

## مطالعه اثر حمایت‌کننده الکترولیتی سدیم کلراید در حذف الکتروشیمیایی اسپور باسیلوس سوبتیلیس از آب آشامیدنی

معصومه مقدم ارجمند<sup>۱</sup>، عباس رضایی\*<sup>۲</sup>، سیمین ناصری<sup>۳</sup>، سید سعید اشراقی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۹/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۳

### چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه کریپتوسپورییدیوم پاروم به عنوان یکی از عوامل بیماری‌زای مهم منتقله از آب با مقاومت زیاد در برابر روش‌های متداول گندزدایی و با توان ایجاد مشکلاتی در منابع آب مطرح است. بدلیل مشکلات مطرح در مطالعات کریپتوسپورییدیوم، جهت برآورد غیرفعال سازی و ارزیابی کیفیت آب، استفاده از اسپور باسیلوس سوبتیلیس غیر بیماری‌زا به عنوان مدل توصیه شده است. از سوی دیگر، در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به فرایندهای الکتروشیمی به عنوان یک تکنولوژی سازگار با محیط زیست و کارآمد در تصفیه و گندزدایی آب شده است. هدف از انجام این تحقیق، ارائه روشی جهت ارتقاء کیفیت آب آشامیدنی است.

**روش بررسی:** در این تحقیق، سیستم الکتروشیمی حاوی الکترودهای استیل به ابعاد  $4 \times 8 \text{ cm}$  در حجم  $200 \text{ mL}$  از آب آشامیدنی واجد  $4-1 \text{ mg/L}$  سدیم کلراید مورد استفاده قرار گرفت. سوسپانسیون میکروبی واجد تعداد مشخصی از اسپور باسیلوس سوبتیلیس (*ATCC 6633*) مطابق با روش استاندارد مک فارلند، در محدوده  $10^3$  تا  $10^6$  اسپور در هر میلی لیتر تهیه گردید. ارزیابی حذف عامل میکروبی هر  $15 \text{ min}$  طی زمان  $60 \text{ min}$  با نمونه برداری و انتقال به محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار صورت پذیرفت. متغیرهای تعداد اسپورهای باکتری، میزان حمایت‌کننده الکترولیتی، میزان جریان القائی و زمان واکنش مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** فرایند الکتروشیمیایی پیشنهادی بدون استفاده از حمایت‌کننده الکترولیتی در جریان‌های الکتریکی کمتر از  $100 \text{ mA}$  در زمان  $60 \text{ min}$  قادر به حذف کامل اسپور باسیلوس سوبتیلیس با تراکم  $10^2$  تا  $10^6$  نبود. افزودن الکترولیت حمایتی سدیم کلراید با غلظت  $4 \text{ mg/L}$  موجب حذف کامل اسپور در پایان  $60 \text{ min}$  گردید.

**نتیجه‌گیری:** افزودن حمایت‌کننده الکترولیتی سدیم کلراید بدلیل افزایش فرایندهای اکسیداسیون مستقیم و غیر مستقیم، تاثیر میکروب‌کشی فرایند الکتروشیمیایی را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد. بهبود فرایند گندزدایی آب تا رسیدن به حذف کامل اسپور در زمان  $60 \text{ min}$ ، با حضور سدیم کلراید می‌تواند بدلیل تولید بیشتر عوامل اکسیدانت تولید شده در آند باشد.

**واژگان کلیدی:** الکتروشیمی، اسپور، باسیلوس سوبتیلیس، آب، حمایت‌کننده الکترولیتی

۱. دانشجوی دکتری گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۲. (نویسنده مسئول): استاد گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. [rezaee@modares.ac.ir](mailto:rezaee@modares.ac.ir)

۳. استاد گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و رئیس مرکز تحقیقات کیفیت آب، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

۴. دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران.

