اثر صافیهای شنی در حذف باکتریوفاژ اشریشیاکلی نوع T1 با یون کلسیم

مترجم: حسن کلینی[1]

مقدمه:

با این که هنوز شواهد موثقی از شیوع بیماریهای ویروسی که از طریق آب منتقل می‌گردند در ایالات متحده آمریکا مشاهده نگردیده ولی باید خاطرنشان کرد که ویروسهایی که به سیستم گوارشی بدن انسان راه پیدا می‌کنند قادرند از بدن دفع گردیده و به فاضلابها راه پیداکرده و نهایتاً وارد جریانات سطحی و رودخانه‌ها شوند. تصفیه‌خانه‌های آب که از این رودخانه‌ها استفاده می‌کنند موظفند برای اطمینان بیشتر مردم، آب تصفیه شده را عاری از هر نوع ویروس نمایند.

در چند،مورد بیماریهای ویروسی نظیر هپاتیت عفونی و بیماریهای ویروسی گوارشی گزارش شده است که البته بیشتر این موارد مربوط به اجتماعات کوچکی بوده که از سیستمهای کوچک تصفیه آب استفاده می‌نمودند و در این سیستمها آب به طور ناقص تصفیه می‌شده است. اگر چه تعداد این گزارشات محدود بوده است شواهدی در دست است که نشان می‌دهد تعداد این گزارشات رو به افزایش خواهد گذاشت. (۱،۲)

با توجه به مقدمه فوق و برای حفظ سلامتی جامعه نقش مؤثر سیستمهای تصفیه آب و فاضلاب در حذف ویروسها روز به روز توجه بیشتر دست‌اندکاران را به خود جلب می‌نماید. بخصوص افزایش استفاده مجدد از فاضلاب برای موارد مختلف ضرورت توسعه و تکامل تکنیکهای با صرفه و در عین حال قابل اطمینان برای حذف ویروسها را طلب می‌نمایند. محققین با تشکیل سمینارهای مختلف لزوم حذف و یا نابودی ویروسها را در تصفیه‌خانه‌های آب نشان داده و نیز لزوم کارهای پژوهشی بیشتر خصوصاً در مواقعی که استفاده مجدد از فاضلاب برای تامین آب لازم می‌باشد را تاکید نموده‌اند.(۳)، (۴)

در حال حاضر اختلاف نظراتی در مورد ناتوانی سیستمهای تصفیه آب و فاضلاب در حذف و یا نابودی ویروسها وجود دارد. به عنوان مثال صافیهای شنی کارآیی آنچنانی برای از بین بردن ویروسهای موجود در آب از خود نشان نداده‌اند مگر این که مقدار قابل توجهی مواد شیمیایی منعقد کننده مثل آلوم و یا پلی‌الکترولیت قبل از عمل فیلتراسیون به آب و یا فاضلاب اضافه شده باشد و سپس عمل فیلتراسیون انجام گیرد که در واقع این عمل کمکی به عمل فیلتراسیون خواهد بود. بریتون (Britton)(۵) معتقد است تحقیقات بیشتری در زمینه عمل فیلتراسیون برای حذف ویروسها باید صورت گیرد.

در این گزارش کارآیی صافیهای شنی برای حذف ویروسها مورد مطالعه قرار گرفته است. از آنجایی که عمل فیلتراسیون هم در تصفیه آب و هم در تصفیه فاضلاب رایج می‌باشد لذا درک بهتر مکانیسم حذف ویروسها و اثر مواد کمکی قبل از این عمل بر روی ویروسها مورد توجه خاص این مطالعه می‌باشد. این تحقیق بالاخص تاثیر عمل فیلتراسیون را بر روی حذف باکتریوفاژاشرشیاکلی نوع T1 را وقتی که یون کلسیم به عنوان ماده کمکی همراه فیلتر استفاده می‌شود را ارزشیابی می‌کند. لازم به تذکر است که اگر چه در این آزمایش دبی آب عبور داده شده از

۱ـ کارشناس سازمان انرژی اتمی

صافی متناسب با دبی متداول است که از صافیهای شنی در تصفیه‌خانه‌های آب می‌گذرد ولی باید توجه داشت که غلظت ویروسی که در این آزمایش استفاده شده است متناسب با غلظت ویروس موجود در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب می‌باشد.

