Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.8 / NO.1 / Year: 2016
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

معالجة مياه الصرف الصحي الحاوية على بكتريا القولون بالأكسدة الضوئية المحفزة باوكسيد المنغنيز

فاطمة علاوي عبد السجاد
College of Science, Kufa University, Najaf, Iraq.

الخلاصة :
تم في هذه الدراسة التخلص (قتل)بكتريا القولون (السالبة) في مياه الصرف الصحي وذلك بتسليط الاشعة مافوق البنفسجية بوجود بأكسدتها بالأشعة الفوق البنفسجية بوجود MnO2 كعامل محفز عن طريق استعمال مفاعل حيوي مصمم لهذا الغرض وهي طريقة فعالة لقتل البكتريا في المياه الملوثة بها.
اجريت التجارب الأولية لتحديد الظروف المثلى التي تعطي كفاءة عالية في تطهير المياه من البكتريا مثل تأثير الدالة الحامضية وكمية العامل المحفز .
تشير النتائج الى كفاءة الأكسدة الضوئية بوجود العامل المساعد أعلى منها بغيابه ، حيث كانت كفاءة التخلص من البكتريا 95% باستعمال وزن للعامل المساعد g(0.2) و PH = 5.
كلمات البحث: بكتريا *E.Coli* ، مياه الصرف الصحي ، تطهير ، المحفز MnO2 والأشعة فوق البنفسجية .

1- المقدمة .

مياه الصرف الصحي يتم تعقيمها بالقضاء على الأحياء الدقيقة المسببة للأمراض وغيرها من العضيات التي يمكن أن تلوث المياه وتجعلهاغير صالحة للشرب ولبعض الاحتياجات الاقتصادية الأخرى.

بكتريا القولون (الاسم العلمي: *Escherichia coli*) نسبة الى *مكتشفها Theodor Escherichia* وهي نوع من أنواع البكتريا السالبة و تسمى أيضاً ببكتريا الأمعاء الغليظة و هي من السلالات النافعة التي تعيش في أمعاء الثدييات بشكل طبيعي الا انها تصبح ضارة عندما تنمو أنواع من هذه البكتيريا القادرة على إفراز نوع من السموم يؤدي إلى مضاعفات خطيرة.

ان الخازن الرئيسي لهذه البكتيريا هي أكلات الأعشاب و خاصة الأبقار و ذلك عندما تتلوث اللحوم والخضروات و المياه بفضلات هذه الحيوانات و يكتسب الإنسان العدوى عن طريق الطعام أو الماء الملوث بهذه البكتريا.**(1)**

E.Coli من اكثر انواع البكتريا شيوعا في تسببها لالتهابات الجهاز الهضمي التي يرافقها اسهال والذي قد يكون مصحوبا بالدم ،القيء ،غثيان وارتفاع درجة حرارة الجسم .

فترة حضانة المرض من 9 الى 12 ساعة وبعدها تظهر اعراض الاصابة . ويتم تشخيص المريض المصاب بها عن طريق فحص عينة الدم او تحليل البول مجهريا ومختبريا ، بالرغم من ان معظم سلالة بكتريا القولون غير ضارة الا ان بعضها يسبب العدوى مثل عدوى الجهاز الهضمي وهذا يأتي من تناول الطعام او الشراب الملوث الذي ينتج عنه الاسهال وألم في البطن وان مدة العدوى تتراوح من 5 الى 10 ايام ، عدوى المسالك البولية ،عدوى الجهاز التنفسي ومنها ذات الرئة وغيرها علما ان هذه البكتريا تستجيب للعديد من المضادات الحيوية .[2]

