

حذف اندوتوکسین از آب با فرایند ازن زنی کاتالیتیکی غیر همگن در حضور خاکستر استخوان

عباس رضایی^۱

قادر غنی زاده^۲

احمد رضا یزدانبخش^۳

قربان یزدان نژاد^۴

(دریافت ۸۸/۹/۲۴ پذیرش ۸۹/۸/۲۸)

چکیده

اندوتوکسین از جمله آلاینده‌هایی است که ساختار لیپوپلی ساکاریدی داشته و از جدار خارجی باکتری‌های گرم منفی رها می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی حذف اندوتوکسین از آب با فرایند ازن زنی کاتالیتیکی در حضور خاکستر استخوان بود. در این تحقیق، اندوتوکسین مورد استفاده از دیواره سلولی باکتری *اشریشیا کلی* (ATCC 25922) با استفاده از روش استفان و جان استخراج شد. برای اندازه‌گیری اندوتوکسین از روش کروموزنیک لیمولوس آمبوسیت لایست در طول موج ۴۰۵ تا ۴۱۰ نانومتر استفاده گردید. اندازه‌گیری ازن با روش دید پتاسیم انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد که سرعت حذف اندوتوکسین با این فرایند برای خاکستر استخوان سیاه در محدوده 0.5 Eu/ml.min و برای ازن/خاکستر سفید 6.0 Eu/ml.min است. این فرایند دارای راندمان حذف ۸۰ درصد بود. تغییر غلظت اولیه عوامل شرکت کننده در واکنش، تأثیری در سرعت حذف اندوتوکسین نداشت. بر این اساس سینتیک واکنش حذف اندوتوکسین با این روش یک واکنش درجه صفر است. فرایند ازن زنی در حضور خاکستر استخوان نسبت به سایر روشهای مطالعه شده نظیر ازن زنی متداول و کلرزنی، روش مؤثرتری در حذف اندوتوکسین است و می‌تواند در حذف اندوتوکسین از آب مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اندوتوکسین، ازن زنی کاتالیتیکی، خاکستر استخوان، تصفیه آب

Endotoxin Removal from Water Using Heterogenous Catalytic Ozonation by Bone Char

Abbas Rezaee¹
Ahmadreza Yazdanbakhsh³

Ghader Ghanizadeh²
Ghorban Behzadian Nejad⁴

(Received Dec. 15, 2009 Accepted Nov. 19, 2010)

Abstract

The endotoxin is one of pollutants with lipopolysaccharide structure which release from gram negative bacteria and cyanobacters. The aim of this study was removal of endotoxin from water using catalytic ozonation by bone char. The endotoxin for experiments have extracted from *Escherichia coli* bacterium cell wall by Stefan and Jan method. Chromogenic limulus ambusite lysate method in 405-410 nm wave length was used for analysing of endotoxin. The ozone have analysed by potassium iodine method. Results: Results of the research shown endotoxin removal rates using heterogenous catalytic ozonation were 6.0 Eu/ml.min and 0.5 Eu/ml.min for grey bone char and white bone char, respectively. The efficiency of the process was found eighty percent. Primary concentration of basic compounds had no effect on endotoxin removal rate. Therefore, endotoxin removal kinetic of reaction is a zero order reaction. This study revealed that ozonation process using bone char is more efficient than other proposed methods such as ozonation or chlorination and can be used successfully for endotoxin removal from water as a efficient method.

Keywords: Edotoxin, Catalytic Ozonation, Bone Char, Water Treatment.

