اثر مقادیر مختلف سولفات و کربنات کلسیم تحت جریان اشباع ماندگار بر جذب و نگهداشت باکتری سودوموناس فلورسنس در ستون‌های شن

کامبیز رستمی، محمد رضا مصدقی*، علی اکبر محبوبی و علی اکبر صفری سنجانی[۱]

(تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۲/۲۰)

چکیده

انتقال و پالایش باکتری‌های بیماری‌زا در محیط‌های متخلخل و آب‌های زیرزمینی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در سال‌های اخیر بررسی عوامل مؤثر بر پالایش و انتقال باکتری‌ها مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش اثر مقادیر مختلف سولفات کلسیم و کربنات کلسیم بر جذب و پارامترهای پالایش باکتری سودوموناس فلورسنس در ستون‌های شنی تحت شرایط رطوبتی اشباع بررسی شد. چهار سطح صفر، ۵ ،۱۰ و ۲۰ درصد کربنات کلسیم و سه سطح صفر، ۵ و ۱۰ درصد سولفات کلسیم در مخلوط با شن (۰/۲۵-۰/۱۵ میلی‌متر) به‌عنوان تیمارهای اصلی (به‌صورت فاکتوریل) و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اعمال گردید. مخلوط‌های مذکور در سیلندرهای پیرکس به طول ۲۰ و قطر ۷ سانتی‌متر ریخته و شرایط جریان اشباع ماندگار با شدت جریان یکسان در آنها ایجاد شد. سوسپانسیون با غلظت 10^6 باکتری سودوموناس فلورسنس در سانتی‌متر مکعب (C_0) به‌صورت تزریق پله‌ای روی ستون‌ها اعمال شد. آزمایش تا خروج زه‌آب از زیر ستون برابر پنج حجم آب منفذی (PV) ادامه یافت. هنگام آبشویی، غلظت باکتری (C) در زه‌آب با فواصل ۰/۲۵PV اندازه‌گیری شد. پس از پایان آبشویی، فراوانی باکتری در لایه‌های ۵-۰، ۱۰-۵، ۱۵-۱۰ و ۲۰-۱۵ سانتی‌متر از ستون‌ها نیز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که اثر مقادیر کربنات کلسیم بر نگه‌داری و پالایش باکتری در لایه‌های ۱۰-۵ و ۱۵-۱۰ سانتی‌متری در سطح آماری ۱ درصد و در لایه۲۰-۱۵ در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار شد. هم‌چنین اثر مقادیر سولفات کلسیم در لایه‌های ۱۵-۱۰ و ۲۰-۱۵ سانتی‌متری در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل سولفات کلسیم×کربنات کلسیم بر پالایش باکتری در لایه‌های ۱۰-۵ ، ۱۵-۱۰ و ۲۰-۱۵ سانتی متری در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار گردید. نیمرخ غلظت باقی‌مانده و ضریب پالایش به خوبی نشان‌دهنده کاهش میزان پالایش باکتری با افزایش عمق در تیمارها بود. بنابراین می‌توان گفت معنی‌دار بودن اثر تیمارهای به‌کار رفته در لایه‌های سطحی نشان دهنده پالایش فیزیکی بیشتر در این لایه‌ها می‌باشد. بنابراین ظرفیت پالایش بالای کانی‌های کربناته و سولفاته می‌تواند از انتقال باکتری در محیط‌های متخلخل اشباع و به‌دنبال آن آلودگی آب‌های زیرزمینی بکاهد.

واژه‌های کلیدی: سولفات کلسیم، کربنات کلسیم، سودوموناس فلورسنس، جریان اشباع، ضریب پالایش

مقدمه

از دیرباز جابه‌جایی نمک‌ها و عناصر مورد نیاز گیاه در خاک به‌طور گسترده‌ای مورد توجه بوده است. علاوه بر حرکت نمک‌ها، به‌دلیل اهمیت ریزجانداران خاک‌زی و به‌ویژه ریزجاندارن بیماری‌زا برای سلامتی بشر، پژوهش‌هایی در مورد جابه‌جایی آنها در محیط‌های متخلخل انجام شده است.

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار، دانشیار و استادیار خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mosaddeghi@Basu.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

هم‌چنین انتقال ریزجانداران بیماری‌زا در خاک از راه کاربرد دراز مدت کودهای دامی و فاضلاب‌ها روی سطح زمین، باعث انتشار بیماری‌های عمومی بر اثر استفاده از آب‌هایی است که توسط این کودها و فاضلاب‌ها آلوده شده‌اند (۱۷).