المعالجة الكيميائية هي احدى الأساليب المستعملة في تنقية مياه الصرف الصحي وتتضمن إضافة مواد كيميائية مختلفة بما في ذلك مواد لضبط الدالة الحامضية والتخثر والترسيب - مواد الأكسدة و التعقيم [3] .
اكاسيد العناصر الانتقالية مثل ثاني أوكسيد المنغنيز له خصائص فيزيائية مهمة كتأثير حجم جسيماته الصغيرة جدا و مساحته السطحية العالية [4] .حيث يعمل كمبيد للجراثيم لتكوينه غشاء ميكروبي معها [5] .
التحفيز الضوئي هو ظاهرة تحدث عند سلسلة من التفاعلات بوجود الضوء ومحفز قوي يعمل على امتصاص الفوتونات الضوئية عندما تمتلك طاقة (hυ) اعلى اومكافئة لطاقة فجوة شبة الموصل واللازمة لإثارة الكترونات التكافؤ وانتقالها من حزمة التكافؤ تاركه فجوة موجبة الشحنة والتي ستكون عامل مؤكسد قوي الى حزمة التوصيل والتي ستحتوي على الكترون سالب الشحنة يعمل كمختزل قوي (e-/h+) [6] .

تطبيقات الاكسدة الضوئية المحفزة واسعة النطاق لإيجاد حلول للمشاكل البيئية [7] حيث أثبتت نجاحها في معالجة المياه الملوثة بالبكتيريا والفيروسات و الطحالب والفطريات باستخدام مواد شبه موصلة كمحفزات ذات كفاءة عالية [8] .

التطهير من الجراثيم بالأكسدة الضوئية المحفزة له أهمية خاصة ، وذلك لأن الطرق التقليدية مثل التعقيم بالكلور وهو مادة كيميائية لها تأثيرات سلبية [7] .
في العمل الحالي ، الأكسدة الضوئية المحفزة لبكتيريا القولون على سطح ثاني اوكسيد المنغنيز (طاقة الفجوة 3.3ev [9]) في المحلول المائي المعرض للأشعة الفوق البنفسجية باستخدام مصباح الزئبق (50W)وبدرجة حرارة 298K.
ثاني أكسيد المنغنيز قادر على تحليل الملوثات العضوية في الماء والهواء بوجود الأشعة فوق البنفسجية بأطوال موجية اقل من 400 نانومتر .
فوتونات الأشعة فوق البنفسجية تثير الإلكترونات على سطح ذرات شبة الموصل العالقة في المياه الملوثة ، ونقلها من حزمة التكافؤ الى حزمة التوصيل ونتيجة لهذا التغير يؤدي الى تشكيل ثقوب في سطح ذرة المنغنيز والكترونات حرة ، والتي هي الآن متاحة لتشكيل جذر الهيدروكسيد الحر ($OH^{\cdot}$) ، والتي يمكن استخدامها كعامل مؤكسد قوي لتحويل الملوثات العضوية إلى CO2 مباشرة او عن طريق مركبات وسيطة، او تعطيل الكائنات الحية الدقيقة [10،11] .

2- طريقة العمل

في كل تجارب التحفيز الضوئي نأخذ ، $100cm^3$ من محلول معلق البكتريا لـ *E.Coli* يضاف الى وزن معلوم من مسحوق MnO2 في بيكر سعة $200cm^3$ ويحرك مغناطيسيا مع السيطرة على درجة حرارة المحلول عند $25c^o$ باستخدام منظم حراري لكي لايتم القتل البكتيري حراريا وإنما ضوئيا ثم يشعع العالق بالأشعة الفوق البنفسجية المجهزة من مصباح زئبقي (50w) ولمدة 25min .
أجريت تجارب أخرى بإضافة $0.2g/100cm^3$ من شبه الموصل MnO2 الى محلول البكتريا المائي مرة في الظلام وأخرى بالضوء .بعد كل 5 دقائق . يتم سحب عينات من الخليط المشعع باستخدام حقنة ذات إبرة مرنة طويلة تنقل الى انبوبة اختبار وتوضع بجهاز الطرد المركزي على ان يدور 1500 دورة في الدقيقة لمدة 15 دقيقة . لفصل جسيمات شبه الموصل عن المحلول.
نأخذ $1cm^3$ من المحلول ويضاف الى $20cm^3$ من الوسط المغذي الصلب (Nutrient Agar)
في طبق بلاستك(a Petri dish) قطرة (9cm)،تكرر هذه العملية على كل النماذج التي تم سحبها وتحفظ الاطباق في الظلام بدرجة $30C^O$ لمدة 24 ساعة [12].

