Mohamed *et al.* (۲۰۲۲) راندمان حذف اندوتوکسین از تصفیه خانه های آب آشامیدنی در مصر را به عنوان نمونه ای از روش های تصفیه مرسوم مورد استفاده در کشورهای در حال توسعه مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد مجموع اندوتوکسین در آب منبع (رودخانه نیل) این تصفیه خانه‌ها از ۵۷ تا ۱۸۷ EU/mL بسته به محل تصفیه خانه ها متغیر بود. فرآیندهای تصفیه مرسوم در این تصفیه خانه‌ها می توانند مقادیر قابل توجهی از اندوتوکسین متصل و سلول های باکتریایی را حذف کنند، اما اندوتوکسین آزاد را از طریق لیز سلولی ناشی از پیش اکسیداسیون و ضدعفونی نهایی کلر افزایش می‌دهند. از این رو فرآیندهای مرسوم در تصفیه خانه ها باید بهینه سازی و ارتقاء داده شوند تا عملکرد آنها در حذف اندوتوکسین بهبود یابد و توزیع ایمن آب تصفیه شده برای مصرف کنندگان تضمین شود.

از این رو با توجه به موارد ذکر شده کمی کردن سطح اندوتوکسینو درک رفتار آن در آب رودخانه، سبب می‌شود تا خطرات بالقوه ناشی از این آلاینده را شناسایی کرده و استراتژی‌هایی برای کاهش تأثیر آنها بر سلامت انسان توسعه داده شود. با توجه به موارد ذکر شده بررسی فعالیت اندوتوکسین در رودخانه‌ها به عنوان منابع آب آشامیدنی ضروری است.

تاکنون مطالعه ای که به بررسی فعالیت اندوتوکسین در رودخانه‌های ایران پرداخته شده باشد انجام نشده است و هیچ گونه اطلاعاتی در مورد پیدایش اندوتوکسین، اثرات احتمالی آن و حذف آن در منابع تامین کننده آب آشامیدنی و در طی فرایند های تصفیه ی آب وجود ندارد. با توجه به روند آلودگی آب‌های سطحی و افزایش باکتری‌های ناشی از این آلودگی‌ها توجه به اندوتوکسین به عنوان یک آلاینده نوظهور که پتانسیل خطرات زیادی برای سلامتی انسان و محیط زیست دارد و همچنین شناسایی میزان این آلاینده در منابع آب به خصوص منابع تامین کننده آب آشامیدنی و سایر مصارف انسانی ضروری است. از این رو این مطالعه به بررسی میزان آلودگی و سرنوشت اندوتوکسین از رودخانه جاجرود در مسیر سد لتیان و پس از ورود این آب به تصفیه خانه و آب خروجی می‌پردازد. هدف از این مطالعه اول بررسی سطوح اندوتوکسین در طول رودخانه جاجرود و ارزیابی رفتار آن در طول فرآیند تصفیه آب با در نظر گرفتن ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب و فراوانی باکتری‌های هتروتروف است. زیرا این عوامل می‌توانند بر سرنوشت و انتقال اندوتوکسین‌ها تأثیر بگذارند. دوم شناسایی نقاط بحرانی وکلیدی جهت مدیریت اندوتوکسین در آب و ارزیابی پتانسیل خطرات آن برای سلامتی انسان می‌باشد. با کمی کردن سطوح اندوتوکسین‌ها و درک رفتار آن‌ها در آب رودخانه، می‌توان خطرات بالقوه را شناسایی کرده و استراتژی‌هایی را برای کاهش تأثیر آنها بر سلامت انسان توسعه داد.

نسخه پیش انتشار

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

نمونه برداری از رودخانه جاجرود و تصفیه خانه در فصل پاییز ۱۴۰۱ با در نظر گرفتن افزایش احتمالی باکتری‌های هتروتروف و سیانوباکتری‌ها و همچنین فعالیت اندوتوکسین در آب منبع، آب فرایند و آب نهایی انجام شد. نمونه برداری در ابتدای روز از هفت نقطه در طول رودخانه جاجرود از ایستگاه‌های آب نیک، بین فشم و آبنیک، فشم، بین فشم و لواسان، لواسان، دریاچه سد لتیان، خروجی بعد از سد لتیان و سعید آباد انجام شد. مختصات جغرافیایی نقاط نمونه برداری در جدول ۱ نشان داده شده است. جهت نمونه برداری از بطری‌های تیره رنگ با حجم یک لیتر استفاده شد. قبل از نمونه برداری ظروف نمونه برداری در دمای ۱۲۱ به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند سپس با آب فوق خالص شسته شدند. کلر و ازون نمونه‌های آب بلافاصله با استفاده از هیپوکلریت سدیم در بطری‌های از بین رفت. بطری های نمونه در جای خنک نگهداری شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت تجزیه و تحلیل فعالیت اندوتوکسین و شمارش صفحات هتروترفیک نمونه‌ها ظرف ۲۴ ساعت پس از رسیدن به آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه برداری از تصفیه خانه نیز در روز بعد از نمونه برداری از رودخانه و از واحدهای آب ورودی از دو کانال یکی با کلرزنی مقدماتی و دیگری بدون کلرزنی، آب جداسازی، آب اختلاط سریع، آب صافی‌ها و آب تصفیه شده انجام شد. نمونه برداری در بطری‌های تیره رنگ استریل شیشه ای با حجم یک لیتر انجام شد.

جدول ۱: موقعیت جغرافیایی نقاط نمونه برداری در طول مسیر رودخانه جاجرود

Table No. 1: Geographical location of sampling points along the Jajrud river route

محل نمونه برداری sampling location	طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی latitude
آب نیک	51° 37′ 15″	35° 59′ 41″
بین فشم و آب نیک	51° 31′ 33″	35° 55′ 40″
فشم	51° 31′ 32″	35° 55′ 41″
بین فشم و لواسان	51° 36′ 33″	35° 73′ 38″
لواسان	51° 59′ 49″	35° 81′ 25″
دریاچه سد لتیان	51° 68′ 62″	35° 79′ 38″
بعد از سد لتیان	51° 68′ 65″	35° 78′ 24″
سعید آباد	51° 63′ 58″	35° 73′ 78″

نسخه پیش انتشار

اندازه گیری فعالیت اندوتوکسین

جهت انجام آزمایشات از آب فوق خالص و بدون پیروژن استفاده شده و همچنین وسایل آزمایشگاهی همچون سرسمپلر و نوک پیپت بدون پیروژن تهیه شد. سایر وسایل آزمایشگاهی نیز جهت از بین رفتن اندوتوکسین در دمای ۲۵۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۲ ساعت در کوره قرار گرفتند.

