

## کارایی فرآیند فراصوت در حذف باکتریهای شاخص مدفوعی اشرشیاکلاهی و انتروکوکوس فیکالیس از آب آشامیدنی

میترا غلامی (PhD)<sup>۱\*</sup>، عماد دهقانی فرد (MSc)<sup>۲</sup>، زهره ضرغام پور (MSc)<sup>۳</sup>، رویا میرزایی (MSc)<sup>۴</sup>، محسن دهقانی نیری (BSc)<sup>۴</sup>

۱- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت- مرکز سلامت کار ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی البرز

۳- شرکت فاضلاب استان تهران

۴- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دریافت: ۸۹/۱۲/۲۰، اصلاح: ۹۰/۲/۱۴، پذیرش: ۹۰/۶/۱۶

### خلاصه

**سابقه و هدف:** فرآیندهای متداول گندزدایی آب آشامیدنی قادر به حذف کامل باکتریهای شاخص آلودگی نیستند. لذا استفاده از روشهای نوین نظیر امواج فراصوت جهت گندزدایی آب آشامیدنی مورد توجه است. در این مطالعه، کارایی فرآیند فراصوت در حذف باکتریهای اشرشیاکلاهی و انتروکوکوس فیکالیس از آب آشامیدنی بررسی شد.

**مواد و روشها:** در این مطالعه مقطعی از محلول سنتتیک حاوی باکتری اشرشیاکلاهی و استرپتوکوک مدفوعی با غلظت های (کلنی فورمینگ یونیت/ میلی لیتر)  $10^9$  و  $10^7$  و  $10^5$  و  $10^3$  CFU/mL استفاده شد. نمونه های آب آشامیدنی پس از تلقیح میکروبی در معرض امواج فراصوت با تناوب صوت دهی ۱۰ و ۶ و ۲ ضربه در ثانیه و زمان تماس ۱۰ و ۵ دقیقه قرار گرفتند. معیار سنجش عملکرد گندزدایی، مقدار حذف باکتریهای شاخص از نمونه ها بود. شمارش کلنی های میکروبی نیز به روش مک فارلند و شمارش بشقابی انجام شد. قدرت دستگاه و غلظت میکروبی در فرآیند غیرفعال سازی باکتریها بوسیله روش مک فارلند مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

**یافته ها:** در این مطالعه کارایی حذف باکتری اشرشیاکلاهی با تعداد کلنی  $10^3$  CFU/ml و تناوب صوت دهی ۲ ضربه در ثانیه برابر ۱/۱ لگاریتم و در تناوب صوت دهی ۱۰ و ۶ ضربه در ثانیه، ۳ لگاریتم بود ( $p < 0.009$ ). همچنین کارایی حذف برای انتروکوکوس فیکالیس با تعداد کلنی  $10^2$  CFU/ml، تناوب صوت دهی ۲ ضربه در ثانیه و زمان تماس ۵ دقیقه به ۰/۵۲ لگاریتم رسید که در مقایسه با ۱۰ و ۶ ضربه در ثانیه که ۳ لگاریتم بود اختلاف معنی داری داشت ( $p < 0.001$ ). در زمان تماس ۱۰ دقیقه در تمام تناوب ها ۳ لگاریتم بود. با افزایش غلظت اولیه میکروبی، کارایی گندزدایی میکروبی به طور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.001$ ).

**نتیجه گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که فرآیند فراصوت، در حذف باکتریهای اشرشیاکلاهی و استرپتوکوک فیکالیس از آب آشامیدنی موثر می باشد و این کارایی فرآیند، مستقل از غلظت میکروبی می باشد.

**واژه های کلیدی:** فراصوت، گندزدایی آب آشامیدنی، اشرشیاکلاهی، انتروکوکوس فیکالیس.

### مقدمه

کریپتوسپوریديوم توجه دقيقتري به نحوه و ميزان مصرف کلر در فرآیند گندزدایی آنها، شده است (۲). انواع مختلفی از روشهای فیزیکی و شیمیایی نظیر ازن زنی، پرتوهای فرابنفش، و پرتوهای یون ساز به عنوان روشهای جایگزین کلرزنی مطرح شده اند (۳). استفاده از فرآیند فراصوت به دلیل سادگی سیستم و عدم تولید محصولات جانبی نظیر تری هالومتانها که در فرآیند کلرزنی تولید می شوند، به عنوان یکی از روشهای مناسب گندزدایی آب مطرح می باشد (۴). استفاده از امواج فراصوت برای حذف میکروارگانیسمها برای اولین بار در دهه ۱۹۲۰ مطرح شد که

