

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)

Received: 2023.05.08

Accepted: 2023.09.14

Reyhane Dehghan, Khosro Piri,*  Asghar Abdoli

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

EXTENDED ABSTRACT

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 water inlet of this dam to the treatment plant to 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.

Materials 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 determine 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: This research showed that the level of endotoxin activity in Jajrud River water differed at 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 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.

How to cite this article:

Dehghan, R., Piri, Kh. and Abdoli, A., 2025. Investigating the Process of Endotoxin Changes from the Drinking Water Supply Source to the Water Leaving the Treatment Plant (Case Study: Jajrud River). Adv. Environ. Sci. 23(3): 547-562.

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

DOI: 10.48308/envs.2023.1302



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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۳

ریحانه دهقان، خسرو پیری*، اصغر عبدلی

گروه تنوع زیستی و مدیریت اکوسیستم ها، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده مبسوط

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 فرایندهای تصفیه بر کاهش 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 ۱۴۰۱ در 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 کلر زنی 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 تا ۸۵ Eu/ml 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 دریاچه سد لتیان مشاهده شد. فعالیت اندوتوکسین کل، آزاد و متصل به ذرات در طی فرایند تصفیه نیز متغیر بود. میزان اندوتوکسین کل در طی فرایندهای مختلف بین ۰.۶ تا ۹.۴ Eu/ml 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 فرایند کلیدی که نقش مهمی در میزان فعالیت اندوتوکسین هم در طی فرایند تصفیه و هم در آب خروجی از تصفیه خانه فرایند کلر زنی بود. زیرا در طی این فرایند 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 اهمیت است که می‌تواند بر میزان اندوتوکسین پس از خروج از تصفیه خانه موثر باشد. از سوی دیگر کلر زنی سبب لیزسولی 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.

نتیجه گیری: میزان آلودگی به اندوتوکسین در طول رودخانه جاجرود بسته به مکان نمونه برداری متفاوت بود. فرایند 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 هتروتروف، خصوصیات شیمیایی و فیزیکی آب.

استناد به این مقاله: دهقان، ر.، خ. پیری و ا. عبدلی. ۱۴۰۴. بررسی روند تغییرات اندوتوکسین از منبع تامین آب آشامیدنی تا آب خروجی از تصفیه‌خانه (مطالعه موردی: رودخانه جاجرود). فصلنامه علوم محیطی نوین. ۵۶۲-۵۴۷: (۳) ۲۳.

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

DOI: 10.48308/envs.2023.1302



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 (Zhang *et al.*, 2018). 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 می گردد (Mirjani *et al.*, 2020). از طرف دیگر کنترل آلودگی آب در دهه های 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.*, 2011) و آلاینده های میکروبی یکی از بحرانی ترین مشکلات بهداشتی در سلامت عمومی هستند (Gorbet and Sefton, 2005). 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 می کنند که می توانند در آب باقی بمانند که متأسفانه 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.*, 2023).

اندوتوکسین از جمله آلاینده های نوظهور است که بخشی از ترکیب پیچیده لیپوپلی ساکارید است (Buttke and Ingram, 1975؛ Sykora and Keleti, 1981). اندوتوکسین در غشای دیواره سلولی باکتری های گرم منفی قرار دارد و به هنگام از بین رفتن سلول، هنگام رشد و تقسیم طبیعی سلول به محیط اطراف خود آزاد می شود. از این رو اندوتوکسین در آب، خاک و هوا و در سایر محیط ها حضور دارد (Trent *et al.*, 2006). 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.*, 2022). از طرف دیگر اندوتوکسین ها، مولکول هایی پایدار در برابر حرارت و شرایط اسیدی و قلیایی هستند و فعالیت های بیولوژیکی و واکنش های 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 ۱۸۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد و شرایط فوق اسیدی یا قلیایی است (Zhang *et al.*, 2019).