فعالیت اندوتوکسین در نمونه‌های آب با استفاده از روش سنتیک- کدورت سنجی، که یک روش جدید و حساس از آزمایش LAL (Kinetic -Chromogeni LaL kit, Bioendo ™ KC0828) برای تعیین کمیت اندوتوکسین باکتری‌های گرم منفی است استفاده شد. کیت لال حاوی فاکتورها و آنزیم‌هایی است که در حضور اندوتوکسین لخته می‌شوند. در نتیجه کدورت در نمونه‌های آب به صورت وابسته به دز و زمان افزایش می‌یابد. سنجش سنتیک – کدورت سنجی فعالیت اندوتوکسین را بر اساس تشکیل ژل برای رسیدن به کدورت تعیین شده در نمونه‌های آب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر تعیین می‌کند. این تست می‌تواند اندوتوکسین آزاد در آب و اندوتوکسین مرتبط به دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی زنده و مرده را تعیین کند. از این رو قبل از تجزیه و تحلیل فعالیت اندوتوکسین، ابتدا بخشی از نمونه‌های آب برداشته شده و در ۱۴۰۰ دور در دمای ۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس از لایه رویی آب برای تعیین فعالیت اندوتوکسین آزاد استفاده شد (Ohkouchi *et al*. ۲۰۰۷). اندوتوکسین به دست آمده از باقی نمونه‌ها به عنوان فعالیت اندوتوکسین کل در نظر گرفته شد. اندوتوکسین متصل به ذرات نیز از کم کردن مقدار اندوتوکسین آزاد از اندوتوکسین کل به دست آمد. مراحل آماده سازی نمونه و شرایط تحلیل آن مطابق با دستورالعمل سازنده کیت لال تعیین شد.

شمارش صفحات هتروترف

تعداد باکتری‌های هتروترف در نمونه‌های آب به عنوان شاخص باکتری‌های زنده که می‌توانند به عنوان منبع آلوده کننده اندتوکسین در آب عمل کنند، استفاده شده است. جهت انجام آزمایش شمارش بشقابی باکتری‌های هتروترف (HPC) از دستورالعمل کتاب استاندارد متد (چاپ ۲۲ سال ۲۰۱۲) در شرایط انکوباسیون ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد.

آزمون آماری

نسخه پیش انتشار

جهت نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیروویلک استفاده گردید. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، جهت بررسی میزان اندوتوکسین(آزاد و متصل) در نقاط مختلف نمونه برداری در طول رودخانه جاجرود و همچنین در طی فرآیند تصفیه از آزمون آنالیز واریانس (General linear model) استفاده گردید. همچنین به منظور بررسی ارتباط بین اندوتوکسین و باکتری‌های هتروترف و ارتباط بین خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب و میزان اندوتوکسین از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. تمامی تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار Minitab نسخه ۲۱، با سطح معنی‌داری (P< ۰/۰۵) و سه تکرار انجام شد. جهت رسم نمودارهای از نرم افزار Excell 2019 استفاده گردید.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب رودخانه جاجرود و تصفیه خانه

در ابتدا جهت بررسی وضعیت رودخانه در هر یک از نقاط اندازه گیری شده خصوصیات فیزیکی شیمیایی رودخانه مورد بررسی و آزمایش قرار گرفت (جدول ۲). بر اساس اطلاعات به دست آمده از پارامترهای اندازه گیری شده، میزان فسفات در آب رودخانه بین mg/L ۰.۰۱۵ تا ۰.۰۷۲۱ متغیر بود و بیشترین و کمترین میزان فسفات به ترتیب در ایستگاه‌های لواسان و سعید آباد مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان نیترات در ایستگاه‌های فشم و خروجی بعد از دریاچه سد مشاهده شد. سایر ایستگاه ها دارای رنج نیترات بین mg/L ۱۰ تا ۲۴ بودند. سطح سولفات آب در دریاچه پشت سد نسبت به سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود و کمترین میزان این آن نیز در ایستگاه آب نیک مشاهده شد. رنج سختی کل در بین ایستگاه‌های نمونه برداری شده بین mg/L ۱۳ تا ۶.۴ بود. بیشترین و کمترین میزان سختی به ترتیب در ایستگاه‌های آب نیک و دریاچه سد مشاهده شد. سختی کلسیم و منیزیم در ایستگاه‌های مختلف متفاوت بود و مقدار آن از mg/L ۰.۸۵ تا ۳.۴ متغیر بود. بیشترین میزان کدورت در آب ایستگاه‌های لواسان و فشم مشاهده شد. مقدار نیتریت در بین ایستگاه‌های مختلف بسیار ناچیز بود و همچنین در بین ایستگاه‌های مختلف تفاوت قابل توجهی در میزان آن مشاهده نشد. pH آب در تمام نقاط نمونه برداری تقریبا مشابه بوده و رنجی بین ۸.۳ تا ۸.۸ داشت. بیشترین میزان شوری آب در آب پشت دریاچه سد لتیان مشاهده شد.

جدول ۳: خصوصیات‌های فیزیکی و شیمیایی آب رودخانه جاجرود

Table 3: Physical and chemical properties of Jajrud river water

نسخه پیش انتشار

	فسفات Phosphate (mg/ml)	نیترات Nitrate (mg/L)	سولفات Sulphate (mg/ml)	سختی کل Total hardness(mg/L)	سختی کلسیم و منیزیم Ca and mg hardness (mg/L)	کدورت Turbidity (NTU/ml)	نیتریت Nitrate(mg/L)	پی اچ pH	هدایت الکتریکی EC µS/cm
آب نیک	0.046	14.48	35.68	13	0.85	4	0.01	8.4	202
نرسیده به فشم	0.78	16.61	89.68	6.96	1.5	19	>0.01	8.4	322
فشم	0.118	23.61	14368	7.5	3.4	36	0.02	8.3	398
لواسان	0.031	10.47	16.068	12	3	91	0.064	8.6	378
بعد از لواسان	0.015	11.72	153.86	6.4	1.5	5	0.03	8.7	367
دریاچه سد	0.034	15.85	184.68	6.5	3	7	0.01	8.8	409
خروجی بعد از دریاچه سد	0.051	24.24	133.68	8.92	1.51	30	0.014	8.6	429
سعید آباد	0.072	17.23	78.68	6.92	125	28	0.012	8.6	327

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب از جمله مواردی است که می تواند افزایش یا کاهش میزان اندوتوکسین در آب موثر باشد (Yi *et al*. ۲۰۲۰) از این رو ارتباط بین اندوتوکسین و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳). جهت بررسی این ارتباط از آزمون پیرسون استفاده گردید. بر اساس نتایج به دست آمده، بین اندوتوکسین کل و هدایت الکتریکی یک ارتباط معنی دار و مثبت مشاهده شد. بین میزان اندوتوکسین آزاد و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب اندازه گیری شده ارتباط معنی داری مشاهده نشد. اما میزان اندوتوکسین متصل ارتباط مثبت و معنی داری با سولفات و هدایت الکتریکی آب داشت.

جدول ۳: ارتباط بین سطح اندوتوکسین با پارامترهای فیزیکوشیمیایی نمونه جاجرود

Table 3: Correlation between endotoxin level and physicochemical parameters of Jajroud sample

نسخه پیش انتشار

	اندوتوکسین کل	اندوتوکسین آزاد	اندوتوکسین متصل
فسفات	0.24	0.40	0.11
نیترات	0.46	0.65	0.28
سختی کل	-0.30	-0.32	-0.17
سختی کلسیم و منیزیم	0.59	0.36	0.61
سولفات	0.60	0.18	0.74*
پی اچ	0.09	-0.31	0.33
هدایت الکتریکی	0.77*	0.52	0.77*
کدورت	0.36	0.49	0.23

*از نظر آماری معنی دار است .It is statistically significant *

همچنین جهت بررسی وضعیت خصوصیات فیزیکی شیمیایی آب از زمان ورود به تصفیه خانه و تغییرات آن در طی مراحل تصفیه و آب خروجی، پارامترهای اولیه و ضروری آب اندازه گیری شد. در جدول ۴ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب در طی مراحل مختلف تصفیه نشان داده شده است. بر اساس اطلاعات به دست آمده، میزان فسفات در مراحل مختلف تصفیه متغیر بود و میزان آن بین ۱۲ mg/L تا ۱متغیر بود و به ترتیب بیشترین و کمترین میزان فسفات در آب خام بدون کلر و آب تصفیه مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان نیترات مربوط به آب خام بدون کلر بود و در آب تصفیه شد نیتراتی مشاهده نشد. سایر ایستگاه ها دارای رنج نیترات بین ۰.۷۹ mg/L تا ۰.۲۸ بودند. pH آب در آب وردی به تصفیه خانه حدود ۸.۱ بود پس از انجام مراحل تصفیه در آب تصفیه شده برابر با ۷.۸ بود. بیشترین میزان هدایت الکتریکی آب در آب خام ورودی با ۴۱۵ µS/cm مشاهده شد.