مصرف کودهای دامی می‌تواند ویژگی‌های فیزیکی و الکتروشیمیایی خاک‌ها و جمعیت میکروبی آنها را به‌طور عمده‌ای تحت تأثیر قرار دهد. چنین اثراتی می‌تواند برهمکنش‌های بین سلول باکتری‌ها و خاک مانند پالایش فیزیکی(Physical filtering)، اثرات متقابل فیزیکی و شیمیایی بین سطوح باردار و نیز رقابت برای جذب در مکان‌های جذبی را تحت تأثیر قرار دهد (۱۵).

حرکت کلوئیدها (شامل ذرات با قطر ۰/۰۱ تا ۱۰ میکرون)، ویروس‌ها و باکتری‌ها به سمت آب‌های زیرزمینی از سال‌ها پیش تا کنون به‌عنوان یک مسأله زیست محیطی مطرح است (۱۸). پژوهش‌های چندی از سال ۱۹۷۰ میلادی حاکی از آن است که باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌توانند تا بیش از چند صد متر به سمت سفره‌های آب زیرزمینی انتقال یابند (۱۱). چنین توانایی برای انتقال ویروس‌ها و باکتری‌های بیماری‌زا، از راه سفره‌های آب زیرزمینی کم عمق برای سلامت عمومی نگرانی‌هایی را به همراه دارد. به ویژه این مسأله برای منابع آب قابل شرب از اهمیت بیشتری برخوردار است (۷).

پژوهش‌های اخیر بیشتر در رابطه با اثر شیمیایی حلال‌ها (۲)، کانی شناسی آبخوان‌ها (۱۳)، اثر غیر یک‌نواختی خاک‌ها شامل درز و ترک‌ها و اثر پسآب‌های سطحی (۲) بر انتقال ویروس‌ها و باکتری‌ها بوده است. تأثیر متغیرهای مختلف بر حرکت باکتری‌ها در خاک مورد بررسی قرار گرفته است. حرکت باکتری‌ها مانند حرکت املاح تحت تأثیر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک قرار دارد. از جمله ویژگی‌های فیزیکی مهم در این ارتباط می‌توان به بافت و میزان رطوبت خاک، و چگالی و توانایی انتقال باکتری در سیال اشاره کرد. خاک می‌تواند به‌عنوان یک پالاینده عمل نموده و بر انتقال باکتری‌ها تأثیر بگذارد (۸ و ۱۱).

در پژوهش‌های انجام شده در مورد حرکت باکتری‌ها در خاک، به تأثیر ویژگی‌هایی از خاک مانند میزان رطوبت خاک توجه زیادی شده است. در مطالعه‌ای که دیوید و میلز (۵) در مورد حرکت باکتری اشرشیا کلی (*Escherichia coli*) در ستون‌های شن (کوارتز) تحت شرایط رطوبتی مختلف انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که در شرایط رطوبتی اشباع و نزدیک به اشباع، میزان پالایش تیمارها در طول ستون‌های شن نسبت به شرایط رطوبتی غیر اشباع کاهش می‌یابد. مقدار بیشتر باکتری استخراج شده در بخش‌های بالایی ستون‌ها بیانگر غالب بودن پالایش فیزیکی در نگه‌داری باکتری در ستون‌های شن بود. وان‌السا‌س و وان أوربوک (۱۶) نیز اثر رطوبت خاک بر میزان انتقال باکتری سودوموناس فلورسنس سوش R_2f را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که در شرایطی که میزان رطوبت خاک کمتر از اشباع می‌باشد، انتقال باکتری‌ها کمتر صورت می‌گیرد. بیتون و همکاران (۳) عامل مهم مؤثر بر حرکت باکتری کلبسیلا آیروژنز (*Klebsiella aerogenes*) در یک خاک شنی را میزان رطوبت آن دانستند.

ذرات خاک با توجه به نوع بار الکتریکی، می‌توانند در جذب یا دفع باکتری مؤثر باشند. معمولاً سطوح با بار مثبت دارای توان جذب باکتری بیشتری نسبت به سطوح با بار منفی می‌باشند. از جمله ویژگی‌های شیمیایی مؤثر بر انتقال باکتری‌ها می‌توان به pH خاک اشاره نمود. گلداشمیت و همکاران (۶) اثر pH بر حرکت باکتری‌ها را مطالعه کرده و به این نتیجه رسیدند که در pHهای خنثی تا اسیدی در مقایسه با شرایط قلیایی به خاطر وجود بارهای مثبت ذرات، جذب باکتری‌ها روی سطوح ذرات خاک بیشتر می‌شود.

