تحليل إحصائي للتركيب الآزوتي وعلاقته بالسلامة الميكروبيولوجية لمياه نبع حسان في منطقة القدموس

د. عطية خميس * د. مفيد ياسين ** مها رقيه ***

(تاريخ الإيداع 27 / 08 / 2020. قُبل للنشر في 17 / 11 / 2020)

□ ملخّص □

يعتبر الماء أساس الحياة على هذا الكوكب، وتعد المياه الجوفية مصدر هام لمياه الشرب في أغلب البلدان، ولكن نتيجة التطور الصناعي والزراعي والديموغرافي تعرضت المياه الجوفية لملوثات عديدة هددت صلاحيتها للشرب والري. تم قياس التلوث الميكروبي (القولونيات الكلية والبرازية) والشوارد الأزوتية (النترات والنتريت) شهرياً من تموز 2019 إلى حزيران 2020 في مياه نبع حسان في منطقة القدموس حيث تم إجراء تحليل عددي وإحصائي للبيانات المسجلة ومقارنتها مع المواصفات القياسية السورية والعالمية لمياه الشرب.

تباينت تراكيز كل من النتريت والنترات بشكل كبير خلال شهري تموز وتشرين الأول (أعلى من 0.012 و6 مغ/ل على التوالي)، بينما بقيت أقل من ذلك خلال كانون الأول-حزيران، بينما أظهر إجمالي القولونيات زيادة متواصلة طفيفة خلال سنة الدراسة (حوالي 100/CFU 11±160 مل) في حين أن القولونيات البرازية كانت أدنى من حد الكشف خلال تموز -تشرين الأول ولكنها ظهرت في تشرين الثاني وأظهرت زيادة طفيفة خلال كانون الأول-حزيران ولكن بقيت حوالي 100/CFU 12±73 مل.

أكد تحليل التباين ANOVA والتحليل العنقودي تغيراً واضحاً في تشرين الثاني 2019، استناداً إلى ظهور القولونيات البرازية والتغير المفاجئ للمؤشرات الإحصائية والديناميكية افترضنا أنه يمكن استخدام النترات والنتريت كمشعرات للتلوث الجرثومي لمياه الينابيع ولكن مراجعة الأدبيات بعناية لم تثبت هذا الطرح. ومع ذلك فإن مصادفة حدوث التغيرين في نفس الوقت من العام تفسح المجال لاحتمال وارد أن يكون هناك سبباً مشتركاً أدى لحدوث هذين التغييرين في مستوى الشوارد الأزوتية وتعداد القولونيات. يُبين تعداد كل من القولونيات الكلية والبرازية تعارضها مع المعايير السورية والعالمية لمياه الشرب وبالتالى الحاجة إلى تعقيم مياه نبع حسان قبل شربها.

الكلمات المفتاحية: مياه جوفية، نترات، نتربت، قولونيات برازية، قولونيات كلية، ارتباط، نبع، تلوث.

مدرس - قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

البريد الالكتروني: att.khamis@gmail.com

^{**} أستاذ - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

البريد الالكتروني: moufidy@tishreen.edu.sy

^{***} طالبة دراسات عليا (ماجستير) - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

البريد الالكتروني: maharockaya8@gmail.com

A Statistical Analysis of the Nitrogenous Composition and its Relationship with the Microbiological Safety of the Hassan Spring Water in Al-Qadmous City

Dr. Attiah Khamees*
Dr. Moufid Yassin**
Maha Rockaya***

(Received 27 / 8 / 2020. Accepted 17 / 11 / 2020)

\square ABSTRACT \square

Water is the basis of life on our planet, Ground-water is an important source of drinking water in many countries, but as a result of agricultural, industrial and demographic development, it has been exposed to many pollutants that have threatened its suitability for drinking and irrigation.

Microbial contamination (Total and Faecal coliforms) and nitrogenous water-pollutants (Nitrite and Nitrate) were measured monthly from July 2019 to June 2020, at the Hassan spring in Al-Qadmous region. Both Nitrite and Nitrate concentrations varied significantly through July-October (at higher than 0.012 and 6 mg/L respectively), while they remained below these levels through December-June. The total coliforms showed slight increase during the year, at around 160±11 CFU/100mL, while the faecal coliforms were not detectable through July-October but appeared in November and showed slight increase through December-June, at around the level 73±12 CFU/100Ml.

Rigorous Analysis of Variance (Excel-ANOVA) and Cluster Analysis (SPSS) confirmed the visibly significant change (p<<0.05), in a specified time (November,2019), in the pollutant levels or in their direction of change. Based on the appearance of faecal bacteria and the sudden change in the combined pattern of the calculated statistical and dynamic parameters, we hypothesized that nitrogenous ions in water could be used as indicators for microbial contamination but careful literature review did not substantiate this expectation. Nonetheless, the coincidence that the two changes happened at the same time keeps the possibility that a common reason triggered both changes. Both total and faecal coliforms counts were above the Syrian and International standards which raises the need to decontaminate the water of Hassan spring.

Keywords: Nitrite, Nitrate, Total Coliforms, Faecal Coliforms, Groundwater, Spring, Correlation, Contamination.

journal.tishreen.edu.sy

^{*} Assistant Professor - Biochemistry and Microbiology Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria. E-mail: att.khamis@gmail.com

^{**} Professor - Analytical and Food Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria. E-mail: moufidy@tishreen.edu.sy

^{***} Postgraduate Student (MSc) - Analytical and Food Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria. E-mail: maharockaya8@gmail.com

مقدمة:

يعد الماء أحد المكونات الضرورية للحياة على سطح الأرض فهو ضروري للإنسان والحيوان والنبات على حد سواء وهو المكون الأساسي للكائنات الحية ويشكل ما يقارب 80% من مساحة الكرة الأرضية، كما يمثل ثلثي الوزن الكلي للإنسان، وحوالي تسعة أعشار حجم النباتات، يصل احتياج الإنسان إلى خمسة لترات من الماء يومياً من أجل بقائه وفي الوقت ذاته فإن المحافظة على صحته ونظافته تتطلب من 40 إلى 50 لتر من الماء يومياً لكل شخص كحد أدنى، هذا عدا عن احتياجات الماء من أجل الزراعة والصناعة وتربية الحيوانات، حيث أن المجموع الكلي للاستهلاك قد يصل في بعض المناطق إلى ألف لتر لكل شخص. (Sawyer et al., 2000)

