

بررسی تأثیر ازن بر میزان حذف کیستهای ژیارديا از آب

مرتضی ایزدی^۱ M.D، امیر ادیب زاده^۲ B.Sc، مصطفی رضاییان^۳ Ph.D، هما حجاران^۴ Ph.D، زهرا بابایی^۵ M.Sc، شهره فرنیا^۶، نعمت الله جنیدی^۷ M.D، حجت الله قهرمانی^۸ M.Sc، اکبر ارکان^۹ B.Sc، رضا خاکسار یگانه^{۱۰} M.Sc

آدرس مکاتبه: تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، پلی کلینیک بقیه‌ا... (عج)، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی

تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۲۱ تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۱۰

خلاصه

مقدمه: ژیارديا تک یاخته تازکداری است که انگل روده انسان و حیوانات می‌باشد. اگرچه روش معمول انتقال آن شخص به شخص است اما این انگل یکی از مهمترین عوامل بیماریهای منتقله از آب محسوب می‌شود. افزودن کلر به آب با مقادیر متعارف نمی‌تواند آنرا از بین ببرد. ازن یک گندزادی عالی است و می‌تواند حتی میکروارگانیسم‌های خیلی مقاوم به گندزادهای متداول را غیرفعال کند. ازن بطور متناوب جهت گندزادی آب آشامیدنی استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی مقدار ازن مصرفی جهت از بین بردن کیستهای ژیارديا از آب می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع تجربی بوده و از روش تخلیه کرونا جهت تولید ازن استفاده گردید. کیستهای ژیارديا لامبیلا با روش تغليظ شيب غلظت با سوکروز، جداسازی شده و بالام Thoma ده بار شمارش شد و میانگین آن محاسبه گردید. سوسپانسیونی حاوی $120/000$ cyst/lit در زمانهای ۹، ۷ و ۵ دقیقه و با غلظت $1/3$ mg/lit در سه محیط آب شهری، آب مقطر و سرم فیزیولوژی تحت تأثیر ازن قرار گرفت. در آزمون دیگری تأثیر گذشت زمان بر مقاومت کیستهای ژیارديا در یک دوره ۶ روزه و در روزهای اول، سوم و ششم، با غلظت و زمان‌های تماس مختلف در زمانهای ۹، ۷، ۵ و ۳ دقیقه با غلظت 2 mg/lit در محیط آب شهری ارزیابی شد.

نتایج: ازن با غلظت $1/3$ mg/lit در زمانهای ۵ و ۷ دقیقه قادر به حذف کامل کیستهای ژیارديا نبود در حالیکه با افزایش زمان به ۹ دقیقه کلیه کیستهای از محیط آبی حذف گردیدند. هنگامیکه آزمایشها با آب مقطر و سرم فیزیولوژی انجام شد، کلیه کیستهای در تمامی زمانهای تماس از بین رفتند. در آزمایش دیگری در روز اول، در زمانهای ۷ و ۹ دقیقه، 100 درصد کیستهای حذف شدند. در حالیکه در روزهای سوم و ششم، راندمان حذف در زمانهای ۷ و ۹ دقیقه کاهش یافت و کیستهای زنده قابل مشاهده بود.

بحث و نتیجه گیری: آب مقطر و سرم فیزیولوژی در آزمایش اختلال ایجاد نموده و نتایج صحیحی بدست نمی‌آید. به همین دلیل در این مطالعه از آب شهری کلرزدایی شده استفاده شد. با گذشت زمان، شرایط محیطی برای ادامه حیات کیست با مشکل مواجه می‌شود. از اینرو احتملاً دیواره کیست به مرور زمان مقاومت شده و از بین بردن همه کیستهای ژیارديا با همان Ct روز اول امکان پذیر نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کیست ژیارديا، گندزادی، ازن زنی

۱- مرکز تحقیقات بهداشت نظامی - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا... (عج)

۲- گروه انگل شناسی - دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- مرکز تحقیقات مهندسی جهاد کشاورزی آذربایجان شرقی

مقدمه:

عبور هوای خشک از بین الکترودهایی است که بوسیله یک شکاف هوا و یک دی الکتریک از یکدیگر جدا شده و با استفاده از جریان متناوبی با ولتاژ ۸۰۰۰-۲۰۰۰۰ ولت، ازن تولید می‌شود (روش تخلیه کرونا) (۹).