3- النتائج والمناقشة .

3-1- التجارب الاولية .

تمت دراسة تثبيط نشاط بكتريا القولون بالأكسدة الضوئية المحفزة باستخدام MnO2 و ضوء الأشعة فوق البنفسجية من نوع A ،وقد تم إجراء عدد من التجارب الأولية لتحديد الكفاءة المثلى لقتل البكتريا كما في الشكل(1) الذي يبين أنه في أول ثلاث تجارب قد انخفضت عدد من الخلايا البكتيرية مع الوقت عند استخدام MnO2 وحدها في الظلام لأنه تم امتزاز البكتريا على سطح العامل المحفز الذي ادى الى بناء غشاء خارجي للبكتريا وقد سببت هذه التغييرات الخارجية الى تحلل الخلايا وبالتالي موتها.
يمتلك MnO2 سطح جيد ومستقر كيميائيا الذي يجعل التفاعل مع الكائنات الحية الدقيقة اسهل [13] .يبين الشكل (1) تأثير الأشعة فوق البنفسجية و MnO2 معا على قتل البكتريا يكون افضل من وجود احدهما [14] لانه وجودهما معا ينتج جذور الهيدروكسيل الحره ($OH^{\cdot}$) التي تزيد من كفاءة العملية ،و فعالية MnO2 كانت أساس انتاج عدة انواع من الاوكسجين الفعال التي تسبب أضرارا قاتلة للبكتيريا [15] .
ومن هذه الأنواع شديدة الفعالية $O_2^{\bullet}$, OH−, H2O2 والتي يمكن توضيحها على النحو التالي .

$MnO2 + h\nu \rightarrow e^- + h^+$ ----------(1)
$h^+ + H2O \rightarrow OH^{\bullet} + H^+$ ---------- (2)
$e^- + O2 \rightarrow O^{\cdot}_2$ ----------(3)
$O^{\cdot}_2 + H^+ \rightarrow HO^{\cdot}_2$ ----------(4)
$HO^{\cdot}_2 + H^+ + e^- \rightarrow H2O2$ ---------- (5)

عندما يشعع MnO_2 فان طاقة الفوتون الضوئي تثير الكترون التكافؤ فينتقل من حزمة التكافؤ الى حزمة التوصيل تاركا فجوة في حزمة التكافؤ [16] . الإلكترونات المثارة تتفاعل مع الأوكسجين لإنتاج سوبر أوكسيد $O_2^{\cdot}$ ، اما الفجوات الضوئية تصطاد مجاميع الهيدروكسيد من جزيئات الماء لإنتاج جذور الهيدروكسيل الحرة، عندها جذور الهيدروكسيل الحرة ترتبط مع بعضها لانتاج بيروكسيد الهيدروجين [17]، وعندما تمتز الخلايا البكتيرية على سطح MnO2 وربما تصطدم بالفجوة الضوئية أو الالكترون الضوئي لتتحول الى كائن حي اوالى احد مكوناته.

