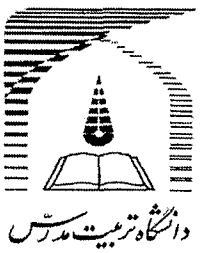
٨٧١٫١٠٨٧٥٧
٨٨٫٢٫٥

٤١٣٧

بسم الله الرحمن الرحيم

١٠٩٩٦٤

۸۷/۱/۱۰۸۷۵۷
۸۸ ـ ۲۵



دانشکده علوم پزشکی

رساله دوره دکتری رشته بهداشت محیط

عنوان

حذف عوامل باکتریائی (*اشرشیا کلی* و *استرپتوکوکوس فکالیس*) و اندوتوکسین از آب آشامیدنی توسط خاکستر استخوان اصلاح شده و سیستم تلفیقی ازن/خاکستر استخوان

نگارش

قادر غنی زاده

استاد راهنما :

دکتر عباس رضایی

۱۳۸۸ /۱/ ۱۸

اساتید مشاور:

دکتر احمد رضا یزدانبخش

دکتر قربان بهزادیان نژاد

بهمن ۱۳۸۷

۱۰۹۹۶۴

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای قادر غنی زاده رشته بهداشت محیط رساله دکتری واحدی خود را با عنوان: " حذف عوامل باکتریای(اشرشیاکلی و استرپتوکوکوس فکالیس)و اندوتوکسین از آب آشامیدنی توسط خاکستر استخوان اصلاح شده و سیستم تلفیقی ازن/خاکستر استخوان " درتاریخ ۸۷/۱۱/۲ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر عباس رضایی	
۲- استاد مشاور	دکتر احمدرضا یزدانبخش	
۳-استاد مشاور	دکتر قربان بهزادیان نژاد	
٤-استاد ناظر	دکتر غلامرضا موسوی	
٥-استاد ناظر	دکتر حسن اصیلیان	
٦-استاد ناظر	دکتر مهرداد فرخی	
۷-استاد ناظر	دکتر احمد جنیدی	
۸-نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر علی خوانین	

آئین نامه پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیتهای علمی ــ پژوهشی دانشگاه است .بنابراین به منظورآگاهی و رعایت حقوق دانشگاه ، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود ،مراتب را قبلا به طور کتبی به دفتر " دفتر نشر آثار علمی " دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند :

" کتاب حاضر ، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده دررشته بهداشت محیط ..... است که در سال ۸۷..... دردانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی دکتر عباس رضائی ... ، مشاوره دکتر مهران بخشی و دکتر بهرام رضوانی از آن دفاع شده است."

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه ،تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قراردهد .

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳ ، ۵۰ ٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس ،تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداختهای بهای خسارت ،دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه ووصول کند ،به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود ، ازطریق دادگاه ، معادل وجه مذکور در ماده ۴ رااز محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش ،تامین نماید .

ماده ۶: اینجانب فاطمه بخش زاده ..... دانشجوی رشته بهداشت محیط ..... مقطع دکتری ..... تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده ، به آن ملتزم می شوم.

نام ونام خانوادگی
فاطمه بخش زاده
تاریخ و امضاء
۸۷/۱۰/۲۱

دستورالعمل حق مالکیت مادي و معنوي در مورد نتایج پژوهشهاي علمي دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان ، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.
تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آئین نامه های مصوب انجام می شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی حاصل از نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸٤/٤/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگی:
تاریخ و امضاء:
۸۷/۱۰/۲۱

تقدیم به :
پیشگاه ولی عصر (عج) و روح ملکوتی امام راحل(ره)؛

شهدای هشت سال دفاع مقدس، آنان که همت ما بازماندگان به درک ایثار آنها راه نمی یابد.

روح پدر بزرگوارم؛

همسر بسیار فداکارم که تحصیل این مقطع بدون مساعدت های ایشان میسرنبود.

تک گل زندگی ام که لحظات شیرین و کودکانه خود را اغلب بدون حضور من سپری کرد.

مادرم، سمبل عواطف الهی ، او که به من آموخت زنگار نا امیدی را با تلاش و پشتکار از آئینه وجودم پاک کنم؛

برادران و خواهران مهربانم .

تشکر و قدردانی

سپاس بیکران خداوندیکتا را که به ماهستی بخشید و ما را از نعمتهای بیکران خود بهره مند ساخت. خداوندی که گویندگان از دستیابی به ستایش او باز می مانند و شمارشگران به شمارش نعمتهای او دست نمی یابند وکوشندگان از شکرگزاری او ناتوانند، خدواند یکتا را که همت های بلند پرواز به ادراک او راه نمی جویند و ژرف اندیشی های خردهای تیزبین به او در نمی رسند.

به شکرانه الطاف پروردگار یکتا و یاری حضرت حق در جهت انجام این پژوهش ، بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از تمامی اساتید ، دوستان و همکارانی که به نحوی در انجام این پژوهش ما را یاری کردند ابراز می نمایم.

جناب آقای دکتر عباس رضایی ، استاد محترم راهنما که در انتخاب موضوع و انجام مراحل مختلف تحقیق از تجربیات ایشان بهره مند بوده ام.

جناب آقای دکتر احمد رضا یزدانبخش استاد محترم مشاور که همواره از حمایتها و تجربیات ایشان در طول دوران تحصیل برخودار بوده ام.