## مقدمه

اسیست کریپتوسپورییدیوم پاروم به عنوان یکی از عوامل بیماری‌زای منتقله از آب نسبت به روش‌های گندزدایی متداول بسیار مقاوم بوده، بطوری‌که امروزه به عنوان مخاطره بزرگ بهداشت عمومی و چالش جهانی مدیریت منابع آب مطرح است. بدلیل پرهزینه بودن و سختی انجام آزمایش‌های بررسی مستقیم کریپتوسپورییدیوم، استفاده از اسپور باسیلوس سوبتیلیس غیر بیماری‌زا به عنوان ارگانسیم مدل و جایگزین، جهت ارزیابی غیرفعال‌سازی کریپتوسپورییدیوم در آب بسیار مناسب و کارآمد گزارش شده است (۸-۱). روش‌های کلریناسیون متداول آب موجب تولید ترکیبات سمی نظیر تری هالومتان‌ها که برای سلامتی انسان خطرناک هستند می‌گردد. از این رو طی سال‌های اخیر توجه به فرایند الکتروشیمی به عنوان تکنولوژی سازگار با محیط زیست و کارآمد در معدنی‌سازی کامل ترکیبات شیمیایی آلی غیرقابل تجزیه بیولوژیک، از بین بردن ارگانسیم‌های مقاوم به گندزدایی متداول و حذف آلاینده‌های مواد دارویی و هورمونی، و همچنین حذف ترکیبات نیتروژن رو به افزایش است (۹-۱۲). عدم نیاز به افزودن مواد شیمیایی، سهولت کاربری و تجهیزات توسط فرایند الکتروشیمی از جمله مزایای گندزدایی آب نسبت به سایر روش‌ها است. در این مطالعه سعی شده با استفاده از الکترولیت حمایتی سدیم کلراید ضمن تسهیل در برقراری جریان القایی بیشتر، موجب افزایش خاصیت ضد میکروبی فرایند الکتروشیمی گردد. غلظت‌های ۴-۱ mg/L سدیم کلراید، در محدوده جریان‌های ۱۰۰-۲۰۰ mA بر روی سوسپانسیون‌های میکروبی ۱۰<sup>۳</sup> تا ۱۰<sup>۶</sup> اسپور در میلی‌لیتر مورد آزمایش قرار گرفتند. پس از برقراری جریان هر ۱۵ min یک بار در زمان تماس ۶۰ min، نمونه‌برداری و انتقال روی محیط تریپتیکاز سوی آگار صورت پذیرفت.

## مواد و روش‌ها

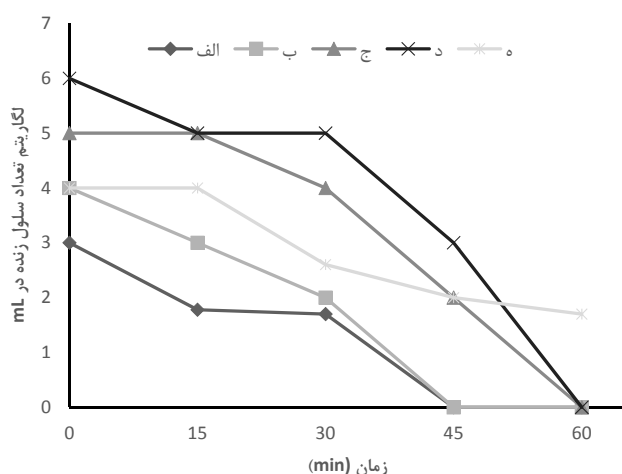
سویه باکتریایی باسیلوس سوبتیلیس ATCC 6633 رشد یافته بر محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار (TSA) برای مراحل

مختلف آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. با قرار دادن سویه در دمای حدود ۸۰ °C اقدام به تهیه سویه اسپور گردید. نگهداری سویه‌های حاوی اسپور و نیز انجام آزمایشات الکتروشیمیایی در دمای محیط (حدود ۲۵ °C) صورت پذیرفت.

سوسپانسیون‌های اسپور باسیلوس بتیلیس مطابق با دستورالعمل مک فارلند ۰/۵ تهیه گردید. بر اساس این دستورالعمل، با روش رقیق‌سازی اقدام به تهیه غلظت‌های میکروبی مورد نیاز گردید (۱۳). استریل‌سازی محیط‌های کشت و مواد مورد نیاز به روش اتوکلاو در دمای ۱۲۱ °C و به مدت ۱۵ min انجام گرفت.

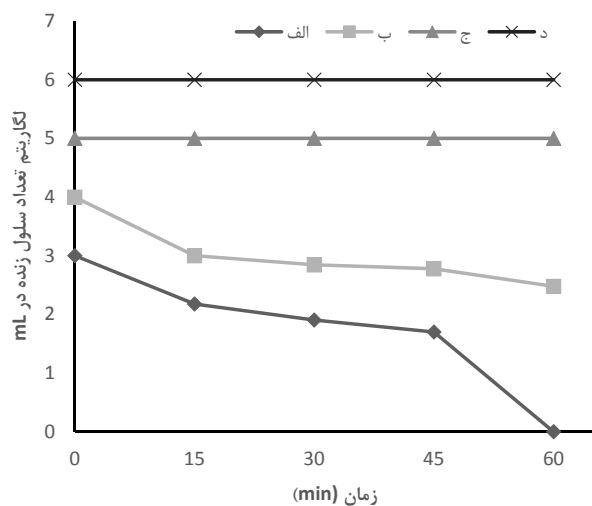
سوسپانسیون تهیه شده به طور تقریبی حاوی ۱۰<sup>۳</sup> تا ۱۰<sup>۶</sup> اسپور در هر میلی‌لیتر برای مراحل مختلف آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت. جهت ارزیابی تعداد اسپورهای زنده مانده پس از هر ۱۵ min متعاقب در معرض الکتروشیمی قرار گرفتن، از روش پورپلیت و انتقال به روی محیط کشت TSA استفاده گردید. زمان تماس ۶۰ min به منظور ارزیابی اثربخشی فرایند، در نظر گرفته شد. پلیت‌های نمونه‌گیری شده در دمای ۲۵ °C برای مدت ۴۸ h برای بررسی کلنی‌ها مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تسهیل در برقراری بیشتر جریان الکتریکی و صرفه‌جویی در مصرف الکتریسته از محلول سدیم کلراید در غلظت‌های ۴-۱ mg/L در مراحل مختلف آزمایش استفاده گردید.