مهم ترین و معمول ترین فرآیند تصفیه آب، گندزدایی است که با هدف اصلی حذف باکتریها، ویروسها و انگل ها انجام می شود (۱). در انتخاب یک گندزدای خوب و مناسب معیارهایی همچون قدرت گندزدایی، سهولت تولید، دسترسی، کاربرد و نیز عدم ایجاد اختلال در کیفیت آب مورد توجه قرار می گیرد. کلرزنی یکی از متداولترین روشهای گندزدایی می باشد. اما در سالهای اخیر به علت، احتمال تولید محصولات جانبی به ویژه ترکیبات تری هالومتان و عواقب بهداشتی آن و همچنین مقاومت برخی از گونه های میکروبی نظیر آئروموناس و

\* مسئول مقاله:

روی محلول میکروبی سنتتیک حاوی باکتری اشریشیاکلاهی و استرپتوکوکهای مدفوعی انجام شد. سوش باکتری اترتروکوکوس فیکالیس (ATCC 11700) از سازمان پژوهش های علمی صنعتی ایران-بخش میکروب شناسی، و باکتری اشریشیاکلاهی (ATCC 25922) از انستیتوپاستور ایران تهیه گردید.

در این مطالعه از فراصوت یکنواخت کننده (Ultrasonic Homogenizer) ساخت شرکت باندلین و مدل سونوپلاس GM2070 استفاده شد. قدرت این دستگاه ۷۰ وات و بسامد امواج فراصوت آن ۲۰ کیلوهرتز بود. در این مطالعه، تاثیر تناوب ۱۰، ۶ و ۲ ضربه در ثانیه و زمان صوت دهی ۱۰ و ۵ دقیقه، قدرت دستگاه و غلظت میکروبی در فرآیند غیرفعال سازی باکتریهای شاخص آلودگی  $10^3$ ،  $10^5$ ،  $10^7$  و  $10^9$  بوسیله روش مک فارلند مورد بررسی قرار گرفت. اساس روش بر پایه مقایسه چشمی نمونه مورد نظر با استانداردهای موجود می باشد که بر حسب  $cfu/mL$  گزارش می گردد. این روش بر پایه ۱۱ لوله آزمایش که از نمکهای باریم پر شده، استوار است (۱۷). نمونه های آب آشامیدنی مربوط به شبکه آب شهری تهران (دانشکده بهداشت) پس از کلرزایی توسط تیوسولفات سدیم، تلقیح میکروبی باکتریهای اشریشیاکلاهی و اترتروکوکوس فیکالیس شد. پس از آماده سازی نمونه های اولیه میکروبی، نمونه ها در معرض امواج فراصوت (در زمانها و تناوب ارتعاشات مختلف) قرار گرفته و پس از انجام فرآیند، شمارش مجدد میکروبی به روش شمارش بشقابی و تعیین کارایی غیرفعال سازی میکروبی انجام شد. کارایی حذف میکروارگانیسرها (میزان گندزدایی) بر اساس رابطه چیک-واتسون  $LogN/N_0 = -Kit$  محاسبه شده است (۱۷). در این رابطه،  $N_0$  تعداد کلنی های قبل از گندزدایی،  $N$  تعداد کلنی های بعد از گندزدایی و  $N/N_0$  اصطلاحاً کسر بقای میکروبی می باشد.  $It$  معادل با  $z$  صوت دهی (حاصلضرب میزان ارتعاش در زمان) است. بر اساس این فرمول، در ازای یک  $z$  صوت دهی معین درصد معینی از میکروبیها قابل حذف خواهد بود. می توان گفت دزی از پرتو که قادر به ۹۰٪ مرگ و میر میکروبی (معادل با ۱۰٪ بقا) است، یک لگاریتم کاهش در میزان میکروبیها ایجاد نموده است (۱۷).

حجم نمونه ها با توجه به دستور العمل های شرکت سازنده دستگاه و مطالعات اولیه به ترتیب ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی لیتر تعیین گردید. سپس با کمک طراحی سطح پاسخ مدل باکس بنکن با سه متغیر برای بررسی ارتباط بین پاسخهای بدست آمده و متغیرهای فرآیند و بهینه سازی ترکیب متغیرها استفاده شد. این مدل از نوع طراحی درجه دوم بوده که مستقل از طراحی فاکتوریل بخشی یا جاسازی شده می باشد. در این مدل، بین ۱۰-۳ متغیر مختلف می توان استفاده نمود. این متغیرها بر اساس ترکیب طراحی فاکتوریل دو سطحی با طراحی ناقص بلوکها استوار می باشد. در این مدل، تنها با انجام برخی از مراحل آزمایش (نسبت به روش فاکتوریل کامل) طراحی با خصوصیات آماری متعدد بوجود می آید (۱۸ و ۱۹). تعداد کل آزمایش ها ۸۱ بار تعیین گردید که حجم بهینه نمونه در بالاترین درصد حذف باکتریایی ( $3 \text{ Log}$ )، ۱۵ میلی لیتر محاسبه شد. این حجم برای کل تحقیق ثابت در نظر گرفته شد. همچنین قدرت بهینه (Amplitude) نیز بر اساس مشاهدات ۱۰۰ درصد و در آزمایشات بعدی ثابت در نظر گرفته شد. پس از جمع آوری داده ها، با استفاده از آزمونهای مقایسه میانگین ANOVA و T-Test که بر روی مقادیر لگاریتمی تعداد باکتریها بود، تجزیه و تحلیل انجام شد و  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