جناب آقای دکتر بهزادیان نژاد استاد محترم مشاور که در طول انجام این تحقیق از راهنمائیها و مساعدت های ایشان بهره مند بوده ام.

جناب آقای دکتر خوانین مدیر محترم گروه بهداشت حرفه ای و محیط دانشکده علوم پزشکی و استاد محترم مشاور که همواره از ارشادات ایشان بهره مند بوده ایم.

جناب آقای دکتر ابراهیم حاجی زاده مشاور محترم آمار که در مراحل انجام تحقیق ما را صمیمانه پذیرا بودند.

جناب آقای دکتر مرتضوی استاد محترم ناظر و عضوگروه بهداشت محیط و حرفه ای

جناب آقای دکتر اصیلیان استاد محترم ناظر وعضو گروه بهداشت محیط و حرفه ای

جناب آقای دکتر غلامرضا موسوی استاد محترم ناظر وعضو گروه بهداشت محیط و حرفه ای

جناب آقای دکتر سید جمال الدین هاشمیان استاد محترم دانشگاه شریف که صمیمانه ما را هدایت می فرمودند.

جناب آقای دکتر سیادت عضو محترم هیئت علمی انستیتو پاستور ایران

جناب آقای دکتر محمد تقی قانعیان دوست و همکار ارجمندم که همواره از مساعدتها و ارشادات ایشان بهره مند بودم.

جناب آقای مسعود سینکی که در تامین نیازهای مختلف صمیمانه ما را یاری فرمودند.

چکیده

در این تحقیق حذف اندوتوکسین و عوامل باکتریایی *اشرشیا کلی* و *استرپتوکوکوس* فکالیس از آ ب با استفاده از خاکستر استخوان اصلاح شده و سیستم تلفیقی ازن / خاکستر استخوان بررسی شد. خاکستر استخوان در شرایط آزمایشگاهی و در دماهای $^{\circ}C$ ۹۰۰ و $^{\circ}C$ ۴۵۰ با زمانهای ۸و ۴/۵ ساعت تهیه و با استفاده از سولفات مس ۱۰۰ میلی مول اصلاح گردید. خاکستر تهیه شده در دمای $^{\circ}C$ ۹۰۰ دارای عدد یدی و سطح کمتر اما اندازه خلل فرج آن درشت تر می باشد. اما خاکستر تهیه شده در دمای $^{\circ}C$ ۴۵۰ دارای عدد یدی و سطح بیشتر ولی اندازه قطر خلل و فرج کوچکتری است. آغشته کردن خاکسترها با مس باعث کاهش عدد یدی و سطح ویژه خاکسترها شد. مهمترین جزء خاکسترهای تولیدی هیدروکسی آپاتیت کلسیم($Ca_5(PO_4)OH$) است. جذب اندوتوکسین به صورت ناپیوسته با جرم های ۰، ۱، ۱/۵ ، ۲و۲/۵ گرم جاذب ها و به صورت پیوسته با زمان های تماس بستری ۳۰ و ۴۵ دقیقه انجام شد. جذب اندوتوکسین در تمام خاکسترها از ایزوترم لانگمیر تبعیت می کند. بررسی سینتیک جذب اندوتوکسین نشان داد که نوع واکنش جذب انجام شده در تمام خاکسترها با توجه به مقدار انرژی جذب از نوع فیزیکی است که در خاکستر سفید معمولی توسط مکانیسم پخش در لایه نازک(فیلم دیفیوژن) اما در سایر انواع خاکسترها توسط مکانیسم پخش در خلل و فرج کنترل می گردد. افزایش شدت یونی و pH محیط باعث کاهش میزان جذب هر دو گونه باکتری می گردد. دوز ازن ۰/۴۵ gr/h می تواند اندوتوکسین را با سرعت ۰/۷ Eu/ml.h حذف کند. حضور خاکستر استخوان سفید و سیاه معمولی باعث کاهش سرعت حذف اندوتوکسین می گردد. استفاده از خاکسترهای آغشته به مس باعث افزایش سرعت حذف اندوتوکسین می گردد . حذف اندوتوکسین با ازن زنی منفرد و ازن /خاکستر استخوان یک واکنش درجه صفر است

کلمات کلیدی: خاکستر استخوان، اندوتوکسین ، *اشرشیا کلی*، *استرپتوکوکوس فکالیس*، جذب، ازن .