فرایند الکتروشیمیایی در راکتور شیشه‌ای حاوی ۲۰۰ mL آب شهری انجام گرفت. دستگاه تامین برق مستقیم (PS-305D) برای تامین ولتاژ مورد نیاز استفاده گردید. الکترودها از جنس استیل به ابعاد ۴×۸ cm و با فاصله ۲ cm از یکدیگر در راکتور مستقر گردید (شکل ۱). فرایند الکتروشیمیایی حذف اسپور باکتری‌ها در دمای معمولی انجام شد. به منظور تعیین تعداد باکتری‌های زنده مانده، نمونه‌ها بر روی محیط کشت TSA منتقل و پس از طی زمان ۴۸ h در دمای ۲۵ °C به روش ارزیابی کلنی‌های تشکیل شده (CFU) شمارش گردید. جریان‌های مورد آزمایش ۱۵۰-۲۰۰ mA در مدت زمان تماس ۶۰ min جهت انجام آزمایشات در نظر گرفته شد. همچنین به فاصله هر ۱۵ min پس از برقراری جریان، نمونه‌برداری صورت پذیرفت.

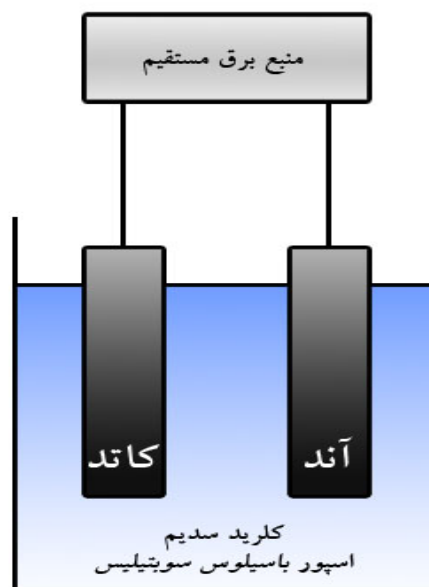


شکل ۲ - فعالیت اسپورکشی فرایند الکتروشیمیایی در جریان الکتریکی ۱۰۰ mA توام با حضور حمایت کننده الکترولیتی سدیم کلراید با غلظت ۴ mg/L از آب آلوده با اسپور باسیلوس سوبتیلیس و تعداد اسپورهای باسیلوس سوبتیلیس: الف) ۱۰<sup>۳</sup> اسپور در میلی لیتر، ب) ۱۰<sup>۴</sup> اسپور در میلی لیتر، ج) ۱۰<sup>۵</sup> اسپور در میلی لیتر و د) ۱۰<sup>۶</sup> اسپور در میلی لیتر. ه) ۱۰<sup>۴</sup> اسپور در میلی لیتر بدون الکترولیت

مطابق شکل ۳ افزودن غلظت ۳ mg/L سدیم کلراید تاثیر اسپورکشی نداشته و حذف کامل اسپور در ۱۰۰ mA رخ نمی داد (شکل ۴).



شکل ۳ - فعالیت اسپورکشی فرایند الکتروشیمیایی در جریان الکتریکی ۱۰۰ mA توام با حضور حمایت کننده الکترولیتی سدیم کلراید با غلظت ۳ mg/L از آب آلوده با اسپور باسیلوس سوبتیلیس و تعداد اسپورهای باسیلوس سوبتیلیس: الف) ۱۰<sup>۳</sup> اسپور در میلی لیتر، ب) ۱۰<sup>۴</sup> اسپور در میلی لیتر، ج) ۱۰<sup>۵</sup> اسپور در میلی لیتر و د) ۱۰<sup>۶</sup> اسپور در میلی لیتر.