بر مبنای حذف گونه باسیلوس فیشری از آب دریا و در بسامد ۳۷۵ کیلوهرتز بود. در دهه ۱۹۶۰، مطالعات در مورد اثرات گندزدایی امواج فراصوت، بر شناخت نحوه عمل این امواج قرار گرفت. در سال ۱۹۷۵، مشخص شد که امواج فراصوت موجب کاهش ضخامت دیواره سلولی و فرار سیتوپلاسم به محیط می شود. فرآیند فراصوت باعث ایجاد اثرات فیزیکی و شیمیایی در آب می شود که به دلیل وقوع پدیده خلاء زایی (کاویتاسیون) می باشد. خلاءزایی پدیده ای است هنگام بروز فشار منفی که، منجر به ایجاد حبابهای ریز در مایع می شود (۸-۵). امواج فراصوت موجب ایجاد امواج شوک دهنده و در نتیجه متلاشی شدن حبابهای خلاءزایی و تولید رادیکالهای آزاد ( $OH^\cdot$ ،  $HO_2^\cdot$  و  $O^\cdot$ ) می گردد (۹ و ۳). این اثرات منجر به تخریب فیزیکی و غیر فعال سازی گونه های میکروبی می گردد (۱۰). یکی از محدودیتهای کاربرد فرآیند فراصوت جهت گندزدایی آب، عدم ماندگاری خاصیت گندزدایی آن در آب و در نتیجه عدم توانایی حذف آلودگی های ثانویه می باشد. با این حال به دلیل عملکرد مناسب این روش و اینکه از این فرآیند می توان در نقاط مصرف، جوامع کوچک و صنایع مختلف که در آنها نیازی به شبکه آبرسانی نمی باشد، استفاده نمود، مورد توجه واقع شده است (۱۱).

کارایی فرآیند فراصوت در حذف گونه های باکتریایی، قارچی، ویروسی و نماتودی در مطالعات مختلفی بررسی شده است. نادئو و همکاران در مطالعه خود دریافتند که سیستم فراصوت، توانایی کاهش باکتری اشریشیاکلاهی تا کمتر از  $10^3$   $cfu/mL$  را دارا می باشد. همچنین به دلیل وجود امواج فراصوت، افزایش غلظت ذرات معلق در این سیستم منجر به کاهش کارایی گندزدایی نشد (۱۰). در مطالعه سو و همکاران مشخص شد که در بسامد ۲۰ کیلوهرتز و زمانهای تماس بین ۳۰-۱۵ دقیقه، کارایی بهینه حذف آنها در زمانهای تماس بین ۳۰-۱۵ دقیقه بود (۱۲). نیس و همکاران با بررسی کارایی فرآیند فراصوت در گندزدایی پساب تصفیه خانه فاضلاب، دریافتند که در بسامد ۲۰ کیلوهرتز و مدت زمان ۶۰ دقیقه، حداکثر حذف اشریشیاکلاهی مشاهده شد (۱۳). در مطالعه دیگری مشخص شد که امواج فراصوت موجب کاهش مقاومت اسپورها در مقابل گرما شده و در نتیجه اثر سایر گندزداها بر روی آنها بیشتر می شود (۱۴).

اشریشیاکلاهی فلور طبیعی روده انسان و حیوان است و به عنوان شاخص احتمالی آلودگی آب در نظر گرفته می شود. حضور این باکتری در آب بیانگر آلودگی آب به مدفوع انسان یا حیوان بوده که این دلیل دیگری بر انتخاب این باکتری به عنوان شاخص است (۱۵). همچنین مدت زنده ماندن این باکتری در آب تقریباً برابر با اکثر باکتری های بیماری زا در آب است. اترتروکوکوس فیکالیس که زیر مجموعه ای از استرپتوکوکها هستند، در بررسی کارایی فرآیند تصفیه خانه مورد استفاده قرار می گیرد و نسبت به اشریشیاکلاهی مقاومت بیشتری به عوامل گندزدا دارد (۱۵ و ۱۶).