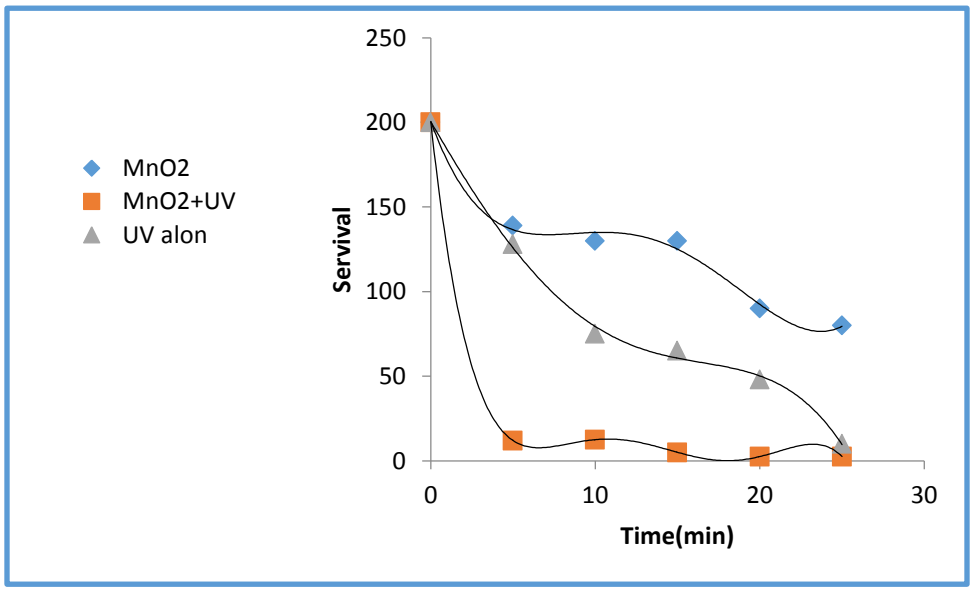
توصل الباحثون إلى أن الاتصال المباشر بين الخلايا وأشباه الموصلات هي شرط أساسي لقتل الخلايا .
سمك جدار ابواغ البكتريا هو الاكثر ضررا [18] ،لذا جذور الهيدروكسيل الناتجة من تشعيع MnO2 هي شديدة الفعالية وعمرها قصير والسوبر اوكسيد الفعالة ايضا لكن عمرها اطول ولكن الشحنه السالبة لكل من جذر الهيدروكسيل والسوبر اوكسيد يجعلها لاتستطيع اختراق جدار الخلية [19] ، في حين يمكن لبيرو كسيد الهيدروجين دخول الخلية والتفاعل مع ايون الحديدوز Fe^{+2} في البلازما أو داخل الخلية، و إما مجاميع حديد البروتين المخزون (مثل الفرريت) ينتج الهيدروكسيل ألاكثر ضررا ، وهذا التفاعل
يسمى تفاعل فينتون [20].

$$Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow OH^{\cdot} + OH^{-} + Fe^{+3} \quad \text{---------(6)}$$

أنواع الاوكسجين الفعالة الناتجة تستطيع مهاجمة الدهون الفوسفاتية غير المشبعة في غشاء الخلية البكتيرية و يؤدي إلى تحطم هيكل غشاء الخلية وموتها، أيضا التفاعلات المؤكسدة يمكن أن تعكر الغشاء الدهني و الأحماض النووية للخلية وهذا يؤدي في نهاية المطاف إلى موت الخلايا ، حتى أن دقائق العامل المحفز MnO2 يمكنها الاكسدة المباشرة للمكونات الأساسية في السايتوبلازم و غشاء الخلية [21] .

تمت الاكسدة الضوئية المحفزة لبكتريا *E.Coli* في حوالي 20 دقيقة [22] وكذلك يمكن ان نعبر عن كفاءة اكسدة البكتريا هي 100 ٪ خلال 20 دقيقة عند تعرضها للأشعة الفوق البنفسجية بوجود MnO_2 الشكل (1) .

Fig. 1: Effect of irradiation time on *E.Coli* removal: MnO2= 0.2 g L-1, pH=7.0



3-2. تاثير وزن MnO_2 على القتل الضوئي المحفز للبكتريا .
تحديد كمية الحفز يعتبر من المقاييس المهمة في عملية القتل الضوئي المحفز للبكتريا لذا اجريت عدة تجارب لمعرفة تأثير كمية المحفز حيث كانت الاوزان تتراوح بين (0.1-0.6) غرام عند PH = 7 .
الشكل (2) يبين كفاءة التعقيم باختلاف اوزان المحفز حيث نلاحظ انه بزيادة وزن المحفز من (0.2- 0.1) تزداد كفاءة التعقيم وبعدها تتناقص والسبب يعود الى انه عندما تكون كمية المحفز قليلة ضمن المدى (0.2- 0.1)تكون دقائق المحفز قليلة مقارنة بعدد الفوتونات ووفقا لقانون الكيمياء الضوئية الثاني " كل ذرة او جزيء يمكن ان يمتص فوتون واحد فقط " لذا فان سرعة القتل الضوئي ليكتريا *E.Coli* تزداد بزيادة كمية المحفز حتى تصل الى وزن 0.2 بعدها تتناقص لزيادة عدد دقائق المحفز بزيادة وزنه والتي ستكون كعامل حجب لفوتونات الضوء الساقط على محلول البكتريا العالق وبذلك منع وصولها الى جزيئات المحفز [23] اضافة الى بعثرة الجزء الاخر من الضوء الساقط وبالتالي تقل سرعة الاكسدة الضوئية المحفزة بنقصان عدد جزيئات المحفز المثارة [24،25].