بررسی فعالیت های اندوتوکسین در محیط های 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 (Luzio and Friedmann 1973) اندوتوکسین موجود در آب های سطحی، زیرزمینی، آشامیدنی و نوشیدنی های مختلف را در ایالت متحده مورد بررسی قرار دادند و سطح اندوتوکسین را $1 - 400 \mu\text{g/mL}$ گزارش دادند. Hass *et al.* (1983) نیز یک مطالعه در دو سیستم تصفیه و توزیع آب در ایالت متحده انجام دادند و سطوح اندوتوکسین را بین $3 - 14 \mu\text{g/mL}$ بیان کردند. پس از دهه ۱۹۸۰ به دلیل تفاوت در فعالیت اندوتوکسین در بین گونه های مختلف باکتریایی واحد فعالیت در حجم (Eu/ml) جایگزین واحد وزن بر حجم شد (ng/ml). (2002) *et al.* Rapala غلظت اندوتوکسین در منابع آبی و تصفیه خانه های آب آشامیدنی در فنلاند را در آب ورودی بین ۱۸ تا ۱۳۵۶ Eu/ml و در آب تصفیه شده بین ۳ - ۱۵ Eu/ml برآورد کردند.

به دلیل خاصیت آمفیفیلیک بودن اندوتوکسین این آلاینده می تواند به ذرات معلق متصل شود. از این رو تنها تعداد باکتری های 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.*, 2002).

با توجه به خطراتی که اندوتوکسین برای انسان ایجاد می‌کند و از آنجایی که رودخانه‌ها منبع اصلی آب برای تصفیه خانه‌های 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 ویژه‌ای صورت گیرد. از جمله مطالعات انجام شده در بررسی اندوتوکسین در رودخانه‌ها می‌توان به مطالعات (Ohkouchi *et al.* 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 باکتری‌های 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 اکوسیستم‌های آبی و بررسی کیفیت آب نه تنها از منظر میزان اندوتوکسین بلکه از نظر تأثیری که بر سلامت انسان و سیستم ایمنی می‌گذارد، ضروری است. (Can *et al.* 2013) 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 کلرزی به ترتیب باعث

افزایش اندوتوکسین متصل و آزاد می‌شوند. همچنین در مطالعه ای (Simazaki *et al.* 2018) 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 تأثیر فرآیندهای تصفیه در کاهش اندوتوکسین پرداختند. نتایج این پژوهش نشان داد که نشینی بیشترین تأثیر را در حذف اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات دارد در حالی که کلرزی سبب کاهش متوسط در اندوتوکسین متصل و کاهش کم در اندوتوکسین آزاد می‌گردد. اما فیلتراسیون کربن میزان اندوتوکسین را در طول فرآیند تصفیه افزایش می‌دهد. (Mohamed *et al.* 2022) راندمان حذف اندوتوکسین از تصفیه خانه‌های آب آشامیدنی در مصر را به عنوان نمونه ای از روش‌های 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 خانه‌ها متغیر بود. فرآیندهای تصفیه مرسوم در این تصفیه خانه‌ها می‌توانند مقادیر قابل توجهی از اندوتوکسین متصل و سلول‌های 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 خانه‌ها باید بهینه‌سازی 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 اندوتوکسین و 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.

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. بطری‌های نمونه در جای خنک نگهداری شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت تجزیه و تحلیل فعالیت اندوتوکسین و شمارش صفحات هتروتروفیک 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 کلرزی مقدماتی و دیگری بدون کلرزی، 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.

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 فرایند 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 و کلیدی 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.

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

Table 1. Geographical location of sampling points along the Jajrud river route

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

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, BioendoTM 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., 2007). 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 اندوتوکسین 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

جهت نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک 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 ($P < 0.05$) و سه تکرار انجام شد. جهت رسم نمودارهای از نرم‌افزار Excell 2019 استفاده گردید.

نتایج

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 ۰.۰۱۵ تا ۰.۰۷۲۱ mg/L 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 ایستگاه‌ها دارای رنج نیترات بین ۰ تا ۲۴ mg/L بودند. سطح سولفات آب در دریاچه پشت سد ۱۰ تا ۲۴ بودند. سطح سولفات آب در دریاچه پشت سد نسبت به سایر ایستگاه‌ها بیشتر بود و کمترین میزان این آن

لواسان و فشم مشاهده شد. مقدار نیتريت در بين ايستگاه‌های مختلف بسيار ناچيز بود و همچنين در بين ايستگاه‌های مختلف تفاوت قابل توجهی در ميزان آن مشاهده نشد. pH آب در تمام نقاط نمونه برداری تقريباً مشابه بوده و رنجی بين ۸.۳ تا ۸.۸ داشت. بيشترين ميزان شوری آب در آب پشت درياچه سد لتیان مشاهده شد.