تعد المياه الجوفية مصدر قلق لمسؤولي الصحة العامة وخاصة في البلدان النامية حيث تعتمد أكثر من 60% من الأسر على المياه الجوفية كمصدر لمياه الشرب. (WHO, 2015) يعود هذا القلق إلى النطور الديموغرافي والتغير العالمي الذي يهدد نوعية المياه الجوفية بسبب تزايد الأعمال البشرية والصناعية والزراعية، والذي أدى بشكل مباشر أو غير مباشر إلى تلوث المياه بكائنات حية دقيقة ومواد كيميائية، كما خلق هذا التطور الديموغرافي عدم تكافؤ بين توزيع السكان في العالم وتوزيع المياه الصالحة للاستخدام حيث تتفاوت كمية المياه المتوافرة تفاوتاً كبيراً بين البلدان ويعاني جزءاً كبيراً من سكان الكوكب من نقص المياه أو انخفاض جودتها مما يجعلها غير صالحة للاستخدام البشري. (Jiang et al., 2009)

إن ملوثات المياه الجوفية عديدة وأهمها وجود تراكيز عالية من المعادن الثقيلة، وبعض النظائر المشعة، وتجاوز تراكيز بعض المعادن والمركبات الكيميائية – كالنترات والنتريت والفوسفور – للحدود الدنيا المسموحة، بالإضافة إلى المواد الكيميائية العضوية مثل المبيدات الحشرية والمبيدات العشبية، ومسببات الأمراض كالفيروسات وجراثيم القولونيات البرازية. (Rail, 1989)، وتتنوع مصادر هذه الملوثات فبعضها ذو منشأ طبيعي والآخر ناتج عن ممارسات بشرية غير مسؤولة كتسرب مياه الصرف الصحي بسبب إهمال الصيانة الدورية لأنظمتها، وصول الفضلات الحيوانية والبشرية لها، الإسراف في استخدام الأسمدة والمبيدات في الحقول الزراعية، تسرب الرشاحة من مطامر النفايات وغيرها الكثير. (Ravindra et al., 2019)

اعتُقد لفترة طويلة أن المياه الجوفية خالية تماماً من الملوثات الجرثومية، باعتبار أن فترة انتقالها خلال طبقات التربة طويلة بما فيه الكفاية لتنقيها، ومع ذلك فإن مخاطر تلوث المياه تكون واضحة عند النظر إلى الأمراض الناتجة عن الجراثيم في القرنين الماضيين والتي يمكن ربطها باستهلاك البشر للمياه الجوفية الملوثة كمصدر للشرب، حيث وفقًا لمنظمة الصحة العالمية WHO فإن 80% من الأمراض الانتانية تنتقل عن طريق المياه وإن عدد الوفيات الناتجة عن هذه الأمراض تجاوز 5 مليون سنوباً. (Pawari & Gawande, 2015; Craun et al., 2010)

توجد بعض الجراثيم في الوسط المائي بشكل طبيعي والآخر منقول إليها من مصادر عديدة كالغطاء النباتي أو التربة أو الملوثات البشرية والحيوانية التي تخرج مع البراز، وفي الحقيقة ليس من السهل الكشف عنها جميعها، حيث يستغرق ذلك وقتاً طويلاً وهو أمر مكلف مما دعا المنظمات الدولية لوضع معايير مكروبيولوجية للحكم على صلاحية المياه للشرب والاستخدامات المختلفة وذلك من خلال البحث عن مشعرات ميكروبية وكيميائية لتقدير حالة المياه الصحية (UNEPA/WHO,1996)، كالجراثيم القولونية الكلية تختلف اختلافاً كبيراً من حيث خصائصها المسببة وهي مزيج غير متجانس من الأجناس والأنواع المختلفة، والتي تختلف اختلافاً كبيراً من حيث خصائصها المسببة

للأمراض وفوعتها، وتنتشر على نطاق واسع في التربة والبيئات المائية، وليس من الضرورة أن تكون كل أفراد هذه العائلة ممرضة. (Feng & Hartman, 1982)

يعد وجود هذه الجراثيم في المياه الجوفية أمراً غير طبيعي ويدل على حدوث تلوث بالمواد البرازية أو خرق وتغيير في سلامة وأمن إمدادات المياه، حيث تشكل هذه الجراثيم خطراً صحياً ضئيلاً إلا أن وجودها يدل على احتمالية وجود الكائنات الحية الدقيقة الممرضة الأخرى التي قد تكون أكثر خطراً، أما في حال غياب جراثيم القولون في عينة ماء فإن هناك احتمال ضئيل جداً بوجود الكائنات الحية الأخرى في هذه العينة، وتشمل استثناءات مثل الجيارديا التي يمكن أن تظهر في الماء حتى عندما يعطي اختبار الجراثيم القولونية الكلي نتيجة سلبية. (Steven et al., 2003) وعلى الرغم من ذلك لا يزال اختبار القولونيات الكلي المعيار الأكثر شيوعاً لتحديد الصلاحية الميكروبية لمياه الشرب في جميع أنحاء العالم، (USEPA, 2010)

المشعر الآخر فهو الجراثيم القولونية البرازية Faecal Coliforms وهي عصيات سلبية الغرام غير متبوغة، تشكل مجموعة نمطية من القولونيات الكلية وتشمل أجناساً عديدة من الجراثيم الموجودة في البراز، مثل الإشريكية القولونية (Escherichia Coli) والكليبسيلا (Escherichia Coli)، تتميز بتحملها لدرجات حرارة مرتفعة تصل إلى 44.5°C لذك تسمى Thermo-tolerant Coliform وبهذا تعتبر مؤشراً أكثر دقة للتلوث البرازي من المجموع العام للقولونيات، فعند هذه الدرجة من الحرارة تنمو فقط الجراثيم القولونية البرازية، ويثبط نمو القولونيات بيئية المنشأ. (Tallon et al., 2005)، ولكن رغم أهمية اختبار وجود هذه الجراثيم في مياه الشرب سواء السطحية أو الجوفية أو مناه الصرف الصحي المعالجة، إلا أنها لا تشكل بديلاً عن اختبار القولونيات الكلي، حيث أن وجود أي نوع من (Leclerc et al., 2001)