Khalifa و همکاران در سال ۲۰۰۱ تأثیر ازن و کلر را بر برخی پروتوزوئرها از جمله ژیارديا در آب آشاميدنی بررسی کردند. آنها در زمانهای ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه کلرزنی را با غلظت ppm ۴-۸ انجام دادند. آنها دریافتند که ازن در یک غلظت مناسب، پروتوزوئرهای بیماریزا را در آب غیرفعال می‌کند (۱۲). Widmer و همکاران در سال ۲۰۰۲ تأثیر ازن را بر کیستهای ژیارديا ارزیابی کردند. آنها از غلظت ۱/۵ میلیگرم بر لیتر و زمانهای تماس ۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه استفاده کردند و دریافتند در یک میزان غلظت مشخص، واکنش به غلظت کیستهای وابسته است و تماس ۶۰ ثانیه موجب تخریب پروتوتین شده و دیواره کیست و آنتی ژن تروفوزوئیت را از بین می‌برد (۶). ازن زنی مقدماتی در مهندسی آب آشاميدنی توسط Neumann و همکاران در سال ۲۰۰۷ مورد بررسی قرار گرفت. آنها دریافتند که جهت گندزادایی و اکسیداسیون ریزآلاینده ها در آههای سطحی، می‌توان از ازن زنی بهره گرفت و این فن آوری در نصفیه آب آشاميدنی، کاربردی می‌باشد. همچنین دریافتند که بهترین رآکتور جهت برآورد کیتیک آزمایش، رآکتور بسته است (۱۳).

هدف از این مطالعه، بررسی مقدار ازن مصرفی جهت از بین بردن کیستهای ژیارديا از آب می‌باشد.

مواد و روش ها:

این مطالعه از نوع تجربی بوده و از روش تخلیه کرونا جهت تولید ازن استفاده گردید. دستگاه تولید ازن ساخت مرکز تحقیقات مهندسی جهاد کشاورزی آذربایجان شرقی و با ظرفیت ۳-۵/۰ گرم در ساعت بود. رآکتور مورد استفاده در این روش، از نوع بسته بود.

طراحی دستگاه:

همانطور که در شکل شماتیک ۱ مشاهده می‌شود، اکسیژن از طریق پمپهای مکنده دستگاه تولید ازن وارد دستگاه شده و از بین دو

ژیارديا تک یاخته تازکداری است که انگل روده انسان و حیوانات می‌باشد. این تازکدار دارای چرخه زندگی دومرحله‌ای تروفوزوئیت گلابی شکل و مرحله کیستی مقاوم در برابر شرایط محیطی است (۱۰ و ۱۱). ژیارديا موجب اسهال، دردهای شکمی، تهوع، بی‌حالی و کاهش وزن می‌شود (۱۱ و ۱۲) اما بندرت کشنده است (۱). اگرچه روش معمول انتقال آن شخص به شخص است اما این انگل یکی از مهمترین عوامل بیماریهای منتقله از آب محسوب می‌شود. اکثر شیوه‌های بیماری ژیارديا زیس با مصرف آب تصفیه نشده یا نامناسب تصفیه شده (مانند اختلال در گندزادایی) مرتبط می‌باشد (۱). افزودن کلر به آب با مقدار متعارف نمی‌تواند آنرا از بین ببرد (۱۳). ژیارديا بعنوان یک معضل مهم برای تولید آب آشاميدنی از آههای سطحی محسوب می‌شود (۱۴).