نيز در ايستگاه آب نيك مشاهده شد. رنج سختی کل در بين ايستگاه‌های نمونه برداری شده بين ۱۳ mg/L تا ۶۰۴ بود. بيشترين و كمترين ميزان سختی به ترتيب در ايستگاه‌های آب نيك و درياچه سد مشاهده شد. سختی كلسيم و منيزيم در ايستگاه‌های مختلف متفاوت بود و مقدار آن از ۰.۸۵ mg/L تا ۳.۴ متغير بود. بيشترين ميزان كدورت در آب ايستگاه‌های

جدول ۲- خصوصيات‌های فیزیکی و شیمیایی آب رودخانه جاجرود

Table 2. Physical and chemical properties of Jajrud river water

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

اندوتوكسين كل و هدایت الكتریکی يك ارتباط معنی دار و مثبت مشاهده شد. بين ميزان اندوتوكسين آزاد و خصوصيات فیزیکی و شیمیایی آب اندازه گیری شده ارتباط معنی داری مشاهده نشد. اما ميزان اندوتوكسين متصل ارتباط مثبت و معنی داری با سولفات و هدایت الكتریکی آب داشت.

خصوصيات فیزیکی و شیمیایی آب از جمله مواردی است كه می تواند افزایش یا کاهش ميزان اندوتوكسين در آب موثر باشد (Yi et al., 2020) از این رو ارتباط بين اندوتوكسين و خصوصيات فیزیكوشیمیایی آب مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳). جهت بررسی این ارتباط از آزمون پیرسون استفاده گردید. بر اساس نتایج به دست آمده، بين

جدول ۳- ارتباط بين سطح اندوتوكسين با پارامترهای فیزیكوشیمیایی نمونه جاجرود

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

اندوتوكسين متصل	اندوتوكسين آزاد	اندوتوكسين كل	
0.11	0.40	0.24	فسفات
0.28	0.65	0.46	نیترات
-0.17	-0.32	-0.30	سختی کل
0.61	0.36	0.59	سختی كلسيم و منيزيم
0.74*	0.18	0.60	سولفات
0.33	-0.31	0.09	بی‌اچ
0.77*	0.52	0.77*	هدایت الكتریکی
0.23	0.49	0.36	كدورت

* It is statistically significant.

*از نظر آماری معنی دار است

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 $\mu\text{S/cm}$ مشاهده شد (جدول ۴).

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 تا ۱ mg/L متغیر بود و به ترتیب بیشترین و کمترین

جدول ۴- خصوصیات های فیزیکی و شیمیایی آب تصفیه خانه
Table 4. Physical and chemical characteristics of water treatment plant

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

نقطه مختلف رودخانه جاجرود مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه و تحلیل آماری تفاوت معنی داری را در سطوح اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات در نقاط مختلف رودخانه جاجرود نشان داد که نشان دهنده آن بود که میزان اندوتوکسین بسته به مکان نمونه برداری متفاوت است (جدول ۵).

فعالیت اندوتوکسین در ایستگاه های نمونه برداری در طول مسیر رودخانه جاجرود

برای بررسی تغییرات میزان اندوتوکسین در نقاط مختلف نمونه برداری، از آزمون واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین توکی استفاده شد. میزان فعالیت اندوتوکسین در نمونه های آب جمع آوری شده از هشت

جدول ۵- نتایج آنالیز واریانس میزان اندوتوکسین آزاد و متصل به ذرات در نقاط مختلف رودخانه جاجرود
Table 5. The results of the analysis of variance of free endotoxin and bound to particles in different parts of the Jajrud River