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول – کلیات..... ۱

۱- اندوتوکسین و باکتری در آب ۲

۱-۱-۱- اهمیت کیفیت آب..... ۲

۱-۱-۲- مکانیسم عمل اندوتوکسین..... ۴

۱-۱-۳- علائم تماس با اندوتوکسین ۶

۱-۱-۴- تماس وریدی با اندوتوکسین ۷

۱-۱-۵- دوزهای تنفسی اندوتوکسین..... ۸

۱-۱-۶- حوادث ناشی از تماس با اندوتوکسین موجود در آب..... ۱۰

۱-۱-۷- اندوتوکسین در آبهای سطحی و زیر زمینی تصفیه نشده..... ۱۱

۱-۱-۸- اثر فرآیندهای تصفیه آب بر اندوتوکسین..... ۱۳

۱-۱-۹- تماسهای شغلی با اندوتوکسین..... ۱۸

۱-۱-۱۰- ارزیابی تئوریکی تماس با آئروسلهای حاوی اندوتوکسین دوشهای حمام..... ۱۹

۱-۲-جذب ۲۱

۱-۲-۱-تاریخچه فرآیند ۲۱

۱-۲-۲- مزایای فرآیند جذب..... ۲۲

۱-۲-۳- واکنشهای فرآیند جذب..... ۲۲

۱-۲-۴- سینتیک جذب..... ۲۳

۱-۲-۵- ایزوترم جذب..... ۲۴

۱-۲-۶- خصوصیات مواد جاذب ۲۷

۱-۳- جذب باکتری بر روی مواد جامد..... ۲۹

۱-۳-۱- عوامل موثر در جذب باکتری..... ۲۹

۱-۳-۲- مدل های جذب عوامل باکتریایی ۳۰

۱-۴- خاکستر استخوان..... ۳۱

۱-۵- ازن ۳۴

۱-۵-۱- تحولات تاریخی ازن ۳۴

۱-۵-۲- شیمی ازن..... ۳۴

۱-۵-۳-تولید ازن..... ۳۴

۱-۵-۴-مکانیسم واکنش ازن..... ۳۷

۱-۵-۵-راکتور های تماس ازن..... ۳۸

فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده ۴۰

۲-۱- مطالعات انجام شده بر روی خاکستر استخوان ۴۱
۲-۲- جذب باکتری در سطوح جامد ۴۴
۲-۳- روشهای حذف اندوتوکسین ۴۶
۲-۴- تصفیه آب با فرآیند ازن زنی ۴۸
۲-۵- تصفیه آب با فرآیند ازن زنی کاتالیتیکی ۴۹
فصل سوم: مواد و روشها **۵۸**
۳– ۱- تهیه خاکستر استخوان و تعیین مشخصات آن ۵۹
۳-۲- تعیین ویژگی های خاکستر استخوان ۵۹
۳-۲-۱- تعیین سختی موهس (مقاومت) ۵۹
۳-۲ -۲- دانه بندی خاکستر استخوان ۶۰
۳-۲-۳- تعیین عدد یدی خاکستر استخوان ۶۰
۳-۲-۴- تعیین دانسیته ظاهری خاکستر استخوان ۶۲
۳-۲-۵- تعیین در صد تخلخل بستری و وزن مخصوص خاکستر استخوان ۶۲
۳-۲-۶- تعیین سطح ویژه جاذبها با روش BET ۶۳
۳-۲-۷-تعیین pH_{ZPC} ۶۴
۳-۲-۸- تعیین مشخصات ساختاری خاکستر استخوان ۶۵
۳-۳- پوشاندن خاکستر استخوان با کاتیون مس ۶۶
۳-۴- کشت و تهیه بذر باکتریائی ۶۷
۳-۵- نگهداری باکتری در محیط کشت حاوی ۱۵٪ گلیسیرول ۶۸
۳-۶- استخراج و تخلیص اندوتوکسین ۶۸
۳-۷- آماده سازی غشاء دیالیز ۷۰
۳ -۸- الکتروفورز اندوتوکسین اشرشیا کلی ۷۰
۳-۹- رنگ آمیزی با نیترات نقره ۷۲
۳-۱۰- تهیه نمودار استاندارد اندوتوکسین ۷۳
۳-۱۱- تعیین غلظت اندوتوکسین ۷۵
۳-۱۲- اندازه گیری اندوتوکسین با روش کروموژنیک (LAL) ۷۵
۳-۱۲-۱ – اصول آزمایش ۷۶
۳-۱۲-۲- محلولهای موجود در کیت و شرایط نگهداری آنها ۷۷
۳-۱۲-۳- مواد و تجهیزاتی که باید آماده شوند ۷۸
۳-۱۲-۴- اندازه گیری غلظت اندوتوکسین ۸۱
۳-۱۳- تهیه لوله های استاندارد مک فارلند ۸۳
۳- ۱۴- تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) ۸۵

۳-۱۵- تهیه و اندازه گیری ازن ۸۷
۳-۱۵-۱ – تهیه گاز ازن ۸۷
۳-۱۵-۲- اندازه گیری گاز ازن..... ۸۷
۳-۱۶- جذب اندوتوکسین در انواع خاکستر استخوان..... ۸۸
۳-۱۶-۱- جذب در سیستم ناپیوسته ۸۸
۳-۱۶-۲- جذب در سیستم پیوسته(ستون) ۸۹
۳-۱۷- حذف اندوتوکسین با ازن زنی کاتالیتیکی در حضور خاکستر استخوان ۹۰
۳-۱۸- جذب باکتری توسط خاکستر استخوان..... ۹۱
فصل چهارم : نتایج، بحث و پیشنهادات.....۹۲
۴-۱- نتایج مشخصات خاکسترهای استخوان ۹۳
۴-۱-۱- خاکسترهای استخوان معمولی ۹۳
الف: دانه بندی، تخلخل ، دانسیته ظاهری و سختی موهس..... ۹۳
ب: عدد یدی خاکستر های معمولی..... ۹۹
ج: pH_{ZPC} خاکسترهای معمولی..... ۱۰۱
د: مشخصات ساختاری خاکستر ها ی معمولی..... ۱۰۳
ه: سطح ویژه خاکستر های معمولی ۱۰۹
۴-۱-۲- مشخصات فیزیکی خاکسترهای استخوان پوشانده شده با مس..... ۱۱۹
الف: دانه بندی، تخلخل ، دانسیته ظاهری و سختی موهس..... ۱۲۳
ب: عدد یدی خاکسترهای پوشانده شده با مس..... ۱۲۵
ج: pH_{ZPC} خاکسترهای پوشانده شده با مس ۱۲۷
د: مشخصات ساختاری خاکسترهای پوشانده شده با مس..... ۱۲۹
ه: سطح ویژه خاکسترهای پوشانده شده با مس ۱۳۵
۴-۲- نتایج جذب اندوتوکسین در خاکسترهای استخوان ۱۴۴
۴-۲-۱-جذب اندوتوکسین در خاکستر سفید معمولی..... ۱۴۴
الف- ایزوترم جذب ۱۴۴
ب- نتایج سینتیک جذب اندوتوکسین در خاکستر سفید معمولی..... ۱۵۱
ج- تعیین انرژی واکنش و نوع واکنش جذب..... ۱۵۳
۴-۲-۲ – جذب اندوتوکسین در خاکستر سیاه معمولی..... ۱۵۶
الف- ایزوترم جذب ۱۵۶
ب- نتایج سینتیک جذب اندوتوکسین در خاکستر سیاه معمولی..... ۱۵۹
ج- تعیین انرژی واکنش و نوع واکنش جذب..... ۱۶۱
۴-۲-۳ – جذب اندوتوکسین در خاکستر سفید پوشانده شده با مس ۱۶۲