ترکیبات کربنات و سولفات در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک به وفور وجود دارند. این ترکیبات می‌توانند ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک را تحت تأثیر قرار دهند. هدف از این پژوهش بررسی توانایی جذب باکتری سودوموناس فلورسنس توسط سولفات کلسیم و کربنات کلسیم در شرایط جریان اشباع می‌باشد.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده

این پژوهش در شرایط آزمایشگاهی روی ستون‌های شن شسته شده (با آب آشامیدنی و آب مقطر) در شرایط سترون انجام گرفت. شن مورد استفاده از نوع شن ساحلی بود که مقدار کربنات (تعیین شده به روش تیتراسیون برگشتی) موجود در آن ۷/۵ درصد و مقدار ماده آلی آن ناچیز بود. در ترکیب شن مورد استفاده شکل‌های مختلف اکسیدهای آهن و آلومینیوم وجود داشت (جدول ۱).

تیمارهای آزمایشی شامل درصدهای مختلف کربنات کلسیم (صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) و سولفات کلسیم (صفر، ۵ و ۱۰ درصد) تولید شرکت مرک (Merck) بود که به‌صورت وزنی با شن مخلوط گردید. اندازه ذرات شن، سولفات کلسیم و کربنات کلسیم در دامنه ۰/۲۵ mm–۰/۱۵ انتخاب شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی تیمارهای مختلف در جدول ۲ آورده شده است.

اندازه‌گیری ویژگی‌های تیمارهای آزمایشی

pH مخلوط‌ها با استفاده از دستگاه pH متر و هدایت الکتریکی آنها با رسانایی سنج در نسبت‌های ۵:۱ مخلوط به آب اندازه‌گیری شد. به خاطر خاصیت تامپونی کربنات کلسیم، pH ترکیبات مختلف با هم اختلاف چندانی نداشتند. دامنه تغییرات pH در ترکیبات مختلف برای باکتری مورد مطالعه (سودوموناس فلورسنس) قابل تحمل می‌باشد. رسانایی الکتریکی نمونه‌های دارای سولفات کلسیم به دلیل حلالیت بالاتر این ترکیب، نسبت به تیمارهای دارای کربنات کلسیم بیشتر بود. نمک‌های محلول با تأثیر بر قدرت یونی محلول، می‌توانند در فرایند جذب باکتری مهم باشند. سولفات کلسیم و کربنات کلسیم از جمله نمک‌های با حلالیت کم محسوب می‌گردند (حاصل‌ضرب انحلال‌پذیری سولفات کلسیم و کربنات کلسیم به ترتیب برابر $۲/۶\times۱۰^{-۵}$ و $۴/۸\times۱۰^{-۹}$ می‌باشد). در تیمارهای آزمایشی چگالی حقیقی به روش پیکنومتر اندازه‌گیری و چگالی ظاهری با در نظر گرفتن جرم خشک و حجم مخلوط‌ها در سیلندرها محاسبه شد. هدایت هیدرولیکی اشباع (Saturated hydraulic conductivity) (K_s) نمونه‌ها به روش آزمایشگاهی بار ثابت (Constant-head method) (۹) تعیین گردید. در این روش پس از حاکم شدن جریان ماندگار، حجم آب خروجی ستون‌ها در یک زمان معین اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از معادله دارسی K_s مخلوط‌ها محاسبه گردید. هدایت هیدرولیکی اشباع تیمارها با هم اختلاف زیادی داشتند، به‌طوری که تیمارهای با درصد بالاتر کربنات کلسیم و سولفات کلسیم، K_s کمتری را نشان دادند.