من ناحية النترات والنتريت فهي عبارة عن شوارد تتواجد بشكل طبيعي كجزء من دورة الأزوت في الطبيعة، حيث تعتبر تراكيز النترات في المياه السطحية منخفضة (0-18 مغ/ل) وهي أعلى منها في المياه الجوفية بسبب حركية النترات العالية وقابليتها للغسل عبر التربة. أما تراكيز النتريت في المياه السطحية فتكون ضئيلة لأن النتريت شاردة غير ثابتة يتم استهلاكها من قبل بعض العوالق المائية، أما في المياه الجوفية فتراكيزها أقل بكثير منها في المياه السطحية، وذلك لأن شاردة النتريت لا تلبث أن تتأكسد إلى نترات، لهذا يعتبر وجودها في المياه مؤشراً على حدوث تلوث حديث العهد، مما يعني أن العامل الملوث يصل إلى المصدر المائي بشكل مباشر دون أن يستغرق زمناً كافياً لأكسدة النتريت إلى نترات. (Alia & Salman, 2014)

تظهر تقارير منظمة الصحة العالمية أنه في العشرين سنة الأخيرة تضاعفت تراكيز النترات حتى وصلت في بعض الأماكن لعدة مئات من الميليجرامات في اللتر الواحد، فعلى سبيل المثال وصلت تراكيز النترات إلى ما يفوق 1500مغ/ل في المياه الجوفية لبعض المناطق الزراعية في الهند (Jacks & Sharma 1983)، ويُفسر ذلك كنتيجة للنشاط الزراعي المتزايد والإسراف في استخدام الأسمدة الآزوتية غير العضوية (نترات الأمونيوم ونترات البوتاسيوم) التى ترشح عبر التربة مع مياه الري، بالإضافة لتلوث المياه بالفضلات البشرية والحيوانية (WHO,2011).

تعزى سمية النترات عند الإنسان بشكل رئيسي إلى إرجاعه إلى نتريت، حيث التأثير البيولوجي الرئيسي للنتريت في البشر هو مشاركتها في أكسدة الهيموغلوبين Hb الطبيعي إلى الميتهيموغلوبين Hb العاجز عن نقل الأكسجين إلى الأنسجة، تسمى الحالة عندما تصل تراكيز metHb إلى 10 % من تراكيز Hb الطبيعية وما فوق

بميتهيموغلوبينية الدم Methaemoglobinaemia وتسبب صداع، خفقان، زرقة، ضيق صدر وبتراكيز أعلى حماض شديد واختناق ينتهي بالموت وخاصة عند الأطفال اللذين أعمارهم أقل من ثلاثة أشهر (الطفل الأزرق Blue Baby) لذا بسبب الأخطار الصحية لهاتين الشاردتين فقد تشددت المواصفات القياسية العالمية في تعيين الحد الأعلى المسموح به في مياه الشرب بحيث لا يتجاوز 50 مغ ل و 3 مغ ل لكل من النترات والنتريت على التوالي. (WHO, 2011) قام الباحثون حول العالم بالعديد من المحاولات لربط محتوى الماء من المركبات الأزوتية مع تعداد البكتيريا ولكن لم (Dougui et al., 2012; Lamarani et al., 2008; Nola et al., 2002; Yahya et al., 2017)

انطلاقاً من هذه الحقائق كانت خطورة وحساسية مشاكل المياه سواء من نقص كميتها أو تلوثها بمواد تجعلها غير صالحة للشرب أو للاستعمالات البشرية الأخرى، لذا كان التفكير جدياً بحل هذه المشاكل قديماً وحديثاً، وأصبحت دراسة المياه من أهم المواضيع المطروحة في وقتنا الراهن، مما جعل لزاماً على أصحاب القرار والباحثين في الصحة العامة أن يولوا موضوع المياه والمحافظة عليها أهمية كُبرى.

أجري في هذه الدراسة تحري وجود مستعمرات القولونيات الكلية والقولونيات البرازية وقياس تعدادها بالإضافة لقياس تراكيز كل من النترات والنتريت لتحديد وجود علاقة ارتباط بينها وامكانية استخدامها كمشعرات لحدوث تلوث ميكروبي بفضلات بشرية و/أو حيوانية، ومقارنة تراكيزها مع مواصفات منظمة الصحة العالمية والمواصفات السورية لمياه الشرب بهدف تقدير جودة مياه نبع حسان.

تم إنجاز هذا البحث في مخابر كلية الصيدلة ومعهد البحوث البحرية بجامعة تشرين في الفترة الممتدة ما بين شهر تموز عام 2019 وشهر حزيران 2020.

أهمية البحث وأهدافه:

أهمية البحث:

يعد نبع حسان مورد مائي هام ودائم ولسكان منطقة القدموس وقراها وعابري السبيل وإن قربه من الأراضي الزراعية والجور الفنية للمنازل وطريق العام يربط الساحل بالداخل وعدم دراسته من قبل الجهات المختصة، جعل من المهم تقدير حالته الصحية واحتمالية احتواءه على ملوثات مسببة للأمراض، بهدف حمايته من مسببات التلوث والحفاظ على استدامته.

تتنوع أنماط البكتيريا الموجودة في المياه الجوفية تنوعاً كبيراً مما يجعل من الصعب الكشف عنها جميعها حيث يستغرق ذلك وقتاً وجهداً كبيرين بالإضافة للتكلفة العالية، لذا من المفيد البحث عن مشعرات للتلوث الميكروبي تكون أسهل قياساً وأخفض تكلفة.

أهداف البحث:

دراسة إمكانية استخدام تغير تراكيز المركبات الأزوتية غير العضوية (نترات، نتريت) كمشعرات لحدوث تغيرات في الحالة الميكروبية لمياه الينابيع الجوفية، والوقوف عند الحالة الصحية لنبع حسان في منطقة القدموس وذلك من خلال إجراء تحاليل دورية لمياه النبع على مدار سنة كاملة.

طرائق البحث ومواده:

• منطقة الدراسة:

يقع نبع حسان في قرية "كاف الجاع" في منطقة القدموس على ارتفاع 848 متر عن سطح البحر، على جانب الطريق العام الذي يصل منطقة القدموس من محافظة طرطوس مع منطقة مصياف من محافظة حماه.