الف- ایزوترم جذب ۱۶۲
ب- نتایج سینتیک جذب اندوتوکسین در خاکستر سفیدحاوی مس..... ۱۶۵
ج- انرژی واکنش و نوع واکنش جذب درخاکستر سفید حاوی مس..... ۱۶۷
۴-۲-۴ – جذب اندوتوکسین در خاکستر سیاه پوشانده شده با مس..... ۱۶۸
الف- ایزوترم جذب ۱۶۸
ب- نتایج سینتیک جذب اندوتوکسین در خاکستر سیاه حاوی مس..... ۱۷۱
ج- انرژی واکنش و نوع واکنش جذب درخاکستر سیاه حاوی مس..... ۱۷۳
۴-۲-۵- مطالعه ستونی جذب اندوتوکسین در انواع خاکستر استخوان..... ۱۷۴
۴-۳- جذب باکتری ها در خاکسترهای استخوان ۱۷۷
۴-۳-۱- جذب *اشرشیا کلی* (*E.Coli* : ۲۵۹۲۲)..... ۱۷۸
۴-۳-۲-جذب *استرپتوکوکوس فکالیس* (ATCC ۲۹۲۱۲):..... ۱۸۱
۴-۴- اثرفرآیند ازن زنی و ازن خاکستر استخوان در حذف اندوتوکسین ۱۸۳
۴-۴-۱- تأثیر فرآیند ازن زنی متداول..... ۱۸۳
۴-۴-۲- تأثیرازن زنی کاتالیتیکی در حذف اندوتوکسین..... ۲۲۲
۴-۵- نتیجه گیری ۱۹۹
۴-۶- پیشنهادات..... ۲۰۱
فهرست منابع ۲۰۲

فهرست جداول

جدول ۱- ۱ : دوزهای وریدی اندوتوکسن برای افزایش دمای بدن ۸
جدول ۱-۲ : مقادیر اندوتوکسین مورد تماس در ۴ گروه از کارگران کارخانه کتان..... ۹
جدول۱-۳: دوز تنفسی اندوتوکسین برای ایجاد علائم مشخص ۱۰
جدول ۱-۴ :غلظت های اندازه گیری شده اندوتوکسین در آبهای سطحی و زیر زمینی خام ۱۲
جدول ۱-۵ : غلظت اندوتوکسین در نقاط مختلف تصفیه خانه آب آ شامیدنی..... ۱۳
جدول ۱-۶: غلظت اندوتوکسین در نقاط مختلف سیستم توزیع و تصفیه خانه آب آشامیدنی ۱۵
جدول ۱-۷ : غلظت اندوتوکسین در پساب بازیافتی از تصفیه پیشرفته فاضلاب..... ۱۷
جدول ۱-۸ : غلظت های اندوتوکسین منتقله از هوا در تجهیزات مشاغل مختلف..... ۱۹
جدول ۱-۹ : مشخصات آئروسلهای تولیدی در دوشهای حمام..... ۱۹
جدول ۱-۱۰:غلظت های اندوتوکسین محاسبه شده در هوای دوشهای حمام..... ۲۱
جدول ۱-۱۱: مکانیسمهای جذب باکتری در سطوح جامد ۳۱

جدول ۱- ۱۲ : سیستم های معمول تولید ازن ۳۷
جدول۱-۱۳: مزایا و معایب تماس دهنده دیفیوزری حبابی ۳۹
جدول ۳-۱ : ترکیبات لازم برای تهیه ژل پایین الکتروفورز ۷۱
جدول ۳-۲ : ترکیبات لازم برای تهیه ژل بالای الکتروفورز ۷۲
جدول ۳-۳ : آماده سازی رقت های مختلف اندوتوکسین ۸۰
جدول ۳-۴ : حجم محلولهای مورد استفاده در آزمایش کروموژنیک LAL ۸۱
جدول ۳-۵ : داده های جذب محلولهای استاندارد ۸۲
جدول ۳-۶ : حجم محلولهای موردنیاز برای تهیه لوله های استاندارد مک فارلند ۸۴
جدول ۴-۲: اجزا ساختار انواع خاکستر استخوان ۱۳۴
جدول ۴-۳ : نتایج آنالیز سطحی انواع خاکستر استخوان ۱۴۲
جدول ۴- ۴ :ثابتهای ایزوترم لانگمیر و R_L در خاکستر سفید معمولی ۱۴۷
جدول ۴-۵ : ثابتهای ایزوترم لانگمیر و R_L در خاکستر سیاه معمولی ۱۵۷
جدول ۴-۶ : ثابتهای ایزوترم لانگمیر و R_L در خاکستر سفیدحاوی مس ۱۶۴
جدول ۴-۷ : ثابتهای ایزوترم لانگمیر و R_L در خاکستر سیاه حاوی مس ۱۶۹