1. Assoc. Prof. of Environmental Health, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran (Corresponding Author) (+98 21)82883575 rezaee@modares.ac.ir

2. Ph.D. of Environmental Health, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran

3. Assoc. Prof. of Environmental Health, Faculty of Medical Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran

4. Prof. of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran

۱- دانشیار بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران (نویسنده مسئول) ۸۲۸۸۳۵۷۵ (۰۲۱) rezaee@modares.ac.ir

۲- دکترای بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۳- دانشیار بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۴- استاد باکتری شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۱- مقدمه

اندوتوکسین ترکیب عمده دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی و برخی از سیانوباکترها است. ساختار آن لیپوپلی ساکاریدی بوده و از سه بخش لیپید A، بخش مرکزی و زنجیره O تشکیل شده است. مقدار اندوتوکسین بر حسب نانوگرم و میکروگرم بیان می‌گردد. خصوصیات اصلی اندوتوکسین یعنی فعالیت اندوتوکسیک، ایمنومودولاتوری و تزایی آن کاملاً اثبات شده است [۱]. بررسی‌های اپیدمیولوژیکی در سوئد نشان می‌دهد که استفاده از آب رودخانه آلوده به اندوتوکسین به منظور شرب باعث شده ۱۲۱ نفر از ۳۰۴ نفر ساکن در روستا به بیماری‌های اسهال، استفراغ و کرامپ عضلانی دچار شوند. در استرالیا رشد سیانوباکترها در مخازن آب شرب جزیره پالم و استفاده از سولفات مس به عنوان گندزدا باعث ورود اندوتوکسین به آب و بیمار شدن ۱۴۱ نفر شده است. گزارشی مبنی بر اسهال شدید، استفراغ، تب، حساسیت پوستی و چشمی در ۸۵۲ نفر متعاقب تماس با آبهای تفریحی حاوی اندوتوکسین در دست است [۲]. تب، اسهال، کاهش فشار خون (کاهش در فشار سیستولیک خون به میزان ۳۰ میلی‌متر جیوه یا بیشتر)، استفراغ، شوک، انعقاد درون رگ و مرگ از علائم عمومی تماس انسان با اندوتوکسین است [۳].

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که غلظت اندوتوکسین در آبهای خام از ۱۰۴۹ تا کمتر از ۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر متغیر است و مقادیر بالاتر که تا حدود ۳۸۰۰۰ EU/ml گزارش شده مربوط به آبهایی است که در آنها رشد شدید سیانو باکترها یا جلبکهای سبز-آبی اتفاق افتاده است [۴]. اگر این مقادیر در آبهای تصفیه شده وجود داشته باشند قطعاً باعث مخاطرات بهداشتی می‌شوند. در سیستم‌های توزیع نیز غلظت اندوتوکسین از ۰/۸ تا ۱۱۱۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر متغیر بوده و بالاترین غلظتها به بخشهایی از شبکه اختصاص دارد که زمان ماند آب در آنها بالاتر است.

با این وجود مقدار استاندارد برای بیان حداکثر غلظت آلودگی ارائه نشده است. برخی از مدارک پزشکی نشان می‌دهد که دلیل شیوع تبهای با علل نامعلوم می‌تواند تماس با اندوتوکسین آب باشد. گزارش منتشر شده توسط هیندمن^۱ در سال ۱۹۷۵ نشان می‌دهد که اندوتوکسین موجود در آب شیر باعث مرگ بیماران دیالیزی شده است [۵].

علیرغم اینکه آب مورد استفاده در فرایند دیالیز دارای مراحل متعدد تصفیه‌ای است اما هیچ یک از این واحدهای تصفیه‌ای به‌طور مطمئن اندوتوکسین را حذف نکرده بلکه ممکن است باعث افزایش غلظت آن بشوند [۶]. با توجه به اینکه یک بیمار دیالیزی ممکن

است در طول فرایند دیالیز در یک هفته ۴۰۰ تا ۶۰۰ لیتر آب مصرف کند، توجه به حضور اندوتوکسین در آب مصرفی بخشهای دیالیز بیمارستان‌ها از نکات بسیار مهمی است که باید مورد توجه قرار بگیرد [۶].