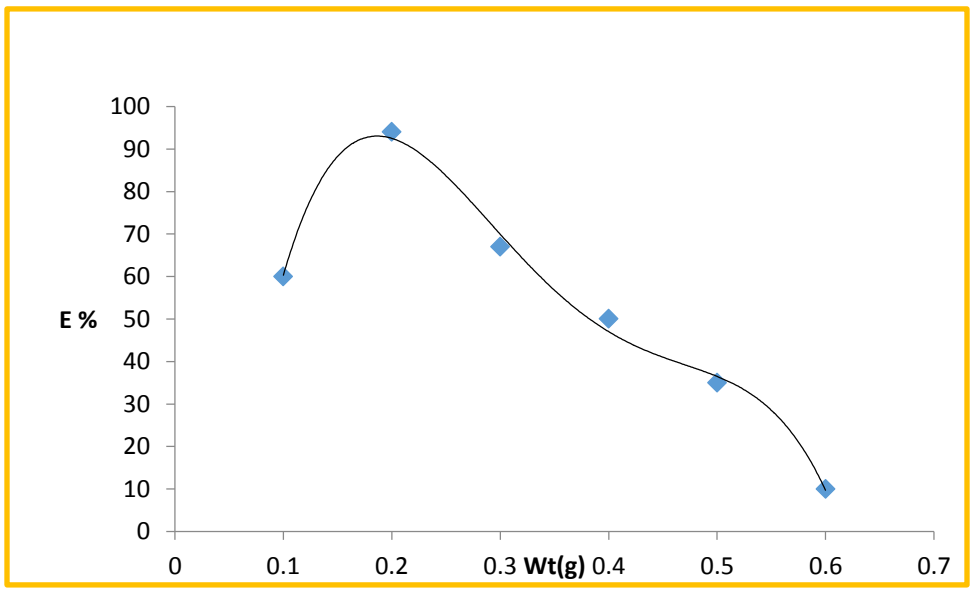
Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.8 / NO.1 / Year: 2016
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

ويتم حساب كفاءة التطهير، E، على النحو التالي:

Disinfection Efficiency = (Ci – C / Ci) x 100

حيث ان : Ci , C هما العدد النهائي والابتدائي للأحياء الدقيقة على التوالي.

Fig.2: Effect of weight of MnO2on disinfection efficiency of bacteria at pH=7.0



3-3 . تأثير الرقم الهيدروجيني على كفاءة القتل البكتيري .

تم دراسة تأثير درجة الحموضة على معدل سرعة القتل البكتيري عن طريق الحفاظ على كل الظروف التجريبية الأخرى ثابتة وتغيير قيم الرقم الهيدروجيني للمحلول العالق ضمن المدى (3-11) ، تظهر النتائج في الشكل (3).تأثير درجة الحموضة على فعالية البكتيريا فنجد تأثير الرقم الهيدروجيني عملية معقدة لأنها تتعلق بتأين سطح المحفز كما هو مبين في المعادلات التالية [26].