تتميز المنطقة بصيف معتدل وشتاء بارد، ويبلغ تعداد السكان في المنطقة 22370 نسمة حسب تعداد عام 2004.



الشكل(1): موقع نبع حسان على الخريطة السورية

• الأجهزة والأدوات المستخدمة: استخدمت في هذه الدراسة مجموعة من التجهيزات المخبرية: مقياس الطيف الضوئي Vacuum مُخلية Incubator، مُخلية PVacuum، مُخلية المخبرية براثيم Vacuum، مُخلية المخبرية براثيم 2.45 ميكرون.

• المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة:

كاشف مقياس إرجاع الكادميوم (Nitraver® 5 Nitrate Reagent Powder Pillow)، محلول عياري من النترات (Nitriver® 3 Nitrite Reagent Powder)، كاشف مقياس الديأزة Nitrate Standard Solution)، وسط زرع الكولونيات البرازية (Nitrite Standard Solution)، وسط زرع الكولونيات البرازية (Tegritol 7 Agar)، وسط زرع الكولونيات الكلية (Tegritol 7 Agar).

طرائق البحث:

1. جمع العينات: تم جمع عينات مياه من نبع حسان في القدموس لإجراء التحاليل الكيميائية والميكروبية، بمعدل مرة واحدة كل شهر من تموز 2019 إلى حزيران 2020.

لم نأخذ عينات خلال شهري تشرين الأول وأيار وذلك بسبب بعض الظروف التقنية من جهة ومنع التنقل بين المحافظات خلال الحجر الصحى بسبب جائحة فيروس كورونا المستجد من جهة أخرى.

- 2. التحليل الكيميائي: تم جمع العينات في عبوات زجاجية نظيفة ومغسولة معدة لهذه الغرض، ثم قيست تراكيز النترات والنتريت:
- (a معايرة النترات: بطريقة طريقة Cadmium Reduction Method الموصى بها من قبل شركة HACH الأمريكية لتراكيز النترات الواقعة بين (30-0.3) مغ ل تعتمد طريقة القياس على إرجاع النترات إلى نتريت بواسطة معدن الكادميوم، يتفاعل النتريت مع حمض السلفانيليك بوسط حمضى لتشكيل ملح الديازونيوم الذي يقترن مع حمض

- الجينتزيك ليشكل محلول ذو لون عنبري (كهرماني- بين الأصفر و البرتقالي)، تقاس امتصاصيته عند طول موجة Spectrophotometer DR 6000.
- (b) معايرة النتريت: بطريقة Diazotization Method الموصى بها من قبل شركة HACH الأمريكية لتراكيز النتريت الواقعة بين (0.5-0.003) مغ لل تعتمد طريقة القياس على تفاعل النتريت مع حمض السلفانيليك لتشكيل ملح الديازونيوم الذي يقترن مع حمض الكروموتروبيك ليشكل معقد زهري اللون يتناسب طردياً مع كمية النتريت الموجودة وتقاس امتصاصيته عند طول موجة 507 نانومتر بواسطة جهاز المطياف Spectrophotometer DR
- 3. التحليل الجرثومي: تم جمع العينات في عبوات زجاجية نظيفة ومغسولة ومعقمة بالحرارة الجافة في فرن درجة حرارته 160 درجة مئوية لمدة ساعتين ونصف، ثم أجري تعداد جراثيم القولونيات الكلية والبرازية في 100 مل عينة بواسطة طريقة الترشيح الغشائي Membrane Filter Technique:

أقرت طريقة الترشيح الغشائي للمراقبة الدورية للمياه وخاصة مياه الشرب من قبل جمعية حماية البيئة EPA، وكان .Windle Taylor Burman-1964 أول من وصف هذه التقنية وطُورت بعد ذلك من قبل Windle Taylor Burman-1964. (USEPA, 2002)

تعتمد هذه الطريقة على ترشيح عينة من الماء عبر أغشية معقمة، تتألف من أملاح عضوية سيللوزية ذات ثقوب منتظمة، قطر كل منها 0.45 ميكرون، يسمح الغشاء للماء بالنفوذ عبرهن وتبقى الأحياء الدقيقة محتجزة على سطح الغشاء باستخدام مخلية هوائية وأدوات خاصة، تُوضع الأغشية على أوساط مناسبة وتُحضن بدرجات حرارة مناسبة ولمدة زمنية معلومة، بعد فترة الحضن يُشكل كل جرثوم مستعمرة على سطح الغشاء بلون وشكل مميزين، ثم تُعد المستعمرات في ال100 مل عينة (CFU/100 mL).

الجدول(1): الأوساط المستخدمة في الزرع الجرثومي

القولونيات الكلية Total Coliform	القولونيات البرازية Faecal Coliform	نوع البكتيريا
Tegritol 7 Agar	Membrane Faecal Coliform Agar	نوع الوسط
أخضر	أزرق	لون الوسط
37 درجة مئوية	44.5 درجة مئوية	درجة حرارة الحاضنة
24 ساعة	24-22 ساعة	زمن الحضن

4. التحليل الإحصائي: جُمعت البيانات في جداول برنامج Microsoft Excel، ثم قُمنا بحساب المؤشرات الإحصائية المختلفة من خلال الوظائف الداخلية للبرنامج، تم اختيار 30 حزيران 2019 ليكون صفر البداية ثم حولنا تواريخ أخذ العينات إلى الوقت المنصرم ابتداءً من الصفر محسوباً بالأيام، على سبيل المثال: أول تاريخ لأخذ العينات 10 تموز، هو اليوم العاشر بعد صفر البداية. (انظر الجدول-2-)

تم إجراء اختبار تحليل التباين Analysis of Variance) ANOVA) باستخدام الوظائف الإضافية الإحصائي للبرنامج الإحصائي Cluster Analysis بينما أجرينا اختبار التحليل العنقودي SPSS v. 26.