راپالا و همکاران^۲ در سال ۲۰۰۲ گزارش کرده‌اند که کلرزنی تأثیری در حذف اندوتوکسین ندارد و استفاده از ازن تنها می‌تواند ۸ درصد از اندوتوکسین موجود در آب را حذف نماید [۷]. رشد فزاینده جوامع شهری و نیاز به آب تصفیه شده سالم، استفاده از روشهای نوین تصفیه آب از جمله ازن‌زنی را مطرح نموده است [۸]. هر چند ازن به‌عنوان یک اکسیدکننده قوی می‌تواند بسیاری از آلاینده‌های جزئی و مقاوم موجود در آب را حذف کند ولی به دلیل برخی محدودیتهای کاربرد آن در برخی موارد از نظر اقتصادی و بهداشتی با محدودیتهایی مواجه است [۹]. از طرفی پیدایش طیف وسیعی از آلاینده‌های آلی پایدار که فرایندهای متداول و منفرد ازن‌زنی نمی‌تواند آنها را حذف نماید، سبب شده رویکردهای جدیدی برای افزایش راندمان فرایند ازن‌زنی توسعه یابد.

در سالهای اخیر ازن‌زنی کاتالیتیکی در حضور مواد جامد یا جاذبهای مختلف به‌عنوان یک فرایند نوین اکسیداسیون پیشرفته در تصفیه آب و فاضلاب مورد استفاده قرار گرفته است [۱۰].

ازن‌زنی کاتالیتیکی ممکن است به‌صورت همگن یا غیرهمگن مورد استفاده قرار گیرد. در فرایند ازن‌زنی کاتالیتیکی غیرهمگن معمولاً از مواد جامد یا جاذبهای مختلف به‌صورت معمولی یا پوشانده شده با اکسیدهای فلزی به‌عنوان عامل کاتالیست واکنش استفاده می‌گردد. آلورزو همکاران^۳ در سال ۲۰۰۷ فرایندهای ازن‌زنی متداول و ازن‌زنی کاتالیتیکی غیرهمگن در حضور آلومینای فعال آغشته به کبالت را برای حذف اسید پیرویک مطالعه کرده و گزارش نمودند که این آلاینده در برابر ازن‌زنی متداول، مقاوم است ولی ازن‌زنی کاتالیتیکی غیرهمگن با حضور گاما آلومینا، ۵۶ درصد این آلاینده را حذف نموده است [۱۱]. زین و همکاران^۴ در سال ۲۰۰۷ ازن‌زنی کاتالیتیکی در حضور کاتالیست‌های مختلف را برای حذف آلاینده‌های آلی بررسی و گزارش کرده‌اند که استفاده از کاتالیست آلومینای فعال حاوی مس (Cu/Al₂O₃) در حضور ازن، راندمان حذف TOC را به میزان ۵۰ درصد افزایش می‌دهد [۱۲].

مطالعه سائو و همکاران^۵ در سال ۲۰۰۷ نشان داد که ازن‌زنی در حضور سیلیکاژل آغشته به آلومینای فعال و دی اکسید تیتانیوم راندمان حذف ترکیبات آلی را به ترتیب به میزان ۳۰ و ۲۰۰ درصد افزایش می‌دهد [۱۳]. هادوی فر و همکاران در سال ۲۰۰۹ فرایند

² Rapala et al.

³ Alverz et al.

⁴ Xin et al.

⁵ Sao et al.

¹ Hindman

از نرنی کاتالیتیکی با استفاده از ازن و کربن فعال را به منظور تصفیه پساب کارخانه الکل سازی توصیه نمودند [۱۴]. با توجه به توسعه کاربرد این فرایند، در این مطالعه حذف اندوتوکسین با فرایند از نرنی در حضور خاکستر استخوان مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روشها