شکل ۱- راکتور الکتروشیمی مورد استفاده جهت حذف اسپورهای باسیلوس سوبتیلیس

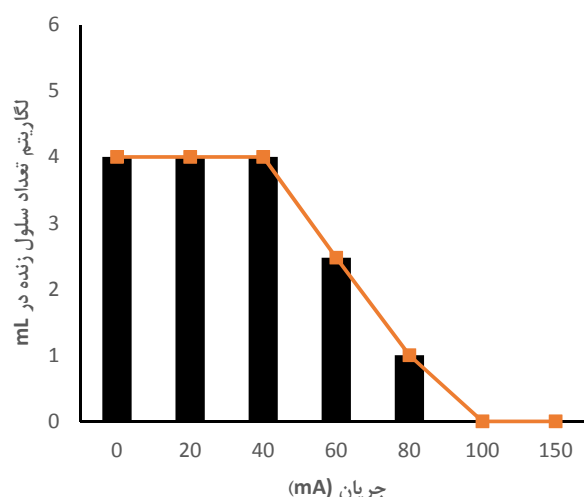
## یافته‌ها

آزمایش‌ها نشان داد جریان‌های القایی کمتر از ۱۰۰ mA، بدون افزودن الکترولیت حمایتی سدیم کلراید، قادر به حذف اسپور در سوسپانسیون‌های میکروبی ۱۰<sup>۳</sup> تا ۱۰<sup>۶</sup> اسپور در میلی لیتر نیست. ارتقاء جریان به ۱۰۰ mA توانست اسپورها را در دانسیته میکروبی ۱۰<sup>۳</sup> اسپور در میلی لیتر را در ۶۰ min بطور کامل حذف نماید. و اسپورهای دانسیته‌های بالاتر میکروبی بدون تغییر و کاهش زنده ماندند. بنابراین قابلیت جریان القایی پروسه الکتروشیمی در حذف اسپور، با افزایش دانسیته میکروبی به ۱۰<sup>۴</sup> اسپور در میلی لیتر و بالاتر، بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته، بطوری‌که ارتقاء جریان به ۱۰۰ mA قابلیت حذف کامل اسپورها را در ۶۰ min نداشتند (شکل ۲). در دانسیته‌های میکروبی بالاتر نیز نتیجه مشابه حاصل گردید. برای دستیابی به حذف کامل اسپور در دانسیته‌های بالاتر از ۱۰<sup>۳</sup> اسپور در میلی لیتر، جریان ۱۰۰ mA و زمان ۶۰ min، تاثیر افزودن ۴ mg/L الکترولیت حمایتی سدیم کلراید بر حذف اسپور، بسیار قابل توجه و چشمگیر بود (شکل ۳).

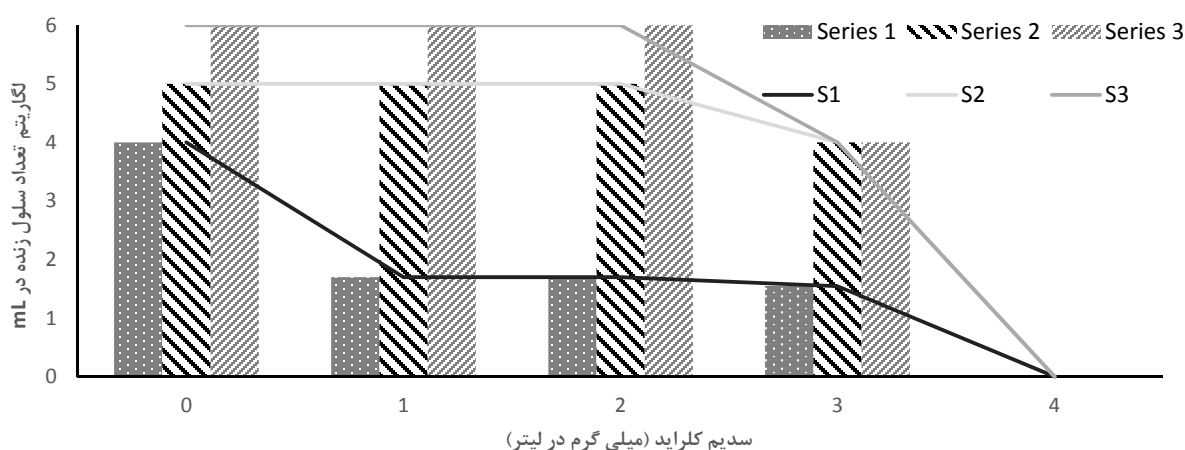
مطابق شکل ۵ تاثیر غلظت الکترولیت حمایتی بر سوسپانسیون‌های میکروبی نشان داد با افزایش دانسیته میکروبی و کاهش غلظت الکترولیت حمایتی سدیم کلراید، توانایی فرایند الکتروشیمیایی در حذف اسپور به شدت کاهش یافته و پس از ۶۰ min زمان تماس و برقراری ۱۰۰ mA جریان، کلنی‌های فراوان قابل مشاهده بودند (شکل ۶).