مشخصات ظاهری ویروسها

مطالعات قبلی نشان داده است (۸ـ۶) که بعضی از اکسیدهای فلزی مثل اکسیدهای منگنز می‌تواند به طور مؤثری بوسیله عمل فیلتراسیون حذف گردند. تحقیقات همچنین نشان داده است این عمل در صورتی انجام می‌شود که یک کاتیون مثل کلسیم به عنوان کمک فیلتر استفاده گردد. استام (Stumm) و همکارانش (۶) متذکر شده‌اند که سطح اکسید منگنز می‌تواند به عنوان یک اسید و یا یک باز عمل نماید که البته این بستگی به pH محیط دارد و می‌تواند این سطح دارای بار منفی و یا مثبت باشد. در بالای نقطه ایزوالکتریک (isoelechric point) گروه هیدروکسیل (-Mn-OH) به صورت زیر یونیزه خواهد شد.

$$(۱)\quad -Mn-oH+H_2O = -Mno^-+H_3o^+$$

تشکیل این بار منفی ($-Mno^-$) منجر به تشکیل ذرات کلوئیدی معلق پایدار خواهد شد که سختی جذب ذرات شن صافیها می‌شوند. در حقیقت بار منفی به Mno_2 باعث می‌شود که از ذرات شن که آنها نیز دارای بار منفی هستند دور شوند و در نتیجه در امر جذب و فیلتراسیون اختلال به عمل می‌آید.

جنکینز (Jenkins) و همکارانش (۸ـ۷) اشاره می‌کنند که سطح اکسید منگنز هیدراته ممکن است همراه با یون کلسیم باشد. دؤ این صورت با یون کلسیم ترکیب گشته و واکنش زیر صورت می‌گیرد.

$$(۲)\quad -Mn-oH+H_2o = -Mno^-+H_3o^+$$

بنابراین یون کلسیم به طریقه شیمیایی با Mno_2 ترکیب گردیده و باعث کاهش بار منفی اکسید منگنز می‌شود. این عمل ادامه پیدا کرده و زمانی که قوه جذب نیروی واندروالس غالب بر نیروی دفع الکترواستاتیکی بین اکسید منگنز و ماسه گشته در این زمان عمل جذب اکسید منگنز بوسیله ماسه صافی انجام می‌گیرد. (۹)

حال باید دید که مکانیسم فوق برای جذب ویروسها توسط ماسه صافی نیز صادق خواهد بود. ویروسهای شناخته شده بسیار زیاد هستند ولی با این وجود همه ویروسها در داشتن نوعی پوشش پروتئینی مشترک می‌باشند. الفاآمینواسیدهایی که این پوشش را تشکیل می‌دهند هر کدام یک گروه کربوکسیل دارند. محققین بر این عقیده‌اند که این گروه کربوکسیل که در سطح ویروس قرار گرفته‌اند ممکن است به همان گونه که در مورد اکسیدهای منگنز گفته شده رفتار نمایند، که واکنش انجام شده به قرار ذیل می‌باشد:

$$(۳)\quad -Virus-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-oH+H_2o = -Virus-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-o^-+H_3o^+$$

و یا پروتون دریافت نمایند که در آن صورت خواهیم داشت:

$$(۴)\quad -Virus-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-oH+H_3o^+ = -Virus-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-oH_2^++H_2O$$

با توجه به pH بیشتر جریانهای طبیعی می‌توان تصور نمود که واکنش (۳) بیشتر اتفاق می‌افتد. بنابراین سطح خارجی ویروسها دارای بار منفی می‌باشد که بوسیله بار منفی ماسه‌های صافی دفع خواهد شد. طبق این نظریه درصد جذب ویروس بوسیله صافی بسیار کم خواهد بود مگر آن‌که ماده‌ای جهت خنثی نمودن این بار منفی به صافی اضافه گردد. (۱۰)

با تحقیقات متعدد بدین نتیجه رسیده‌اند که بعضی از کاتیونها مثل یون کلسیم با گروه هیدروکسیل باز به همان گونه که در مورد اکسید منگنز توضیح داده شده عمل نموده و یک ناحیه مثبت ایجاد خواهند نمود.