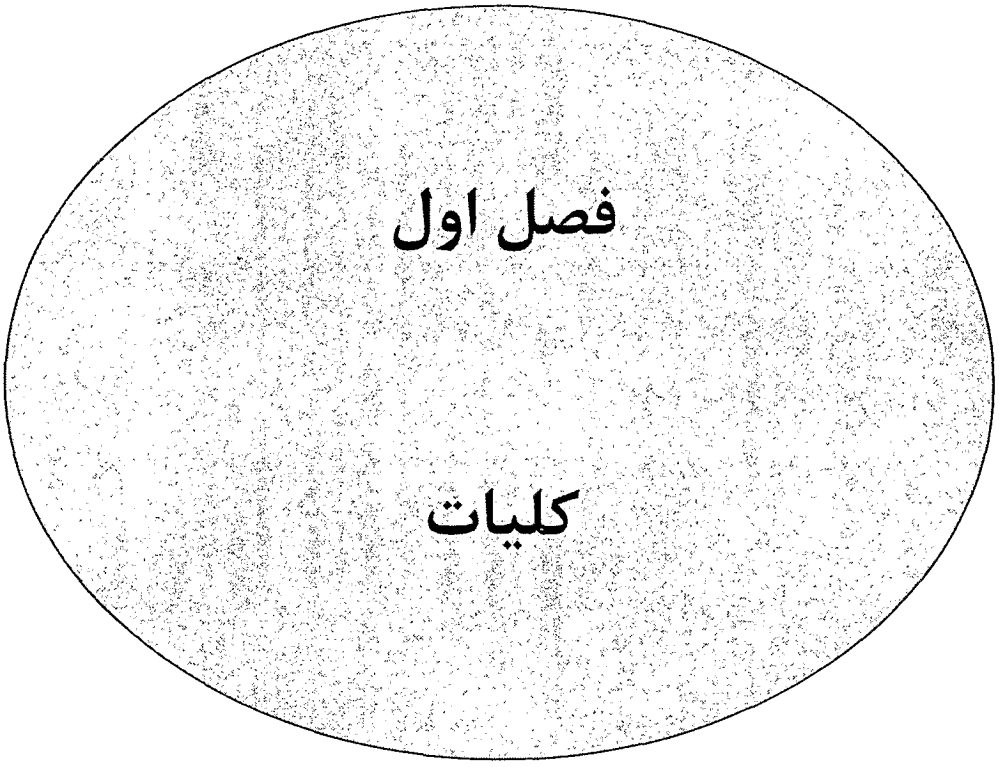
فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱ : منحنی استاندارد اندوتوکسین ۷۴
نمودار ۳-۲ : منحنی استاندارد اندوتوکسین با روش کروموژنیکLAL ۸۳
نمودار ۴-۹ : نمودار BJH جهت تعیین پراکندگی اندازه خلل وفرج خاکستر سفید معمولی ۱۱۱
نمودار ۴-۲۷ : ایزوترم جذب اندوتوکسن در خاکستر سفید معمولی ۱۴۶
نمودار ۴-۴۱ : سینتیک جذب اندوتوکسین در خاکسترسفید معمولی ۱۵۲
نمودار ۴-۴۲: نمودار تعیین ضریب m در خاکستر سفید معمولی ۱۵۳
نمودار ۴-۴۴ : ایزوترم جذب اندوتوکسن در خاکستر سیاه معمولی ۱۵۶
نمودار ۴-۴۷ : نمودار تعیین ضریب m در خاکستر سیاه معمولی ۱۶۰
نمودار ۴-۴۸ : رسم معادله D-R درخاکسترسیاه معمولی ۱۶۲
نمودار ۴-۴۹ : : ایزوترم جذب اندوتوکسن در خاکستر سفید حاوی مس ۱۶۳
نمودار ۴-۵۰ : میزان اندوتوکسن جذب شده در زمانهای مختلف در خاکستر سفید حاوی مس ۱۶۵
نمودار ۴-۵۱ : نمودار سنتیک جذب آلاینده در خاکستر سفید حاوی مس ۱۶۶
نمودار ۴-۵۲: نمودار تعیین ضریب m در خاکستر سفید حاوی مس ۱۶۶
نمودار ۴-۵۳ : رسم معادله D-R درخاکسترسفید حاوی مس ۱۶۸
نمودار ۴-۵۴: : ایزوترم جذب اندوتوکسن در خاکستر سیاه حاوی مس ۱۶۹