این مطالعه به منظور ارزیابی کارایی فرآیند فراصوت در غیرفعال سازی باکتری های اشریشیاکلاهی و اترتروکوکوس فیکالیس از آب آشامیدنی بر اساس تناوب صوت دهی، زمان تماس و غلظت میکروبی انجام شد.

## مواد و روشها

این مطالعه مقطعی در سال ۱۳۸۷ و به مدت ۶ ماه در آزمایشگاههای میکروبیولوژی آب و فاضلاب دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، بر

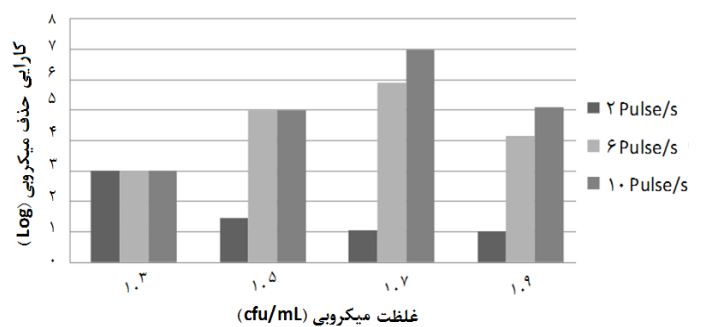
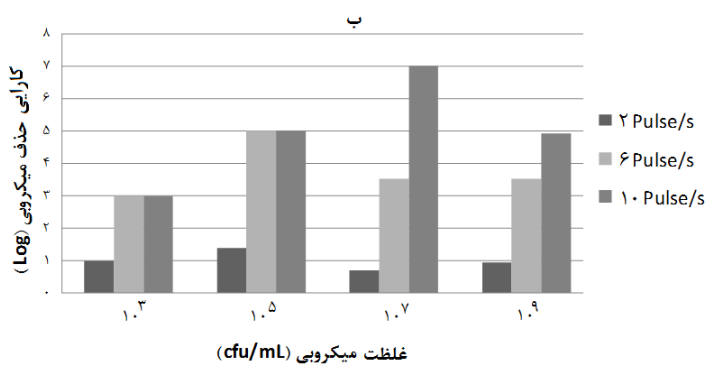
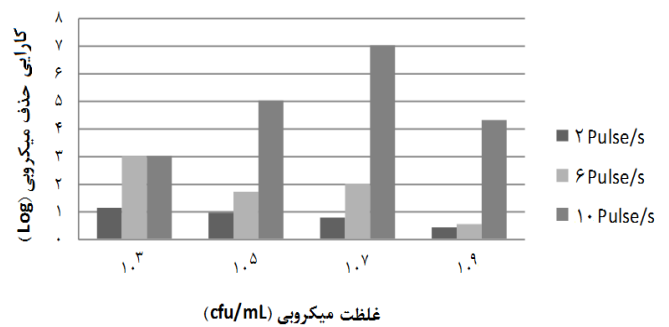
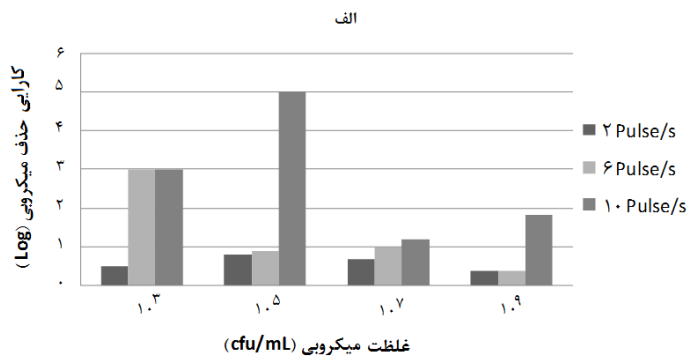
## یافته ها

در تناوب صوت دهی ۶ و ۱۰ ضربه در ثانیه، که برابر ۳ لگاریتم بود، دارای اختلاف معنی داری بود ( $p < 0.0001$ ). در تعداد کلنی  $10^5$  cfu/mL و تناوب ۱۰ ضربه در ثانیه، میزان حذف بطور کامل انجام شد (5 Log) که کارایی حذف این باکتری در تناوبهای ۶ و ۱۰ ضربه در ثانیه، دارای اختلاف معنی دار بودند ( $p < 0.009$ ). در زمان تماس ۱۰ دقیقه، کارایی حذف باکتری انتروکوکوس فیکالیس در تناوب ۲ ضربه در ثانیه برابر ۱/۴ لگاریتم و در تناوبهای ۱۰ و ۶ ضربه در ثانیه به مقدار ۵ لگاریتم رسید که کارایی حذف این باکتری، دارای اختلاف معنی دار بود ( $p < 0.02$ ).