$$(۵)\quad -Virus-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-oH+Ca^{2+} = -Virus-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-oca^++H^+$$

تشکیل این ناحیه مثبت ممکن است از مقدار بار منفی ویروس به اندازه‌ای بکاهد که قوه جذب نیروی واندروالس به دفع الکترواستاتیکی غالب گشته و بدین ترتیب ویروس جذب شن صافی گردد و نیز امکان دارد این ویروس که دارای بار مثبت می‌باشد به ذراتی که هنوز دارای بار منفی هستند چسبیده و اندازه آن بزرگتر شده و امکان حذف بوسیله صافی را نتیجتاً زیاد نماید. این تئوری می‌تواند تأئیدی باشد بر نظریات کن (Kohn) و فوشز (Fuchs) (۱۲) که نشان دادند یون کلسیم عمل جذب بعضی از ویروسها را به سلول میزبان تشدید می‌نماید و نیز تأئیدی است بر نظریات لفلر (Lefler) و کوت (Kott) (۱۱) که خاطرنشان نمودند که یونهای دو ظرفیتی به مقدار قابل توجهی جذب صافیهای شنی را برای حذف ویروس پولیو 1 و کلی فاژ F_2 افزایش می‌دهند.

این مطالعه قصد دارد که تأثیر اضافه نمودن یون کلسیم را در حذف بیشتر ویروس بوسیله صافیهای شنی آشکار نماید.

روش کار و وسایل اندازه گیری

کوشش زیاد به عمل آمد که تهیه سوسپانسیونهای ویروسی، محیط کشت و کشت سلول میزبان بدون هرگونه آلودگی باشد. تمام ظروف شیشه‌ای استفاده شده در آزمایش ابتدا چندین بار با آب شیر و سپس با آب مقطر و نهایتاً با آب بدون یون شسته شد. عمل استریلیزاسیون بوسیله اتوکلاو در درجه حرارت $121^{\circ}c$ برای مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. (۱۳،۱۴)

در انجام آزمایشها احتیاط کامل به عمل آمد تا از هر گونه آلودگی اجتناب گردد. با این که شنها قبل از عمل فیلتراسیون استریلیزه نگردید ولی با آب فاقد یون که عاری از هرگونه ویروس بود چندین بار شستشو شد. البته این تصور نیز وجود داشت که اگر ماسه‌ها در اتوکلاو قرار داده می‌شد ممکن بود خصوصیات سطحی شن تغییر نماید.

روش شمارش ویروس

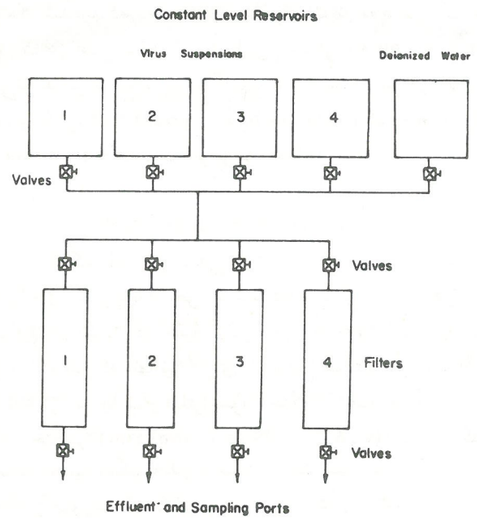
ویروس شاخصی که به عنوان اندیکاتور از آن بتوان یاد کرد وجود ندارد ولی بهرحال استفاده از باکتریوفاژشرشیاکلی نوع T1 به عنوان ویروس شاخص انتخاب گردید. این ویروس شباهت زیادی با اکثر ویروسهایی که در فاضلابهای شهری یافت می‌شود دارد و نیز از مزایای این باکتریوفاژ این است که دارای دم بوده که طول آن حدود ۱۰۰۰-۵۰۰ Å می‌باشد. اتصال این باکتریوفاژ به E.coli به نوع و غلظت کاتیونهای موجود در محلول مربوط می‌شود. برای تهیه محلول استوک از این باکتریوفاژ طبق روش زیر عمل شد.