آزمایش‌های آبشویی

برای تهیه ستون‌های آزمایشی از سیلندرهای پیرکس به ارتفاع ۲۵ و قطر ۷ سانتی‌متر استفاده شد. سیلندرها به آرامی و با دقت از مخلوط‌های مورد نظر (جدول ۲) که قبلاً به‌صورت یک‌نواخت آمیخته شده بودند تا ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر پر گردیدند. ستون‌ها از پایین توسط آب مقطر اشباع شده تا هوای موجود در منافذ مخلوط‌ها خارج شده و سپس در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه سترون شدند. جریان ماندگار اشباع با شدت جریان مشابه در تمامی ستون‌های آزمایشی اعمال گردید. برای این کار شدت جریان $۹۷/۲cm\ h^{-1}$ برابر با K_s اندازه‌گیری شده در ستون شن خالص (جدول ۲) در تمامی ستون‌های آبشویی اعمال گردید. برای این منظور بار آبی مورد نیاز روی کلیه ستون‌ها اعمال شد. در تیمارهایی که نیاز به بار آبی بالایی داشتند، از یک پمپ خلأ در پایین نمونه‌ها نیز جهت ایجاد شرایط ماندگار اشباع استفاده شد.

باکتری مورد استفاده در این پژوهش، سوش سودوموناس فلورسنس بود. این باکتری از جمله باکتری‌های گرم منفی تاژک‌دار با قدرت تحرک بالا می‌باشد. این باکتری از جنبه کشاورزی، آلودگی و تجزیه آلاینده‌ها دارای اهمیت ویژه‌ای است. سوش‌های دیگر این باکتری مانند سودوموناس استودزری و سودوموناس فلورسنس در رفع آلودگی‌ها موثرند. انتقال سوش‌های بیماری‌زای باکتری سودوموناس از نیمرخ خاک و

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

جدول۱. مقدار و شکل اکسیدهای آهن و آلومینیوم در شن مورد استفاده

شکل ترکیب	بر حسب ($g\ kg^{-1}$)
آهن بی‌شکل	۲/۱
آهن بلوری	۸/۳۴
آلومینیوم بی‌شکل	۰/۳۲
آلومینیوم بلوری	۱/۱

جدول۲. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مخلوط‌های شن، کربنات و سولفات کلسیم

درصد وزنی در مخلوط		pH	هدایت الکتریکی ($dS\ m^{-1}$)	چگالی حقیقی ($Mg\ m^{-3}$)	چگالی ظاهری ($Mg\ m^{-3}$)	هدایت هیدرولیکی اشباع ($cm\ h^{-1}$)	درصد تخلخل کل	حجم ۵PV سوسپانسیون مصرفی (cm^3)
$CaCO_3$	$CaSO_4$							
۰	۰	۷/۱	۰/۰۶	۲/۶۷	۱/۴۸	۹۷/۲	۴۴/۵	۱۷۱۴/۳۵
۰	۵	۷/۰	۲/۷۷	۲/۷۰	۱/۴۳	۵۸/۰	۴۷/۰	۱۸۰۹/۲۸
۰	۱۰	۷/۲	۲/۹۶	۲/۶۹	۱/۳۸	۵۳/۴	۴۸/۷	۱۸۷۳/۲۰
۵	۰	۷/۸	۰/۱۲	۲/۶۰	۱/۳۷	۳۶/۳	۴۷/۳	۱۸۱۹/۶۹
۵	۵	۷/۱	۲/۱۹	۲/۵۹	۱/۳۳	۲۴/۵	۴۸/۶	۱۸۷۱/۲۷
۵	۱۰	۷/۳	۲/۲۸	۲/۶۰	۱/۳۳	۱۶/۵	۴۸/۸	۱۸۷۸/۸۶
۱۰	۰	۷/۶	۰/۱۱	۲/۴۳	۱/۳۱	۴۵/۴	۴۶/۱	۱۷۷۲/۸۷
۱۰	۵	۷/۲	۲/۱۹	۲/۶۴	۱/۳۳	۱۲/۲	۴۹/۶	۱۹۰۸/۶۷
۱۰	۱۰	۷/۲	۲/۳۹	۲/۵۸	۱/۲۲	۱۱/۳	۵۲/۷	۲۰۲۷/۶۱
۲۰	۰	۸/۱	۰/۲۲	۲/۴۲	۱/۱۹	۴۰/۷	۵۱	۱۹۵۵/۰۴
۲۰	۵	۷/۰	۲/۲۵	۲/۵۸	۱/۲۰	۱۱/۱	۵۳/۵	۲۰۵۷/۴۳
۲۰	۱۰	۷/۲	۲/۵۸	۲/۵۷	۱/۱۲	۹/۳	۵۶/۴	۲۱۷۰/۲۰
$CaSO_4$ خالص		۶/۸	۳/۴۷	—	—	—	—	
$CaCO_3$ خالص		۸/۲	۰/۲۷	—	—	—	—	

ورود آنها به آب‌های زیرزمینی از جنبه آلودگی محیط زیست واجد اهمیت است. هم‌چنین سوش‌های دیگر این باکتری در کشاورزی و رفع آلودگی‌های لایه‌های زیرین خاک اهمیت دارند (۱). باکتری سودوموناس فلورسنس در محیط کشت اختصاصی S۱ خالص‌سازی گردید. برای استفاده از باکتری به‌صورت سوسپانسیون، باکتری به درون محیط مایع NB (Nutrient broth) .