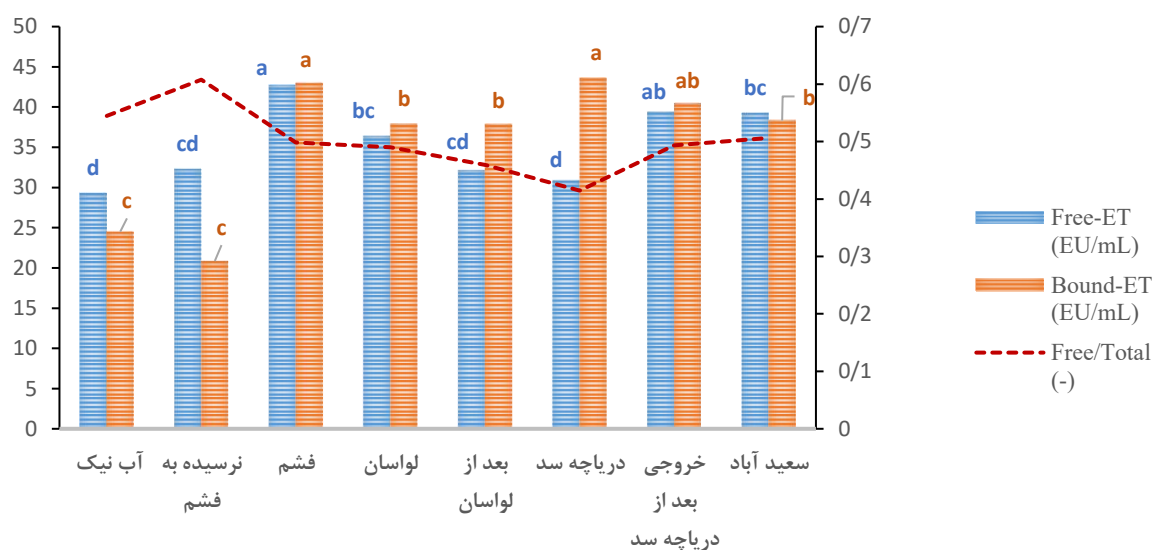
P- Value	مقدار F	میانگین مربعات Mean squares	مجموع مربعات (اندوتوکسین آزاد) Sum of squares	درجه آزادی (df)	
0.000*	21.27	75.098	525.69	7	رودخانه جاجرود
		3.531	56.50	16	خطا
			582.19	23	مقدار کل
P- Value	مقدار F	میانگین مربعات Mean squares	مجموع مربعات (اندوتوکسین متصل) Sum of squares	درجه آزادی (df)	
0.000*	180.33	232.049	1624.30	7	رودخانه جاجرود
		1.287	20.59	16	خطا
			1644.89	23	مقدار کل

*از نظر آماری معنی دار است.

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. ایستگاه‌های 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).

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، 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



شکل ۱- میانگین غلظت اندوتوکسین کل، آزاد و متصل در طول رودخانه جاجرود
Fig. 1- Average concentration of total, free and bound endotoxin along Jajrud River

(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

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

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

تعداد باکتری‌های هتروترف در طول مسیر رودخانه جاجرود

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

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.

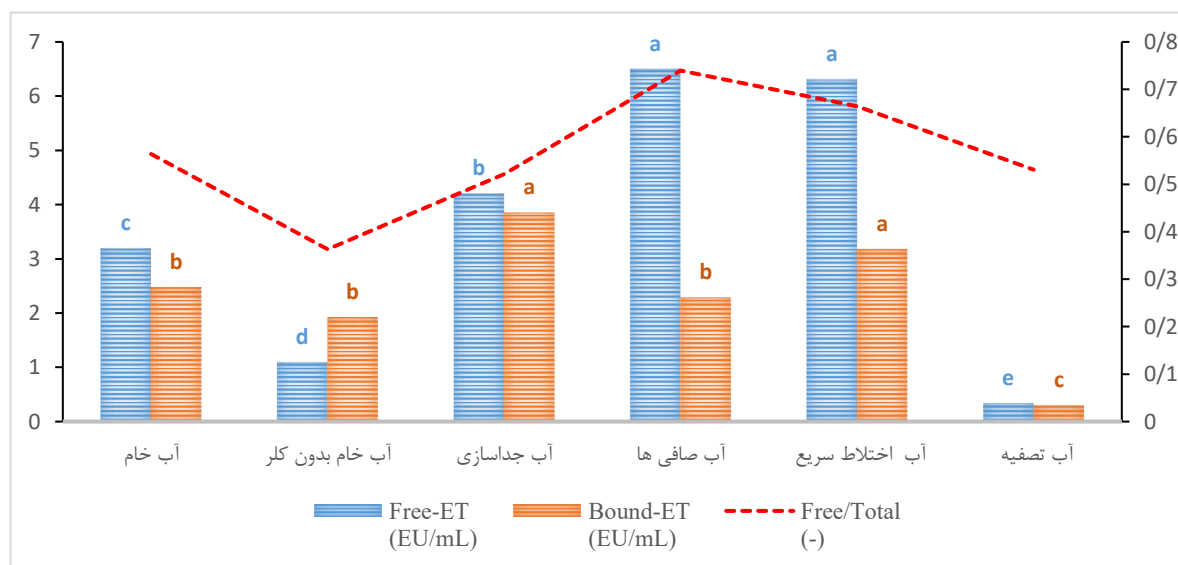
میزان اندوتوکسین متصل به ذرات نیز در فرآیند تصفیه در مراحل مختلف متغیر بود. بیشترین میزان اندوتوکسین متصل مربوط به مراحل جداسازی و اختلاط سریع بود. میزان اندوتوکسین در این دو مرحله از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشت. میزان اندوتوکسین متصل به ذرات در سه مرحله آب خام بدون کلر، آب خام و آب صافی‌ها مشابه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

