

Investigation of the survival of bacteria under the influence of supporting electrolytes KCl, Cul and NaBr in the electrochemical method

ABSTRACT

Background and Aim: Drinking water pollution is a serious threat for public water supply. Water disinfection has a very important role in the reduction of pathogenic microorganism. Water electrodisinfection is an efficient and cost-effective method in water disinfection. The aim of this study was the survey of inactivation in two types bacteria (as index and resistant) by electrochemical process in the presence of supporting electrolytes.

Materials and Methods: Inactivation of E.Coli and Bacillus subtilis spore was studied at current intensity of 500mA, with each of the supporting electrolytes including Cul, NaBr and KCl. The type of electrodes was steel and the distance between electrodes was 2cm. Furthermore, the tests carried out in monopolar mode Fe-Fe, neutral pH and experimental temperature (21 °C). The number of bacteria, amount of supporting electrolyte, voltage, and electrochemical action time were investigated.

Results: Adding the supporting electrolytes to the electrochemical disinfection process decreased bacterial resistance. Copper iodide (Cul) on 2 mg/l concentration showed more efficiency in bacterial inactivation.

Conclusion: Supporting electrolyte Cul with concentration of 2 mg/l both enhances the electrochemical process performance due to an increase in ionic transmission rate and voltage current. Also, this decreases electrochemical inactivation time and increases bactericidal effect.

Document Type: Research article

Keywords: Water disinfection, Supporting electrolyte, Escherichia coli, Bacterial spore

Solmaz Gholami

Msc Student, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Maziar Naderi

Phd Student, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Masoumeh Moghaddam-Arjmand

* Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (Corresponding Author), Email: arjmand@sina.tums.ac.ir

Received: 2018/05/01

Accepted: 2018/07/19

► **Citation:** Gholami S, Naderi M, Moghaddam-Arjmand M. Investigation of the survival of bacteria under the influence of supporting electrolytes KCl , Cul and NaBr in the electrochemical method. *Iranian Journal of Research in Environmental Health*. Summer 2018;4 (2) : 104-111 .

بررسی بقای باکتری‌ها تحت تأثیر الکتروولیت‌های حمایتی CuI , KCl و NaBr در روش گندزدایی الکتروشیمیایی آب

چکیده

زمینه و هدف: آلوده شدن آب آشامیدنی به میکروب‌های بیماری زا، تهدیدی جدی برای سیستم‌های آبرسانی عمومی است. در تصفیه آب، فرایند گندزدایی نقش بسیار مهمی در کاهش عوامل میکروبی ایفای می‌نماید. استفاده از روش گندزدایی الکتروشیمیایی آب مبتنی بر تکنولوژی پیشرفته تامین آب این، کارآمد و دور از محصولات جانبی گندزدایی سیستم‌های متداول رو به گسترش است. هدف ازانجام این مطالعه، ارائه روشی موثر جهت غیرفعال سازی دوگروه باکتری‌های شاخص و مقاوم در آب آشامیدنی است.

مواد و روش‌ها: حذف اشربیاکلی و اسپور باسیلوس سوبیلیس تحت تأثیر شدت جریان 500 mA و حضور جداگانه هر یک از الکتروولیت‌های CuI , KCl , NaBr مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش‌ها بر اساس حالت مدادصال مونوبلار Fe_Fe با الکترودهای استنلس استیل و با فاصله 2 cm از یکدیگر، pH طبیعی آب (حدوده خنثی) ودمای محیط (حدود 21°C) انجام شد. متغیرهای تعداد باکتری، میزان الکتروولیت حمایتی، میزان جریان القابی، و زمان واکنش مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: افودن الکتروولیت‌های حمایتی باعث کاهش مقاومت باکتری‌ها در مقابل غیرفعال سازی الکتروشیمیایی گردید. الکتروولیت حمایتی یدیدمیس (CuI) در مقایسه با الکتروولیت‌های KCl و NaBr راندمان بالاتری را در غیرفعال سازی باکتری‌ها ارائه نمود.