ازن یک گندزادای عالی است و می‌تواند حتی میکروارگانیسم های خلیی مقاوم به گندزادهای منتداول را غیرفعال کند (۱۵). از آنجایی که غیر فعال کردن کیستهای پروتوزوئرهای مولد بیماری در آب مهم است، ازن بطور متناسب جهت گندزادایی آب آشاميدنی استفاده می‌شود (۱۶). Hsu Binng و همکاران در سال ۲۰۰۳ اعلام کردند که ژیارديا یکی از عوامل بیماریزا منتقله از آب می‌باشد که نگرانیهای بهداشتی را بدنبال داشته است و ازن زنی مقدماتی موجب تخریب کیستهای ژیارديا می‌شود (۷). ازن قویترین ماده اکسید کننده است که می‌تواند در تصفیه آب بکار رود (۸). ازن به شدت با میکروارگانیسم ها وارد واکنش می‌شود. براساس گزارش های انجام شده این گندزادای در غیرفعال کردن گونه های باکتریایی و ویروسهای مقاوم نسبت به کلر از تأثیر بیشتری برخوردار است (۹). ازن زمانی تولید می‌شود که ملکولهای O_2 بوسیله منبع انرژی دسوسیه شوند و اتمهای اکسیژن حاصل شده با ملکول اکسیژن دیگری ترکیب شده و یک گاز ناپایداری به نام ازن را تشکیل می‌دهد که جهت گندزادایی استفاده می‌گردد (۱۱). ازن از دو راه تولید می‌گردد. راه اول استفاده از پرتوهای UV است که در طول موج ۱۸۵ نانومتر موجب شکستن پیوند O_2 شده و اتم O را حاصل می‌سازد که در ادامه با ملکول O₂ دیگری واکنش داده و O₃ تولید می‌شود (۱۲). راه دوم

آزمون تأثیر ازن بر کیست ژیارديا:

سوسپانسيونی حاوی cyst/lit ۱۲۰/۰۰۰ به رآکتور شماره ۴ اضافه شده و در زمانهای ۹، ۷ و ۵ دقیقه و با غلظت lit ۱/۳ mg/lit تحت تأثیر ازن قرار گرفت. با استفاده از پمپ خلاً و عبور محلول مورد آزمایش از فیلتر ۴۵/۰ میکرون، رسوب حاصل با دور ۲۵۰۰ rpm بدمت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. به پلت بدست آمده یک قطره رنگ حیاتی اوزین اضافه شده (انگلهاي مرده بعلت تخریب غشاء و نفوذ رنگ به داخل کیست قرمز دیده می‌شوند) و به کمک لام و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $\times ۱۰$ و $\times ۴۰$ ، ده بار شمارش انجام گرفت و میانگین آن محاسبه شد. آزمایشهای این مرحله در ۳ محیط آب شهری کلرزدایی شده، آب مقطر و سرم فیزیولوژی انجام گرفت. آزمایش با شرایط فوق در ۵ روز تکرار شد.

در آزمون دیگری تأثیر گذشت زمان بر مقاومت کیستهای ژیارديا در یک دوره ۶ روزه و در روزهای اول، سوم و ششم، با Ct های (غلظت \times زمان تماس) مختلف در زمانهای ۹، ۷، ۵ و ۳ دقیقه ارزیابی شد. غلظت در این مرحله ۲ mg/lit بود. این آزمایش منحصراً در محیط آب شهری انجام گرفت.