ابتدا در ۲۵۰ میلی‌لیتر از محلول کشت (Nutrient Broth) سلول E.coli B تلقیح شده و در حرارت ۳۷° C برای مدت ۶ ساعت نگهداری شد. زمان ۶ ساعت بدین منظور انتخاب گردید که باکتریها در مرحله لگاریتمی رشد باشند. سپس یک میلی‌لیتر از فاژ T1 تغلیظ شده به محلول اضافه شده و این مخلوط در گرمخانه ۳۷° C نگهداری شد تا زمانی که کدورت ایجاد شده بوسیله سلول میزبان برطرف گردد. محیط حاوی باکتریوفاژ سپس سانتریفوژ شد و بعد از صافی غشایی ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد تا سلول میزبان لیز شده جداگردد. این سوسپانسیون سپس در یخچال به صورت یخ زده نگهداری شد. یخ زدن سوسپانسیون از آن جهت ضروری است که اطمینان حاصل شود که تعداد ویروسها در حد بالایی یعنی 10^7 تا 10^8 PFU/ml (پلاک تشکیل شده در هر میلی‌لیتر) باقی خواهد ماند. برای شمارش فاژ از تکنیک Soft Agar overlay استفاده شد. اشرشیاکلی در سطح آگار در حضور فاژ T_1 قادر به رشد می‌باشد. پلیتها از قبل آماده شده و این عمل بوسیله پخش آگار ۱/۵ درصد در هر پلیت صورت گرفته و سپس به پلیتها فرصت داده شد تا آگار آنها سخت گردد. در موقع آزمایش سوسپانسیون باکتریوفاژ ابتدا رقیق شده و سپس رقت مناسب با سلول میزبان (E.coli B) و آگار شل (Soft Agar ۰/۷۵٪) مخلوط شد. این مخلوط سپس بر روی پلیتهایی که قبلاً تهیه آنها شرح داده شده و حاوی آگار سخت بودند پخش گردید و سپس این آگار نیز به مرور سفت شد. سپس سلول میزبان (E.coli) بر روی این پلیت طبق روال عادی رشد کرده و تنها در ناحیه‌ایی که بوسیله ویروس (باکتریوفاژ) مورد تهاجم قرار گرفته کاملاً بیرنگ می‌شود. (در حقیقت شبیه به دایره‌ایی که در وسط آن حفره‌ایی ایجاد شده باشد، توضیح از مترجم).

هر کدام از این دایره‌های کوچک که دارای حفره‌ایی در وسط بودند به عنوان یک فاژ محسوب می‌گردند و شمارش می‌شوند. در اصطلاح به هر کدام از این دایره‌ها که دارای حفره‌ایی می‌باشند یک پلاک (Plaque) می‌گویند که با توجه به تعداد این پلاکها در پلیت و نیز دقت انجام شده می‌توان تعداد باکتریوفاژها را در هر میلی‌لیتر محاسبه نمود.

روش پالایش ماسه‌ای

سیستم مورد نظر در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل شماره ۱:طرز قرارگرفتن صافیهای شنی

همانطوری که در این شکل مشاهده می‌شود این سیستم از چهار لوله استوانه‌ای به قطر یک اینچ و طول ۱۲ اینچ از جنس پلکسی گلاس (Plexiglass) می‌باشد. این لوله‌ها تا عمق ۱۰ سانتیمتر از ماسه نوع اوتاوا پر شده است. ماسه اضافه شده به لوله‌های آزمایش قبلاً برای یک شب در آب خیس خورده می‌شود و چهار ظرف حاوی ویروسها در بالای لوله‌های آزمایش قرار می‌گیرند. برای هر آزمایش فقط از یکی از این ظرفها استفاده شده و سعی می‌شود که اختلاف فشار در طول عمل پالایش یکسان باشد. همانطور که در شکل پیدا است یک مخزن آب استرلیزه برای به راه انداختن صافی بکار برده می‌شود.

صافی با یک دبی معین ($2GPM/ft^2$) شروع به کارکرد و این دبی در دوره عمل پالایش ثابت باقی ماند.