نتیجه‌گیری: غلظت 2 mg/L الکتروولیت حمایتی CuI . ضمن ارتقاء توانایی فرآیند الکتروشیمیایی، به دلیل افزایش سرعت انتقال یونی و بهبود برقراری اختلاف پتانسیل سیستم، زمان تماس واکنش برای غیرفعال سازی میکری را کاهش و تأثیر میکریکشی را افزایش می‌دهد.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

کلید واژه‌ها: گندزدایی آب، الکتروولیت حمایتی، اشربیاکلی، اسپور باکتری

◀ استناد: غلامی س، نادری م، مقدم ارجمند م. بررسی بقای باکتری‌ها تحت تأثیر الکتروولیت‌های حمایتی NaBr و KCl , CuI در روش گندزدایی الکتروشیمیایی آب. *فصلنامه پژوهش در بهداشت محیط*. تابستان ۱۳۹۷-۱۰۴:۲(۴):۱۳۹۷-۱۱۱.

مقدمه

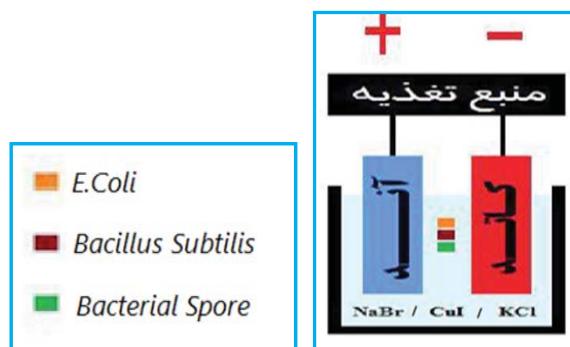
حضور باکتری‌های بیماری‌زا در سیستم توزيع آب آشامیدنی، یکی از نگرانی‌های اصلی مسئولین صنعت آب است. اشیائیاکلی در ارزیابی کیفیت باکتریولوژیک آب آشامیدنی، به عنوان شاخص آводگی میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱) و نباید در آب تصفیه شده وجود داشته باشد و حضور آن، آب را غیرقابل شرب و نیازمند تصفیه و گندزدایی بیشتر می‌نماید (۲). در منابع آب، آводگی به باکتری‌های کلیفرم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و گونه‌های بیماری‌زا آن موجب مشکلات بهداشتی متعددی می‌شود. برای تعیین کیفیت میکروبی آب آشامیدنی از ارگانیسم‌های شاخص استفاده می‌شود. ارگانیسم‌های شاخص شامل اشیائیاکلی، کلیفرم‌های گوارشی گرمایی، مجموع کلیفرم‌ها، استرپتوکوک گوارشی و کلستریدیوم پرفرنژنس می‌باشند. معمول‌ترین روش برای آزمایش کیفیت بهداشتی باکتریولوژی آب آشامیدنی، روش آزمایش باکتری‌های کلیفرم و اشیائیاکلی است (۳).

انتخاب مدل جایگزین اسپور باسیلوس سوبتیلیس به دلیل برخورداری از مقاومت مشابه کیست تک یاخته‌ای‌ها، به عنوان مقاوم‌ترین عامل میکروبی در برابر ضدغوفونی کننده‌ها، می‌تواند به عنوان شاخص مناسب پایش سیستم آب رسانی آشامیدنی استفاده شود (۴-۶).

باسیل‌ها و کلستریدیاها مختلف هنگامی که تحت تأثیر فشارها مانند گرسنگی قرار می‌گیرند، یک نوع سلول خفته تولید می‌کنند که اسپور نامیده می‌شود و می‌تواند در طیف گسترده‌ای از هجوم که سبب تخرب سلول‌های رویشی می‌شود، مقاومت کند. چند لایه اطراف اسپور را تشکیل می‌دهند. این لایه‌ها اغلب از بیش از ۲۵ گونه‌های پلی‌پپتیدی متقطع تشکیل شده که به مقاومت اسپور کمک می‌کنند (۷). یکی از روش‌هایی که طی سال‌های اخیر توسعه زیادی داشته است، کاربرد روش الکترولیز در جنبه‌های مختلف بهسازی محیط بوده است (۸). روش الکتروشیمیایی در دهه‌های اخیر جهت حذف آلاینده‌های