برای بررسی پارامترهای تاثیر میزان جریان و مدت زمان تماس بر میزان انرژی مصرفی سیستم الکتروشیمی، آزمایش انجام شده بر روی سوسپانسیون میکروبی ۱۰<sup>۴</sup> اسپور در میلی لیتر توام با ۴ mg/L الکترولیت حمایتی سدیم کلراید نشان داد که زمان به عنوان پارامتر مهم علاوه بر تاثیر در کاهش قابل توجه انرژی مصرفی می‌تواند در جریان پایین قابلیت حذف کامل اسپور را سبب گردد (شکل ۶).

نتایج آزمایش ارزیابی تاثیر میزان جریان القایی بر دانسیته میکروبی ۱۰<sup>۴</sup> اسپور در میلی لیتر و حضور ۴ mg/L الکترولیت حمایتی سدیم کلراید، حاکی از آن بود که جریان‌های کمتر از ۱۰۰ mA حذف کامل اسپور را پدید نمی‌آوردند (شکل ۴). بر این اساس آزمایش دانسیته‌های میکروبی بالاتر نیز چنین یافته‌هایی را نشان می‌داد.



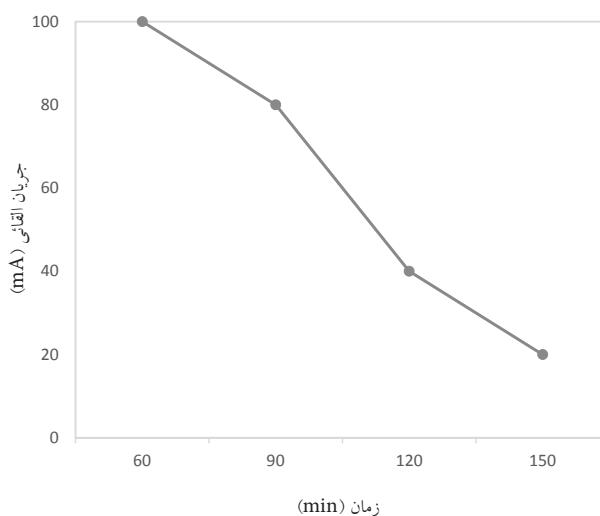
شکل ۴ - تاثیر فعالیت اسپورکشی جریان‌های مختلف فرایند الکتروشیمیایی بر سوسپانسیون میکروبی ۱۰<sup>۴</sup> اسپور در میلی لیتر توام با حضور ۴ mg/L الکترولیت حمایتی سدیم کلراید در زمان تماس ۶۰ min



شکل ۵ - تاثیر فعالیت اسپورکشی جریان ۱۰۰ mA فرایند الکتروشیمیایی توام با حضور غلظت‌های مختلف الکترولیت حمایتی سدیم کلراید بر دانسیته‌های میکروبی (الف) ۱۰<sup>۴</sup> اسپور در میلی لیتر، (ب) ۱۰<sup>۵</sup> اسپور در میلی لیتر، (ج) ۱۰<sup>۶</sup> اسپور در میلی لیتر.

نتایج آزمایش‌های تاثیر حذف اسپورهای باسیلوس سوبتیلیس متعاقب استفاده از غلظت  $4 \text{ mg/L}$  حمایت کننده الکترولیتی سدیم کلراید و جریان‌های القایی مختلف  $150-20 \text{ mA}$  بر سوسپانسیون‌های مختلف اسپور باسیلوس سوبتیلیس حاوی  $10^3$  تا  $10^6$  اسپور در هر میلی لیتر نشان داد که افزودن حمایت کننده الکترولیتی سدیم کلراید می‌تواند به طور چشمگیر در کاهش و حذف کامل اسپور در  $60 \text{ min}$  موثر باشد (شکل ۲). هر قدر جریان الکتریسیته افزایش یابد قابلیت کشتن اسپورها افزایش می‌یابد. بطوری‌که در محدوده  $50-20 \text{ mA}$  در مدت زمان  $60 \text{ min}$ ، هیچ گونه کاهشی در تعداد کلنی‌های رشد یافته بر محیط TSA مشاهده نمی‌گردید. تاثیر افزایش تعداد اسپور در هر میلی لیتر نیز در روند کاهش اسپور به خوبی در آزمایش‌های صورت گرفته مشهود بود. بطوری‌که در محدوده  $10^3$  اسپور در میلی لیتر و جریان  $50 \text{ mA}$  با افزودن  $4 \text{ mg/L}$  سدیم کلراید در زمان  $60 \text{ min}$  حذف کامل اسپور صورت گرفت. در حالی در شرایط مشابه و در محدوده بیش از  $10^4$  اسپور در میلی لیتر به بالا، حذف کامل اسپور اخذ نگردید.