کارایی حذف باکتری انتروکوکوس فیکالیس با تعداد کلنی اولیه  $10^7$  cfu/mL، تناوب صوت دهی ۱۰ و ۶ و ۲ ضربه در ثانیه و زمان تماس ۵ دقیقه به ترتیب برابر ۱۰/۷، ۱۰/۱۹ و ۱/۱۹ لگاریتم بود که اختلاف معنی داری نداشتند. همچنین در زمان ۱۰ دقیقه، کارایی حذف این باکتری در تناوبهای ۱۰ و ۶ و ۲ ضربه در ثانیه به ترتیب برابر ۰/۷، ۳/۵۲ و ۷ لگاریتم بدست آمد که کارایی حذف این باکتری در هر سه تناوب، دارای اختلاف معنی دار بودند ( $p < 0.001$ ).

نتایج مطالعه نشان داد که فرآیند فراصوت قادر به حذف باکتریهای شاخص مدفوعی از آب آشامیدنی می باشد. همانطور که در نمودار ۱ (الف و ب) مشخص است، در زمان تماس ۵ دقیقه، کارایی حذف باکتری اشریشیاکلاهی با تعداد کلنی اولیه  $10^3$  cfu/mL و تناوب صوت دهی ۲ ضربه در ثانیه، برابر ۱/۱ لگاریتم بود. با این حال، در تناوب صوت دهی ۱۰ و ۶ ضربه در ثانیه، میزان حذف این باکتری به ۳ لگاریتم افزایش یافت که میانگین حذف باکتریها در این مرحله، دارای اختلاف معنی داری با میانگین سایر مراحل بود ( $p < 0.009$ ). در زمان تماس ۱۰ دقیقه، کارایی حذف این باکتری در تمام تناوبها برابر ۳ لگاریتم اندازه گیری شد. در تعداد کلنی  $10^7$  cfu/mL و در زمان تماس ۱۰ دقیقه، کارایی حذف باکتری اشریشیاکلاهی در تناوبهای ۲، ۶ و ۱۰ ضربه در ثانیه به ترتیب برابر ۱/۰۵، ۵/۹۲ و ۷ لگاریتم بدست آمد که کارایی حذف این باکتری در هر سه تناوب، دارای اختلاف معنی دار بودند ( $p < 0.001$ ).

الف



## نمودار ۱. کارایی حذف باکتری اشریشیاکلاهی در مقادیر مختلف

غلظتهای میکروبی، تناوب صوت دهی و زمانهای تماس:

(الف) ۵ دقیقه، (ب) ۱۰ دقیقه.

## نمودار ۲. کارایی حذف باکتری انتروکوکوس فیکالیس در مقادیر

مختلف غلظتهای میکروبی، تناوب صوت دهی و زمانهای تماس:

(الف) ۵ دقیقه، (ب) ۱۰ دقیقه.

## بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه نشان داد که فرآیند فراصوت در حذف باکتریهای شاخص مدفوعی اشریشیاکلاهی و انتروکوکوس فیکالیس از آب آشامیدنی موثر می باشد و متغیر زمان تماس باکتری، عامل مهمی در میزان نابودی باکتریهای موردنظر بوده است، به طوری که در زمان ۱۰ دقیقه بیشترین میزان حذف برای هر دو باکتری مشاهده شده است و در زمان ۵ دقیقه کمترین حذف روی داده است، اگرچه عملکرد فرآیند فراصوت در حذف باکتری اشریشیاکلاهی موثرتر بود. دهقانی

کارایی حذف باکتری اشریشیاکلاهی با تعداد کلنی اولیه  $10^9$  cfu/mL،

تناوب صوت دهی ۲ و ۶ ضربه در ثانیه و زمان تماس ۵ دقیقه به ترتیب برابر ۰/۴۵ و ۰/۵۱ لگاریتم بود که دارای اختلاف معنی داری نبودند، اما در تناوب صوت دهی ۱۰ ضربه در ثانیه به ۴/۳ لگاریتم رسید که با نتایج قبلی دارای اختلاف معنی دار بود ( $p < 0.011$ ).