هنگام عمل پالایش محلول ویروس در بطریی که با اختلاف فشار ثابت عمل می‌کند و تا حد معینی رقیق گردیده است،

مقداری کلرور کلسیم اضافه نموده سپس با اضافه کردن کلرور سدیم مقاومت یونی محلول را به 5×10^{-3} رسانیده و با اضافه کردن هیدروکسید سدیم pH محلول را به حدود ۷ می‌رسانیم. محلول برای مدت کوتاهی سریعاً مخلوط گردیده و سپس برای مدت ۲۰ دقیقه عمل مخلوط کردن به آهستگی انجام می‌شود.

نمونه‌هایی به حجم یک دهم میلی‌لیتر (0.1 ml) از آب ورودی و خروجی صافی در زمانهای مختلف گرفته شده و شمارش ویروسها به روشی که ذکر شد روی آن انجام می‌گردد. بعد از هر بار پالایش بطری محتوی ویروس و صافی به کار برده شده از دور خارج گردیده و یک بطری و صافی دیگر جایگزین آن گشته و عمل پالایش به همان طریقه ادامه پیدا می‌کند.

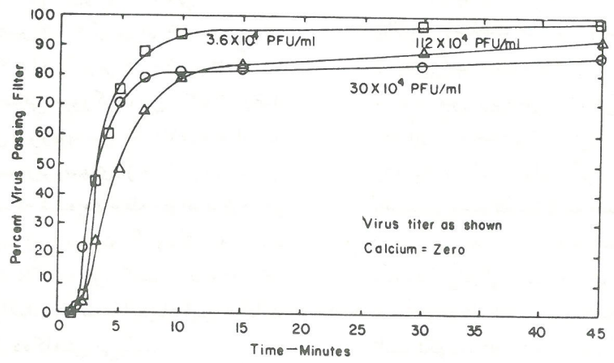
بعد از هر پالایش مقدار ویروس ورودی و خروجی صافی اندازه‌گیری می‌شود و درصد ویروسهایی که از صافی گذشته حساب گردیده و بر حسب زمان بر روی منحنی رسم می‌شود تا تاثیر تغییر غلظت کلسیم برای از بین بردن ویروس بوسیله عمل صافی کردن تعیین شود.

نتایج

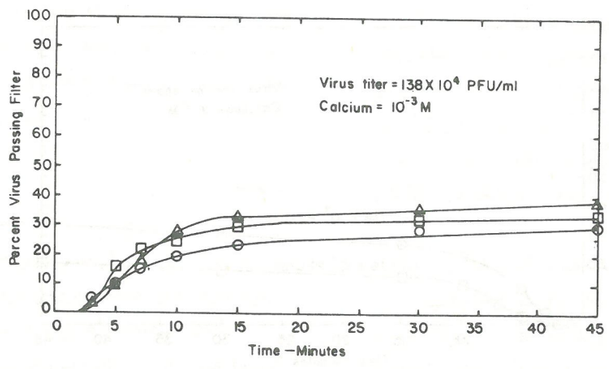
همانطور که از شکل شماره ۲ پیدا است درصد جداسازی ویروس از آب بدون کمک کلسیم از آب خیلی ضعیف به نظر می‌رسد.

صافیها در از بین بردن ویروسها، قدرت زیادی ندارند. پس از گذشت ۱۰ دقیقه بیش از ۸۰٪ ویروسها از صافی عبور کرده‌اند که البته نتایج ضعیف به دست آمده غیر قابل پیش بینی نبوده است. در pH=۷ ویروسها دارای بار منفی می‌باشند و در اثر داشتن بار منفی ماسه‌های صافی از سطح آن دور می‌شوند و بنابراین قابل جمع‌آوری نیستند.

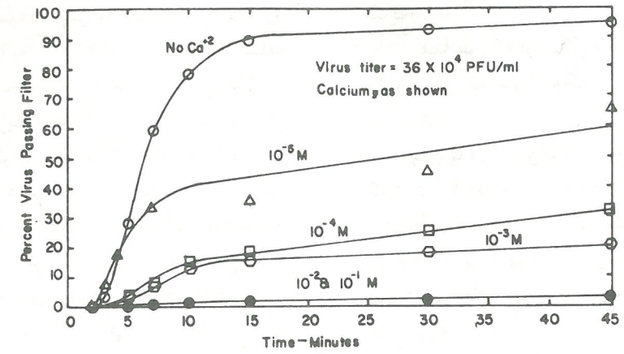
سه آزمایش دیگر با استفاده از محلول آب حاوی ویروس با غلظت 138×10^4 PFU/ml و در pH=۷ و یون کلسیم با غلظت 10^{-3} M انجام گردید. نتایج این آزمایشات را در شکل شماره ۳ ملاحظه خواهید کرد. در این آزمایشات محلول آب حاوی ویروس از سه صافی جداگانه گذشته و نتایج بدست آمده در مقایسه با زمان ترسیم گردیده است.