قدرت اسپورکشی فرایند الکتروشیمیایی با اضافه شدن جریان الکتریسیته القایی و الکترولیت حمایتی و کاهش تراکم اسپور در آب افزایش می‌یابد. به این ترتیب تاثیر اسپورکشی فرایند الکتروشیمیایی در جریان‌های پایین‌تر از  $150 \text{ mA}$  در مورد سوسپانسیون‌های حاوی  $10^4$  تا  $10^6$  اسپور در هر میلی لیتر در  $60 \text{ min}$  عملاً امکان پذیر نیست و در صورت استفاده از این فرایند بدون افزودن الکترولیت حمایتی مورد استفاده، نیاز مقدار جریان الکتریسیته بیشتر و یا مدت زمانی بیش از  $60 \text{ min}$  است. القاء جریان الکتریکی در حذف اسپور باسیلوس سوبتیلیس با استفاده از فرایند الکتروشیمیایی موجب انتقال اسپورها از آب و چسبیدن آنها به سطح آند می‌گردد. حذف عوامل میکروبی توسط فرایندهای الکتروشیمیایی توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است که در جدول شماره ۱ آمده است.



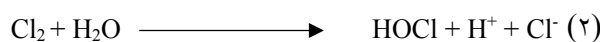
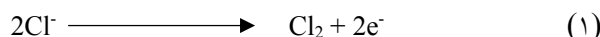
شکل ۶ - تاثیر پارامترهای زمان و جریان القایی بر حذف اسپور در دانسیته میکروبی  $10^4$  اسپور در  $1 \text{ mL}$  توام با حضور  $4 \text{ mg/L}$  الکترولیت حمایتی سدیم کلراید.

## بحث

مکانیسم اکسیداسیون الکتروشیمیایی میکروب‌ها به صورت ذیل شرح داده شده است (۱۶-۱۳):

۱. اکسیداسیون آندیک مستقیم که طی آن میکروب‌ها به واسطه نیروی الکترواستاتیک بین الکتروود و گروه‌های باردار آمینو و کربوکسیلیک دیواره سلولی باکتری به سوی سطح آند کشیده می‌شود. در این حالت فرایند جذب میکروب بر روی سطح آند اتفاق می‌افتد. سپس ضمن تاثیر بر نفوذپذیری غشاء سلولی، کوآنزیم A و قطع تنفس سلولی می‌تواند منجر به مرگ سلولی گردد.

۲. اکسیداسیون غیر مستقیم که با تولید الکتروشیمیایی یک عامل اکسیدان قوی در سطح آن (معمول‌ترین اکسیدان الکتروشیمیایی کلر است که از اکسیداسیون کلرید در آند حاصل می‌گردد) می‌تواند موجب مرگ سلول میکروبی گردد (واکنش‌های ۱-۳).



جدول شماره ۱: مکانیسم‌های حذف عوامل میکروبی در فرایند الکتروشیمی

عامل میکروبی	نوع الکتروود	جریان	شرایط محیطی	عملکرد حذف	رفرنس
<i>E. Coli 0157:H7</i>	BDD	۱۰۰ mA	کلرید سدیم	تولید کلر آزاد فراوان	(۱۸)
<i>E. Coli 0157:H7</i>	$\beta$ -PbO <sub>2</sub>	۱۰۰ mA	H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>	تولید ازن	(۱۹)
<i>Bacillus subtilis</i>	TiO <sub>2</sub>	۵۰۰ mA	Cl <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	کلر فعال آزاد، یون هیدروکسیل	(۲۰)
<i>E. Coli - Bacteriophage MS2</i>	Pt-Nb	۵۰ mA	کلرید سدیم	کلر فعال آزاد	(۲۱)
<i>Legionella Pneumophila</i>	Si/BDD	۱۰۰ mA	کلرید سدیم	رادیکال هیدروکسیل - کلر فعال - Diamond film	(۲۲)