با قدرت نگه‌داری باکتری منتقل شد. غلظت ورودی مورد استفاده (C_0) در تمام سوسپانسیون‌های مصرفی 10^6 باکتری در سانتی‌متر مکعب ($CFU\ cm^{-3}$) بود.

پس از استقرار ستون‌های آبشویی و تداوم شرایط جریان اشباع ماندگار، تزریق باکتری به‌صورت پله‌ای (Step injection) (۱۴) صورت گرفت. حجمی از سوسپانسون باکتری از طریق یک

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

مخزن اصلی (Decanter) با شدت جریان ثابت روی تمامی ستون‌ها اعمال شد (جدول ۲). در طول آزمایش، شرایط مرزی (Boundary conditions) نوع اول برای غلظت باکتری برقرار گردید. در این شرایط، سوسپانسیون باکتری از مخزنی که به خوبی مخلوط شده و دارای غلظت ثابتی است به‌صورت پیوسته به سطح ستون خاک رسید. شرایط مرز خروجی اعمال شده به سیستم نیز برای غلظت باکتری از نوع شرایط مرزی محدود (Finite boundary) بود. این شرایط معمولاً برای سیستم‌هایی که طول مسیر انتقال محدود و مشخص دارند (مانند ستون‌های آزمایشگاهی) به‌کار می‌رود (۱۴). شرایط اولیه (Initial conditions) سیستم برای غلظت باکتری به علت سترون شدن شن برابر صفر بود. آبشویی ستون‌ها پس از تزریق سوسپانسیون باکتری بر ستون‌ها تا خروج PV ۵ حجم آب منفذی ادامه یافت. در حین آبشویی، غلظت باکتری (C) با فواصل PV/۲۵/۰ در آب خروجی ستون‌ها اندازه‌گیری شد.

ضریب پالایش (Filtration coefficient) (λ_f) باکتری به‌عنوان یک پارامتر کمّی برای سنجش میزان پالایش باکتری در مسیر انتقال به‌صورت زیر محاسبه شد (۴ و ۱۵):

$$\lambda_f = \ln(\frac{C_0}{C_{av}}) \times \frac{1}{X} \qquad [1]$$

C_0 = غلظت باکتری در سوسپانسیون تزریق شده، ($(CFU)\ (cm^3)$

C_{av}= غلظت متوسط باکتری در زه‌آب خروجی در طول آزمایش، ((cm^3) و (CFU))

X= طول ستون آزمایش می‌باشند (cm).

پس از اتمام آبشویی، ستون‌های آزمایشی فوراً به‌صورت افقی گذاشته شده و زیر هود در شرایط سترون به ۴ لایه ۵-۰، ۱۰-۵، ۱۵-۱۰و ۲۰-۱۵ سانتی‌متری تقسیم شدند. برای این کار با استفاده از یک پیستون به انتهای ستون نیرو وارد نموده تا مخلوط داخل سیلندر خارج گردد. با استفاده از خط‌کش، نمونه خارج شده را به چهار قسمت تقسیم‌کرده و از هر قسمت پس از مخلوط کردن کل آن لایه، نمونه یک گرمی برداشته و در لوله آزمایش دارای ۹cc هگزامتا فسفات سدیم سترون ریخته شد. سپس این مجموعه را به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده و سپس لرزانده تا باکتری‌های باقی‌مانده شده استخراج شوند.