شکل شماره ۲: درصد ویروس از صافی گذشته برحسب زمان درغیاب یون کلسیم



شکل شماره ۳: درصد ویروس از صافی گذشته برحسب زمان برای ۳ عمل صافی. شرایط صافی عبارتند از: دبی صافی $1/3581$ l/Sec/m²، مقدار غلظت ویروسی 138×10^4 PFU/ml، غلظت یون کلسیم 10^{-3} و pH=۷ و $I=5\times10^{-3}$



شکل شماره ۴: درصد ویروس از صافی گذشته برحسب غلظت یون کلسیم $[Ca^{2+}]$

با مقایسه این اشکال چنین نتیجه می‌شود که در مدت ۷۵ دقیقه، فقط مقدار ۷٪ تغییر در این سه آزمایش مشاهده می‌شود. بنابراین آزمایشات حالت یکنواختی خوبی را نشان می‌دهند.

از مقایسه شکل ۲و۳ چنین نتیجه‌گیری می‌شود که برای محلول حاوی ۱۳۸×۱۰^{۴} PFU/ml ویروس در حضور $۱۰^{-۳}$ M یون کلسیم، درصد ویروس از صافی عبور کرد، بین ۳۰-۲۰ درصد می‌باشد که این نمایشگر کاهش ویروسها بین ۸۰-۷۰ درصد است.

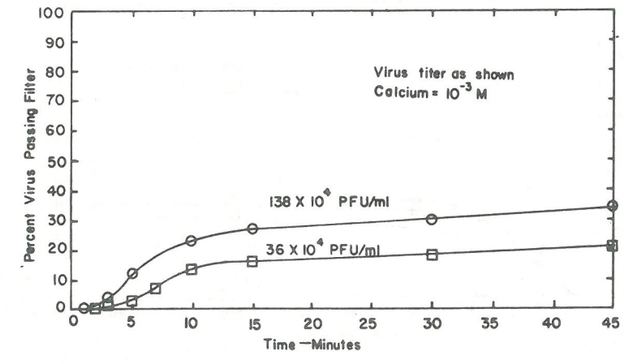
در شکل شماره ۴ درصد ویروسهای از صافی گذشته را نسبت به غلظت یون کلسیم اضافه شده ملاحظه خواهید کرد. در این آزمایشات غلظت ویروس ثابت نگهداشته شده $(۳۶\times۱۰^{۴}$ PFU/ml) در غلظت $۱۰^{-۵}$ M یون کلسیم حدوداً ۵۰٪ از ویروسها از صافی عبور خواهند کرد که با ازدیاد این غلظت مقدار ویروس از صافی عبور کرده کاهش می‌یابد.

با ازدیاد غلظت یون کلسیم از $۱۰^{-۴}$ M به $۱۰^{-۳}$ M و $۱۰^{-۲}$ M درصد عبور ویروس از فیلتر به ترتیب ۲۵٪، ۱۰٪ و ۳٪ کاهش خواهد یافت.[۵]

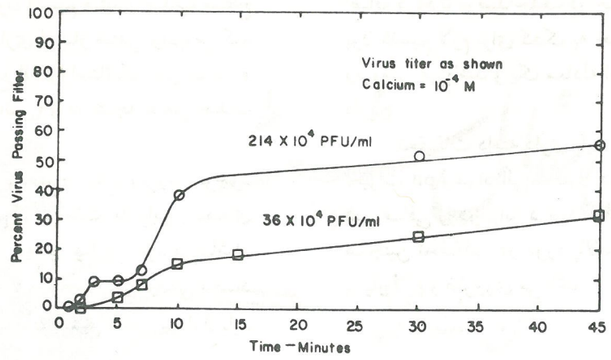
افزایش غلظت یون کلسیم بیشتر از $۱۰^{-۲}$ M تاثیری بر عبور ویروس از صافی ندارد.