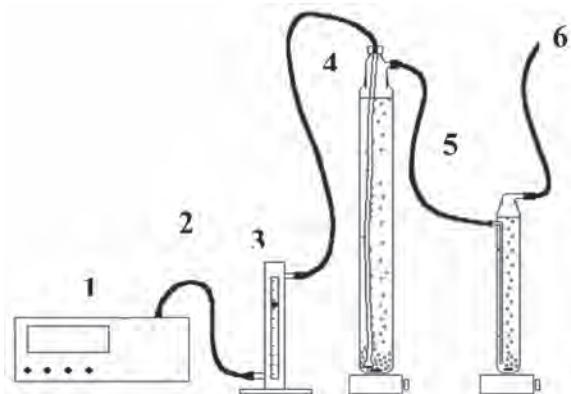
در تمام مراحل آزمایش میانگین دما ۲۱ درجه سانتیگراد و میانگین pH ۷/۹ بود.

نتایج:

همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود در زمانهای ۵ و ۷ دقیقه بعد از ازن زنی کیستهای زنده مشاهده شدند. فقط در زمان ۹ دقیقه بعد از ازن زنی، تمام کیستها از بین رفتند. هنگامیکه آزمایشهای

جدول شماره ۱) مدت زمان بقای کیستهای ژیارديا در Ct
و آبهای مختلف بعد از ازن زنی

زمان	Ct	آب شهری کلرزدایی شده	آب مقطر	سرم فیزیولوژی	زمان
-	-	-	-	۱۱/۷	۹
-	-	-	+	۹/۱	۷
-	-	-	+	۶/۵	۵
+ : وجود کیست زنده					- : عدم وجود کیست زنده



شکل شماره ۱: نمایی شماتیک از پایلوت مطالعه

- توضیحات: (۱) دستگاه تولید ازن (۲) شیلنگ رابط سیلیکون
 (۳) جریان سنج (۴) رآکتور واکنش
 (۵) رآکتور حاوی KI جهت جلوگیری از انتشار ازن مازاد
 (۶) خروجی

الکترود با ولتاژ بالا عبور داده شد. بدین ترتیب ۳ ملکول اکسیژن به ۲ ملکول ازن تبدیل گردید. ازن حاصله از طریق شیلنگ رابط از جنس سیلیکون وارد یک جریان سنج شده و میزان جریان اندازه گیری گردید. سپس ازن وارد یک رآکتور بسته‌ای (نسبت طول به عرض آن ۶ به ۱) شد که داخل آن با آب شهری کلرزدایی شده با تیوسولفات سدیم ۰/۰۲۵ نرمال پر شده بود سپس ازن از انتهای رآکتور به روش دیفیوژری وارد آب گردید. حبابهای حاوی ازن از انتهای وارد رآکتور شده و به طرف بالا حرکت نموده و در مسیر در آب حل شدند. گاز اضافی از خروجی رآکتور خارج و وارد رآکتور دیگری شد که با ۲ درصد پر شده بود. ازن در اثر واکنش با KI تثبیت شده و رنگ آب مقطر داخل رآکتور زرد گردید. در انتهای نیز گازهای بی خطر حاصل از واکنش از خروجی رآکتور خارج شدند.

تغییض کیستهای ژیارديا:

کیستهای ژیارديا لامبليا با روش تغییض شب غلظت با سوکروز، جداسازی شده و با لام Thoma ده بار شمارش شد و میانگین آن محاسبه گردید.

کیستهای ژیارديا بيان می‌دارد (۱۴). دليل اين اختلاف را می‌توان اينطور ارزيايی نمود که با توجه به شرایط آب و هوای، کيفیت منابع آب از لحاظ املاح، کيفیت آزمایشگاه، مواد مصرفی و نوع ژیارديا نتایج متفاوتی حاصل می‌گردد. علاوه براین در منابع خارجی ذکر نگردیده که منبع آب مورد آزمایش، آب مقطر و یا سرم فیزیولوژی در بوده یا خیر. شایان ذکر است که آب مقطر و سرم فیزیولوژی در آزمایش اختلال ایجاد نموده و نتایج صحیحی بدست نمی‌آید. به همین دلیل در این مطالعه از آب شهری کلرزدایی شده استفاده شد. همچنین در هیچ یک از منابع تعداد کیستهای مورد آزمایش ذکر نشده است ولی در این مطالعه تعداد ۱۲۰/۰۰۰ عدد کیست در هر لیتر مورد آزمایش قرار گرفت.