مقداری از محلول صاف شده رویی با تهیه رقت‌های مناسب روی محیط NA (Nutrient agar) کشت شد. نهایتاً غلظت باقی‌مانده (Residual concentration) (C_r) باکتری در ستون بر اساس تعداد باکتری‌های شمارش شده در هر گرم از مخلوط محاسبه شد. به همین روش نیز نمونه‌های آب خروجی از ستون‌ها کشت و تعداد باکتری آنها اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

طرح آزمایشی مورد استفاده، فاکتوریل با دو فاکتور مقدار کربنات کلسیم و سولفات کلسیم در قالب طرح اصلی کاملاً تصادفی بود که در سه تکرار اجرا شد. با استفاده از نرم افزار SAS داده‌های برداشت شده تجزیه و تحلیل شد. متغیرهای وابسته مورد بررسی، ضریب λ_f و غلظت نسبی باکتری باقی‌مانده (C_r/C_0) در لایه‌های ۵-۰، ۱۰-۵، ۱۵-۱۰ و ۲۰-۱۵ سانتی‌متری ستون‌ها بود. مقایسه میانگین‌ها به روش LSD انجام گرفت. نیمرخ پالایش باکتری به‌صورت C_r در برابر عمق ستون‌های آبشویی و λ_f در برابر تیمارهای آزمایشی با استفاده از نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس اثر تیمارهای کربنات کلسیم و سولفات کلسیم و اثر متقابل آنها بر توان پالایش باکتری در لایه‌های مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. اثر تیمارهای آزمایشی در اکثر لایه‌ها معنی‌دار شد. اثر سولفات کلسیم بر توان پالایش باکتری به لایه‌های ۱۵-۱۰ و ۲۰-۱۵ سانتی‌متری محدود شد در حالی که اثر کربنات کلسیم و اثر متقابل تیمارها تنها در لایه سطحی معنی‌دار نشد.

پالایش باکتری در لایه‌های ۵-۰ و ۱۰-۵ سانتی‌متری

اثر تیمارهای کربنات کلسیم، سولفات کلسیم و اثر متقابل آنها بر غلظت باکتری جذب شده در لایه ۵-۰ سانتی‌متری ستون‌های

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

آزمایشی در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود (جدول ۳). عدم اختلاف معنی‌دار تیمارهای سولفات کلسیم با تیمار شاهد نشان دهنده قدرت پالایندگی یکسان آنها در این لایه است. حل شدن سولفات کلسیم در افزایش قدرت یونی محلول و در نتیجه پالایش باکتری مؤثر می‌باشد (۸). در عین حال شستشوی آن به سمت لایه‌های پایینی سبب کاهش مقدار باکتری پالایش شده در لایه‌های بالایی و انتقال آن به لایه‌های زیرین می‌شود.

اثر تیمار کربنات کلسیم و اثر سولفات کلسیم×کربنات کلسیم بر غلظت باکتری پالایش شده در لایه ۱۰-۵ سانتی‌متری ستون‌ها در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). در این لایه اثر تیمار سولفات کلسیم معنی‌دار نشد (جدول ۳). تیمار شن با ۵٪ کربنات کلسیم نسبت به سایر تیمارها بیشترین میزان جذب باکتری را در این لایه داشت (جدول ۴). استخراج بالای باکتری در این تیمار نسبت به سایر تیمارها می‌تواند به دلیل جذب بیشتر باکتری روی سطوح بالاتر کربنات کلسیم و نیز عامل مرگ و میر باشد. میانگین غلظت باکتری پالایش شده در بین تیمارهای سولفات کلسیم نشان داد که تیمار ۱۰٪ سولفات کلسیم بیشتر از سایر تیمارها باکتری را در این لایه پالایش کرد (جدول ۴). بنابراین افزایش مقدار سولفات کلسیم سبب پالایش بیشتر باکتری شده و کاهش غلظت باکتری در زه‌آب خروجی این تیمار را توجیه می‌کند.

تیمار ۱۰٪ سولفات کلسیم در ترکیب با ۵٪ کربنات کلسیم در مقایسه با سایر تیمارها میزان پالایش باکتری بیشتری را نشان داد (جدول ۴). در این تیمار افزایش قدرت یونی محلول و تعداد بیشتر ذرات سولفات کلسیم در جذب بیشتر باکتری مهم بوده است. تأثیر کمتر تیمارهای با مقادیر بیشتر کربنات کلسیم را می‌توان به دلیل استخراج نشدن کل باکتری‌های پالایش شده در این تیمارها یا عامل مرگ و میر به دلیل شرایط نامناسب زیست باکتری دانست. از طرف دیگر با توجه به رابطه زیر، کاهش سرعت آب منفذی (Pore water velocity) به‌دلیل رطوبت (تخلخل) بالای تیمارهای دارای مقادیر بیشتر کربنات و سولفات کلسیم می‌تواند در کاهش انتقال باکتری در مقایسه با تیمار شن مهم باشد:

$$\bar{V} = \frac{q}{\theta_V} \qquad [۲]$$

که در این معادله: $\bar{V}$: سرعت آب منفذی یا سرعت ظاهری منفذی یا سرعت نیوتونی متوسط جریان (سرعت ظاهری یا نیوتونی)، q: شدت جریان دارسی و θ_V: مقدار رطوبت حجمی است.