الکترولیتی سدیم کلراید جهت حذف اسپورهای باسیلوس سوبتیلیس بعنوان مدلی از کریپتوسپوریدیوم پاروم استفاده نمود. حذف کامل از اسپورهای باسیلوس سوبتیلیس متعاقب استفاده از ۴ mg/L از حمایت‌کننده الکترولیتی سدیم کلراید توام با جریان القائی ۱۰۰ mA اخذ می‌گردد. بر اساس رابطه  $P=VI$  کاهش جریان القایی توام با افزایش زمان نتیجه مطلوب حذف اسپور را با مصرف انرژی کمتری فراهم می‌سازد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از رساله دکتری با عنوان مصوب مطالعه "اثر حمایت‌کننده الکترولیتی سدیم کلراید در حذف الکتروشیمیایی اسپور باسیلوس سوبتیلیس از آب آشامیدنی" در مقطع دکتری (سال ۳۹۳۱ با کد ۳۰۸۳۲۱۱) است که با حمایت دانشگاه تربیت مدرس اجرا شده است. نویسندگان لازم می‌دانند از دانشگاه تربیت مدرس صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

### منابع

- 1- Nakajima N, Nakano T, Harada F, Taniguchi H, Yokoyama I, Hirose J, et al. Evaluation of disinfective potential of reactivated free chlorine in pooled tap water by electrolysis. *Journal of Microbiological Methods*. 2004;57(2):163-73.
- 2- Mezule L, Reimanis M, Krumpleska V, Ozolins

طی فرایند اکسیداسیون مستقیم نفوذپذیری دیواره سلولی مختل شده و زمینه برای تاثیرگذاری عوامل مختلف ضد میکروبی موجود در سیستم را که در قالب محصولات اکسیداسیون غیرمستقیم شناخته شده‌اند، فراهم می‌گردد. افزودن حمایت‌کننده الکترولیتی سدیم کلراید علاوه بر کمک به افزایش جریان الکتروسیته و انتقال الکترون‌ها از آند به سمت کاتد، موجب تولید یون‌های Cl<sup>-</sup> و متعاقباً Cl<sub>2</sub>، HOCl و OCl<sup>-</sup> در آب شده که بطور موثر می‌توانند به عنوان اکسیدکننده قوی عمل نموده و فرایند گندزایی را بهبود بخشند. افزودن جریان القائی الکتروسیته و افزایش غلظت سدیم کلراید در آب آشامیدنی دارای محدودیت‌هایی است. لذا انتخاب جریان ۱۰۰ mA و غلظت ۴ mg/L سدیم کلراید امکان ایجاد اشکال در کیفیت آب را نیز متفی می‌سازد.

### نتیجه‌گیری

بر مبنای نتایج اخذ شده از تحقیق صورت گرفته، می‌توان از فرایندهای الکتروشیمیایی توام با استفاده از حمایت‌کننده

- J, Juhna T. Comparing electrochemical disinfection with chlorination for inactivation of bacterial spores in drinking water. *Water Science and Technology: Water Supply*. 2014;14(1):158-64.
- 3- Venczel LV, Arrowood M, Hurd M, Sobsey MD. Inactivation of *Cryptosporidium Parvum* oocysts and