نمودار شماره ۱ مشخص می‌کند که با گذشت زمان، علیرغم عدم تغییر در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی محیط شامل pH و دما دیواره کیست به مرور زمان مقاومتر شده و از بین بردن همه کیستهای ژیارديا با همان Ct روز اول امکان پذیر نمی‌باشد. بنابراین با کاهش اثر گندزا با گذشت زمان بر کیستهای ژیارديا روپرو شدیم. هرچه کیستها تازه تر باشند از بین بردن آنها آسانتر و هرچه کهنه تر باشند احتمالاً به دلیل مقاوم شدن دیواره کیست از بین بردن آنها دشوارتر می‌گردد. در هیچ یک از منابع به این نکته توجهی نشده و مقاومت کیستی بررسی نگردیده است.

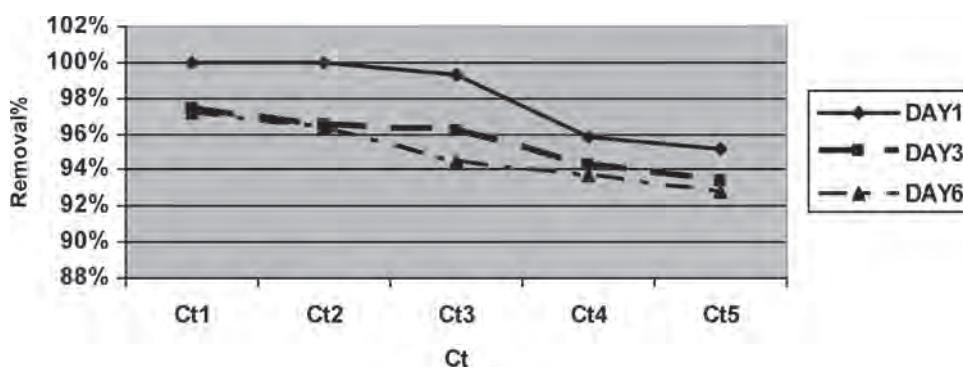
بدست آوردن نتایج دیگری با توجه به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

با آب مقطر و سرم فیزیولوژی انجام شد، کلیه کیستها در تمامی زمانهای تماس از بین رفتند. در این آزمایش فقط وجود یا عدم وجود کیست ارزیابی گردید.

با توجه به نمودار شماره ۱ در روز اول، در زمانهای ۷ و ۹ دقیقه، ۱۰۰ درصد کیستها حذف شدند. کیستهای فاقد حیات کمی دیده شدند چراکه اکثر کیستها متلاشی شده بودند. در سایر زمانها یعنی ۱، ۳ و ۵ دقیقه، اکثر کیستهای مرده متلاشی نشده بودند ولی بدلیل نفوذ رنگ حیاتی اثوزین فاقد حیات بودند. در روزهای سوم و ششم، راندمان حذف در زمانهای ۷ و ۹ دقیقه کاهش یافت و کیستهای زنده نیز مشاهده شدند. در زمانهای ۱، ۳ و ۵ دقیقه، تعداد کیستهای زنده افزایش یافت. همچنین با گذشت زمان (روز) تعداد کیستهای زنده افزایش پیدا کرد و مقاومت به گندزا مشاهده شد. علیرغم کاهش تعداد کیستهای متلاشی شده در روزهای سوم و ششم تفاوت معنی داری بین روزهای سوم و ششم دیده نشد. ($p < 0.05$)

بحث و نتیجه گیری:

با توجه به نتایج بدست آمده در جدول شماره ۱ مشخص می‌شود که ازن زنی با $Ct = 11/7$ و با زمان ۹ دقیقه بهترین راندمان را در حذف تمامی کیستهای ژیارديا از آب فراهم می‌سازد. این در حالی است که انجمن حفاظت محیط زیست ایالات متحده $Ct = 4$ و زمان تماس ۵ دقیقه را در از بین بردن یا غیرفعال کردن ۹۹/۹ درصد



نمودار شماره ۱) رابطه بین تأثیر گذشت زمان بر مقاومت کیستهای ژیارديا در یک دوره ۶ روزه و در روزهای اول، سوم و ششم و با Ct های مختلف در محیط آب شهری کلرزدایی شده

توضیحات: در این نمودار محور افقی بیانگر Ct های مختلف است که عبارتند از: $2=Ct5$ $6=Ct4$ $10=Ct3$ $14=Ct2$ $18=Ct1$

۸- واعظی فروغ، صید محمدی عبدالملک. مقررات گندزادای آب و بهره برداری از گندزادها، چاپ اول، تهران، انتشارات سه استاد، ۱۳۸۲، صفحه ۱۳۲.

۹- س.پوی، دربروو، ج . چبانگلاس. مهندسی محیط زیست (جلد اول)، مترجمین: کی نژاد محمدعلی، ابراهیمی سیروس. چاپ دوم، آذربایجان، دانشگاه صنعتی سهند، ۱۳۸۲، صفحات ۲۳۴-۲۳۵.

10- EPA, Wastewater technology fact sheet Ozone disinfection, www.EPA.org. 1999.

11- Deborah Kon. The power of ozone the crucial step to clean Spa water. August 2005.

12- EPA, Ozone in drinking water treatment a brief overview 106 years & still going. www.EPA.org 1999.

13- Khalifa AM, El Temsahy MM, Abou El Naga IF. Effect of ozone on the viability of some protozoa in drinking water. J Egypt Soc Parasitol 2001; 31: 603-16.

14. Neumann M.B, von Gunten U, Gujer W. Sources of parameter uncertainty in predicting treatment performance: the case of preozonation in drinking water engineering. Environ Sci Technol 2007; 41:3991-6.

متفاوت منابع آبی و نوع کیست محتمل است.

تقدیر و تشکر:

مطالعه حاضر بخشی از طرح تحقیقاتی می باشد که با حمایت مالی مرکز تحقیقات بهداشت نظامی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... (ع) به انجام رسیده است. همچنین از گروه انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات مهندسی جهاد کشاورزی آذربایجان شرقی و کلیه افرادی که در این مطالعه ما را یاری نمودند کمال تشکر را داریم.

منابع:

۱- میرهندي سيدحسين، نيك آئين مهناز. ميكروبیولوژي فاضلاب. چاپ اول، تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۸۳، صفحات ۱۴۱، ۱۴۲ و ۱۹۶-۲۰۲.

۲- غلامی میترا، محمدی حامد. میکروبیولوژی آب و فاضلاب. چاپ دوم، تهران، انتشارات حیان، ۱۳۷۸، صفحه ۱۲۵.

۳- حجارتبار محمد. مسمومیتهای غذایی در انسان. چاپ اول، تهران، دانشکده حفاظت و بهداشت کار، ۱۳۸۱، صفحه ۳۶۸.

4- Mazoua S, Chauveheid E. Aerobic spore-forming bacteria for assessing quality of drinking water produced from surface water. Water Res 2005; 39:5186-98.

5- von Gunten U. Ozonation of drinking water: part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine. Water Res 2003; 37:1469-87.

6- Widmer G, Clancy T, Ward HD, Miller D, Batzer GM, Pearson CB, et al. Structural and biochemical alterations in Giardia lamblia cysts exposed to ozone. J Parasitol 2002; 88:1100-6.

7- Hsu Bing Mu; Yeh Hsuan Hsien. Removal of Giardia and Cryptosporidium in drinking water treatment: a pilot-scale study. Water research 2003; 37:1111-17.