با توجه به نمودار ۲ (الف و ب)، کارایی حذف باکتری انتروکوکوس فیکالیس با تعداد کلنی اولیه  $10^3$  cfu/mL، تناوب صوت دهی ۲ ضربه در ثانیه و زمان تماس ۵ دقیقه، به ۰/۵۲ لگاریتم رسید که در مقایسه با عملکرد این فرآیند

با مقایسه تاثیر امواج فراصوت در غلظت باکتریایی بر روی دو باکتری اشریشیاکلاهی و انتروکوکوس فیکالیس در غلظتهای  $10^9$ ،  $10^7$ ،  $10^5$  و  $10^3$  در تناوبها و زمان های مختلف صوت دهی، مقاوم بودن باکتری انتروکوکوس فیکالیس نسبت به باکتری اشریشیاکلاهی به اثبات رسید. هالسمنس و همکاران دریافتند که باکتری اشریشیاکلاهی در مقایسه با باکتری های انتروکوکوس فیکالیس، سودوموناس آئروژینوزا، فلاوو باکتریوم برو و آئروموناس هیدروفیلا دارای حساسیت بیشتری نسبت به گندزایی آب توسط فرآیند فراصوت می باشد (۲۳). از محدودیتهای مهم فرآیند فراصوت در گندزایی آب آشامیدنی، عدم وجود اثر گندزایی در آب و در نتیجه گندزایی آلودگی های میکروبی در شبکه توزیع آب آشامیدنی می باشد که بر انتخاب آن به عنوان گندزدا، تاثیرگذار است. باروت این مسئله را تایید نموده و پیشنهاد کرده است که به دلیل مزایای فرآیند فراصوت در گندزایی آب آشامیدنی نظیر موثر بودن آن بر گونه های مختلف میکروبی نظیر باکتریها، ویروسها و تک یاخته که امکان ورود به آب تصفیه شده را دارند، هزینه سرمایه ای و جاری پایین آن نسبت به سایر گندزادهای متداول نظیر کلر و ازن و سادگی فرآیند و عدم نیاز به تجهیزات پیشرفته، می توان از آن به عنوان یک گندزای تلفیقی در تصفیه خانه ها به همراه کلر (که افزودن کلر به عنوان گندزای با خاصیت ماندگاری موجب اطمینان از عدم آلودگی میکروبی آب در شبکه می شود) و یا در انتهای شبکه و در نقاط مصرف و یا در جوامع کوچک که عدم دسترسی به شبکه توزیع آب بهداشتی وجود دارد، استفاده نمود (۱۶).

در نهایت می توان نتیجه گرفت که کارایی فرآیند وابسته به تناوب صوت دهی، زمان تماس و غلظت اولیه میکروبی می باشد و با افزایش تناوب صوت دهی و زمان تماس، کارایی حذف باکتریهای اشریشیاکلاهی و انتروکوکوس فیکالیس کامل بوده که مستقل از غلظت میکروبی می باشد. همچنین مشخص شد که گونه انتروکوکوس فیکالیس دارای مقاومت بیشتری نسبت به گونه اشریشیاکلاهی در برابر فرآیند فراصوت دارد. به طور کلی، می توان بیان نمود که فرآیند فراصوت به عنوان یکی از گزینه های موثر جهت گندزایی آب آشامیدنی در نقاط مصرف و یا تصفیه خانه های کوچک می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران (پردیس همت) به جهت حمایت مالی از این تحقیق قدردانی می گردد.

نشان داد که افزایش زمان صوت دهی از ۱ دقیقه به ۷۵ دقیقه (بسامد ثابت ۴۲ کیلوهرتز) به عنوان عامل مهمی در افزایش کارایی حذف باکتری اشریشیاکلاهی مطرح بوده و کارایی حذف این باکتری را از ۰/۷ لگاریتم به حدود ۳ لگاریتم افزایش داده است (۶) که در این تحقیق نیز به اثبات رسید. همچنین تناوب صوت دهی به عنوان عامل مهمی در حذف باکتری های اشریشیاکلاهی و انتروکوکوس فیکالیس بوده که در تناوب ۲ ضربه در ثانیه، تحمل پذیری باکتری ها بیشتر می باشد، در حالی که با افزایش تناوب به ۱۰ ضربه در ثانیه، کارایی حذف باکتری اشریشیاکلاهی در غلظتهای میکروبی  $10^3$ ،  $10^5$  و  $10^7$  کامل بوده و در مورد باکتری انتروکوکوس فیکالیس در غلظتهای میکروبی  $10^2$  و  $10^5$  و زمان تماس ۱۰ دقیقه این امر اتفاق افتاد. آنتونیادیس و همکاران دریافتند که با افزایش بسامد از ۲۴ به ۴۸ کیلوهرتز و تناوب صوت دهی از ۲ به ۵ ضربه در ثانیه، کارایی حذف باکتری اشریشیاکلاهی در پساب فاضلاب تصفیه شده، به طور معنی داری افزایش می یابد (۲۰).