جدول ۴: خصوصیات‌های فیزیکی و شیمیایی آب تصفیه خانه

نسخه پیش انتشار

Table 4: Physical and chemical characteristics of water treatment plant

	فسفات Phosphate (mg/L)	نیترات Nitrate(mg/L)	پی اچ pH	هدایت الکتریکی EC(µS/cm)
آب خام بدون کلر	12	0.82	8.1	415
آب خام	10	0.79	8	4.7
آب صافی ها	1	0.027	8	4.9
آب اختلاط سریع	18	0.028	7.7	410
آب جداسازی	2	0	8.2	411
آب تصفیه شده	1	0	7.8	397

فعالیت اندوتوکسین در ایستگاه‌های نمونه برداری در طول مسیر رودخانه جاجرود

برای بررسی تغییرات میزان اندوتوکسین در نقاط مختلف نمونه‌برداری، از آزمون واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین توکی استفاده شد. میزان فعالیت اندوتوکسین در نمونه‌های آب جمع آوری شده از هشت نقطه مختلف رودخانه جاجرود مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه و تحلیل آماری تفاوت معنی‌داری را در سطوح اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات در نقاط مختلف رودخانه جاجرود نشان داد که نشان‌دهنده آن بود که میزان اندوتوکسین بسته به مکان نمونه برداری متفاوت است (جدول ۵).

جدول ۵: نتایج آنالیز واریانس میزان اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات در نقاط مختلف رودخانه جاجرود

Table 5: The results of analysis of variance of free endotoxin and bound to particles in different parts of Jajrud river

	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (اندوتوکسین آزاد) Sum of squares	میانگین مربعات Mean squares	مقدار F	P- Value
رودخانه جاجرود	7	525.69	75.098	21.27	0.000*
خطا	16	56.50	3.531		
مقدار کل	23	582.19			

نسخه پیش انتشار

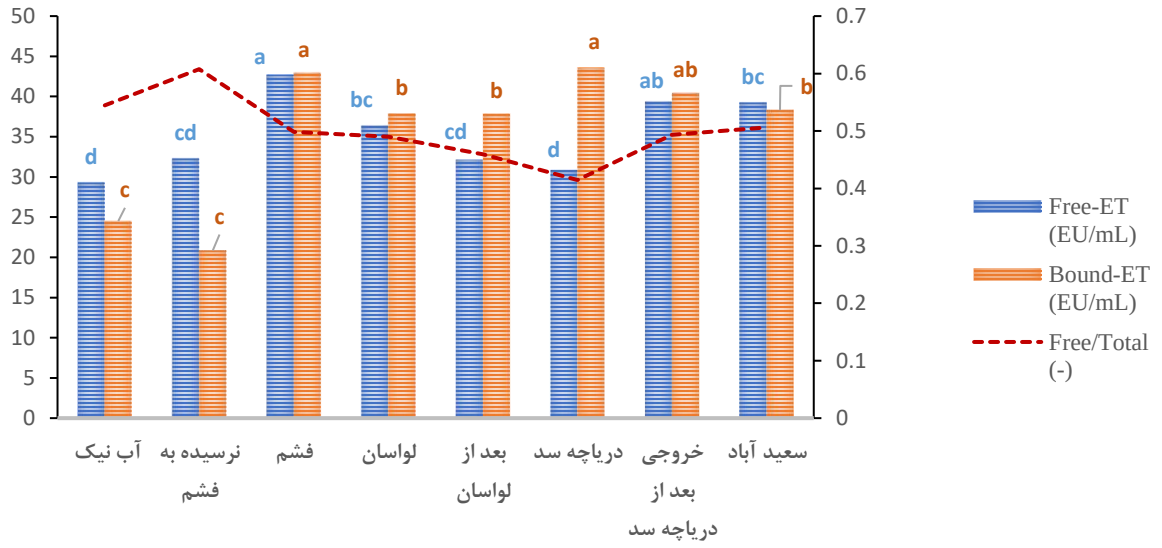
	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (اندوتوکسین متصل) Sum of squares	میانگین مربعات Mean squares	مقدار F	P- Value
رودخانه جاجرود	7	1624.30	232.049	180.33	0.000*
خطا	16	20.59	1.287		
مقدار کل	23	1644.89			

*از نظر آماری معنی دار است.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین آزمون توکی بیشترین میزان اندوتوکسین آزاد مربوط به ایستگاه نمونه برداری فشم بود که با میزان اندوتوکسین در ایستگاه بعد از خروجی سد لتیان تفاوت معنی داری نداشت. همچنین کمترین میزان اندوتوکسین مربوط به نمونه آبنیک بود. میزان اندوتوکسین در این مکان با نقاط نمونه برداری دریاچه سد لتیان، بین آبنیک و فشم و مسیر بین فشم و لواسان تفاوت معنی داری مشاهده نشد. میزان اندوتوکسین در ایستگاه‌های بعد از سد لتیان، لواسان و سعید آباد، بعد از ایستگاه خروجی سد لتیان بیشترین میزان اندوتوکسین آزاد را داشتند و بین میزان اندوتوکسین در این سه ایستگاه از نظر آماری تفاوت معنی داری مشاهده نشد (شکل ۱).

نتایج مربوط به آنالیز واریانس میزان اندوتوکسین متصل به ذرات نیز در نقاط مختلف نمونه برداری در طول رودخانه جاجرود از نظر آماری معنی دار بود (جدول ۳). بر اساس آزمون مقایسه میانگین توکی بیشترین میزان اندوتوکسین متصل به ذرات مربوط به نقاط سد لتیان، فشم و خروجی بعد از سد لتیان بود بین این سه ایستگاه از نظر آماری تفاوت معنی داری مشاهده نشد. کمترین میزان اندوتوکسین نیز در ایستگاه‌های آبنیک و بین آبنیک و فشم مشاهده شد. این دو ایستگاه نیز از نظر آماری تفاوت معنی داری در میزان اندوتوکسین متصل به ذرات نداشتند. ایستگاه های سعید آباد، لواسان و بین فشم و لواسان نیز در یک گروه آماری قرار داشتند و میزان اندوتوکسین متصل به ذرات در این ایستگاه به مقدار متوسطی مشاهده شد (شکل ۱).