مختلف و حفظ کیفیت محیط زیست و ارتقاء سلامت جوامع، به طور موفقیت‌آمیز در کشورهای توسعه یافته مورد استفاده قرار گرفته است (۹). Tsolaki و Diamadopoulos (۲۰۱۰) دریافتند که اکسیداسیون مستقیم سطح آند، در غیرفعال‌سازی الکتروشیمیایی میکروب‌ها مؤثر است (۱۰). مطالعه López-Gálvez و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که گندزدایی آب در روش الکتروشیمیایی به واسطه استفاده از الکتروولیت حمایتی NaCl، علاوه بر مؤثر بودن نسبت به کلر متداول، باعث کاهش تشکیل ترکیبات جانبی در آب می‌گردد (۱۱). در روش الکتروشیمیایی، میکروارگانیسم‌ها توسط جریان الکتریکی متلاشی می‌شوند (۱۲). در این روش، جریان الکتریکی در حضور مولکول اکسیژن سبب تولید هیدروژن پراکسید و ازن می‌شود و همچنین زمانی که یون کلر در محلول وجود داشته باشد، سبب تولید کلر آزاد و دی‌اکسیدکلر می‌شود (۱۳). فعالیت میکروب‌کشی اکسیژن محلول به عنوان محصول اصلی واکنش آندی علیه باکتری‌های هوازی و تولید مواد اکسیداتیو شیمیایی از اکسیژن محلول نظری پراکسید هیدروژن (پتانسیل اکسیداسیون کم)، هیدروکسیل و ازن (پتانسیل اکسیداسیون زیاد) از جمله مکانیسم‌های روش الکتروشیمیایی محسوب می‌شود (۱۴). تأثیر اکسید کنندگی و مرگ سلول میکروبی ناشی از تولید مواد اکسیدکننده در واکنش الکتروشیمیایی، تراوا شدن غیر قابل برگشت غشاء سلولی با اعمال میدان الکتریکی و نیز اکسیداسیون الکتروشیمیایی سلول‌های حیاتی به هنگام مواجهه با جریان الکتریسیته و یا وارد شدن در میدان الکتریکی، از جمله مکانیسم‌های میکروب‌کشی الکتروشیمیایی است (۱۵). عدم نیاز به افزودن مواد شیمیایی، سهولت کاربری و تجهیزات توسط فرآیند الکتروشیمی، از جمله مزایای گندزدایی آب نسبت به سایر روش‌هاست (۱۶). فرآیند الکتروشیمی از توانایی تولید عوامل قوی ضدمیکروبی برخوردار بوده و با استفاده از کلرید (Cl⁻) موجود در آب و الکتروولیت‌های حمایتی مناسب، فرآیند ضدغوفونی آب را به خوبی انجام می‌دهد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر الکتروولیت‌های حمایت کننده

به تهیه اسپور باکتریال گردید. استریل سازی محیط های کشت به روش اتوکلاو در دمای 121°C و به مدت 15 min انجام شد. جهت ارزیابی تعداد باکتری های زنده مانده پس از انقضای فاصله زمانی طراحی شد، به روش پورپلیت و انتقال به محیط های کشت و شمارش (CFU) انجام شد. غلظت های مختلف الکتروولیت های حمایتی به طور روزانه تهیه گردید.



شکل ۱. شمای راکتور مورد استفاده در تحقیق

یافته ها

داده های جدول شماره ۱ تاثیر اختلاف پتانسیل سلول الکتروشیمیایی حاوی الکتروولیت های حمایتی ($\text{Cu}=2\text{ mg/L}$, $\text{KCl}=5\text{ mg/L}$, $\text{NaBr}=10\text{ mg/L}$) را بر غیرفعال سازی اسپور در $\text{pH}=7$ و دمای محیط ارائه نموده است.

در غیرفعال سازی الکتروشیمیایی باکتری ها و برگزیدن الکتروولیت مناسب جهت حذف باکتری های آب انجام شد.

روش کار

در این مطالعه که به صورت تجربی - آزمایشگاهی صورت گرفت، از راکتور الکتروشیمیایی متشکل از دو الکترود استنلس استیل با ابعاد $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ (به فاصله 2 cm از یکدیگر) و با گنجایش مفید 100 CC استفاده شد. منبع تغذیه برق مستقیم (DC) جهت تأمین جریان القایی مورد نیاز، منظور شد (شکل ۱). تعداد نمونه ها و اجرای ران های الکتروشیمی با استفاده از نرم افزار R تعیین گردید.