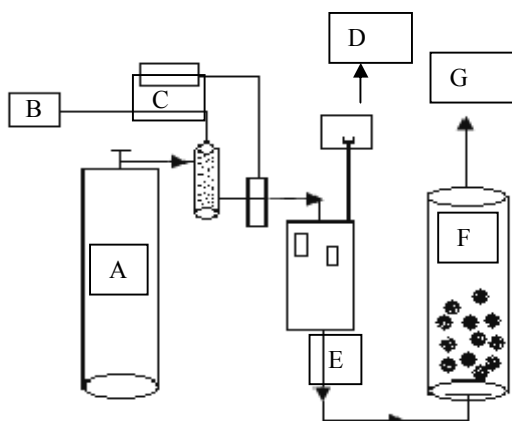
خاکستر استخوان مورد استفاده در آزمایشگاه و با استفاده از کوره الکتریکی از استخوان گاو در دمای ۹۰۰ درجه سلسیوس تهیه شد. مشخصات ساختاری خاکستر استخوان تهیه شده با استفاده از آزمایش‌های تلر^۱، اِمِت^۲، برونر^۳ تفرق اشعه X^۴، اسپکتروسکوپی EDX^۵ اندازه‌گیری عدد یدی تعیین گردید. برای تهیه ازن از گاز اکسیژن با درجه خلوص بسیار بالا استفاده گردید و میزان ازن تولیدی در حضور محلول ۲ درصد یدید پتاسیم بعد از ۱۰ دقیقه تماس اندازه‌گیری شد. در سیستم مورد استفاده، عبور ۱ l/min گاز اکسیژن، ازنی معادل ۰/۴۵ گرم بر ساعت تأمین می‌کرد. به منظور بررسی قابلیت حذف اندوتوکسین با فرایند از نرنی کاتالیتیکی در حضور انواع خاکستر استخوان، از یک راکتور طراحی شده استفاده گردید (شکل ۱).

این بخش از مطالعه با غلظتهای مختلف اندوتوکسین (۷۰ و ۵۰ Eu/ml)، دزهای مختلف انواع خاکستر استخوان (۱/۵ و ۰/۷۵) و دزهای مختلف ازن با میزان جریان اکسیژن ۱/۲ l/min انجام شد. استخراج اندوتوکسین با استفاده از جرم توده سلولی تهیه شده از باکتری اشرشیاکلی^۶ (ATCC 25922) در محیط BHI برات انجام شد. استخراج اندوتوکسین با استفاده از روش استفان و جان^۷ صورت گرفت. ۵۰ گرم از وزن مرطوب باکتری در ۱۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حالت سوسپانسیون در آمد و با استفاده از بن ماری تا دمای ۶۶ درجه سلسیوس حرارت داده شد. سپس ۱۹۰ میلی‌لیتر از فنل ۹۰ درصد که قبلاً تا ۷۰ درجه سلسیوس حرارت داده شده بود، به سوسپانسیون مذکور اضافه گردید. سوسپانسیون باکتریایی حاوی فنل به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سلسیوس نگهداری شد و در طول این مدت با استفاده از همزن کاملاً مخلوط گردید.

پس از مدت ۴۰ دقیقه این سوسپانسیون بر روی آب یخ گذاشته شد تا دمای آن به ۱۰ تا ۱۵ درجه سلسیوس کاهش یابد. متعاقب کاهش دما، سوسپانسیون با استفاده از سانتریفیوژ ۴۰۰۰ g

به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید. پس از اتمام سانتریفیوژ، سه فاز کاملاً مجزا در داخل لوله فالکن تشکیل شد که لایه بالایی فاز آبی حاوی اندوتوکسین، لایه میانی پروتئین‌های جدا شده و لایه پایینی فاز فنلی را تشکیل می‌داد. با توجه به اینکه اندوتوکسین در لایه آبی حضور دارد با استفاده از پیپت استریل این لایه جدا شد و برای تخلیص استفاده گردید.