جالب توجه است که یون کلسیم با غلظت $۱۰^{-۳}$ M در زمان پالایش (غلظت محلول ویروس ۳۶×۱۰^{۴} PEU/ml) برابر با سختی آب حدود ۱۰۰mg/l caco۳ می‌باشد. در این دوره درصد عبور ویروس از صافی ۳۰٪ و ۲۰٪ می‌باشد. این آب در رده آبهای با سختی کم می‌باشد که بیشتر آبهای آشامیدنی در این رده قرار دارند. بنابراین اگر پارامترهای دیگر به همین صورت باشند می‌بینیم که نیازی به اضافه کردن یون کلسیم نبوده و پالایش خود بخود به این نتیجه خواهد رسید. قابل ذکر است که امکان مداخله مواد آلی همیشه وجود دراد. (۱۵)

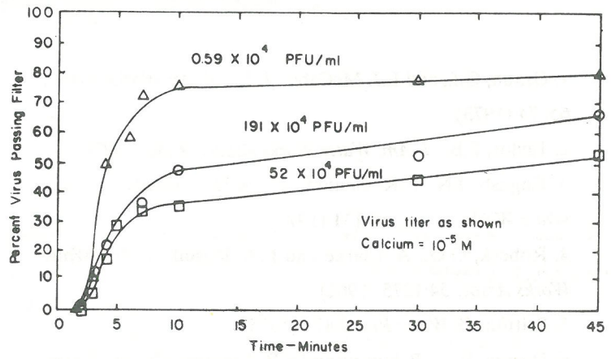
در شکل شماره ۵ و ۶ ملاحظه می‌شود که مقدار یون کلسیم ثابت نگهداشته شده در صورتی که غلظت ویروسها در محلول متغیر می‌باشد. از مشاهده این شکلها چنین نتیجه گیری می‌شود که با ازدیاد غلظت ویروسها، غلظت یون کلسیم هم باید اضافه



شکل شماره ۵: درصد ویروس از صافی گذشته برحسب زمان و غلظت ویروس با یون کلسیم $[Ca^{2+}]=۱۰^{-۳}$ M



شکل شماره ۶: درصد ویروس از صافی گذشته برحسب زمان وغلظت ویروس با یون کلسیم $[Ca^{2+}]=۱۰^{-۴}$ M



شکل شماره ۷: درصد ویروس گذشته از صافی برحسب زمان، غلظت ویروس با یون کلسیم $[Ca^{2+}]=۱۰^{-۵}$ M

گردد تا در نتیجه نهایی تغییری حاصل نشود و یک حالت استوکیومتری بین غلظت یون کلسیم و مقدار ویروسها در محلول برقرار باشد.

در شکل شماره ۶ یک تغییر ناگهانی وجود دارد که بعد از ۱۰ دقیقه پالایش مقدار ویروسی ک از صافی گذشته ازدیاد پیدا می‌کند. این مسئله با دبی ثابت نباید وجود داشته باشد. بنابراین در تکنیک به کار برده شده اشکالی وجود داشته است. این از اولین دوره آزمایشات بوده و نمونه برداری‌ها هر دقیقه یک بار انجام شده در فاصله زمانی بین صفر تا ده دقیقه و اشکال در پالایش بوجود می‌آورد.

بعد از ۱۰ دقیقه تعداد دفعات نمونه‌گیری کمتر شد و به صافی اجازه داده شده که با دبی ثابت‌تری عمل پالایش انجام گیرد.

در شکل شماره ۷ منحنی مربوط به غلظت یون کلسیم $۱۰^{-۵}$ M نشان داده شده است. همان طوری که ذکر شد با ازدیاد یا کاهش غلظت یون کلسیم، مقدار ویروس از صافی عبور کرده کاهش یا ازدیاد می‌یابد. همان گونه که از این شکل مشاهده می‌شود در غلظتهای خیلی پایین محلول ویروس $۰/۵۹\times۱۰^{۴}$ PFU/ml ۰٪ این مقایسه قابل قبول نیست که البته باز هم به واسطه اشکال در تکنیک شمارش ویروس در غلظتهای پایین می‌باشد و یا این که جذب ویروس بر روی ماسه‌ها بوسیله حرکت برونی (Brownian motion) انجام می‌گردد و چون تعداد برخورد ذرات در غلظتهای پایین خیلی کم انجام می‌شود نتیجتاً راندمان پایین خواهد داشت. (۱۶)

نتیجه:

با بررسی نتایج بدست آمده مشخص می‌شود، که رابطه دفع الکترواستاتیکی بین بار منفی ویروس و بار منفی ماسه‌های صافی وجود دارد که از جذب ویروس توسط صافی جلوگیری می‌کند.