سویه باکتری های اشريشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس از کلکسیون میکروبی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شد. به منظور فعال سازی مجدد باکتری ها، از محیط های کشت نوترینت آگار، TSA و EMB (محصول مرک آلمان) استفاده شد. تمامی پلیت های کشت داده شده به منظور رشد اشريشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس به مدت 24 h در انکوباتور با دمای 35°C قرار داده شدند. با قرار دادن کشت حاوی کلنی های باسیلوس سوبتیلیس در دمای 25°C به مدت یک هفته، اقدام به منظور رشد اسپور باسیلوس سوبتیلیس در دمای 30°C نموده است.

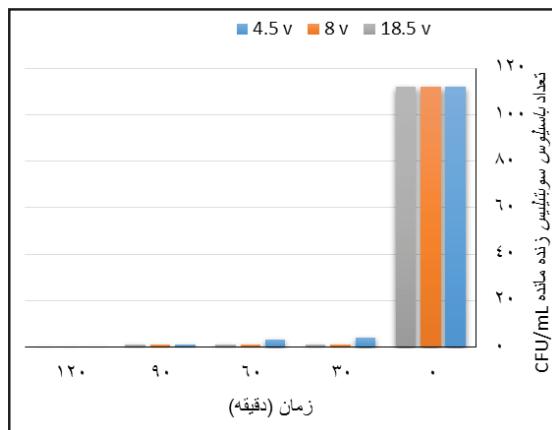
جدول ۱. تأثیر جریان الکتریسیته بر روی رشد اسپور باسیلوس سوبتیلیس (تعداد کلنی)

الکتروشیمیایی کننده	۱۵ min پس از گندزدایی	۱۰ min پس از گندزدایی	۵ min پس از گندزدایی	آب آلوده قبل از گندزدایی الکتروشیمیایی	الکتروولیت حمایت (mg/L)	ولتاژ
۵۰	۶۰	۷۳	غیرقابل شمارش	CuI	volt ۴/۵	
۷۸	۹۰	۹۲	غیرقابل شمارش	NaBr		
۸۵	۹۰	۱۰۰	غیرقابل شمارش	KCl		
۴۷	۵۸	۷۰	غیرقابل شمارش	CuI	volt ۶/۵	
۷۱	۸۰	۹۰	غیرقابل شمارش	NaBr		
۸۲	۸۷	۹۹	غیرقابل شمارش	KCl		
۴۰	۵۳	۶۳	غیرقابل شمارش	CuI	volt ۸	
۷۰	۷۸	۸۸	غیرقابل شمارش	NaBr		
۷۳	۷۸	۹۱	غیرقابل شمارش	KCl		

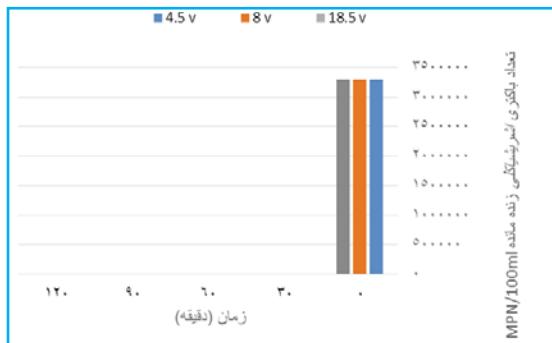
بالاتری در کاهش پاتوژن ها برخوردار بود؛ به طوری که به مدت زمان بیشتری برای حذف کامل اسپور باسیلوس سوبتیلیس نیاز بود.

در جدول ۱ کاهش تعداد کلنی باکتری و افزایش گندزدایی آب با گذشت زمان مشاهده می شود. از بین الکتروولیت ها، یدیدمس از راندمان

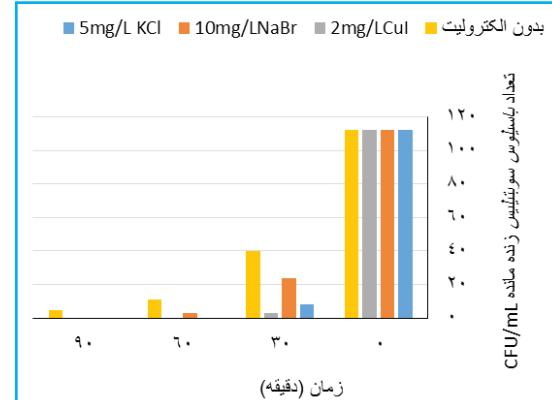
نتایج بررسی بقای تعداد باکتری باسیلوس سوبتیلیس و اشريشیاکلی در راکتور الکتروشیمیایی بدون الکتروولیت حمایت کننده، در شکل های ۳ و ۴ ارائه شده است.