MnO2-OH+ H+ MnO2-OH2+ (7)

MnO2-OH+OH- MnO2 -O- +H2O (8)

حيث نلاحظ ان كفاءة التطهير تزداد بزيادة حامضية الوسط وان التفاعل الغير متجانس لوجود المحفز الصلب في المحلول العالق للبكتريا يعتمد بشدة على درجة حموضة الوسط فامتزاز البكتريا على سطح المحفز يعتمد كثيرا على الحالة الايونية للمحفز MnO2 ، وجد ان القتل البكتيري يزداد بزيادة درجة حموضة الوسط حتى تصل اقصاها عند PH = 5 بعدها تتناقص ويمكن تفسير هذا السلوك على أساس نقطة شحنة الصفر (ZPC) لأوكسيد المنغنيز التي تساوي (7.86) [27،28] .

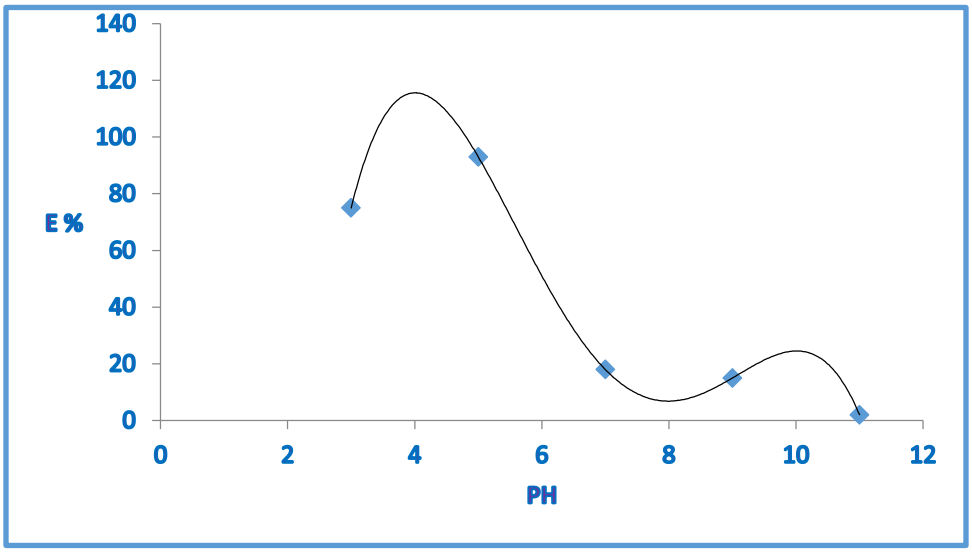
عند PH > 7.86 فان سطح المحفز سيكون سالب الشحنة بسبب امتزاز أيونات الهيدروكسيل السالبة ولكن إذا كان الرقم الهيدروجيني أقل من (ZPC) ،فان أيونات الهيدروكسيل الممتزة على سطح المحفز سينخفض، و بالتالي زيادة أيونات الهيدروجين الممتزة على السطح فستكون شحنته موجبة ، بسبب السلوك الامفوتيري لمعظم أكاسيد أشباه الموصلات ، وهذا يعتبر معيارا هاما لتحديد معدل سرعة التفاعلات التي تجري على سطح أشباه الموصلات [28] .

خلايا سطح بكتريا *E.Coli* لها شحنة سالبة [29،30] وهكذا، فإن اختلاف شحنة سطح أشباه الموصلات سلبا أو إيجابا عند انخفاض أو ارتفاع قيمة الرقم الهيدروجيني لوسط التفاعل عن قيمة (ZPC) ،

تاثير هذا السلوك في المقام الأول على امتزاز البكتيريا على سطح المحفز ، مما يؤثر على سرعة عملية القتل الضوئي المحفز ، فعندما تكون قيمة PH > ZPC سيحدث تنافر كهربائي بين سطح MnO2 والبكتريا لاحتوائها على نفس الشحنة السالبة .نلاحظ من هذا السلوك بزيادة درجة الحموضة تسبب تقليل الشحنة الموجبة على سطح المحفز ، مما يحد من قدرة البكتريا السالبة الشحنة على التمسك بسطح المحفز [31].