نتایج تحقیق جویس و همکاران نشان داد که در بسامد های پائین (۳۸ و ۲۰ کیلوهرتز) با افزایش تناوب از ۱ به ۷ ضربه در ثانیه و زمان صوت دهی از ۱۵ دقیقه به ۳۰ دقیقه، افزایش قابل توجهی در از بین بردن گونه باسیلوس سوبلیتیس اتفاق می افتد (۲۱).

یکی دیگر از پارامترهای تاثیرگذار بر کارایی فرآیند صوت دهی، غلظت میکروبی می باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که هرچه غلظت میکروبی بیشتر باشد، تاثیر امواج فراصوت بر هر دو میکروارگانیسم کمتر خواهد بود. یکی از دلایل این امر، کاهش دز مواجهه موثر برای هر باکتری خواهد بود. چرا که با افزایش غلظت میکروبی، دفعات برخورد امواج صوتی با هر باکتری کمتر خواهد شد. نتایج نشان دادند که اگرچه در زمان تماسهای ۵ و ۱۰ دقیقه، هرچه تناوب صوت دهی افزایش می یافت، کارایی حذف کامل بود، اما در غلظت  $10^9$  cfu/mL باکتری اشریشیاکلاهی و  $10^7$  و  $10^9$  cfu/mL باکتری انتروکوکوس فیکالیس، کارایی حذف کاهش یافت. این امر نشان داد که اگرچه زمان تماس و تناوب صوت دهی به عنوان متغیرهای تاثیر گذار بر عملکرد گندزایی با فرآیند فراصوت مطرح می باشند، اما غلظت میکروبی به عنوان یک عامل غالب در کاهش کارایی گندزایی آب آشامیدنی مطرح بوده که در غلظتهای بالا، نیاز به زمان تماس و تناوب صوت دهی بیشتری می باشد. آروجو و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که ظرفیت غیر فعال سازی باکتری ها توسط کایتاسیون هیدرودینامیکی با تغییر غلظت میکروبی، متفاوت خواهد بود (۲۲).

## Performance of Ultrasonic Process on Removal of Fecal Indicator Bacteria of *Escherichia Coli* and *Enterococcus Faecalis* from Drinking Water

M. Gholami (PhD)<sup>1\*</sup>, E. Dehghanifard (MSc)<sup>2</sup>, Z. Zarghampour (MSc)<sup>3</sup>, R. Mirzaei (MSc)<sup>1</sup>,  
M. Dehghani Nayeri (BSc)<sup>2</sup>

1. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health-Iran Occupational Health Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

3. Tehran Water & Wastewater Company, Tehran, Iran

4. Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14 (Suppl 1); Winter 2012; pp: 36-41

Received: Mar 10<sup>th</sup> 2011, Revised: Apr 30<sup>th</sup> 2011, Accepted: Sep 7<sup>th</sup> 2011.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Conventional processes of drinking water disinfection could not completely remove contamination indicator bacteria. So, application of new technologies like ultrasonic process has been considered for drinking water disinfection. In this study, the performance of the ultrasonic process on removal of *E. coli* and *E. faecalis* from drinking water was evaluated.

**METHODS:** In this cross-sectional study, synthetic solution contained *E. coli* and *E. faecalis* with populations of 10<sup>3</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>7</sup> and 10<sup>9</sup> cfu/mL (Colony Forming Unit/ milliliter) were used. After microbial seeding, drinking water samples were exposed to ultrasonic waves with the cycle of 2, 6 and 10 Pulse/s in 5 and 10 minutes. A measurement criterion of the disinfection performance was removal efficiency of indicator bacteria. Microbial colonies were counted by McFarland and plate count methods. The ultrasonic power and microbial concentration in the process of inactivation of bacteria were compared by using McFarland method.

**FINDINGS:** In this study, the removal performance of *E. coli* with colony density of 10<sup>3</sup> cfu/mL and the sonication cycle of 2 pulse/s was 1.1 log, while in the sonication cycles of 6 and 10 pulse/s was 3 log (p<0.009). Also, the removal performance of *E. faecalis* with colony density of 10<sup>3</sup> cfu/mL, the sonication cycle of 2 pulse/s and retention time of 5 min was 0.52 log which had significant difference in compared to the sonication cycles of 6 and 10 pulse/s which was 3 log (p<0.001). The removal efficiency of all bacterial populations was 3 log, in retention time of 10 min. By increasing the initial population of the bacteria, the performance of the disinfection process was significantly decreased (p<0.001).

**CONCLUSION:** The result of this study showed that the ultrasonic process was effective in removal of *E. coli* and *E. faecalis* from drinking water and its efficiency was independent from bacterial population.