شكل ۳. تعداد باکتری باسیلوس سوبتیلیس زنده مانده در جریان الکتریکی 500 mA در $\text{pH}=7$ (بدون الکتروولیت)

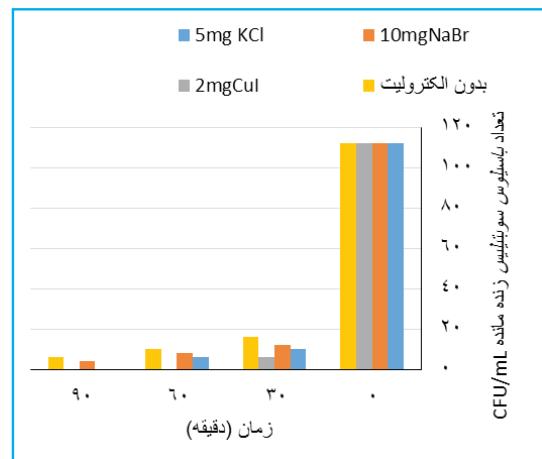


شكل ۴. بررسی تعداد اشريشیاکلی زنده مانده در جریان الکتریکی 500 mA با $\text{pH}=7$ (بدون الکتروولیت)



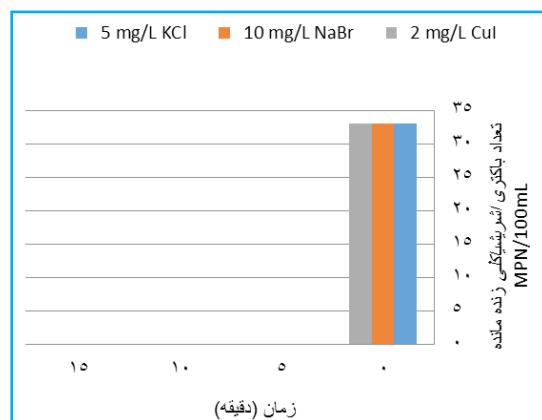
شكل ۵. تعداد باسیلوس سوبتیلیس زنده مانده در جریان الکتریکی 500 mA توأم با حضور حمایت کننده‌های الکتروولیتی پتابسیم کلراید، سدیم برمید و یدیدمس در ولتاژ ۸ ولت و $\text{pH}=7$

نتایج حاصل از تأثیر جریان الکتریسیته و همچنین الکتروولیت‌های مورد نظر بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس در شکل ۱ نشان داده شده است. در این شکل کاهش تعداد باکتری با گذشت زمان مشاهده می‌گردد. الکتروولیت CuI بهتر از دو الکتروولیت دیگر عمل کرده و NaBr قدرت کمتری در کاهش رشد باکتری ارائه نمود.



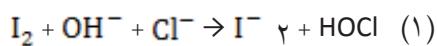
شكل ۱. بررسی تعداد باسیلوس سوبتیلیس زنده مانده در جریان الکتریکی 500 mA توأم با حضور حمایت کننده‌های الکتروولیتی پتابسیم کلراید، سدیم برمید و یدیدمس در ولتاژ $4/5$ ولت و $\text{pH}=7$

تأثیر جریان الکتریسیته و الکتروولیت‌ها بر باکتری اشريشیاکلی در شکل ۲ نشان داده شده است. این باکتری پس از 5 min حذف شد که نشان‌دهنده برخورداری آن از مقاومت کمتر در برابر الکتروولیز می‌باشد.