به منظور خالص‌سازی اندوتوکسین از غشای دیالیز با قطر منافذ KD ۱۲۰۰۰ استفاده گردید و برای آماده‌سازی آن از بیکربنات سدیم و محلول ۱ میلی مولار EDTA استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری اندوتوکسین از روش کروموژنیک^۸ (LAL) و فوتومتری در طول موج ۴۰۵ تا ۴۱۰ نانومتر استفاده شد [۱۵]. برای انجام آزمایش از اندوتوکسین استاندارد B₄: O₁₁₁ E.coli با قدرت ۲۹ Eu استفاده گردید. کیت استفاده شده از شرکت کمبرکس^۹ تهیه شده بود. برای اندازه‌گیری و محاسبه غلظت اندوتوکسین در نمونه‌های مختلف از منحنی استاندارد استفاده شد. در این مطالعه برای سنجش اندوتوکسین از روش میکروپلیت^{۱۰} و دستگاه الیزا^{۱۱} مدل State Fax 2100 استفاده شد. جذب نور نمونه‌ها و استانداردها در غلظتهای ۱-۰/۱ Eu/ml خطی است. ضریب همبستگی منحنی استاندارد رسم شده در این محدوده غلظت باید بزرگ‌تر از ۰/۹۸ باشد. در این مطالعه با توجه به غلظت و داده‌های جذب نوری محلولهای استاندارد و شاهد، ضریب مورد نظر ۰/۹۹۹۹ به دست آمد.



شکل ۱- طرح راکتور مورد استفاده

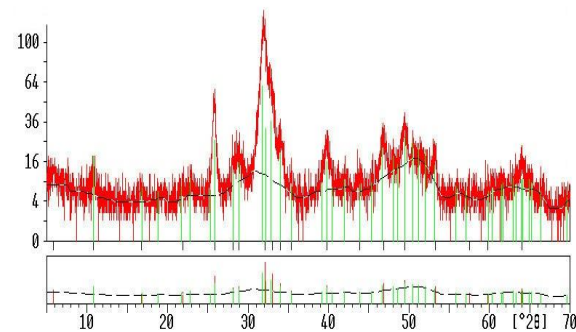
(A): کپسول اکسیژن، B: خشک‌کننده اکسیژن، C: دبی‌سنج اکسیژن، D: منبع تأمین برق، E: دستگاه مولد ازن، F: راکتور تزریق ازن و G: تهویه

⁸ Chromogenic
⁹ Cambrex
¹⁰ Microplate
¹¹ Elisa

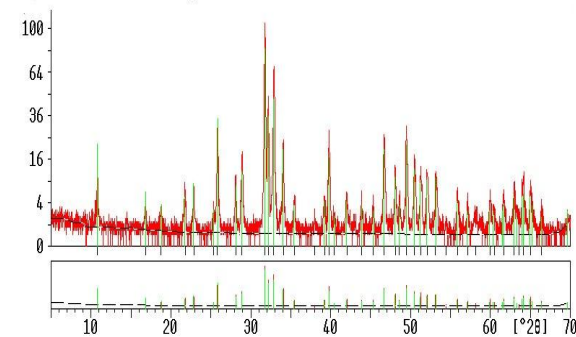
¹ Teller
² Emmett
³ Brunauer
⁴ X-ray Diffraction (XRD)
⁵ Energy Dispersive X-ray (EDX)
⁶ Escherichia Coli
⁷ Stefan and Jan

۳- نتایج و بحث

بررسی‌های ساختاری و اجزای تشکیل دهنده خاکسترهای استخوان تهیه شده نشان داد که ترکیب اصلی تشکیل دهنده ساختار این خاکسترها، هیدروکسی آپاتیت کلسیم است (شکلهای ۲ و ۳). مقایسه نتایج حاصل از این مطالعه با یافته‌های سایر محققان نشان می‌دهد که اجزای ساختاری، سطح ویژه و عدد یدی تعیین شده برای خاکسترهای استخوان استفاده شده در این مطالعه با مقادیر گزارش شده توسط سایر محققان تفاوت چندانی ندارد. چنگ و همکاران^۱ در سال ۲۰۰۵ سطح ویژه خاکستر استخوان را ۱۰۰ مترمربع بر گرم گزارش کرده‌اند که نسبت به میزان تعیین شده برای خاکستر سیاه معمولی مورد استفاده در این مطالعه کمتر است [۱۶]. از طرفی اندازه‌گیری عدد یدی خاکستر استخوان خاکستری رنگ نشان داد که میزان عدد یدی خاکستر تهیه شده در دمای ۴۵۰ و ۹۰۰ درجه سلسیوس به ترتیب معادل ۱۳۴/۴۴ و ۱۶/۰۶ میلی‌گرم بر گرم است (جدول ۱). این نتیجه در مورد خاکستر تهیه شده در دمای ۴۵۰ درجه سلسیوس با یافته‌های سایر محققان مطابقت داشت. محققانی نظیر آبه و همکاران^۲ در سال ۲۰۰۴ و چوی^۳ در سال ۲۰۰۴ نیز میزان عدد یدی خاکستر استخوان را در این محدوده