بدون استفاده از هیچ نوع کمکهای شیمیایی (مواد منعقد کننده) عمل جداسازی ویروس به طور خیلی ضعیف انجام می‌گیرد.

برای بدست آوردن نتایج بهتر، نیروی الکترواستاتیکی بین

یونها باید از بین برود. زمانی که یون کلسیم مثبت جذب سطح ویروس با بار منفی گردید، مقداری از بار منفی ویروس کم می‌گردد. بدان اندازه که نیروی دفع الکترواستاتیکی بین ماسه و ویروس از بین رفته (رابطه واندروالس) و در نتیجه عمل جذب صورت می‌گیرد.

رابطه پیچیده‌ای که بین یون کلسیم و سطح ویروس بوجود آمده از مقدار بار منفی ویروس کم کرده است. بنابراین رابطه‌ای بین مقدار یون کلسیم و مقدار ویروسها موجود می‌باشد. همانطوری که در شکل ۵ و ۶ و ۷ مشاهده شد وقتی تعداد ویروسها اضافه گردید مقدار غلظت یون کلسیم هم در محلول باید اضافه گردد تا درصد حذف در حد خود باقی بماند. بنابراین مقدار یون کلسیم لازم برای کمک به جذب ویروس تابعی از غلظت ویروسی می‌باشد و یک معادله استوکیومتریک بین این دو وجود دارد.

تحقیقات دامنه داری باید در این زمینه صورت گیرد تا تاثیرات pH و مواد آلی محلول در آب و همچنین قدرت یونها و دبی صافی را در برابر درصد جذب ویروسی اندازه‌گیری نماید. همچنین تحقیقاتی در مورد پالایش ویروسها در غلظتهای پایین بسیار لازم و ضروری می‌باشد.

REFERENCES

1. Graun, G.f., and L.J. McCabe. *J.Am. Water Works Assoc.*, 65: 74 (1973).
2. Taylor, F.B. *J. Am. Water Works Assoc.* 66:306 (1974).
3. English, J.N., E.R. Bennett and K.D. Linstedt. *J. Am. Water Works Assoc.*, 69:131 (1977).
4. Robeck, G.G., A. Clarke and L.A. Dostal. *J. Am. Water Works Assoc.* 54:1275 (1962).
5. Britton, G. *Water Res.* 9:473 (1975).
6. Stumm, W.,C.P. Huang and S.R. Jenkins. *Croat. Chim. Acta.* 42:223 (1970).
7. Jenkins, S.R. *Environ. Sci. Technol.* 7:43 (1973).
8. Jenkins, S.R.,J. Engeset and V.R. Hasfurther. In:*Chemistry of Water Supply, Treatment and Distribution,* A.V. Rubin, Ed. (Ann Arbor, MI: Ann Arbor Science Publishers, Inc. 1974).
9. Cookson, J.T. *J. Am. Water Works Assoc.* 61:52 (1969).
10. Carlson, J.H.,G.H. Ridenour and C.F. McKhann. *Am.J. Public Health* 32:1256 (1942).
11. Lefler, E., and Y. Kott. *Israel J. Technol.* 12:298 (1974).
12. Kohn, A., and P. Fuchs. *Adv. Virus Res.* 18:159 (1973).
13. Vaughn, J.M., and T.G. Metcalf. *Water Res.* 9:197 (1975).
14. Moore, B.E.,B.P. Sayik and J.F. Malina. *Water Res.* 9:707 (1975).
15. Oza, P.P., and M. Chandhuri. *Water Res.* 9:707 (1975).
16. Valentine, R.C., and H.C. Allison. *Biochem. Biophys.*