نمودار ۴-۵۵ : میزان اندوتوکسن جذب شده در زمانهای مختلف در خاکستر سفید حاوی مس ۱۷۰
نمودار ۴-۵۶ : سنتیک جذب آلاینده در خاکستر سیاه حاوی مس..... ۱۷۲
نمودار ۴-۵۷ : تعیین ضریب m در خاکستر سیاه حاوی مس..... ۱۷۲
نمودار ۴-۵۸: رسم معادله D-R درخاکسترسیاه حاوی مس..... ۱۷۴
نمودار ۴- ۶۰ : تعداد حجم بستری قابل تصفیه با خاکستر سفیدمعمولی ۱۷۵
نمودار ۴- ۶۱ : تعداد حجم بستری قابل تصفیه با خاکستر سیاه معمولی..... ۱۷۵
نمودار ۴- ۶۲ : تعداد حجم بستری قابل تصفیه با خاکستر سفید حاوی مس ۱۷۶
نمودار ۴- ۶۳ : تعداد حجم بستری قابل تصفیه با خاکستر سیاه حاوی مس..... ۱۷۶
نمودار ۴-۶۴: جذب باکتری بر روی خاکستر سفید معمولی ۱۷۸
نمودار ۴-۶۵: تأثیر pH در جذب اشرشیا کلی بر روی خاکسترهای سفید ۱۸۰
نمودار ۴-۶۶ : تأثیر pH در جذب اشرشیا کلی بر روی خاکسترهای سیاه..... ۱۸۰
نمودار ۴-۶۸: تأثیر شدت یونی در جذب باکتری با خاکسترهای سیاه ۱۸۱
نمودار ۴-۶۹: تأثیر تغییرات pH در جذب باکتری در خاکستر های سفید ۱۸۲
نمودار ۴-۷۰: تأثیر تغییرات pH در جذب باکتری در خاکستر های سیاه ۱۸۲
نمودار ۴-۷۰: تأثیر تغییرات شدت یونی در جذب باکتری ۱۸۳
نمودار ۴- ۷۱ : اثر ازن زنی در ۴ pH در حذف اندوتوکسین ۱۸۵
نمودار ۴- ۷۲ : اثر ازن زنی در ۷ pH در حذف اندوتوکسین ۱۸۶
نمودار ۴- ۷۳ : اثر ازن زنی در ۱۱ pH در حذف اندوتوکسین..... ۱۸۶
نمودار ۴- ۷۳ : اثر غلظت های مختلف ازن در حضور خاکستر سیاه در حذف اندوتوکسین..... ۱۸۶
نمودار ۴- ۷۴ : اثر غلظت های مختلف ازن در حضور خاکستر سیاه در حذف اندوتوکسین..... ۱۹۱
نمودار ۴- ۷۵: اثر ازن زنی در حضور خاکستر سفید معمولی در حذف اندوتوکسین..... ۱۹۲
نمودار ۴-۷۷: اثر ازن زنی در حضور خاکستر سیاه معمولی..... ۱۹۳
نمودار ۴-۷۸: اثر ازن زنی در حضور خاکستر سیاه معمولی..... ۱۹۳
نمودار ۴-۷۹: اثر ازن زنی در حضور خاکستر سیاه در حذف اندوتوکسین..... ۱۹۴
نمودار ۴-۸۰ : اثر ازن زنی در حضور خاکستر سیاه حاوی مس در حذف اندوتوکسین..... ۱۹۶
نمودار ۴-۸۱ : اثر ازن زنی در حضور خاکستر سیاه حاوی مس در حذف اندوتوکسین..... ۱۹۶
نمودار ۴-۸۲ : اثر ازن زنی در حضور خاکستر سیاه حاوی مس در حذف اندوتوکسین..... ۱۹۷
نمودار ۴- ۸۳ : اثر ازن زنی در حضور خاکستر سیاه حاوی مس در حذف اندوتوکسین..... ۱۹۷

فهرست شکلها

شکل ۱-۱ : اثرات پاتوفیزیولوژیکی اندوتوکسین در پستانداران ۶
شکل۱-۲ : ساختار هیدروکسی آپاتیت کلسیم..... ۳۲
شکل۱-۳ : آسیاب مورد استفاده برای تهیه گرانول خاکستر استخوان..... ۳۴
شکل ۱- ۴: مسیر های اکسیداسیون ترکیبات آب توسط ازن..... ۵۴
شکل ۱- ۵ : سیستم تولید ازن ۳۶
شکل ۳-۱ : میکروسکوپ الکترونی مورد استفاده..... ۶۵
شکل ۳-۲ : فاز های مختلف ایجاد شده پس از سانتریفیوژ عصاره لیز شده اشرشیا کلی..... ۶۹
شکل ۳-۳: معرف رنگی در حضور اندوتوکسین و بدون حضور اندوتوکسین..... ۷۵
شکل ۴-۱ : عکس الکترونی خاکستر سفید معمولی با ولتاژ۲۰ Kv ۱۰۴
شکل۴-۲: عکس الکترونی خاکستر سیاه معمولی با ولتاژ ۲۰ Kv ۱۰۴
شکل۴-۳: عکس الکترونی خاکستر سفید حاوی مس با ولتاژ ۲۰ Kv ۱۳۰
شکل۴-۴ : عکس الکترونی خاکستر سیاه حاوی مس با ولتاژ ۲۰ Kv ۱۳۰