پالایش باکتری در لایه‌های ۱۵-۱۰ و ۲۰- ۱۵ سانتی‌متری

در لایه ۱۵-۱۰ سانتی‌متری ستون‌ها، اثر تیمار کربنات کلسیم و اثر متقابل تیمارها (سولفات کلسیم×کربنات کلسیم) بر مقدار باکتری پالایش شده در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). اثر تیمار سولفات کلسیم در این لایه در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

غلظت باکتری پالایش شده در تیمار ۵٪ کربنات کلسیم بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۵). در این لایه اثر مقادیر کربنات کلسیم بر پالایش باکتری مانند لایه ۱۰- ۵ سانتی‌متری بوده ولی احتمالاً به دلیل رسوب و در نتیجه اعوجاج بیشتر منافذ در این لایه، میزان استخراج باکتری افزایش یافت.

میانگین غلظت باکتری پالایش شده در تیمارهای شن با سولفات کلسیم نشان داد که تیمار ۱۰٪ سولفات کلسیم بیشتر از سایر تیمارها در پالایش باکتری مؤثر بوده است (جدول ۵). معنی‌دار بودن اثر تیمار سولفات کلسیم احتمالاً به دلیل رسوب و تجمع سولفات کلسیم در این لایه است. بنابراین رسوب سولفات کلسیم سبب ایجاد لایه‌ای با توان پالایشی بالاتر و اعوجاج منافذ بیشتر برای پالایش باکتری شده است.

میانگین غلظت باکتری پالایش شده در تیمار ۱۰٪ سولفات کلسیم در ترکیب با ۵٪ کربنات کلسیم نسبت به تیمارهای دیگر معنی‌دار بود. علاوه بر رسوب سولفات کلسیم و اعوجاج منافذ، کاهش سرعت آب منفذی (نسبت شدت جریان دارسی به رطوبت حجمی) در تیمارهای سولفات کلسیم و کربنات کلسیم در جذب بیشتر باکتری در این لایه مهم بود. میزان باکتری

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر توان پالایش لایه‌های مختلف ستون شن بر غلظت نسبی باکتری باقی‌مانده (C_r/C_0)

منبع تغییر	درجه‌آزادی	نسبت F			
		۰–۵ cm	۵–۱۰ cm	۱۰–۱۵ cm	۱۵–۲۰ cm
سولفات کلسیم	۲	۲/۰۸	۱/۰۲	۵/۴۵*	۴/۸۹*
کربنات کلسیم	۳	۰/۵	۱۳/۱۳**	۱۶/۸۴**	۳/۰۳*
سولفات کلسیم × کربنات کلسیم	۱۱	۱/۴۵	۸/۰۱**	۸/۵۴**	۳/۲۳**

* و **: به ترتیب نشان دهندهٔ تأثیر معنی‌دار در سطوح آماری ۱ و ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر تیمارهای سولفات و کربنات کلسیم بر توان پالایش یا غلظت نسبی باکتری نگه‌داری شده (C_r/C_0) در لایه ۱۰– ۵ سانتی‌متری ستون‌های شنی

منبع تغییر	سولفات کلسیم			
کربنات کلسیم	۰	٪۵	٪۱۰	میانگین
۰	۰/۰۴۶	۰/۵	۰/۱۴	۰/۲۳
٪۵	۰/۳۹	۰/۱۱	۰/۷۳	۰/۴۱
٪۱۰	۰/۰۹۹	۰/۰۵	۰/۰۰۱۱	۰/۰۵
٪۲۰	۰/۱	۰/۰۵۷	۰/۰۷۱	۰/۰۷۴
میانگین	۰/۱۶	۰/۱۸	۰/۲۴	
	سولفات کلسیم	کربنات کلسیم	سولفات کلسیم × کربنات کلسیم	
LSD (۰/۰۵)	۰/۱۲	۰/۱۳	۰/۲۳	

پالایش شده در تیمارهای ٪۵ سولفات کلسیم در ترکیب با ٪۵ کربنات کلسیم و ٪۱۰ سولفات کلسیم در ترکیب با ٪۲۰ کربنات کلسیم نیز قابل توجه بود (جدول ۵).