الجدول(2): تواريخ أخذ العينات بالنسبة ليوم 30/حزيران/2019 محسوبةً بالإيام

الزمن المنقضي منذ 30 حزيران	زمن الإعتيان
10	10/07
41	10/08
87	25/09
107	15/10
157	04/12
191	07/01
217	02/02
295	20/04
328	23/05
355	19/06

النتائج والمناقشة:

تم قياس التلوث الميكروبي (القولونيات الكلية والبرازية) والشوارد الآزوتية (النترات والنتريت) شهرياً من تموز 2019 إلى حزيران 2020 –عدا شهري تشرين الثاني وأيار – في مياه نبع حسان في منطقة القدموس حيث تم إجراء تحليل عددي وإحصائي للبيانات المسجلة ومقارنتها مع المواصفات القياسية السورية والعالمية لمياه الشرب، تباينت تراكيز كل من النتريت والنترات بشكل كبير خلال شهري تموز وتشرين الأول (أعلى من 0.012 و 6 مغ/ل على التوالي)، بينما بقيت أقل من ذلك خلال كانون الأول –حزيران.

أظهر إجمالي القولونيات زيادة متواصلة طفيفة خلال سنة الدراسة (حوالي 100/CFU 11±160 مل) في حين أن القولونيات البرازية كانت أدنى من حد الكشف خلال تموز –تشرين الأول ولكنها ظهرت في تشرين الثاني وأظهرت زيادة طفيفة خلال كانون الأول –حزيران ولكن بقيت حوالي 73±12 100/CFU مل. كما هو موضح في (الجدول3).

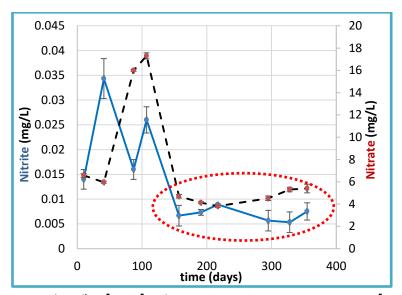
الجدول(3): المتوسط الحسابي لنتائج ثلاث مكررات من التحاليل الكيميائية والجرثومية خلال سنة الدراسة

• • • •		C .	• (,
الكولونيات البرازية CFU/100ml	الكولونيات الكلية CFU/100ml	النتريت مغ/ل	النترات مغ/ل	تاريخ العينة
ND*	144	0.014	6.57	تموز/2019
ND	149	0.0343	5.96	آب/2019
ND	166	0.016	16	أيلول/2019
ND	157	0.026	17.303	تشرين الأول /2019
64	154	0.0067	4.7033	كانون الأول/2019
67	153	0.0073	4.1267	كانون الثاني/2020
73	161	0.0089	3.81	شباط/2020
67	160	0.0057	4.52	آذار/2020
69	162	0.0053	5.31	نيسان/2020
98	187	0.0075	5.3967	حزيران/2020

^{*}ND= Not Detected أدنى من حد الكشف

يُظهر الشكل(2) التغيرات الزمنية لتراكيز النتريت والنترات، وأشرطة الخطأ التي تدل على الانحراف المعياري لثلاث قياسات متكررة لنفس العينة (خطأ القياس Measurement Error)، نجد بالمقارنة أن قياسات النتريت كانت أقل دقة من قياسات النترات.

كان متوسط الانحرافات المعيارية النسبية Average of Relative Standard Deviations (Average of المعيارية النسبية (Average of Coefficients of Variation (Average of CVs) المكررات RSDs) المكررات النتريت 8.18، بينما كان 0.03 للنترات. تُوضح هذه النسب (18% مقابل 3%) دقة قياس تراكيز النترات.



الشكل(2): التغيرات الزمنية لمحتوى مياه نبع حسان من النترات والنتريت خلال سنة الدراسة. يمثل الخط المستمر تراكيز النتريت (المحور العمودي الثانوي). توضح أشرطة الخطأ الانحراف المعياري لثلاث قياسات متكررة لنفس العينة

إن التغيرات في تراكيز النترات والنتريت خلال سنة الدراسة عائدة للتبدلات الفصلية وليس لأخطاء القياس وهذا ما اثبته التحليل الإحصائي حيث كان الانحراف المعياري النسبي الكلي Total Variation) Total CV لكل قياسات النترات والنتريت خلال سنة الدراسة 65% و 73% على الترتيب وبالتالي يمكننا استنتاج أن خطأ القياس (18% لم يكن ذو أثر هام على التباين الكلي، وهو ما يوضحه جدول(4) ANOVA أدناه بمقارنة الانحراف الناتج عن التغير عن أخطاء القياس (الانحراف ضمن المجموعات Variation Within Groups) مع الانحراف الناتج عن التغير الفصلي والزمني Seasonal and Temporal Variation والانحراف بين المجموعات Wariation Between (الانحراف بين المجموعات Seasonal and Temporal Variation) كلا المتغيرين النترات والنتريت.

المجموعات: قُسمت العينات ضمن 10 مجموعات (كل شهر مجموعة)، حيث كان حجم كل مجموعة 3 وهو عدد المتكررات للعينة الواحدة المأخوذة في كل شهر.

أظهرت نتيجة تحليل التباين ANOVA أن متوسط الانحراف ضمن المجموعاتANOVA) أي أن خطأ القياس يكاد لا أصغر بكثير من متوسط الانحراف بين المجموعات (Variation Between Groups) أي أن خطأ القياس يكاد لا

يذكر مقارنة بالتغيرات الفصلية الزمنية لكلا المركبين وهو تماماً ما أظهره تحليل ANOVA لكل من القولونيات الكلية والبرازية.

الجدول(4) تحليل أنوفا ANOVA للتباين الكلى لكل من النترات، النتريت، القولونيات الكلية والبرازية

P-value	F-value	متوسط مجموع المربعات Mean SS	درجة الحرية Degree of freedom	مجموع المربعات Sum of Squares (SS)	مصدر تباین نتائج النترات Source of Nitrate Variation
3.0 · 10 ⁻²⁷	1848	$7.4\cdot10^{1}$	9	$6.7\cdot 10^2$	بين المجموعات
		4.0 · 10 ⁻²	20	8.0 · 10 ⁻¹	ضمن المجموعات

P-value	F-value	متوسط مجموع المربعات Mean SS	درجة الحرية Degree of freedom	مجموع المربعات Sum of Squares (SS)	مصدر تباین نتائج النتریت Source of Nitrite Variation
1.5 · 10 ⁻¹²	60.4	2.9·10 ⁻⁴	9	2.6 · 10 ⁻³	بين المجموعات
		4.8·10 ⁻⁶	20	9.6 · 10 ⁻⁵	ضمن المجموعات