شکل ۲- نمودار XRD خاکستر سیاه



شکل ۳- نمودار XRD خاکستر سفید

نوع خاکستر استخوان	دمای تهیه شده (C)	عدد یدی (mg/g)	سطح ویژه (m ² /g)
سفید	۹۵۰	۱۶/۰۶	۹۲/۵
سیاه	۴۵۰	۱۳۴/۴۴	۱۳/۷۵

گزارش کرده‌اند. بررسی عمکرد سیستم مورد استفاده برای حذف اندوتوکسین نشان داد که راندمان سیستم و سرعت حذف اندوتوکسین با فرایند ازن زنی در حضور انواع خاکستر استخوان سفید و سیاه نسبت به سایر سیستم‌های مطالعه شده بالاتر است. سرعت حذف اندوتوکسین در این مطالعه معادل EU/ml.min ۰/۵-۰/۶ تعیین شد که نسبت به مقدار گزارش شده توسط اندرسون و همکاران^۴ در سال ۲۰۰۳ بسیار بالاتر بود. اندرسون و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کرده‌اند که غلظت‌های ۱۰۰ و ۲ میلی‌گرم در لیتر از کلر آزاد با زمان‌های تماس ۱۲۱ و ۱۶۹ ساعت دارای سرعت غیر فعال‌سازی یکسان و معادل EU/ml.h ۱/۴-۱/۳ بوده است [۱۷]. این محققان سرعت غیر فعال‌سازی اندوتوکسین را در حضور پرمنگنات پتاسیم و منوکلرو آمین به ترتیب Eu/ml ۰/۹۹ و ۰/۷۲ ذکر کرده و سینتیک غیر فعال‌سازی اندوتوکسین با این عوامل گندزدا را یک واکنش درجه صفر عنوان نموده‌اند. آنها همچنین ذکر کرده‌اند که غلظت عوامل شرکت کننده در واکنش تأثیری در سرعت حذف آلاینده ندارد [۱۷].

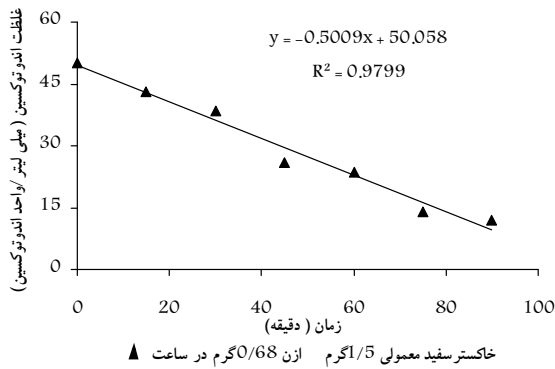
مطالعه دیگری که توسط اندرسون و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام شده، نشان می‌دهد که استفاده از پرتو ماوراء بنفش UV با شدت متوسط می‌تواند اندوتوکسین را به میزان ۰/۵۵ mj/m² حذف نماید. این سرعت غیر فعال‌سازی برای غلظت ۵۰ Eu/ml تعیین شده و گزارش شده است که اگر غلظت اندوتوکسین به ۲۰۰ Eu/ml افزایش یابد، راندمان حذف به ۱۰ تا ۵۰ درصد خواهد رسید [۱۸]. مقایسه نتایج این تحقیق با یافته‌های این محققان نشان داد که سرعت حذف اندوتوکسین با فرایند ازن زنی در حضور خاکستر استخوان حدود ۳۰ برابر بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط اندرسون و همکاران است. از طرفی راندمان حذف در این تحقیق نسبت به یافته‌های راپالا و همکاران که راندمان حذف اندوتوکسین را با فرایند ازن زنی منفرد در حدود ۸ درصد گزارش کرده‌اند، بسیار بالاتر بود. در این سیستم راندمان‌های حذف ۸۰ درصد