فصل اول
کلیات

۱- اندوتوکسین و باکتری در آب

۱-۱-۱- اهمیت کیفیت آب

آب یکی از مهمترین ذخائر طبیعی جهان است که زندگی بدون آن امکان پذیر نیست. بررسی های تاریخی نشان می دهد که به دلیل سهولت دسترسی به آب رودخانه ها جوامع اولیه بشری درکنار این منابع آب تشکیل شده و افراد برای رفع نیازهای آبی و دفع زائدات تولیدی خود اغلب ازآب رودخانه ها استفاده می کردند. اهمیت بهداشتی آب و رابطه آلودگی آب به باکتریهای روده ای و بیماریهای گوارشی تا سال ۱۸۵۴ مشخص نشده بود به طوری که بعد از این سال که وبای لندن باعث مرگ ۱۰۰۰۰نفر شد ارتباط بین آلودگی آب و بیماریهای روده ای و ضرورت حذف عوامل میکروبی بیماریزا از آب مشخص شد[۱]. سازمان جهانی بهداشت گزارش نموده است که سالانه ۱/۴ بیلیون کودک زیر پنج سال به بیماری های اسهالی دچار می شوند که باعث مرگ ۴/۹ میلیون کودک می شود[۲]. بررسی فرآیند های تامین آب آشامیدنی نشان می دهد که اغلب کشورها از منابع آب سطحی و زیرزمینی برای این هدف استفاده می کنند اما متاسفانه این منابع آب برای دفع فاضلاب های تصفیه شده و خام نیز استفاده می شوندکه عامل مهم آلودگی باکتریائی و شیمیائی آنها است[۱] . در سال های اخیربه دلیل افزایش مخاطرات بهداشتی مرتبط با کیفیت میکروبی و شیمیایی آب و نارسائی روش های متداول در شناسائی و تشخیص چنین آلاینده هایی ، دامنه شناسایی این آلاینده هاتوسعه زیادی یافته است که از میان این روش ها می توان به شناسائی کاپرو استانول به عنوان یک ترکیب آلی موجود در مدفوع اشاره کرد[۳]. این امرنشان دهنده ضرورت استفاده از تکنولوژی های پیشرفته جهت حفظ و بهبود کیفیت منابع آب می باشد. یکی از مهمترین عوامل افت کیفیت آب ورود عوامل مغذی و رشد گیاهان وجلبک ها است که باعث رشد میکروارگانیسم های فتوسنتزکننده و سیانوباکتر ها می شوند که خود از عوامل مهم تولید و ورود مواد سمی نظیرمیکروسیستین و اندوتوکسین در آب هستند که باید مورد توجه قرار بگیرند[۶ و۵, ۴] . علاوه بر آبهای سطحی ، منابع آب زیرزمینی نیز که جزء سا لم ترین و مهمترین منابع آب آشامیدنی هستند و اغلب باکمترین فرآیند تصفیه ای نظیر گند زدائی می توانند مورد استفاده قرار بگیرند در

بعضی مواقع به علت حضورآلودگی های شیمیائی حاصله از سازند های زمین ، آلودگی های میکروبی ثانویه و محصولات حاصله از گندزدائی نظیر تری هالومتان ها[۸ و۷] و اندوتوکسین های حاصله از مرگ و متلاشی شدن باکتری های گرم منفی به عنوان یک آلاینده مهم دچار افت کیفیت می شوند[۱۰ و۹].

آب خروجی از تصفیه خانه ها نیز به دلایل متعدد تا نقطه مصرف دچار تغییر و افت کیفیت می شود[۱] . در بعضی موارد کاربرد سیستم های مختلف نظیر سیستم های کربوناسیون خانگی به منظور دسترسی به آب نرم باعث تغییرکیفیت باکتریائی آب می شوند. مطالعات انجام شده بر روی کیفیت میکروبی آب آشامیدنی تولید شده در سیستم های کربوناسیون خانگی و آب خروجی از شیر مصرف کننده ها نشان دهنده حضور برخی عوامل باکتریائی نظیر باکتری های گروه *کلی فرم* و *استرپتوکوک مدفوعی* است. مطالعات انجام شده در سال ۲۰۰۵ نشان می دهد که ۱۲٪ آب مورد استفاده در نقطه مصرف به کلی فرم آلوده بوده است. همچنین ۳۹٪ از نمونه های برداشت شده از سیستم های کربوناسیون با کلیفرم و ۶٪ با *استرپتوکوک مدفوعی* آلوده بوده است. علاوه بر سیستم های تصفیه ای مورد استفاده در نقطه مصرف سیستم های توزیع خانگی نظیر لوله ها، اتصالات و شیر های برداشت آب می توانند توسط عوامل باکتریائی آلوده شوند که نشان دهنده وجود پتانسیل آلودگی آب در نقطه مصرف و اثرات سوء بهداشتی آن است این امر به ویژه برای افرادی که مشکلات ایمنی دارند بسیار مهم است[۱۱]. از آنجائیکه تامین آب شرب سالم از مسائل بسیار مهم است ، توسعه راهکار های مناسب جهت شناسائی و حذف آلایندها از منابع آبهای سطحی ، زیرزمینی و آب لوله کشی شده ضروری است . این امر نشان می دهد سیستم های پایش کیفیت آب بایدبه طور گسترده و با در نظر گرفتن تعداد وسیعی از عوامل شیمیائی و میکروبی پایه گذاری شوند[۱۲]. هرچند فرآیند های مختلف نظیر جوشاندن به عنوان یک روش برای حذف عوامل باکتریائی مورد استفاده قرار می گیرد ولی استفاده از این روش خود باعث اثرات سوء برآلاینده های محلول شده و باعث تولید ترکیبات آلاینده جدید می شودکه دارای اثرات سوء بهداشتی متعددی هستند[۱] . از جمله این ترکیبات می توان به متابولیت های باکتریائی نظیر اندوتوکسین ها اشاره کرد. بررسی های اپیدمیولوژیکی در سوئد نشان می دهد که استفاده از آب رودخانه به منظور شرب باعث شده ۱۲۱ نفر از ۳۰۴ نفر ساکن در روستا به بیماری های اسهال، استفراغ و کرامپ عضلانی دچار شوند که علت آن

وجود اندوتوکسین در آب مصرفی بوده است. در استرالیا رشد سیانوباکترها در مخازن آب شرب جزیره پالم[1] و استفاده از سولفات مس به عنوان گند زدا باعث ورود اندوتوکسین به آب و بیمار شدن ۱۴۱ نفر شده است. در استرالیا تماس با آب های تفریحی حاوی اندوتوکسین باعث شده که ۸۵۲ نفر به اسهال شدید، استفراغ، تب ، حساسیت پوستی و چشمی دچار شوند [۲] .