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

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

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

*از نظر آماری معنی دار است.



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

Fig 2- Average concentration of total, free and bound endotoxin in different purification processes

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

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

*از نظر آماری معنی دار است.

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.

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).

بیشترین تعداد باکتری‌های هتروترف در منطقه فشم و سعید آباد مشاهده شد. این دو محل نمونه برداری از نظر تعداد باکتری‌های هتروترف 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 معنی داری 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.



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

Fig. 3- The number of heterotrophic bacteria along Jajrud river

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

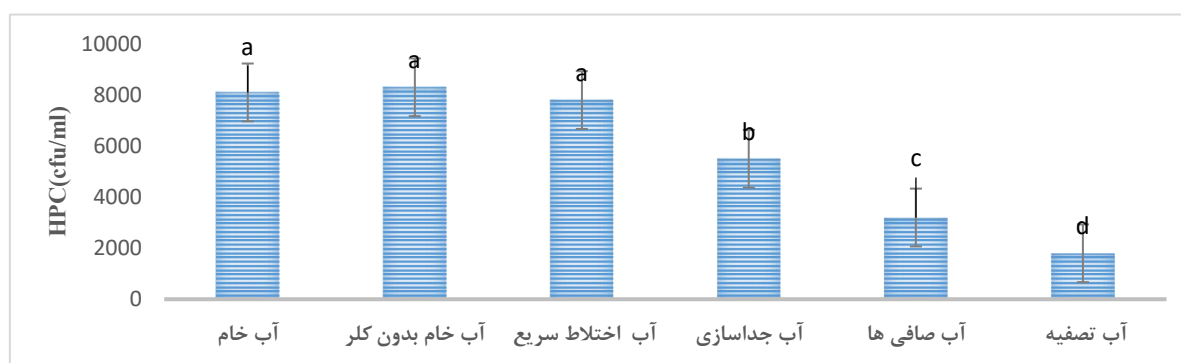
P- Value	مقدار F	میانگین مربعات Mean squares	مجموع مربعات Sum of squares	درجه آزادی (df)	
0.000*	179.29	22211667	111058333	5	مراحل تصفیه
		123889	1486667	12	خطا
			112545000	17	مقدار کل

*از نظر آماری معنی دار است.

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 باکتری-های هتروترف در طی فرآیند تصفیه مشاهده نشد ($r=0.16$, $p=0.521$).

تعداد باکتری‌های هتروترف بین ۸۳۰۰ تا ۱۸۰۰ CFU/ml 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 کلرزی مقدماتی (۸۱۰۰ CFU/ml) و بدون کلرزی اولیه (۸۳۰۰ CFU/ml) تفاوت معنی داری نداشت. اما در هر مرحله از تصفیه از میزان باکتری‌های هتروترف کاسته شد.