P-value	F-value	متوسط مجموع المربعات Mean SS	درجة الحرية Degree of freedom	مجموع المربعات Sum of Squares (SS)	مصدر تباین نتائج القولونیات الکلیة Source of Total Coliform Variation
1.1 · 10 · 8	23.13	407.81	9	3670.3	بين المجموعات
		17.63	20	352.67	ضمن المجموعات

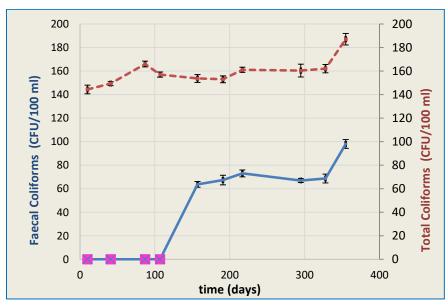
P-value	F-value	متوسط مجموع المربعات Mean SS	درجة الحرية Degree of freedom	مجموع المربعات Sum of Squares (SS)	مصدر تباین نتائج القولونیات البرازیة Source of Fecal Coliform Variation
2. 10-21	486.35	4523.041	9	40707.37	بين المجموعات
		9.3	20	186	ضمن المجموعات

انطلاقاً من منحنيات تغير تراكيز النترات والنتريت بدلالة الزمن (الشكل 2)، نلاحظ ارتفاع تراكيز النترات والنتريت في فصل الصيف وبداية فصل الخريف (قبل شهر تشرين الثاني) ويُفترض أن سبب هذا الارتفاع هو تسرب النترات والنتريت من الجور الفنية المجاورة وقد يكون أيضاً عائد للنشاطات الزراعية كإضافة الاسمدة أو المواد العضوية الطبيعية (روث الحيوانات) إلى المزروعات وارتشاحها عبر التربة حيث أن كلتا الشاردتين سريع الذوبان وسهل الغسل

والتسرب عبر التربة (WHO,2011) وبما أن مياه النبع في تلك الفترة من السنة تكون قليلة وضعيفة نتيجة الجفاف كانت تراكيز النترات والنتريت أعلى من باقي أشهر السنة وهو ما يتوافق مع نتائج دراسة لاماراني وزملاؤه (Lamrani كانت تراكيز النترات والنتريت أعلى من المركبات الأزوتية والكالسيوم والمواد العضوية كانت أعلى في فترات الحرارة المرتفعة من العام.

بقيت تراكيز كلتا الشاردتين في العينات خلال عام الدراسة أدنى من الحد الأعلى المسموح به من قبل المواصفات القياسية السورية (0.2 و0.5 مغ/ل) ومواصفات منظمة الصحة العالمية لمياه الشرب (0.5 مغ/ل) لكل من النتريت والنترات على التوالى.

نتيجة للأمطار الغزيرة التي تحدث في منطقة القدموس شتاءً من كل عام (WeatherSpark.com) تصبح مياه النبع أكثر غزارة وأقوى تدفق، السبب الذي يُفترض أنه وراء الانخفاض الكبير في تراكيز النترات والنتريت بعد شهر تشرين الثاني حسب مفهوم تمديد التركيز.



الشكل(3): التغيرات الزمنية لمحتوى مياه نبع حسان من الكولونيات الكلية والبرازية خلال سنة الدراسة. يمثل الخط المستمر عدد المستعمرات القولونية الكلية (المحور العمودي الرئيسي). يمثل الخط المتقطع عدد المستعمرات القولونية الكلية (المحور العمودي الثانوي). توضح أشرطة الخطأ الانحراف المعياري لثلاث قياسات متكررة لنفس العينة. تمثل المربعات الكبيرة ضمن منحني الكولونيات الثني من حد الكشف

بقراءة منحني تغير تعداد القولونيات الكلية والبرازية الدراسة بدلالة الزمن (الشكل 3) نلاحظ وجود نتيجة إيجابية من القولونيات الكلية على مدار العام حيث تراوح تعدادها بين (Cabral,2010) وذلك يعود لتلوث بيئي قد يكون منشأه جراثيم التربة أو بعض الصخور أو الغطاء النباتي (Cabral,2010).

يُعزي عدم ظهور البكتيريا القولونية البرازية في الأشهر الأربعة الأولى من الدراسة إلى كون الجور الفنية لم تكن ممتلئة بعد نتيجة التبخر الذي يحدث في فصل الصيف ونتيجة تفريغها من قبل أهالي المنطقة سنوياً وقد تكون التربة لعبت دور مرشحة جرثومية مما جعل التركيز الواصل لمياه النبع أدنى من حد الكشف، أما بعد تشربن الثاني فقد ترافق امتلاء

الجور الفنية مع موسم المطر الغزير الذي ساعد في تسريع رشح الجراثيم عبر التربة ووصولها لماء النبع مما أدى لحصول قفزة في تراكيز القولونيات البرازية ووصول تعدادها إلى مستويات تتراوح بين (64-98 CFU/100 mL) كان أقصاها في شهر حزيران، وهذا يتعارض مع توصيات المواصفات القياسية السورية والعالمية لمياه الشرب حيث أن الماء الشريب يجب أن يعطي نتيجة سلبية (CFU/100 mL) لكل من الكولونيات الكلية والبرازية، ولكنه يتوافق مع نتائج دراسة الباحث دوغوي وزملاؤه (2012 tal., 2012) في ساحل العاج حيث سُجلت الحمولة الأعلى من القولونيات الكلية والبرازية والإشريكية القولونية -لعينات مياه مأخوذة من 127 نبع- في فصل الأمطار الاستوائية (حزيران وتموز) وكذلك مع نتائج دراسة الباحث يحيى وزملاؤوه (2017) (Yahya et al., 2017) التي خلصت أن التعداد الأعلى للقولونيات الكلية والبرازية في المياه المدروسة كان في شهر حزيران.