نسخه پیش انتشار



شکل ۱: میانگین غلظت اندوتوکسین کل، آزاد و متصل در طول رودخانه جاجرود

Figure 1: Average concentration of total, free and bound endotoxin along Jajrud River

فعالیت اندوتوکسین در طول فرآیند تصفیه خانه

تاثیر فرآیند تصفیه بر میزان اندوتوکسین در طی مراحل مختلف مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس مراحل مختلف تصفیه سبب تغییر در میزان اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات در طول تصفیه می‌گردد و این تغییرات از نظر آماری معنی دار بود (جدول ۶). بر اساس این نتایج بیشترین میزان اندوتوکسین آزاد در مرحله اختلاط سریع مشاهده شد و کمترین میزان اندوتوکسین آزاد نیز مربوط به مرحله آب تصفیه شده بود. همچنین بین میزان اندوتوکسین آزاد در مرحله اختلاط سریع و مرحله صافی‌ها تفاوت معنی داری مشاهده نشد. در سایر مراحل تصفیه شامل آب خام ورودی، انعقاد و فیلتراسیون میزان اندوتوکسین آزاد کمتر از مراحل اختلاط سریع و صافی‌ها بود. بین این سه مرحله از فرآیند تصفیه نیز تفاوت معنی دار وجود داشت.

میزان اندوتوکسین متصل به ذرات نیز در فرآیند تصفیه در مراحل مختلف متغیر بود. بیشترین میزان اندوتوکسین متصل مربوط به مراحل جداسازی و اختلاط سریع بود. میزان اندوتوکسین در این دو مرحله از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشت. میزان اندوتوکسین متصل به ذرات در سه مرحله آب خام بدون کلر، آب خام و آب صافی‌ها مشابه بود و بین این سه مرحله

از نظر اندوتوکسین متصل تفاوت معنی داری مشاهده نشد. کمترین میزان اندوتوکسین متصل نیز همانند اندوتوکسین آزاد در مرحله آب تصفیه شده مشاهد شد (شکل ۲).

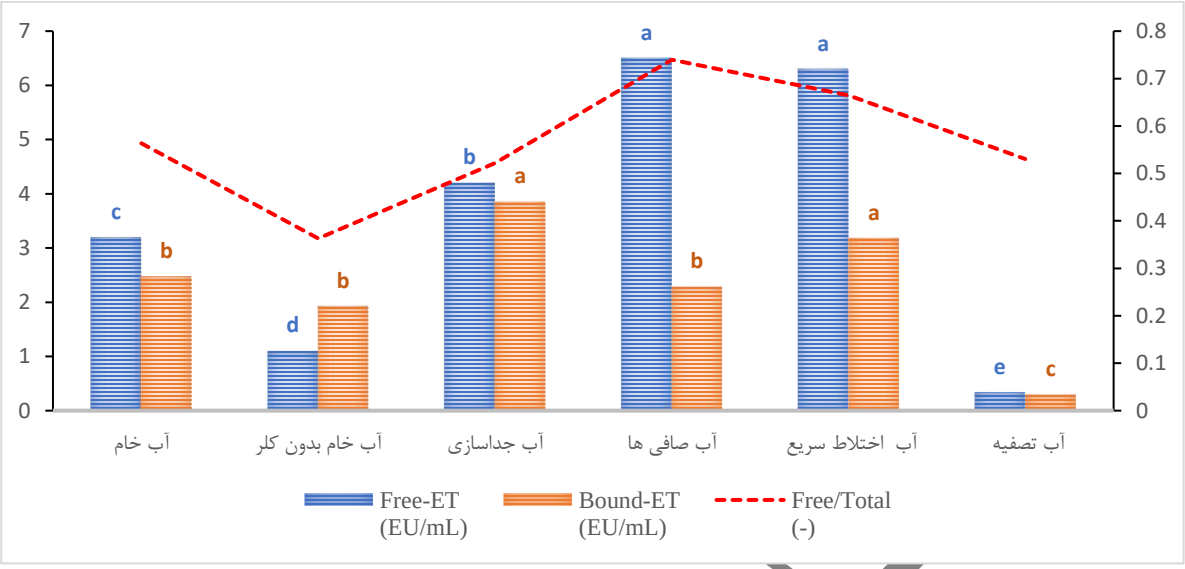
جدول ۶: نتایج آنالیز واریانس میزان اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات در فرآیند تصفیه

Table 6: Results of analysis of variance of free endotoxin and attached to particles in the purification process

	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (اندوتوکسین آزاد) Sum of squares	میانگین مربعات Mean squares	مقدار F	P- Value
مراحل تصفیه	5	109.420	21.8840	291.38	0.000*
خطا	12	0.901	0.0751		
مقدار کل	17	110.321			
	درجه آزادی (df)	**مجموع مربعات (اندوتوکسین متصل) Sum of squares**	**میانگین مربعات Mean squares**	**مقدار F**	**P- Value**
مراحل تصفیه	5	28.292	5.6583	31.91	0.000*
خطا	12	21.128	0.1773		
مقدار کل	17	30.420			

*از نظر آماری معنی دار است.

نسخه پیش انتشار



شکل ۲: میانگین غلظت اندوتوکسین کل، آزاد و متصل در فرآیندهای مختلف تصفیه (حروف مشابه از نظر آماری معنی دار نیستند.)

Figure 2: Average concentration of total, free and bound endotoxin in different purification processes

تعداد باکتری‌های هتروترف در طول مسیر رودخانه جاجرود

بر اساس نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس روند تغییرات باکتری های هتروترف در طول مسیر رودخانه متفاوت بود بین نقاط نمونه برداری از نظر میزان باکتری‌های هتروترف تفاوت معنی داری مشاهده شد (جدول ۷).

جدول ۷: نتایج آنالیز واریانس تعداد باکتری‌های هتروترف در طول رودخانه جاجرود

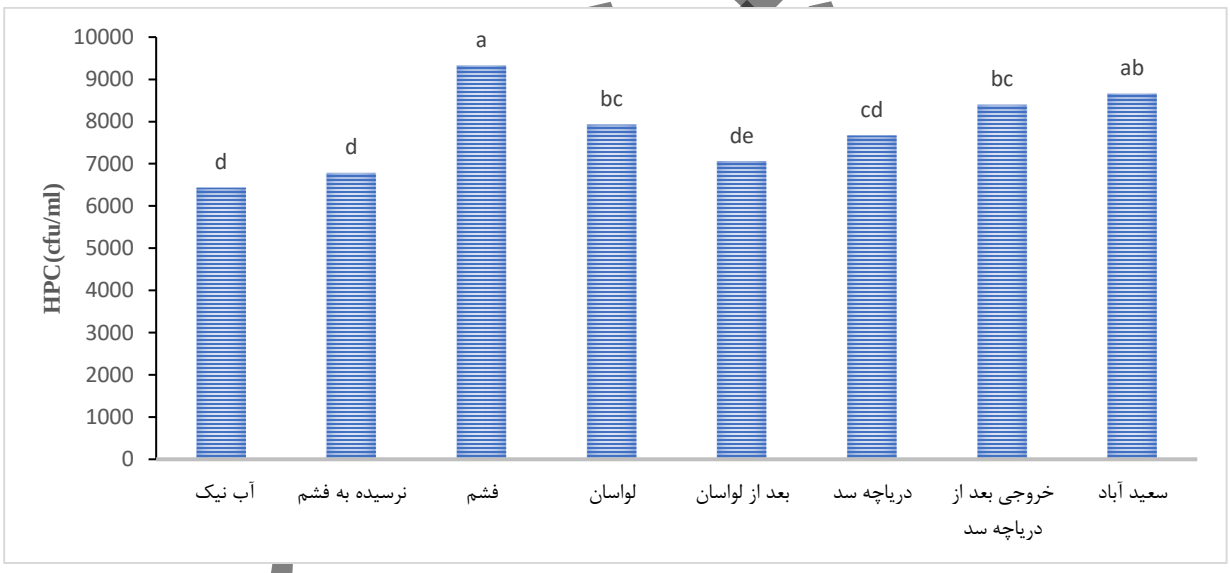
Table 7: The results of variance analysis of the number of heterotrophic bacteria along the Jajrud river

	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات Sum of squares	میانگین مربعات Mean squares	مقدار F	P- Value
رودخانه جاجرود	7	20802800	2971829	38.27	0.000*
خطا	16	1242400	77650		
مقدار کل	23	22045200			

*از نظر آماری معنی دار است.