URL: http://www.uokufa.edu.iq/journals/index.php/ajb/index
http://iasj.net/iasj?func=issues&jId=129&uiLanguage=en
http://www.drji.org/JournalProfile.aspx?jid=2073-8854
Email: biomgzn.sci@uokufa.edu.iq

Fig.3: Effect of PH on disinfection efficiency of bacteria at 0.2 g of MnO2.



4- الاستنتاجات .

وجود العامل المحفز والضوء ضروري لتوليد الفجوات الموجبة الشحنة والالكترونات السالبة المثارة (e-/h+) وهذه الازواج مهمة جدا لحدوث عملية التطهير للمحلول البكتيري ، ومن الواضح أنه غياب كل من MnO2 أو الأشعة فوق البنفسجية ، يسفر عن مقتل الكائنات الحية الدقيقة بمرور الوقت بصورة منخفضة جدا ، في حين وجود كل منهما فعملية التعقيم الضوئي المحفز للمياه من الكائنات الحية الدقيقة تمتاز بكفاءة عالية جدا لأنه

بحضور كلا من MnO2 و الأشعة فوق البنفسجية ، ينتج جذور الهيدروكسيل (OH.) الحره التي تعتبر عامل مؤكسد قوي للكائنات الحية وبالتالي قتلها اي انه عملية التطهير تتم خلال 20 دقيقة وبنسبة هي 100 ٪.

الزيادة في كفاءة التطهير إلى حد كبير من خلال زيادة الوزن للمحفز من (0.2 -0.1) غرام بسبب زيادة امتصاص الضوء الساقط من قبل MnO2 وبالتالي زيادة فعالية السطح ، ولكن الزيادة المبالغ بها في كمية الحافز يخفض من نسبة كفاءة التطهير بسبب زيادة عامل الحجب للضوء الساقط على المحلول البكتيري ومنع وصول الضوء الى جزيئات المحفز فتقل عملية الاثارة الالكترونية على سطح المحفز مؤدية الى خفض كفاءة عملية الاكسدة الضوئية المحفزة للبكتريا .

وقد لوحظ تأثير درجة الحموضة في تثبيط البكتيريا فكانت اقصى درجات التثبيط عند PH = 5 لأنه في هذا الرقم الهيدروجيني تكون شحنة المحفز موجبة وبما انه *بكتريا E.Coli* سالبة الشحنة وهذا يزيد من امتزاز البكتيريا على سطح محفز وأكسدتها وبالتالي موتها.

5-Reference

1- Shibata, T. and Rose . J.B.(2006).Preliminary Water Quality Testing of Lake Huron Shoreline Muck Samples .Microbiological Water and Health Laboratory, Department of Fisheries and Wildlife, Michigan State University, 13 Natural Resources, East Lansing, MI 48824. October 19.

2- Van der Drift, C .; Van Seggelen, E .; Stumm, C .; Hol, W and Tuinte. (1977). J Appl Environ Microbiol. Sep; 34(3): 315–319 .

3-Tonni Agustiono Kurniawan ,Gilbert. Y.S; Chana , Wai-Hung Lo. and Sandhya .(2006).BabelJ.Chemical Engineering ,Vol.(118),P.83-98.

4-Zhanhu Guo ; Xiaofeng Liang; Tony Pereira,R.S. and Thomas, H. (2007). Hahn,Composites Science and Technology.,Vol.(67),P.2036-2044.