حاول العديد من الباحثين خلال السنوات العشر الأخيرة إيجاد علاقة وتحديد نوعها بين تراكيز بعض المعادن والشوارد الكيميائية والتركيب الميكروبي لبعض المصادر المائية الجوفية منها والسطحية، حيث قام الباحث دوغوي وزملاؤه (Dougui et al., 2012) بمراقبة 127 نبع في ساحل العاج مراقبة كيميائية وميكروبية ولاحظوا أن درجة الارتباط بين تراكيز المعايير الكيمائية وتعداد القولونيات الكلية والبرازية متغيرة من معيار لآخر ومن نبع لآخر، وبالتالي لا يمكن استخدام أي من المعايير الكيميائية كبديل عن مشعرات التلوث الميكروبية.

وفي إفريقيا أيضاً وتحديداً في مدينة مراكش في المغرب أجرى الباحث لامراني وزملاؤه (Lamrani et al., 2008) دراسة للحالة الميكروبيولوجية والكيميائية للعديد من الينابيع في المدينة محاولين ربط تعداد بعض أنواع الجراثيم كالزائفة الزنجارية والقولونيات البرازية والمكورات العقدية البرازية مع تراكيز بعض العناصر الكيميائية كالنتريت والصوديوم والكالسيوم و حكما الدراسة السابقة كان الارتباط متغيراً وغير متجانساً ولكن بينت الدراسة أنه يمكن استخدام اختبارات الملوحة والكالسيوم والنتريت والنترات كفحوص مسح ضمن الموقع في حال كانت الإمكانيات المخبرية محدودة ولكن تبقى اختبارات مُوجهة لوجود تلوث برازي وليست اختبارات نهائية.

كذلك قام الباحث نولا وزملاؤه (Nola et al., 2002) في الكاميرون بدراسة تأثير العديد من العناصر والشوارد الكيميائية على الوفرة الميكروبية لنوعين من البكتيريا البرازية ولاحظوا أن الزيادة في الكلور والصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والمغنيزيوم تدعم وجود القولونيات البرازية والمكورات العقدية البرازية.

بالمقابل وجد الباحث فاندينبيرغ وزملاؤه (Vandenberg et al., 2005) ارتباطاً إيجابياً وهاماً بين تعداد القولونيات البرازية وتراكيز كل من النترات والنتريت والأمونيوم والبوتاسيوم.

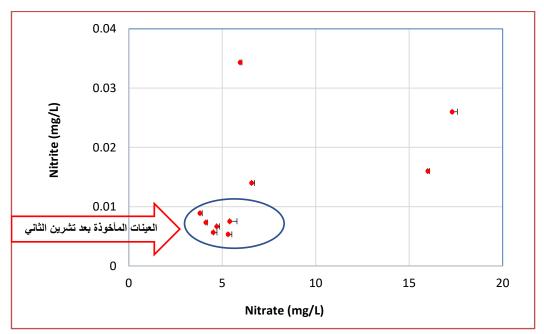
كان الهدف في هذه الدراسة التحقق من وجود علاقة ارتباط هامة بين ظهور القولونيات البرازية وتغير تراكيز المركبات الآزوتية لاستخدامها في المستقبل كمشعر للتلوث البرازي للمياه بدلاً من استهلاك الجهد والوقت والمعدات المكلفة للتعداد الجرثومي، ولتحري ذلك تم رسم منحني يوضح العلاقة بين (t) Nitrate و(t) حيث الحرف (t) حيث الحرف (t) دلالة على الزمن (الشكل 4) ووضع دائرة حول البيانات التي تم قياسها بعد تشرين الثاني.

أظهر التحليل العنقودي K-Means cluster analysis أو ما يسمى بالخوارزمية التصنيفية باستخدام برنامج SPSS. ثقيل كل من بيانات النترات والنتريت المُقاسة بعد شهر تشرين الثاني عنقوداً ثابتاً Stable Cluster بُرهنت متانة هذه النتيجة من خلال حقيقة أن البيانات التي وُضع حولها دائرة كانت ضمن مجموعة واحدة بالنسبة

لجميع قيم K الممكنة (K=2, 3, 4)، هذا يعني وجود علاقة عنقودية مستقرة وثابتة بين هذه المركبات الأزوتية بعد شهر تشربن الثاني على عكس الفترة السابقة عندما كانت العلاقة أكثر تغيراً.

تزامن الانخفاض المفاجئ في تراكيز النترات والنتريت مع ظهور البكتيريا القولونية البرازية، ووجد ارتباطاً هاماً (عند مستوى 0.05 و (P = 0.05) بمقارنة نتائج تعداد القولونيات البرازية مع مستويات النتريت المعنية ولكن كان هذا الارتباط سلبياً (0.78 -) وهو ما يتعارض مع الأدبيات المرجعية التي تؤكد أن وصول الفضلات البرازية الحيوانية والبشرية لمياه الشرب سينتج عنه ظهور للقولونيات البرازية وارتفاع في تراكيز النتريت والنترات نتيجة تفكك وتحلل المواد العضوية الموجودة في الفضلات (WHO, 2011) وهو ما بينه أيضاً الباحث فيندينبرغ وزملاؤه (2005) وبالتالي فإن هذا الارتباط حيث وجدوا ارتباط إيجابي هام بين تعداد بكتيريا القولونيات وتراكيز كل من النتريت والنترات، وبالتالي فإن هذا الارتباط السلبي جاء محض الصدفة وليس ذو دلالة مفيدة.

نتائج التحليل الاحصائي لبيانات هذا البحث تدحض فرضية إمكانية استخدام المركبات الآزوتية كمشعرات للتلوث البرازي حتى الآن حيث أن إثبات هذه الفرضية يتطلب إجراء المزيد من الأبحاث حولها وإلى أن يتم ذلك يجب إبقاء تعداد القولونيات الكلية والبرازية المشعر الأفضل كمؤشر خطر لحدوث تلوث برازي لمياه الينابيع.



الشكل(4): يوضح العلاقة بين مستويات النتريت (المحور العمودي) والنترات (المحور الأفقي) المقاسة في نفس الوقت من سنة الدراسة، العنقود الذي شكلته القياسات المأخوذة بعد تشربن الثاني محاط بدائرة

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

- مياه نبع حسان غير مطابقة للمواصفات القياسية السورية والعالمية لمياه الشرب وتحتاج إلى تعقيم قبل استخدامها للشرب.