اندوتوکسین جزء ترکیبات پیچیده لیپو پلی ساکاریدی[2] (LPS) است که بخش لایه بیرونی دیواره سلولی باکتریهای گرم منفی و بعضی از سیانوباکترها را تشکیل می دهد. کمپلکس LPS مولکولهای بزرگی هستند که از سه قسمت اصلی لیپید A ، هسته پلی ساکاریدی و آنتی ژن O تشکیل شده اند. جزء لیپید A اندوتوکسین برای تمام واکنشهای بیولوژیکی بحرانی است. اندوتوکسین به طور معمول در هنگام تکثیر و لیز شدن باکتری های گرم منفی آزاد می شود. این ترکیب در برابر دما مقاوم است به طوری که حتی دمای ۱۲۱^{oC} را به مدت ۱ ساعت تحمل می کند. واژه های اندوتوکسین و لیپو پلی ساکارید اغلب در گذشته به جای یکدیگر استفاده می شدند. اما یافته های اخیر نشان می دهد جزء لیپید A اندوتوکسین برای واکنشهای بیولوژیکی عامل بحرانی است به همین دلیل این واژه ها نباید به جای یکدیگر مورد استفاده قرار بگیرند. اطلاعات محدودی در مورد میزان اندوتوکسین سلولهای باکتریائی در دسترس است اما برخی از منابع اطلاعاتی نشان داده اندکه یک باکتری گونه سالمونلا حاوی ۱۰ فمتوگرم($۱۰\times۱۰^{-۱۵}gr$) از لیپو پلی ساکارید است. هر چند که مشخص نیست چه میزان از این جرم به لیپید A لیپو پلی ساکارید ها اختصاص دارد. اما این مقادیر تخمینی برای پژوهشگران جهت تخمین مقادیر باکتریهای گرم منفی و یا تخمین غلظتLPS مرتبط با تعداد مشخص از باکتریهای گرم منفی می تواند مفید باشد[۱۳] .

۱-۱-۲- مکانیسم عمل اندوتوکسین

مکانیسم های عمل اندوتوکسین در بدن بسیار پیچیده است اما چهار مسیر اصلی برای تأثیر اندوتوکسین در بدن مشخص شده است[۱۴] . مکانیسم های اصلی که در تمام این چهار مسیر انجام می شود بوسیله فعال

1 - Palm
2 - Lipopolysaccharide

سازی فاکتور هیگمن[1] (فاکتور ۱۲ لخته سازی خون)آغاز می شود. فاکتور هیگمن فعال شده می تواند آغاز گر آبشار لخته سازی خون شود که منجر به انعقاد خون ، انعقاد درون رگی خون[2]، که نتیجه آن خون ریزی داخلی و مشکلات اندامی نظیر مشکلات ریوی،کبدی و کلیوی خواهد بود. ممکن است فعال شدن برخی از سیستم های مکملی در اثر تماس با اندوتوکسین منجر به التهاب وسوزش شود. فاکتور فعال شده هیگمن باعث تبدیل پیش فعال کننده پلاسمینوژن به فعال کننده پلاسمینوژن شده که منجر به تشدید تولید پلاسمین می شود . پلاسمین نیز پروتئینی است که به عنوان واسطه در تحلیل لخته های خونی عمل کرده ودر پیشرفت خون ریزی مشارکت می کند. همچنین پلاسمین می تواند آبشار مکملی فوق الذکر را آغاز کرده ودر واکنشی التهابی که در ابتدا بوسیله اندوتوکسین آغاز شده مشارکت کند. در نهایت فاکتور هیگمن فعال شده می تواند باعث شروع یک سری واکنشهای آنزیمی شود که منجر به رها سازی برادی کینین ها[3] و سایر پپتیدهای فعال کننده می شود که باعث نشت بخشی از مایع خون به فضای بین حفره ای و کاهش حجم خون شده که نتیجه آن کاهش فشار خون خواهد بود که در صورت عدم درمان منجر به شوک و مرگ خواهد شد. طرح ساده ای از مسیرهای مختلف تأثیر اندوتوکسین بر پستانداران در شکل ۱-۱ نشان داده شده است. اغلب تحقیقات در مورد تأثیرات اندوتوکسین درانسان به عفونت های خونی باکتریهای گرم منفی وشوک های حاصله از اندوتوکسین مرتبط است. این پژوهشها هر چند که از زوایای متعددی به مسأله توجه کرده اند ولی در مورد تماس اندوتوکسین و اثرات سوء آنها از طریق آب توجه نکرده اند به طوریکه اطلاعات بسیار اندکی از تأثیرات تنفسی آئروسلهای حاوی اندوتوکسین و بلع آب حاوی اندوتوکسین در دسترس می باشد[۱۳] .

1- Hageman
2- Thrombosis
3 - Brady kinins