- clostridium perfringenes spores by mixed-oxidant disinfectant and by free chlorine. *Applied and Environmental Microbiology*. 1997;63(4):1598-601.
- 4- Choi Y, Cho M, Lee Y, Choi J, Yoon J. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores during ozonation in water treatment plant: Influence of pretreatment and consequences for positioning of the ozonation step. *Chemosphere*. 2007;69(5):675-81.
  - 5- Hill DR. *Basic Microbiology for Drinking Water Personnel*. Indiana: American Water Works Association; 2001.
  - 6- Mazona S, Chauveheid E. Aerobic spore-forming bacteria for assessing quality of drinking water Produced from surface water. *Water Research*. 2005;39(20):5186-98.
  - 7- Facile N, Barbeau B, Prévost M, Koudjonou B. Evaluating bacterial aerobic spores as a surrogate for *Giardia* and *Cryptosporidium* inactivation by ozone. *Water Research*. 2000;34(12):3238-46.
  - 8- Nieminski EC, Bellamy WD, Moss LR. Using surrogates to improve plant performance. *Journal American Water Works Association*. 2000;92(3):67-78.
  - 9- Drogui P, Blais JF, Mercier G. Review of electrochemical technology for environmental applicants. *Recent Patents on Engineering*. 2007;1(3):257-72.
  - 10- Anglada A, Urriaga A, Ortiz I. Contributions of electrochemical oxidation to wastewater treatment: Fundamentals and review of applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2009;84(12):1747-55.
  - 11- Chiang LC, Chang JE, Wen TC. Indirect oxidation effect in electrochemical oxidation treatment of landfill leachate. *Water Research*. 1995;29(2):671-78.
  - 12- Martinez-Huitle CA, Ferro S. Electrochemical oxidation of organic pollutants for the wastewater treatment: Direct and indirect processes. *Chemical Society Reviews*. 2006;35(12):1324-40.
  - 13- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 1990 Apr. Report No.: CLSI document M7-A2.
  - 14- Sun TR, Ottosen LM. Effects of pulse current on energy consumption and removal of heavy metals during electrochemical soil remediation. *Electrochimica Acta*. 2012;86:28-35.
  - 15- Casillas HAM, Cocke DL, Gomes JA, Morkovsky P, Parga JR, Peterson E, et al. Electrochemistry behind electrocoagulation using iron electrodes. *ECS Transactions*. 2007;6(9):1-15.
  - 16- Reimanis M, Mezule L, Malers J, Ozolins J, Juhna T. Model water disinfection with electrolysis using  $TiO_2$ -n-1 containing ceramic electrodes. *Environmental Biotechnology*. 2011;7(1):34-40.
  - 17- Trišović T, Jugović B, Gvozdenović M, Trišović N. Universal modular device for electrochemical synthesis of the disinfectants. *Journal of Trends in the Development of Machinery and Associated Technology*. 2012;16(1):187-90.
  - 18- López-Gálvez F, Posada-Izquierdo GD, Selma MV, Pérez-Rodríguez F, Gobet J, Gil MI, et al. Electrochemical disinfection: An efficient treatment to inactivate *Escherichia coli* O157: H7 in process wash water containing organic matter. *Food Microbiology*. 2012;30(1):146-56.
  - 19- Da Silva LM, De Faria LA, Boodts JF. Electrochemical ozone production: Influence of the supporting electrolyte on kinetics and current efficiency. *Electrochimica Acta*. 2003;48(6):699-709.
  - 20- Bergmann H, Iourtchouk T, Schöps K, Bouzek K. New UV irradiation and direct electrolysis-promising methods for water disinfection. *Chemical Engineering Journal*. 2002;85(2):111-17.
  - 21- Kerwick M, Reddy S, Chamberlain A, Holt D. Electrochemical disinfection, an environmentally acceptable method of drinking water disinfection? *Electrochimica Acta*. 2005;50(25):5270-77.
  - 22- Fujishima A. *Diamond Electrochemistry*. Tokyo: BKC Inc.; 2005.

## Study of sodium chloride supporting electrolyte on electrochemical removal of *Bacillus subtilis* spores from drinking water

<sup>1</sup>M. Mogadam Arjmand, <sup>1\*</sup>A. Rezaee, <sup>2</sup>S. Naseri, <sup>3</sup>S. Eshraghi

<sup>1</sup>Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>3</sup>Department of Pathobiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: December 20, 2014; Accepted: March 14, 2015

### ABSTRACT

**Background & Objectives:** *Cryptosporidium parvum* is considered as one of the pathogenic agents transmitted by water, high resistance to conventional disinfection methods, and potency of creating various problems in water resource. Because of various problems in *Cryptosporidium parvum* studies, *Bacillus subtilis* spore is recommended as a surrogate organism for studying protozoa inactivation and evaluation of water quality. On the other hand, electrochemical process is presented as an environmental friendly and high efficient method in disinfection in recent years. The aim of this study was to propose a method for promotion of the water quality.

**Materials & Methods:** In this study, the electrochemical system used was consisted of steel electrodes (4×8 cm), 200 mL volume, and 1-4 mg/L sodium chloride. The bacterial suspensions of *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) was prepared according to the McFarland method with 10<sup>3</sup> to 10<sup>6</sup> spores/mL concentration. The microbial agent removal was evaluated by sampling and transferring water to the trypticase soy agar medium every 15 min for 60 min. The number of bacteria spores, supporting electrolyte, induced current, and reaction time were evaluated.

**Results:** The proposed electrolysis process could not eliminate *Bacillus subtilis* spores at 10<sup>4</sup> to 10<sup>6</sup> spores mL<sup>-1</sup> rate at lower than 100 mA current for 60 min. Adding sodium chloride supporting electrolyte up to 4 mg/L concentration completely eliminated *Bacillus subtilis* spores after 60 min.

**Conclusion:** Adding sodium chloride as a supporting electrolyte can increase the spore removal because of increasing direct and indirect oxidation in electrolysis process. Improving water disinfection and spore removal after 60 min could be described by higher oxidant agents in anode electrode.

**Keywords:** Electrochemistry, *Bacillus subtilis*, Spore, Water, Disinfection, Supporting electrolyte

---

\*Corresponding Author: rezaee@modares.ac.ir

Tel: +98 21 82883575