⁴ Anderson

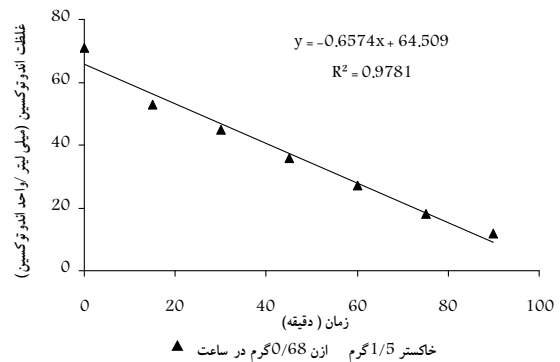
¹ Gheung et al.

² Abe et al.

³ Choy



شکل ۵- اثر حذف اندوتوکسین متعاقب ازن زنی در حضور خاکستر سفید



شکل ۴- اثر حذف اندوتوکسین متعاقب ازن زنی در حضور خاکستر سیاه

غلظت اولیه عوامل شرکت کننده در واکنش در هر دو سیستم تأثیری در سرعت حذف اندوتوکسین ندارد که این امر نشان می‌دهد واکنش حذف اندوتوکسین با فرایند ازن زنی در حضور خاکستر استخوان احتمالاً یک واکنش درجه صفر است. با توجه به سرعت حذف بالای فرایند ازن زنی در حضور انواع خاکستر استخوان سفید و سیاه نسبت به روشهای مطالعه شده برای حذف اندوتوکسین، پیشنهاد می‌گردد این فرایند به‌عنوان یک روش حذف اندوتوکسین از آب مورد توجه قرار گیرد.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که فرایند ازن زنی در حضور خاکستر استخوان روش مؤثری در حذف اندوتوکسین است و می‌تواند به‌عنوان یک روش برای حذف اندوتوکسین از آب مورد استفاده قرار گیرد. سرعت حذف اندوتوکسین با این فرایند برای خاکستر استخوان سیاه 0.06 Eu/ml.min و برای ازن/خاکستر سفید 0.05 Eu/ml.min تعیین گردید.

قابل دستیابی است. نتایج این تحقیق با یافته‌های اندرسون و همکاران از نظر سینتیک واکنش مطابقت داشت. این محققان نیز در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که حذف اندوتوکسین با کلر آزاد، پرمنگنات پتاسیم و منوکلرو آمین یک واکنش درجه صفر است و تغییر غلظت عوامل شرکت‌کننده در واکنش تأثیری در سرعت حذف اندوتوکسین ندارد [۱۷]. بررسی عملکرد فرایند ازن زنی در حضور انواع خاکستر استخوان نشان داد که سرعت حذف اندوتوکسین در فرایند ازن زنی و در حضور خاکستر سیاه معمولی اندکی بیشتر از فرایند ازن زنی در حضور خاکستر سفید است (شکل‌های ۴ و ۵). سرعت حذف اندوتوکسین برای فرایند ازن زنی در حضور خاکستر سیاه در حدود 0.06 Eu/ml.min بود در صورتی که این میزان برای فرایند ازن زنی در حضور خاکستر سفید اندکی کمتر و در حدود 0.05 Eu/ml.min بود. از طرفی بررسی سرعت‌های حذف اندوتوکسین در حضور انواع خاکسترها نشان داد که هرچند ازن زنی در حضور خاکستر سیاه نسبت به ازن زنی در حضور خاکستر سفید دارای سرعت حذف بالاتری است ولی تغییر