بیشترین تعداد باکتری های هتروترف در منطقه فشم و سعید آباد مشاهده شد. این دو محل نمونه برداری از نظر تعداد باکتری‌های هترترف تفاوت معنی داری نداشتند. همچنین بعد از این نقاط، نقاط نمونه برداری دریاچه سد لتیان، لواسان و خروجی بعد از سد لتیان بیشترین تعداد باکتری هتروترف به دست آمد و بین این نقاط نیز از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین کمترین تعداد باکتری‌های هتروترف مربوط به ایستگاه‌های آبنیک، بین فشم و لواسان و ایستگاه بین آبنیک و فشم مشاهده شد این سه مکان نیز از نظر آماری مشابه بودند و تفاوت معنی داری نداشتند(شکل ۳).

همچنین جهت بررسی تاثیر تعداد باکتری‌های هتروترف بر میزان اندوتوکسین موجود در رودخانه جاجرود و ارتباط بین این دو پارامتر از آزمون همبستگی پیرسون استفاده گردید. بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمون بین میزان اندوتوکسین کل، آزاد و اندوتوکسین متصل به ذرات ارتباط معنی داری وجود داشت.($p=0.000$) در این بین قوی ترین ارتباط بین میزان اندوتوکسین کل و باکتری‌های هتروترف مشاهده شد ($r=0.86$). همچنین ضریب همبستگی بین میزان اندوتوکسین آزاد و متصل به ترتیب $r=0.82$ و $r=0.71$ به دست آمد.



شکل ۳:تعداد باکتری‌های هتروترف در طول مسیر رودخانه جاجرود(حروف مشابه از نظر آماری معنی دار نیستند.)

Figure 3: The number of heterotrophic bacteria along Jajrood river

تعداد باکتری‌های هتروترف در طی فرآیندهای مختلف تصفیه

تعداد باکتری‌های هتروترف در طی فرایند تصفیه مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس روند تصفیه سبب کاهش باکتری‌های هتروترف گردید و بین میزان باکتری‌های هتروترف در مراحل مختلف تصفیه تفاوت معنی داری وجود داشت (جدول ۸).

جدول ۸: نتایج آنالیز واریانس تعداد باکتری‌های هتروترف در فرآیند تصفیه

Table 8: Results of variance analysis of the number of heterotrophic bacteria in the purification process

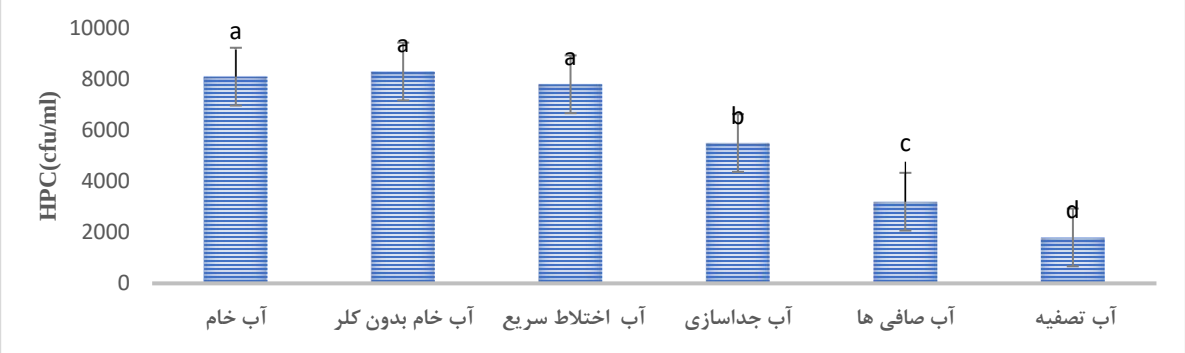
	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات Sum of squares	میانگین مربعات Mean squares	مقدار F	P- Value
مراحل تصفیه	5	111058333	22211667	179.29	0.000*
خطا	12	1486667	123889		
مقدار کل	17	112545000			

*از نظر آماری معنی دار است.

تعداد باکتری‌های هترترف بین ۸۳۰۰ CFU/ml تا ۱۸۰۰ متغیر بود. بیشترین تعداد باکتری‌های هتروترف در آب ورودی و آب اختلاط سریع مشاهده شد و بین این مراحل از نظر آماری تفاوت معنی داری مشاهده نشد. همچنین تعداد باکتری‌های هتروترف در آب ورودی در دو حالت کلرزنی مقدماتی (۸۱۰۰ CFU/ml) و بدون کلرزنی اولیه (۸۳۰۰ CFU/ml) تفاوت معنی داری نداشت. اما در هر مرحله از تصفیه از میزان باکتری‌های هتروترف کاسته شد. کمترین میزان آن در آب تصفیه شده(۱۸۰۰ CFU/ml) مشاهده شد (شکل ۴).

همچنین جهت بررسی ارتباط بین تعداد باکتری‌های هتروترف و میزان اندوتوکسین کل، آزاد و متصل از آزمون پیرسون استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده هیچ ارتباط معنی داری بین میزان اندوتوکسین و تعداد باکتری‌های هتروترف در طی فرآیند تصفیه مشاهده نشد ($r=0.16, p=0.521$).

نسخه پیش انتشار



شکل ۴- تعداد باکتری‌های هتروترف در طول مسیر رودخانه جاجرود (حروف مشابه از نظر آماری معنی دار نیستند.)

Figure 4: The number of heterotrophic bacteria different purification processes

نتایج و بحث

در محیط‌های آبی گروه وسیعی از میکروارگانیسم‌های آلوده کننده آب مانند باکتری‌های گرم منفی حضور دارند. یکی از علل حضور این باکتری‌ها به دلیل آلودگی ناشی از تخلیه پساب‌های خانگی و تجاری و سایر فعالیت‌های انسانی به آب رودخانه‌ها است. در این مطالعه روند تغییرات اندوتوکسین در طول مسیر رودخانه مورد بررسی قرار گرفت.

بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین میزان فعالیت اندوتوکسین در مناطقی از رودخانه که در مجاورت مناطق مسکونی و رستوران‌ها قرار داشتند بیش از مناطقی بود که فعالیت‌های انسانی در مسیر رودخانه کمتر بود. به طوری که بیشترین میزان اندوتوکسین آزاد و متصل در ایستگاه فشم مشاهده شد. در حالی که کمترین میزان اندوتوکسین مربوط به سرچشمه جاجرود منطقه آب نیک و مسیر آب نیک به فشم بود در این دو ایستگاه مناطق مسکونی وجود نداشت و فعالیت انسانی کمی مشاهده می‌شد. میزان اندوتوکسین متصل به ذرات با حرکت به سمت مناطق شهری در طول رودخانه افزایش یافت. در حالی که نسبت اندوتوکسین آزاد به اندوتوکسین متصل در نقاطی مانند آنبیک بیشتر بود اما در نقاط آلوده تر رودخانه سهم اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات برابر بود. افزایش این نسبت می تواند به دلیل افزایش ذرات معلق در آب و افزایش آلودگی آب ناشی از ورود فاضلاب در طول مسیر رودخانه باشد. نتایج مطالعه Can *et al.* (۲۰۱۳) نیز نشان داد افزایش ذرات معلق در مناطق آلوده میزان اندوتوکسین متصل به ذرات را افزایش می‌دهد. همچنین بیشترین فعالیت اندوتوکسین و بیشترین تعداد باکتری-های هتروترف در طول رودخانه جاجرود در ایستگاه فشم مشاهده شد. آنچه که در این ایستگاه و این قسمت از وضعیت رودخانه به وضوح قابل مشاهده بود مناطق مسکونی و روستوران‌های طراف این رودخانه، عمق و سرعت کمتر آب و میزان بسیارزیاد ذرات معلق و محلول در آب رودخانه بود، که هریک از این موارد می‌تواند بر میزان فعالیت اندوتوکسین موثر باشد.

نسخه پیش انتشار

با توجه به اینکه ورود فاضلاب‌های خانگی به همراه عمق کم آب که سبب کاهش سرعت آب نیز می‌گردد محیط مناسبی را برای رشد انواع باکتری‌های فراهم می‌کند و حضور باکتری‌های گرم منفی در این محیط می تواند در طی فرآیند تولید و تکثیر، مرگ و لیز سلولی اندوتوکسین را به آب وارد کند (Zhang *et al.*۲۰۱۹). با توجه به فراوان بودن سطح ذرات معلق و محلول در این قسمت پتانسیل خطر اندوتوکسین برای سلامتی انسان و اکوسیستم نیز افزایش می‌یابد چرا که بخشی از اندوتوکسین می‌تواند به این ذرات متصل شده و به بخش‌های دیگر رودخانه نیز منتقل گردد. در پژوهشی که (۲۰۱۸) *et al.* Simazaki به بررسی فعالیت اندوتوکسین در چهار تصفیه خانه با منابع آب ورودی مختلف از چند رودخانه و آب زیرزمینی را مورد بررسی قرار داد نتایج قابل توجهی از فعالیت اندوتوکسین و سرنوشت آن در طی مسیر رودخانه و همچنین ترکیب اندوتوکسین‌های آزاد و متصل و نسبت این دو نوع اندوتوکسین به اندوتوکسین کل به دست آمد. نتایج این پژوهش نشان داد سطح فعالیت اندوتوکسین در آب رودخانه به طور موثری تحت تاثیر میزان پساب ورودی به آن در پایین دست رودخانه است. که سبب افزایش فعالیت اندوتوکسین می‌گردد که در نهایت بر کیفیت آب خروجی از تصفیه خانه نیز بسیار موثر است. از این رو جهت حفظ سلامتی آب و کیفیت بهتر آب تصفیه شده، اقدامات لازم باید از آب منابع ورودی انجام گردد و فرآیندهای تصفیه به تنهایی تضمین کننده کیفیت آب نهایی خروجی از تصفیه خانه نخواهند بود. همچنین این کیفیت آب ورودی بر هزینه‌های تمام شده پس از تصفیه آب نیز تاثیر فراوانی خواهد داشت. از این رو بررسی با توجه به موارد ذکر شده بررسی کیفیت آب رودخانه بیش از بیش ضروری است.

از طرف دیگر کمترین میزان فعالیت اندوتوکسین که سطح اندوتوکسین متصل به ذرات کمی نیز داشت در سرچشمه آب رودخانه جاجرود در آب نیک مشاهده شد که این ادعا را که فعالیت‌های انسانی، نوع کاربری، میزان آلودگی بر فعالیت اندوتوکسین موثر است را تا حدودی اثبات می‌نماید. در قسمت ابتدایی ایستگاه آب نیک که برداشت آب انجام شد کاربری خاصی جز یک گلخانه کوچک و تعداد چند منطقه مسکونی هیچ نوع کاربری دیگری مشاهده نشد.

نکته حائز اهمیت دیگری که باید به آن توجه شود این است که فعالیت کل اندوتوکسین صرفا از میزان اندوتوکسین آزاد موجود در آب به دست نمی‌آید و بسته به نوع منطقه و تعداد ذرات متعلق در هر محیط می‌تواند افزایش و کاهش یابد. زیرا با توجه به خاصیت آمفیفیلیک اندتوکسین می‌تواند به ذرات نیز متصل گردد (Zhang *et al.*۲۰۱۸). از این رو در مبحث بررسی فعالیت اندوتوکسین این نکته بسیار حائز اهمیت است و می‌تواند میزان خطر این آلاینده نوظهور را افزایش دهد. در این مطالعه میانگین نسبت اندوتوکسین آزاد به اندوتوکسین متصل در طول مسیر رودخانه جاجرود ۱.۱۹Eu/ml تا ۰.۷متغیر بود.

نسخه پیش انتشار

نتایج این مطالعات با مطالعات به دست آمده از پژوهش (Simazaki *et al*.۲۰۱۸ ؛ Can *et al*.۲۰۱۳) قابل مقایسه است. با توجه به مشاهدات انجام شده و داده‌های به دست آمده، فعالیت اندوتوکسین کل در این مطالعه تا حدودی تحت تاثیر عواملی مانند تغییرات جریان رودخانه، عمق آب، میزان ورود پساب به رودخانه و فعالیت‌های انسانی بود. همچنین آنچه که در این مطالعه هم در طول مسیر رودخانه و هم در طی فرآینده تصفیه مشاهده شد آن بود که اندوتوکسین هیچ گاه در تمام مراحل بررسی به یک صورت افزایش نیافته و در طی مسیر رودخانه و در طول فرایندهای مختلف تصفیه میزان اندوتوکسین آزاد به اندتوکسین متصل به ذرات متفاوت و متغیر بود و بسته به نوع فعالیت و شرایط آب میزان هر یک از این دو نوع افزایش یا کاهش یافت. در مناطقی از رودخانه که عمق کمتر و رودخانه مسطح تر بود و آب سرعت کمتری داشت میزان اندوتوکسین متصل بیش از اندوتوکسین آزاد بود. میزان اندوتوکسین آزاد در مناطقی از رودخانه که آب جریان بیشتری داشت بیش از اندوتوکسین متصل بود. در مقابل دریاچه پشت سدکه جریان آب بسیار کم و در حد سطحی بود بیشترین میزان اندوتوکسین کل متعلق به اندوتوکسین متصل بود. در سایر مناطق نیز این مقدار متغیر بود و با جریان و عمق رودخانه و سایر مواردی همچون فعالیت‌های انسانی تحت تاثیر قرار می‌گرفت.