- بقيت تراكيز كل من النترات والنتريت في مياه النبع خلال سنة الدراسة ضمن الحدود المسموح بها محلياً وعالمياً بينما تجاوز تعداد كل من القولونيات الكلية والبرازية الحد الأدنى المسموح به من قبل المواصفات القياسية السورية والعالمية لمياه الشرب.
- لا يمكن استخدام المركبات الآزوتية كمشعرات للتلوث البرازي حتى الآن، لذلك يجب إبقاء تعداد القولونيات الكلية والبرازبة المشعر الأفضل كمؤشر خطر لحدوث تلوث برازي لمياه الينابيع.

التوصيات:

- تعقيم مياه نبع حسان قبل استخدامها للشرب، وإرشاد أهالي المنطقة والعابرين.
- مواصلة البحث لإيجاد علاقة تربط بين تعداد البكتيريا والعناصر الكيميائية الموجودة في مياه الشرب بهدف إيجاد اختبار أسهل تطبيقاً وأرخص ثمناً وأسرع نتيجةً من التعداد الجرثومي.
- في دراسات تحليل المياه المستقبلية يُفضل فحص عينة من التربة المحيطة بالنبع ومعرفة خصائصها لما لها من تأثير على خصائص المياه ويُفضل أن تكون تكرارية أخذ العينات ثلاث على مستوى كل شهر (بداية منتصف نهاية الشهر).

References:

- [1] ALIA, T. A., SALMAN, F. A., (2014). Study of some quality indicators of drinking water in some drinking water resources in Syrian coastal area, Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies, Syria Biological Sciences Series Vol.(36) No.(4)
- [2] CABRAL, JOAO P S. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. International journal of environmental research and public health vol. 7,10 (2010): 3657-703. doi:10.3390/ijerph7103657
- [3] CRAUN, G. F., BRUNKARD, J. M., YODER, J. S., ROBERTS, V. A., CARPENTER, J., WADE, T., & ROY, S. L. (2010). Causes of outbreaks associated with drinking water in the United States from 1971 to 2006. Clinical Microbiology Reviews, 23(3), 507-528.
- [4] DOUAGUI, A.G., KOUAME, I.K., KOFFI, K., GOULA, A.T.B., DIBI, B., GONE, D.L., COULIBALY, K., SEKA, A.N.M., KOUASSI, A.K. O., MANGOUA, J.M. and SAVANE, I., (2012). Assessment of the bacteriological quality and nitrate pollution risk of quaternary groundwater in the southern part of Abidjan District (Côte d'Ivoire). J Hydroenviron Res 6(3):227–238
- [5] FENG, P. C., & HARTMAN, P. A. (1982). Fluorogenic assays for immediate confirmation of Escherichia coli. Applied and environmental microbiology, 43(6), 1320-1329.
- [6] JACKS, G., SHARMA, V.P. Nitrogen circulation and nitrate in groundwater in an agricultural catchment in Southern India. Geo 5, 61–64 (1983). https://doi.org/10.1007/BF02381097
- [7] JIANG,Y.; WU,Y.; GROVES,C.; YUAN,D; KAMBESIS, P. Natural and anthropogenic factors affecting the groundwater quality in the Nandong karst underground river system in Yunan, China. Journal of Contaminant Hydrology, 109 · 2009, 49–61.
- [8] LAMRANI ALAOUI, H., OUFDOU, K. & MEZRIOUI, N. Environmental pollutions impacts on the bacteriological and physicochemical quality of suburban and

- rural groundwater supplies in Marrakesh area (Morocco). Environ Monit Assess 145, 195–207 (2008). https://doi.org/10.1007/s10661-007-0029-
- [9] LECLERC, H., MOSSEL, DA., EDBERG, SC., STRUIJK, CB., Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. Annu Rev Microbiol. (2001);55:201-234. doi:10.1146/annurev.micro.55.1.201
- [10] NOLA, M., NJINE, T., DJUIKOM, E., & FOKO, V. S. (2002). Faecal coliforms and faecal streptococci community in the underground water in an equatorial area in Cameroon (Central Africa): the importance of some environmental chemical factors. Water Research, 36(13), 3289-3297.
- [11] PAWARI, M. J., & GAWANDE, S. A. G. A. R. (2015). Ground water pollution & its consequence. International journal of engineering research and general science, 3(4), 773-776.
- [12] RAIL, C. D. (1989). Groundwater contamination: Sources, control, and preventive measures.
- [13] RAVINDRA, K., THIND, P. S., MOR, S., SINGH, T., & MOR, S. (2019). Evaluation of groundwater contamination in Chandigarh: Source identification and health risk assessment. Environmental Pollution, 255, 113062.
- [14] STEVENS, M., ASHBOLT, N.J., CUNLIFFE, D, (2003). Review Of Coliforms As Microbial Indicators Of Drinking Water Quality, National Health and Medical Research Council Australian Government, 1-42.
- [15] SAWYER, C.N.; PERRY L.M.; GENE, F.P. Chemistry for environmental engineering. It Ed., Tata McGraw-Hill. New Delhi,2000.
- [16] TALLON, P., MAGAJNA, B., LOFRANCO, C. Microbial Indicators of Faecal Contamination in Water: A Current Perspective. Water Air Soil Pollut 166, 139–166 (2005). https://doi.org/10.1007/s11270-005-7905-4
- [17] UNEP/WHO, (1996). Water Quality Monitoring A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality- Studies and Monitoring Programmes.
- [18] U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (2010). Drinking Water Glossary: Surface Water. U.S. EPA Office of Water.
- [19] U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (2011). Method 1604: Total Coliforms and Escherichia coli in Water by Membrane Filtration Technique. U.S. EPA Office of Water.
- [20] VANDENBERG, J. A., RYAN, M. C., NUELL, D. D., & CHU, A. (2005). Field evaluation of mixing length and attenuation of nutrients and fecal coliform in a wastewater effluent plume. Environmental Monitoring and Assessment, 107(1-3), 45-57.
- [21] WHO, (2015). Protecting Groundwater for Health: Managing the Quality of Drinking-Water Sources. London: IWA Publishing.
- [22] WHO, (2011). Nitrate and Nitrite in drinking-water, Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland.
- [23] YAHYA, H.S.A., JILALI, A., MOSTAREH, M.M.M. Microbiological, physicochemical, and heavy metals assessment of groundwater quality in the Triffa plain (eastern Morocco). Appl Water Sci 7, 4497–4512 (2017). https://doi.org/10.1007/s13201-017-0598-1.