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

Fig. 4- The number of heterotrophic bacteria different purification processes

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

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

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.*, 2013) نیز نشان داد افزایش ذرات معلق در مناطق آلوده میزان اندوتوکسین متصل به ذرات را افزایش می دهد. 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 روستوران های طراف این رودخانه، عمق و سرعت کمتر آب و میزان بسیار زیاد ذرات معلق و محلول در آب رودخانه بود، که هریک از این موارد می تواند بر میزان فعالیت اندوتوکسین موثر باشد. با توجه به اینکه ورود فاضلاب های خانگی به همراه عمق کم آب که سبب کاهش سرعت آب نیز می گردد محیط مناسبی را برای رشد انواع باکتری های فراهم می کند و حضور باکتری های گرم منفی در این محیط می تواند در طی فرایند تولید و تکثیر، مرگ و لیز سلولی اندوتوکسین را به آب وارد کند (Zhang *et al.*, 2019). با توجه به فراوان بودن سطح ذرات معلق و محلول در این قسمت پتانسیل خطر اندوتوکسین برای سلامتی انسان و اکوسیستم نیز افزایش می یابد چرا که بخشی از اندوتوکسین می تواند به این ذرات متصل شده و به بخش های دیگر رودخانه نیز منتقل گردد. در پژوهشی که (Simazaki *et al.*, 2018) 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 اندوتوکسین های 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 می گردد 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 هزینه های 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 پیش 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 فعالیت های انسانی، نوع کاربری، میزان آلودگی بر فعالیت اندوتوکسین موثر است را تا حدودی اثبات می نماید. 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 صرفاً از میزان اندوتوکسین آزاد موجود در آب به دست نمی آید و بسته به نوع منطقه و تعداد ذرات متعلق در هر محیط می تواند افزایش و کاهش یابد. زیرا با توجه به خاصیت آمفیپیلک اندوتوکسین می تواند به ذرات نیز متصل گردد (Zhang *et al.*, 2018). از این رو در مبحث بررسی فعالیت اندوتوکسین این نکته بسیار حائز اهمیت است و می تواند میزان خطر این آلاینده نوظهور را افزایش دهد. در این مطالعه میانگین نسبت اندوتوکسین آزاد به اندوتوکسین متصل در طول مسیر رودخانه جاجرود 1.19 Eu/ml تا 0.7 متغیر بود. نتایج این مطالعات با مطالعات به دست آمده از پژوهش (Simazaki *et al.*, 2018)؛ (Can *et al.*, 2013) قابل مقایسه است. با توجه به مشاهدات انجام شده و داده های 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 اندوتوکسین 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 سد که 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 (2015) *et al.* Can و (2015) *et al.* Huang 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 دو حالت کلرزنی و بدون کلرزنی ۵۶-۰ تا ۱۰۰-۰ متغیر بود. و میزان کلر آزاد در آب کلرزنی بیش از آب بدون کلرزنی بود این میزان می‌تواند 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.*, 2015) 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 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 باکتری‌های 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 (2018) *et al.* Zhang ؛ (2015) *et al.* Simazaki ؛ (2013) *et al.* Can ؛ (2002) *et al.* Rapala مطابقت داشت.

نتیجه گیری

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 فرایندهای 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

است که در نهایت می‌تواند بر وقوع و سرنوشت باکتری‌های زنده که به فعالیت اندوتوکسین کمک می‌کنند موثر باشد. توسعه شاخص‌ها و متدولوژی‌های مناسب‌تر که اکثر باکتری‌های گرم منفی را پوشش می‌دهد و فرایند انتشار اندوتوکسین در آب را واضح‌تر می‌نماید، به عنوان مثال، رنگ آمیزی فلورسانس در مطالعات آینده مفید خواهد بود.

سپاسگزاری

نویسندگان از حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران که از این مطالعه با شماره طرح (۴۰۰۴۶) حمایت کردند کمال تشکر را دارد.

References

- Anderson, W. B., Slawson, R. M., & Mayfield, C. I. (2002). Review/Synthese A review of drinking-water-associated endotoxin, including potential routes of human exposure. *Canadian journal of microbiology*, 48(7), 567-587. <https://doi.org/10.1139/w02-061>.
- Anderson, W. B., Mayfield, C. I., Dixon, D. G., & Huck, P. M. (2003). Endotoxin inactivation by selected drinking water treatment oxidants. *Water research*, 37(19), 4553-4560. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.08.016>
- Buttke, T. M., & Ingram, L. O. (1975). Comparison of lipopolysaccharides from *Agmenellum quadruplicatum* to *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* by using thin-layer chromatography. *Journal of Bacteriology*, 124(3), 1566-1573. <https://doi.org/10.1128/jb.124.3.1566-1573.1975>
- Can, Z., Wenjun, L., Wen, S., Minglu, Z., Lingjia, Q., Cuiping, L., & Fang, T. (2013). Endotoxin contamination and control in surface water sources and a drinking water treatment plant in Beijing, China. *Water research*, 47(11), 3591-3599. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.04.009>.
- Gorbet, M. B., & Sefton, M. V. (2005). Endotoxin: the uninvited guest. *Biomaterials*, 26(34), 6811-6817. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.04.063>
- Haas, C. N., Meyer, M. A., Paller, M. S., & Zapkin, M. A. (1983). The utility of endotoxins as a surrogate indicator in potable water microbiology. *Water research*, 17(7), 803-807. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(83\)90075-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(83)90075-1).
- Huang, H., Wu, Q. Y., Yang, Y., & Hu, H. Y. (2011).