**KEY WORDS:** *Ultrasonic, Drinking water disinfection, Escherichia coli, Enterococcus faecalis.*

\*Corresponding Author;

Address: School of Public Health, Poursina St., Keshavarz Ave., Tehran, Iran

Tel: +98 21 88779118

E-mail: gholamim@tums.ac.ir

## References

- 1.Declerck P, Vanyacker L, Hulsmans A, Lambert N, Liers S, Ollevier F. Evaluation of power ultrasound for disinfection of both *Legionella pneumophila* and its environmental host *Acanthamoeba castellanii*. *Water Res* 2010; 44(3):703-10.
- 2.Furuta M, Oka M, Hayashi T. Radiation sterilization of enzyme hybrids with biodegradable polymers. *Radiat Phys Chem* 2002;63(3-6):323-5.
- 3.Wirkner S, Takahashi K, Furuta M, Hayashi T. Calorimetric study on the effect of <sup>60</sup>Co [gamma]-rays on the growth of microorganisms. *Radiat Phys Chem* 2002;63(3):327-30.
- 4.Furuta M, Yamaguchi M, Tsukamoto T, et al. Inactivation of *Escherichia coli* by ultrasonic irradiation. *Ultrason Sonochem* 2004;11(2):57-60.
- 5.Mason TJ, Tiehm A. *Advanced in sonochemistry ultrasound in environmental protection*. 6th ed. London: JAI Press 2001; pp: 231-9.
- 6.Dehghani MH. Effectiveness of ultrasound on the destruction of *E. coli*. *Am J Environ Sci* 2005;1(3):187-9.
- 7.Neppiras EA. Acoustic cavitation. *Phys Rep* 1980; 61: 159–251.
- 8.Thompson LH, Doraiswamy LK. Sonochemistry: science and engineering. *Ind Eng Chem Res* 1999;38(4):1215-49.
- 9.Mason TJ, Peters D. *Power ultrasound and applications*. 2nd ed. Chichester: Horwood Publishing 2002; pp: 452-64.
- 10.Naddeo V, Landi M, Belgiorno V, Napoli RM. Wastewater disinfection by combination of ultrasound and ultraviolet irradiation. *J Hazard Mater* 2009;168(2-3): 925-9.
- 11.Twort AC, Ratnayaka DD, Brandt MJ. *Water supply*. 1st ed. London: IWA Publishing 2009; pp: 1251-79.
- 12.Su X, Zivanovic S, D'Souza DH. Inactivation of human enteric virus surrogates by high-intensity ultrasound. *Foodborne Pathog Dis* 2010;7(9):1055-61.
- 13.Neis U, Blume T. Ultrasonic disinfection of wastewater effluents for high-quality reuse. *Water Sci Technol* 2003; 3(4):261-7.
- 14.Lee H, Zhou B, Liang W, Feng H, Martin SE. Inactivation of *Escherichia coli* cells with sonication, manosonication, thermosonication, and manothermosonication: Microbial responses and kinetics modeling. *J Food Eng* 2009;93(3): 354-64.
- 15.WHO. *Guidelines for drinking-water quality*. 3rd ed. Geneva: World Health Organization (WHO) 2008; pp: 521-63.
- 16.Baruth EE. *Water treatment plant design*. 4th ed. Virginia: American Water Works Association (AWWA) 2005; pp: 1432-79.
- 17.APHA, AWWA, WEF. *Standard methods for the examination of waters and wastewaters*. 21st ed. Washington DC: American Public Health Association (APHA) 2005; p: 1368.
- 18.Satake E, Jagaroo V, Maxwell D. *Handbook of statistical methods: single subject design*. 1st ed. San Diego: Plural Pub 2008; pp: 126-37.
- 19.Berthouex P, Brown L. *Statistics for environmental engineers*. Florida. 1st ed. Lewis Publishers 2002; pp: 185-94.
- 20.Antoniadis A, Poulis I, Nikolakaki E, Mantzavinos D. Sonochemical disinfection of municipal wastewater. *J Hazard Mater* 2007;146(3):492-5.
- 21.Joyce E, Phull SS, Lorimer JP, Mason TJ. The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions: A study of frequency, power and sonication time on cultured *Bacillus* species. *Ultrason Sonochem* 2003;10(6):315-8.
- 22.Arrojo S, Benito Y, Tarifa AM. A parametrical study of disinfection with hydrodynamic cavitation. *Ultrason Sonochem* 2008;15(5):903-8.
- 23.Hulsmans A, Joris K, Lambert N, et al. Evaluation of process parameters of ultrasonic treatment of bacterial suspensions in a pilot scale water disinfection system. *Ultrason Sonochem* 2010;17(6):1004-9.