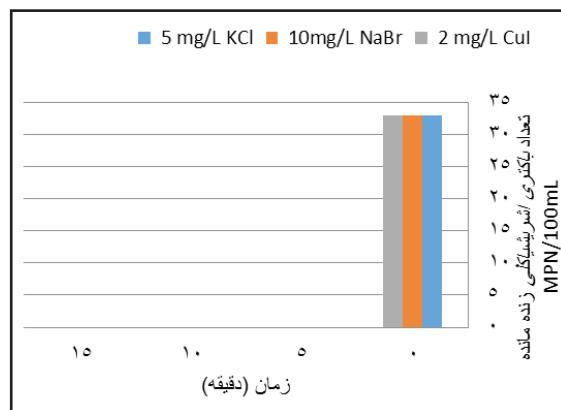


شكل ۲. تعداد باکتری اشريشیاکلی زنده مانده در جریان الکتریکی 500 mA توأم با حضور حمایت کننده‌های الکتروولیتی پتابسیم کلراید، سدیم برمید و یدیدمس در ولتاژ $4/5$ ولت و $\text{pH}=7$

کاربرد وسیع کلر، دی‌اکسیدکلر، ازون و پرتو فرابنفش، باقی ماندن کیست‌های بسیار مقاوم ژیاردها و کریپتوسپوریدیوم در آب، اثربخشی گندздایی متداول را با چالشی بزرگ روپرتو ساخته است (۱۸، ۱۹). تکنولوژی الکتروشیمی با استفاده از الکترودها و الکترولیت‌های مناسب، با برخورداری از قابلیت تولید عوامل اکسیداتیو قوی رادیکال هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن، اکسیداتیو کلر فعال آزاد، می‌تواند بر عملکرد غشاء سلولی و اکسیداسیون کوآنزیم سلول اثر کرده و شرایط غیرفعال‌سازی و حذف سلول میکروبی را فراهم سازد (۲۰). افزایش ولتاژ، باعث افزایش انتقال الکترون و در نتیجه ارتقاء اثر ضد میکروبی سیستم الکتروشیمی می‌گردد (۱۶). با توجه به مقایسه عملکرد الکترولیت‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر، می‌توان دریافت که الکترولیت حمایت کننده دیدمیس (CuI) بیشترین تأثیر را بر غیرفعال‌سازی میکروبی داشته است. این پدیده را می‌توان به بالا بودن سرعت انتقال یونی Cu⁺ و بهبود برقراری اختلاف پتانسیل سیستم نسبت داد که امکان برقراری جریان القایی را در ولتاژ پایین ممکن می‌سازد. برقراری میدان الکتریکی کارآمد، در ایجاد اختلال در نفوذپذیری غشاء سلولی مؤثر بوده؛ به طوری که ورود ید مولکولی را تسريع می‌کند. هالوژن ید دارای فعالیت ضد میکروبی ضعیف‌تری نسبت به کلر است. ید مولکولی با نفوذ به دیواره سلولی میکروبی و مداخله در واکنش‌های متابولیک پروتوبلاست، سبب مرگ آنها می‌شود. مکانیسم اثر فرآیند الکتروشیمی حاوی Cu⁺ به صورت رابطه ۱ خواهد بود:



افزایش زمان الکترولیز به دلیل تولید بیشتر محصولات حاصل از الکترولیز باعث بهبود فرآیند گندздایی می‌شود. در طی فرآیند الکترولیز، یون‌های هیدروکسیل و Cl⁻ به ترتیب بر روی الکترودهای کاتد و آند تولید می‌شود. این محصولات مسئول گندздایی آب هستند (۲۱). در پژوهش Rahmani (۲۰۰۴)، از روش الکترولیز در گندздایی آب‌های صنعتی استفاده شد. در نتیجه در زمان ۵ min کاهش معنی‌داری از تعداد



شکل ۶. بررسی تعداد باکتری اشريشياکلی زنده مانده در جریان الکتریکی ۵۰۰ mA تؤمن با حضور حمایت کننده‌های الکترولیتی پناسیم کلراید، سدیم برومید و دیدمیس در ولتاژ ۸ ولت با pH=۷