۵- مراجع

- Morrison, D.C., Danner, R.L., Dinarello, C.A., and Munford, R.S. (1994). "Bacterial endotoxin and pathogenesis of Gram-negative infections: Current status and future direction." *J. Endotoxin Res.*, 2, 71-83.
- WHO. (2004). *Guidelines for safe and recreational water environments*, Geneva.
- Zimmerman, T., Frere, C.P., and Satzger, M. (2006). "Simultaneous metal chelate affinity purification and endotoxin clearance of recombinant antibody fragments." *J. Immunol Methods*, 314, 67-73.
- Jorgenson, J.H., Lee, J.C., and Pahren, H.R. (1976). "Rapid detection of bacterial endotoxin in drinking water and renivated wastewater." *Appl. Environ. Microbiol.*, 32, 347-351.
- Bauer, T.M., Schwacha, H., and Steinbruckner, B. (2002). "Small intestinal bacterial overgrowth in human cirrhosis is associated with systemic endotoxiemia." *Am. J. Gastroent*, 9, 2364-2370.
- Nissenson, A.R., Fine, R.N., Gentile, D.E., and Norwalk, C.T. (1990). *Clinical dialysis*, 2nd Ed., Appelton Centruy Crofts Pub., New York.

- 7- Huck, P.M., Finch, G.R., and Hrudehy, S.E. (1998). *Peppler MS. design of biological processes organics control*, AWWA. Research Foundation Report, USA.
- 8- Rezaee, A., Ghanizadeh, Gh., and Yazdanbakhsh, A.R., Behzadian Nejad, Gh., Ghaneian, M.T., and Siadat, S.D. (2008). "Removal of endotoxin in water using ozonation process." *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 2, 495-499.
- 9- Torabian, A., Ghadimkhani, A., Rashidi, A., Shokouhi, H., and Janbeglou, R. (2006). "Preozonation effect on total organic carbon removal in surface water treatment." *J. of Water Wastewater*, 58, 2-9. (In Persian)
- 10- Valdes, H., Murillo, F.A., Manoli, J.A., and Zaror, C.A. (2008). "Hetrogeneous catalytic ozonation of benzothiazole aqueous solution promoted by volcanic sand." *J. Hazard. Mater.*, 153, 1036-1042.
- 11- Alvarez, P.M., Beltran, F.J., Pocostales, J.P., and Masa, F.J. (2007). "Preparation and structural characterization of Co/Al₂O₃ catalysts for the ozonation of pyruvic acid." *Appl. Catal. B Environ*, 72, 322-330.
- 12- Xin L. I., Jun-hai, Y., and Jing-Yao, Q.I. (2007). "Degradation of organic pollutants in water by catalytic ozonation." *Chem. Res., Chinese U*, 3, 273-275.
- 13- Sano, N., Yamamoto, T., and Yamamoto, D., Kim, S.I., Eiad-Ua, A., Shinomiya, H., and Nakaiwa, M. (2007). "Degradation of aqueous phenol by simultaneous use of ozone with silica-gel and zeolite." *Chem. Eng. Proces.*, 46, 513-519.
- 14- Hadavifar, M., Younesi, H., and Zinatizadeh, A. (2009). "Application of ozone and granular activated carbon for distillery effluent treatment." *J. of Water Wastewater*, 74, 10-18. (In Persian)
- 15- Nakagawa, Y., Maeda, H., and Murai, T. (2002). "Evaluation of the invitro pyrogen test system based on proinflammatory cytokine release from human monocyte: Comparision with a human whole blood culture test system and with rabbit pyrogen test." *Clin. Diag Lab. Immun.*, 3, 588-597.
- 16- Chen, Y.N., Chia, L.Y., and Shu, Y.D. (2008). "Study of arsenic (V) adsorption on bone char from aqueous solution." *J. Hazard. Mater.*, 160, 168-172.
- 17- Anderson, W.B., Mayfield, C.I., and Dixon, D.G. (2003). "Endotoxin inactivation by selected drinking water treatment oxidants." *Water Res.*, 37, 4553-4560.
- 18- Anderson, W. B., Huck, P. M., Dixon, D.G., and Mayfield, C.I. (2003). "Endotoxin inactivation in water by using medium-pressure UV lamps." *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 3002-3004.