مسیر رودخانه و فرایند 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 سیستم‌های تامین آب، از جمله آب منبع، فرایند تصفیه، شبکه توزیع آب می‌گردد اکیدا توصیه می‌گردد. همچنین توجه به این نکته نیز بسیار حائز اهمیت است که تعداد باکتری‌های هتروتروف به تنهایی نماینده تمام باکتری‌های زنده در آب نیست و اطلاعات محدودی در مورد آن موجود

منابع

- Effect of chlorination on endotoxin activities in secondary sewage effluent and typical Gram-negative bacteria. *Water research*, 45(16), 4751-4757. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.06.013>.
- Luzio, N. D., & Friedmann, T. J. (1973). Bacterial endotoxins in the environment. *Nature*, 244(5410), 49-51. <https://doi.org/10.1038/244049a0>.
- Mirjani, M., Soleimani, M., & Salari, V. (2020). An Investigation of the Potential of *Vibrio fischeri* Bacterium for Monitoring of Oil Pollution in Aqueous Media. *JWSS-Isfahan University of Technology*, 24(1), 95-106. (In Persian with English abstract). 10.47176/jwss.24.1.41151.
- OHKOUCHI, Y., ISHIKAWA, S., TAKAHASHI, K., & ITOH, S. (2007). Factors associated with endotoxin fluctuation in aquatic environment and characterization of endotoxin removal in water treatment process. *Environmental Engineering Research*, 44, 247-254. <https://doi.org/10.11532/proes1992.44.247>.
- Rasuli, L., Dehghani, M. H., Aghaei, M., Mahvi, A. H., Mubarak, N. M., & Karri, R. R. (2022). Occurrence and fate of bacterial endotoxins in the environment (air, water, wastewater) and remediation technologies: an overview. *Chemosphere*, 303, 135089. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135089>.
- Rapala, J., Lahti, K., Räsänen, L. A., Esala, A. L., Niemelä, S. I., & Sivonen, K. (2002). Endotoxins associated with cyanobacteria and their removal during drinking water treatment. *Water research*, 36(10), 2627-2635. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00478-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00478-X).

Simazaki, D., Kubota, R., Suzuki, T., Akiba, M., Nishimura, T., & Kunikane, S. (2015). Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health. *Water research*, 76, 187-200. <https://doi.org/10.1016/76>.

Simazaki, D., Hirose, M., Hashimoto, H., Yamanaka, S., Takamura, M., Watanabe, J., & Akiba, M. (2018). Occurrence and fate of endotoxin activity at drinking water purification plants and healthcare facilities in Japan. *Water research*, 145, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.08.009>.

Sykora, J. L., & Keleti, G. (1981). Cyanobacteria and endotoxins in drinking water supplies. In *The water environment: algal toxins and health* (pp. 285-301). Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3267-1_21

Trent, M. S., Stead, C. M., Tran, A. X., & Hankins, J. V. (2006). Invited review: diversity of endotoxin and its impact on pathogenesis. *Journal of endotoxin research*, 12(4), 205-223. <https://doi.org/10.1177/096805190601200402>

Zamani, M., Pourmadadi, M., Ebrahimi, S. S.,

Yazdian, F., & Shayeh, J. S. (2022). A novel labeled and label-free dual electrochemical detection of endotoxin based on aptamer-conjugated magnetic reduced graphene oxide-gold nanocomposite. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 908, 116116. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2022.116116>.

Zhang, J., Khan, I., Zhang, Q., Liu, X., Dostalek, J., Liedberg, B., & Wang, Y. (2018). Lipopolysaccharides detection on a grating-coupled surface plasmon resonance smartphone biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 99, 312-317. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.07.048>.

Zhang, C., Tian, F., Zhang, M., Zhang, Z., Bai, M., Guo, G., ... & Wang, L. (2019). Endotoxin contamination, a potentially important inflammation factor in water and wastewater: A review. *Science of The Total Environment*, 681, 365-378. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.036>.