5-Morones J.R.; Elechiguerra J.L.; Camacho A .;Holt K .;Kouri, J.B. and Ramirez,

J.T.(2005) Nanotechnology,Vol.(16),P.2346-2353.
6- Oussi, D.; Mokrini, A. and Esplugas, S. *(*1997*).J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*; Vol.(1), p.77.
7- Gamage J.; and Zhang, Z .(2010) *International Journal of Photoenergy;*Article ID 764870, p. 11.
8- Grieken, R.; Marugán, J.; Sordo, C.; Pablos, C. (2009*)Catalysis Today*, Vol.(144),p. 48-54 ,.
9- Karamat , S .; Mahmood, S.; Lin , J.J .; Pan , Z.Y .; Lee , P .; Tan , T.L .; Springham , S.V .; Ramanujan , R.V .; Rawat , R.S . (2008.)J. Applied Surface Science,Vol.(254),P.7285-7289 .
10- Rahmani , A.R.; Samarghandi, M.R.; Samadi , M.T and Nazemi, F.(2009). *J Res Health Sci*, Vol. (9),No. 1, pp. 1-6.
11- Huang, Z.; Maness, P.; Blake, D. M .; Wolfrum, E.J .; Smolinski, S. L. (1999) " Bactericidal mode oftitanium dioxide photocatalysis".
12- Grainger, J. ; Hurst, J.; and Burdass,D. (2001). Basic Practical Microbiology : Amanual . The Society for general Microbiology . www.microbiologyonline.org.uk.
13- Nirmala, G.A and Pandian , K. (2007)*Physicochem. Eng. Aspects* Vol.(297),p: 63–70.
14- Zhang , L. ; Jiang, Y. ; Ding, Y. ; Daskalakis, N.; Jeuken, L.; Povey, M .;Oneill , A and York,D.(2010*). Mechanistic Investigation into Antibacterial Behaviour of Suspensions of ZnO Nanoparticles Against E. Coli*. Springer Netherlands.
15- Sunada , K.; Kikuchi , Y .; Hashimoto K. and Fujshima ,A.(1998). *Environ. Sci.Technol*. Vol.(32),p:726–728.
16-Stafford, U .; Gray, K.A and Kamat, P.V. (1994*) .Amer.Chem.Soc*.,Vol.(98),p:25.
17-Ahia , A.J and Hussein , F.H.(2001) *National J.Chem*.,Vol.(2),p:230.
18- Kim, T.Y .; Park, K.H .; Jeoung, T.G .; Kim , S.J and Cho, S.Y . (2006).The Anual meeting SanfranciscoCA.
19- Blak, D. M .; Maness, P. C .; Hung, Z .; Walfrum, E. J. and Huang, J. (1999*) Separation and purification methods*,Vol.(28),p:1.
20- Gaswami, J.M.(1987) Proceeding of a book Lodge symposium,Bethesda,Md: *Upjohn Co*.,9.
21- Diener, A.C. and Ausubel, F.M. (2005).Dominant *Arabidopsis Disease*, Vol.(171),p:305.
22- P.Lopez, M. I .; Ibanez, P F .; Fernandez,I. I. G .; Oller, Transito, I. S. and Sichel, C .(2010) *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 85, pp. 1038–1048.
23- Parra, S.P.(2001) .Ph.D.Thesis,chemist,universidedOCL Vall,*Coli Colomble*, 6.
24- Cheng, Y.W .; Chan, R.C.Y .; Wong, P.K.(2007) .*Water Research*.; Vol.(41): p:842-852.
25- Eaton, A.D .; Glesceri, L.A. and Greenberg ,E.(1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed.New York, APHA, AWWA, WEF,.
26- Shivaraju, H.P.(2011). *International Journal of Environmental Sciences* ;Vol.(1), No 7.
27-ZHUZhi-Liang ,MA.; Hong-mi, ZHANG Rong- hua, G.E.; Yuao-Xin and ZHAO Jianfu.(2007) J.Environmental Sciences ,Vol.(19),P.652-656.
28- Wensheng Zhang ,Pritam Singh and Touma B.Issa.(2011) .J.Water Resource and Protection ,Vol(3),P.655-660.
29- Hoseini , A .; Shahtahmasebi, N .; Azhir, E .; Madahi, P .and Mashreghi, M. (2012). Proceedings of the 4th International Conference on Nanostructures .
30-Bart Gottenbos, Dirk ,W.Grijpma ,Henny C.,Vander mei ,Jan Feijen and Henk J. (2001). Busscher,.Antimicrobial Chemotherapy ,Vol.(48),P.7-13.
31- Seven, O.; Dindar,B.; .Aydemir, S.; Metin , D. (2004*) J. Photochemistry Photobiology A :Chemistr*y.; Vol.(165) ,p: 103-107.