میزان اندوتوکسین در آب ورودی به تصفیه خانه در آب با کلرزنی مقدماتی بیش از آب بدون کلرزنی بود که این افزایش ناشی از اندوتوکسین آزاد شده از باکتری‌هایی است که تحت تاثیر کلرزنی می‌میرند. نتایج پژوهش Can *et al.* (۲۰۱۵) و *et* (۲۰۱۵) Huang *al.* نیز نشان داد کلرزنی سبب افزایش اندوتوکسین در حین فرآیند تصفیه می‌گردد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. نسبت اندوتوکسین آزاد و متصل در آب ورودی در دوحالت کلرزنی و بدون کلرزنی ۱.۲-۰.۵۶ Eu/ml متغیر بود. و میزان کلر آزاد در آب کلرزنی بیش از آب بدون کلرزنی بود این میزان می تواند ناشی از فرآیند لیز سلولی و آزاد شدن اندوتوکسین به آب باشد. به طور کلی فرآیند کلرزنی هم می‌تواند سبب کاهش اندوتوکسین گردد هم می‌تواند میزان آن را افزایش دهد. زیرا کلرزنی می‌تواند سبب تغییر در تعداد باکتری‌های مثبت و منفی جامعه میکروبی آب گردد. در مورد با مرگ باکتری‌های گرم منفی در اثر کلرزنی اندوتوکسین متصل با توجه افزایش می‌یابد و اندوتوکسین آزاد با تجزیه اولیه لیپید A کاهش می‌یابد (Simazaki *et al.* ۲۰۱۵) موارد گفته شده منطبق بر نتایج به دست آمده از تغییرات اندوتوکسین در طول کلرزنی در این مطالعه است.

میزان اندوتوکسین در آب اختلاط سریع بیش از سایر مراحل تصفیه بود اما پس از رسیدن به صافی‌های ته نشینی میزان اندوتوکسین کاهش یافت که این کاهش بیشتر ناشی از اندوتوکسین متصل به ذرات است که در این مرحله ذرات موجود در

نسخه پیش انتشار

آب ته نشین شده و سبب می‌گردد سطح فعالیت اندوتوکسین متصل و به دنبال آن اندوتوکسین کل کاهش یابد. در نهایت کمترین میزان اندوتوکسین در آب خروجی مشاهده شد که ناشی از تاثیر مجموع کل فرایندهای تصفیه شامل ته نشینی ذرات، کاهش میکروارگانیسم‌ها و باکتری های موجود در آب و سایر موارد می‌باشد. اما به طور کلی این نکته حائز اهمیت است که زمان هیدرولیکی طولانی مدت و سطح کلر آزاد باقی مانده بر سرنوشت اندوتوکسین پس از خرج آب از تصفیه خانه و افزایش آن به صورت خطرناکی موثر است زیرا میزان کلرزنی می‌تواند سبب تغییر در جامعه میکروبی موجود در آب مخزن شیرآلات آب تصفیه شده گردد و تعداد باکتری‌های گرم منفی در آب را کاهش یا افزایش دهد. از این رو باید به این مورد به شدت توجه گردد. نتایج این پژوهش با نتایج (Rapala *et al*. ۲۰۰۲ ؛ Simazaki *et al*. ۲۰۱۵ ؛ Zhang *et al*. ۲۰۱۸؛ Can *et al*. ۲۰۱۳) مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری

همانطور که در این مطالعه مشخص شد، سرنوشت و میزان فعالیت اندوتوکسین در آب به شدت به منابع آب و سرچشمه و فرایندهای مختلف در طی مسیر سرچشمه تا ورود به تصفیه خانه وابسته است. میزان اندوتوکسین کل در طی فرآیندهای مختلف متغیر خواهد بود و در هیچ نقطه ای از رودخانه فعالیت یکسانی نخواهد داشت. همچنین عوامل مختلفی سبب تغییر در جامعه میکروبی در طول مسیر رودخانه و فرآیند تصفیه می‌گردند که می‌تواند بر میزان فعالیت نهایی اندوتوکسین موثر باشند. توجه به این تغییرات جامعه میکروبی در طول مسیر و همچنین میزان ذرات معلق و محلول می‌تواند در شناسایی نقاط کلیدی و بحرانی فعالیت اندوتوکسین بسیار حائز اهمیت باشد. از این رو انجام مطالعات عمیق در مورد تفاوت در جوامع میکروبی که به سرنوشت و میزان فعالیت متفاوت اندوتوکسین در سیستم های تامین آب، از جمله آب منبع، فرآیند تصفیه، شبکه توزیع آب می‌گردد اکیدا توصیه می‌گردد. همچنین توجه به این نکته نیز بسیار حائز اهمیت است که تعداد باکتری‌های هتروترف به تنهایی نماینده تمام باکتری های زنده در آب نیست و اطلاعات محدودی در مورد آن موجود است که در نهایت می‌تواند بر وقوع و سرنوشت باکتری های زنده که به فعالیت اندوتوکسین کمک می کنند موثر باشد. توسعه شاخص ها و متدولوژی های مناسب تر که اکثر باکتری های گرم منفی را پوشش می‌دهد و فرایند انتشار اندوتوکسین در آب را واضح تر می‌نماید، به عنوان مثال، رنگ آمیزی فلورسانس در مطالعات آینده مفید خواهد بود.

سپاسگزاری

نسخه پیش انتشار

نویسندگان از حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران که از این مطالعه با شماره طرح (۴۰۰۰۴۶) حمایت کردند کمال تشکر را دارد.

منابع

1. Anderson, W. B., Slawson, R. M., and Mayfield, C. I. ۲۰۰۲. Review/Synthèse A review of drinking-water-associated endotoxin, including potential routes of human exposure. Microbiology. ۴۸(۷), -۵۷۶ ۵۸۷.
2. Anderson, W. B., Mayfield, C. I., Dixon, D. G. and Huck, P. M., ۲۰۰۳. Endotoxin inactivation by selected drinking water treatment oxidants. Water Research. ۳۷(۱۹), ۴۵۵۳-۴۵۶۰.
3. Buttke, T. M., and Ingram, L. O., ۱۹۷۵. Comparison of lipopolysaccharides from Agmenellum quadruplicated to Escherichia coli and Salmonella typhimurium using thin-layer chromatography. Bacteriology. ۱۲۴(۳), ۱۵۶۶-۱۵۷۳.
4. Can, Z., Wenjun, L., Wen, S., Minglu, Z., Lingjia, Q., Cuiping, L. and Fang, T., ۲۰۱۳. Endotoxin contamination and control in surface water sources and a drinking water treatment plant in Beijing, China. Water Research. ۴۷, ۳۵۹۱-۳۵۹۹.
5. https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.04.009.
6. Gorbet, M. B., and Sefton, M. V., ۲۰۰۵. Endotoxin: the uninvited guest. Biomaterials. ۲۶ (۳۴), -۶۸۱۷ ۶۸۱۱.
7. Haas, C.N., Meyer, M.A., Paller, M.S. and Zapkin, M.A., ۱۹۸۳. The utility of endotoxins as a surrogate indicator in potable water microbiology. Water Research. ۱۷, ۸۰۷. ۸۰۳- https://doi.org/10.1016/0043-1354(83)90075-1.
8. Huang, H., Wu, Q.Y., Yang, Y., and Hu, H.Y., ۲۰۱۱. Effect of chlorination on endotoxin activities in secondary sewage effluent and typical gram-negative bacteria. Water Research. ۴۵, ۴۷۵۷-۴۷۵۱. https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.06.013.