نتایج حاصل از تأثیر جریان الکتریسیته و الکترولیت بر روی رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس در شکل ۵ نشان داده شده است. مقایسه روند کاهش تعداد باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس در سیستم‌های بدون الکترولیت حمایت کننده و با الکترولیت حمایت کننده، نشان‌دهنده اثربخشی قابل توجه الکترولیت‌های حمایتی در غیرفعال‌سازی باکتری‌ها بوده است. بر اساس نتایج حاصل از تأثیر زمان در معرض جریان قرار گرفتن با کلنی‌های باکتری اشريشياکلی و باسیلوس سوبتیلیس مشخص شد که افزایش الکترولیت و زمان در کاهش تعداد این باکتری نیز تأثیر مثبتی داشته است. همچنین نتایج حاصل از تأثیر جریان الکتریسیته و الکترولیت‌ها بر روی رشد باکتری اشريشياکلی در نمودار ۶ نشان داده شده است. در این نمودار کاهش تعداد کلنی‌های باکتری و افزایش گندздایی آب با گذشت زمان مشاهده می‌شود. باکتری اشريشياکلی از مقاومت کمتری در مقابل الکتریسیته برخوردار بود، اما باسیلوس سوبتیلیس مقاومت بیشتری داشته و افزودن الکترولیت سبب تسهیل در حذف این باکتری شد.

بحث

شیوع بیماری‌های گاستروانتریت، هپاتیت A و E، ژیاردهیازیس و کریپتوسپوریدیوزیس به واسطه مصرف آب آلوده، سالانه جان بسیاری از افراد جهان را به مخاطره می‌اندازد (۱۷). علی‌رغم

الکتروودها بستگی دارد (۲۴). نتایج پژوهش رحمانی و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که قدرت گندздایی الکتروودها به ترتیب $St-St > St-Al, St-Cu > Cu-Cu, Al-Cu > Al-Al$ می‌باشد (۱۵).

نتیجه گیری

افزودن الکتروولیت‌های حمایت کننده، سبب افزایش توانایی غیرفعال‌سازی فرآیند الکتروشیمیایی می‌گردد. با اضافه کردن جداگانه هر یک از الکتروولیت‌های حمایتی کلرید پتاسیم، برومید سدیم و یدید مس به سیستم الکتروشیمیایی، فرآیند غیرفعال‌سازی باکتری‌ها، در مدت زمان کوتاه‌تری صورت پذیرفته که می‌تواند در کاهش مصرف انرژی الکتریسیته اعمالی مؤثر باشد. الکتروولیت حمایت کننده یدید مس از قابلیت غیرفعال‌سازی بالاتری برخوردار است.

تشکر و قدردانی

تمامی تست‌ها در آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است. بدین‌وسیله از دانشگاه علوم پزشکی تهران برای در اختیار قرار دادن امکانات، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

کلیفرم‌ها در آب‌های صنعتی گزارش شد (۱۵). نتایج پژوهش Hoseini و همکاران (۲۰۱۶) در مورد تأثیر جریان الکتریکی بر باکتری اشريشياکلى ثابت نمود که اين باکترى با جریان مستقيم ۲۵ mA، پس از زمان ۱۰ ثانية در سوسپانسيون حاوي كلراید از بين می‌رود (۲۲). در مطالعه کسری کرمانشاهی و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی تأثیر میدان الکتریکی بر تعداد کلنی باکتری اشريشياکلى و استافيلوكوكوس اورئوس، جمعیت اين باکتری‌ها در مدت زمانی که توسط میدان الکتریکی تیمار شدند، کاهش یافت و تأثیر میدان الکتریکی بر روی باکتری اشريشياکلى نسبت به استافيلوكوكوس اورئوس بیشتر بود. تعداد کلنی‌های باکتری تیمار شده با میدان الکتریکی در طول مدت قرار گرفتن در معرض میدان الکتریکی افزایش نشان داد، اما این افزایش نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کمتر بود که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت (۲۲) میزان حساسیت باکتری‌های مختلف در شرایط یکسان غلظت و زمان تماس می‌تواند نسبت به هم بسیار متفاوت باشد (۲۲). طبق نتایج حاصل از مطالعه Rychen و همکاران (۲۰۰۳) کارایی گندздایی آب عمده‌تاً به زمان الکترولیز و جنس

References:

1. Delaedt Y, Daneels A, Declerck P, Behets J, Ryckeboer J, Peters E, et al. The impact of electrochemical disinfection on *Escherichia coli* and *Legionella pneumophila* in tap water. *Microbiological research*. 2008;163(2):192-9.
2. Kerwick M, Reddy S, Chamberlain A, Holt D. Electrochemical disinfection, an environmentally acceptable method of drinking water disinfection? *Electrochimica Acta*. 2005;50(25-26):5270-7.
3. Derayat J PM, Jafari Motlagh Z , Zinatizadeh A.A. Performance of Electrocoagulation Process in the Removal of Total Coliform and Heterotrophic Bacteria from Surface Water. *Journal of water & wastewater*. 2015.
4. Rice EW, Fox KR, Miltner RJ, Lytle DA, Johnson CH. Evaluating plant performance with endospores. *Journal of The American water works Association*. 1996;8(1):122-30.
5. Facile N, Barbeau I b. Prevost M, Koudjono B. Evaluating Bacterial aerobic spores as a surrogate for Giardia and Cryptosporidium inactivation by ozone. *Water Res*. 2000;34(12):3238-46.
6. Owens JH, Miltner RY, Rice Ew, Johnson CH, Dahling DR, Schaefer FW, et al. Pilot-Scale Ozone Inactivation of *Cryptosporidium* and Other Microorganisms in Natural Water. *Ozone: Science & Engineering*. 2000;22(5):501-17.
7. Driks A. *Bacillus subtilis* spore coat. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1999;63(1):1-20.
8. Massoudinejad MR MTA, Ghanbari F, Mirshafian. Evaluation of the Efficiency of electrolysis process with continuous flow in the disinfection of water contaminated with fecal coliform. *Arak Medical University Journal (AMUJ)*. 2014.
9. Kraft A. Electrochemical water disinfection: a short review. *Platinum metals review*. 2008;52(3):177-85.
10. Tsolaki E, P. P, Diamadopoulos E. Electrochemical disinfection of simulated ballast water using Artemia salina as indicator. *Chemical Engineering Journal*. 2010;156(2):305-12.
11. López-Gálvez F, D.Posada-Izquierdo G, V. Selma M, Pérez-Rodríguez F, Gobet J, I.Gil M, 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.
12. Rezaee A, Kashi G, Jonidi Jafari A, Khataee A. Investigation of *E. coli* Removal from PollutedWater Using Electrolysis

- Method. Iranian Journal of Health and Environment. 2011;4(2):201-12.
13. Gholami M, Nazari S, Yari AR, Mohseni SM, Matboo SA. Removal of *E. coli* and *S. aureus* from polluted water using electrolysis method with Al-Fe electrodes. Tehran University Medical Journal. 2017;75(2):85-95.
 14. Massoudinejad M, Yazdanbakhsh A, Mohamadi B, Habibe M. Possibility of making liquid Disinfectant from Electrolysis of NaCl. Safety Promotion and Injury Prevention. 2016;4(2):69-74.
 15. Rahmani Alireza sMR. Investigation of Coliform Removal from Drinking Water by Electrolysis. Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences & Health services. Summer 2008;15.
 16. Mogadam Arjmand A, Rezaee M, Naseri S, Eshraghi S. Study of sodium chloride supporting electrolyte on electrochemical removal of *Bacillus subtilis* spores from drinking water. Iranian Journal of Health and Environment. 2015;8(1):81-8.
 17. WHO. Death and Disability - adjusted life year (DALY) Rates , by WHO Region , World Health Organization. 2009.
 18. Fayer R, Speer C, Dubey J. General biology of Cryptosporidium. *Cryptosporidiosis of man and animals.* 1990:1-29.
 19. Taylor RH, Falkingham JO, Norton CD, LeChevallier MW. Chlorine, chloramine, chlorine dioxide, and ozone susceptibility of *Mycobacterium avium*. Applied and Environmental Microbiology. 2000;66(4):1702-5.
 20. Ghernaout D, Ghernaout B. From chemical disinfection to electrodisinfection: The obligatory itinerary? Desalination and Water Treatment. 2010;16(1-3):156-75.
 21. Drees KP, Abbaszadegan M, Maier RM. Comparative electrochemical inactivation of bacteria and bacteriophage. Water research. 2003;37(10):2291-300.
 22. Hoseini S.A., Amiri Kojuri S., Hashemi Karuei S.M. . Effects of Electrical Current on Fungal and Bacterial Removal from Water. 2016.
 23. Jin T, He Y. Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. Journal of Nanoparticle Research. 2011;13(12):6877-85.
 24. Rycken P, Haenni W, Pupunat L. Water treatment without chemistry. CHIMIA International Journal for Chemistry. 2003;57(10):655-8.