نسخه پیش انتشار

9. Luzio, N.R., Di, Friedmann, T.J., ۱۹۷۳. Bacterial endotoxins in the environment. Nature. ۲۴۴, -۵۱ ۴۹. https://doi.org/10.1038/244049a0.

10. Mirjani, M., Soleimani, M., and Salari, V., ۲۰۱۹. An Investigation of the Potential of *Vibrio fischeri* Bacterium for Monitoring Oil Pollution in Aqueous Media. The JWSS-Isfahan University of Technology. ۲۴(۱), ۹۵-۱۰۶ (In Persian with English abstract).

11. Ohkouchi, Y., Ishikawa, S., Takahashi, K., and Itoh, S., ۲۰۰۷. Factors associated with endotoxin fluctuation in an aquatic environment and characterization of endotoxin removal in the water treatment process. Environmental Engineering Research. ۴۴, ۲۴۷-۲۵۴.

1. Rasuli, L., Dehghani, M. H., Aghaei, M., Mahvi, A. H., Mubarak, N. M., and Karri, R. R., ۲۰۲۲. Occurrence and fate of bacterial endotoxins in the environment (air, water, wastewater) and remediation technologies: An overview. Chemosphere. ۱۳۵۰۸۹.

12. Rapala, J., Lahti, K., Reaseanen, L.A., Esala, A.L., Niemelea, S.I., and Sivonen, K., ۲۰۰۲. Endotoxins associated with cyanobacteria and their removal during drinking water treatment. Water Research. ۳۶, ۲۶۲۷-۲۶۳۵.

13. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00478-X.

14. Simazaki, D., Kubota, R., Suzuki, T., Akiba, M., Nishimura, T., and Kunikane, S., ۲۰۱۵. Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health. Water Research. ۷۶, ۱۸۷-۲۰۰. https://doi.org/10.1016/76.

15. Simazaki, D., Hirose, M., Hashimoto, H., Yamanaka, S., Takamura, M., Watanabe, J., and Akiba, M., ۲۰۱۸. Occurrence and fate of endotoxin activity at drinking water purification plants and healthcare facilities in Japan. Water Research. ۱۴۵, ۱-۱۱. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.08.009.

16. Sykora, J. L., and Keleti, G., ۱۹۸۱. Cyanobacteria and endotoxins in drinking water supplies. The water environment: algal toxins and health. ۲۸۵-۳۰۱.

17. Trent, M. S., Stead, C. M., Tran, A. X., and Hankins, J. V., ۲۰۰۶. Invited review: diversity of endotoxin and its impact on pathogenesis. endotoxin research. ۱۲(۴), ۲۰۵-۲۲۳.

نسخه پیش انتشار

18. Zamani, M., Pourmadadi, M., Ebrahimi, S. S., Yazdian, F., and Shayeh, J. S., ۲۰۲۲. A novel labeled and label-free dual electrochemical detection of endotoxin based on aptamer-conjugated magnetic reduced graphene oxide-gold nanocomposite. Electroanalytical Chemistry. ۹۰۸, ۱۱۶۱۱۶. https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2022.116116.
19. Zhang, J., Khan, I., Zhang, Q., Liu, X., Dostalek, J., Liedberg, B. and Wang, Y., ۲۰۱۸. Lipopolysaccharides detection on a grating-coupled surface plasmon resonance smartphone biosensor. Biosensors and Bioelectronics. ۹۹, ۳۱۲-۳۱۷. https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.07.048.
20. Zhang, C., Tian, F., Zhang, M., Zhang, Z., Bai, M., Guo, G. ... and Wang, L., ۲۰۱۹. Endotoxin contamination, a potentially important inflammation factor in water and wastewater: A review. Science of The Total Environment. ۶۸۱, ۳۶۵-۳۷۸.

نسخه پیش انتشار

Original Article

Investigating the process of endotoxin changes from the drinking water supply source to the water leaving the treatment plant (Case study: Jajrud River)

Reyhane Dehghan, Khosro Piri† and Asghar Abdoli

Department of Biodiversity and Ecosystem Management, Institute of Environmental Sciences Research, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Introduction: The purpose of this study is to investigate endotoxin contamination by separating total endotoxin, free endotoxin, and attached particles from the source of the Jajrud River to the Letian dam and the water inlet of this dam to the treatment plant to the outlet and treated water to identify the source and fate of the types Endotoxin is the identification of the key and critical points of this emerging pollutant along the Jajroud river route, as well as the effect of the implementation of purification processes to reduce the endotoxin produced at each stage and ensure the low level of endotoxin in the outgoing drinking water; to identify and manage the key and critical points of endotoxin activity based on that.

Material and methods: Sampling in the autumn season of 1401 along the Jajroud River, taking into account the effect of human activities, the entry of sewage into the river, the water depth, and the course of the river from Ab Nik stations, between Ab Nik and Fashm, Fashm, Between Fashm and Lavasan, Lavasan, Letian dam lake, the water outlet after the dam lake and Saeed Abad, as well as the inlet water of Letian dam, to the treatment plant from incoming raw water, chlorinated incoming water, separation water, filters, rapid mixing and Finally, the water was discharged from the treatment plant. Dark glass bottles were used for sampling. The samples were kept cool and immediately transferred to the laboratory. The physical and chemical properties of the sampled water were first measured to measure the activity of endotoxin. Then, the LAL kit (Kinetic-Chromogeni LaL kit, Bioendo ™ KC0828) was used to measure endotoxin by separating total, free, and bound endotoxin.

Results and disscussion: This research showed that the level of endotoxin activity in Jajrud River water differed in different sampling stations. The amount of total endotoxin varied between 53 and 85 Eu/ml. Free endotoxin and endotoxin bound to particles had different values in other stations. The highest amount of free endotoxin attached to particles was observed in the outlet stations of Letyan Dam Lake and Letyan Dam Lake, respectively. The activity of total endotoxin, free and bound to endotoxin, was also variable during the

† Corresponding Author: *Email Address*. p_khosro@sbu.ac.ir

نسخه پیش انتشار

purification process. The amount of total endotoxin during different processes was observed between 0.6 and 9.4 Eu/ml. The highest activity of free endotoxin was observed in the water of sedimentation filters, while the activity of endotoxin bound to particles in rapid mixing water was higher than in other samples. Also, the chlorination process is a critical process that plays an important role in the amount of endotoxin activity both during the treatment process and in the water leaving the treatment plant. Because during this process, the composition of the microbial community will change, and thus, by reducing or increasing Gram-negative bacteria, it can increase or decrease endotoxin. Also, the amount of free chlorine in purified water is one of the essential things that can affect the amount of endotoxin after leaving the treatment plant. On the other hand, chlorination causes lyses, which can increase free endotoxin bound to particles. According to the results, among the key stations along the Jajrud River are the stations close to the residential areas, which include Fasham and Lavasan because these areas, due to the high level of pollution they have, provide a suitable environment for the microbial community and They create gram-negative bacteria.

Conclusion: It is suggested to carry out more in-depth studies on the difference in microbial communities along the Jajrud River and to determine the relative level of gram-negative bacteria, especially in critical points with more pollution.

Keywords: polluted water, aquatic ecosystem, heterotrophic bacteria, chemical and physical properties of water.

نسخه پیش انتشار