اثر تیمارهای کربنات کلسیم و سولفات کلسیم در سطح آماری ۵ درصد و اثر متقابل تیمارها در سطح آماری ۱ درصد بر غلظت باکتری پالایش شده در لایه ۲۰–۱۵ سانتی‌متری معنی‌دار بود (جدول ۳). کاهش میزان باکتری پالایش شده در لایه‌های پایینی می‌تواند به دلیل انتقال کمتر باکتری به این لایه‌ها باشد.

در پژوهش انجام گرفته توسط لانس و جربا (۱۰)، میزان انتقال باکتری در جهت عمودی محدود بوده و عمق حرکت پلی‌ویروس در اثر کاربرد فاضلاب روی ستون‌های دست‌خورده یک خاک شن لومی در شرایط اشباع ۱۶۰ سانتی‌متری بود. بنابراین علاوه بر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی مؤثر بر حرکت ریزجانداران، شرایط رطوبتی و گونه ریزجاندار نیز بر میزان انتقال عمودی آنها مؤثرند.

در لایه ۲۰–۱۵ سانتی‌متری میانگین غلظت باکتری پالایش

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

جدول۵. مقایسه میانگین‌های اثر تیمارهای سولفات و کربنات کلسیم بر توان پالایش یا غلظت نسبی باکتری نگه‌داری شده (C_r/C_0) در لایه ۱۵-۱۰ سانتی‌متری ستون‌های شنی

منبع تغییر	سولفات کلسیم			
کربنات کلسیم	۰	٪۵	٪۱۰	میانگین
۰	۰/۰۲۹	۰/۰۱۳	۰/۲۳	۰/۰۹
٪۵	۰/۱۳	۰/۲۶	۰/۴۶	۰/۲۸
٪۱۰	۰/۱۳	۰/۰۳۵	۰/۰۱۲	۰/۰۵۹
٪۲۰	۰/۰۸۸	۰/۰۳۳	۰/۰۳	۰/۰۵
میانگین	۰/۰۹۴	۰/۰۸۶	۰/۱۸	
	سولفات کلسیم	کربنات کلسیم	سولفات کلسیم × کربنات کلسیم	
LSD (۰/۰۵)	۰/۰۶۸	۰/۰۷۹	۰/۱۴	

شده حاصل از تیمارهای شاهد (شن خالص) > ٪۵ کربنات کلسیم > ٪۱۰ کربنات کلسیم > ٪۲۰ کربنات کلسیم (میانگین همه تیمارهای سولفات کلسیم) بود (جدول ۶). پالایش بیشتر باکتری در لایه‌های بالایی، کاهش باکتری استخراج شده در تیمارهای کربنات کلسیم نسبت به شاهد را توجیه می‌نماید.

هم‌چنین عدم استخراج کل باکتری‌های پالایش شده برای تیمارهای کربنات کلسیم می‌تواند اختلاف پالایش بین مقادیر آنها را بیان کند. در این لایه اثر مقادیر سولفات کلسیم بر غلظت باکتری پالایش شده معنی‌دار بود (جدول ۳). تیمار شاهد کمترین و تیمار ٪۱۰ سولفات کلسیم بیشترین میزان پالایش باکتری را سبب شدند (جدول ۶). مقادیر بالاتر سولفات کلسیم اثر بیشتری بر پالایش باکتری داشتند. بیشتر بودن پالایش باکتری در تیمار سولفات کلسیم نسبت به تیمار شاهد در تمام لایه‌ها می‌تواند به دلیل حلالیت بیشتر آن و در نتیجه اعوجاج بیشتر منافذ، کاهش سرعت آب منفذی و نیز اثر قدرت یونی در جذب بیشتر باکتری در تمام لایه‌ها باشد. اثر متقابل تیمارها (سولفات کلسیم×کربنات کلسیم) بر پالایش باکتری در این لایه در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شد. میزان پالایش باکتری در تیمار ٪۱۰ سولفات کلسیم در ترکیب با ٪۵ کربنات کلسیم نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بود (جدول ۶).

نیمرخ غلظت باقی‌مانده باکتری در ستون‌های آزمایشی

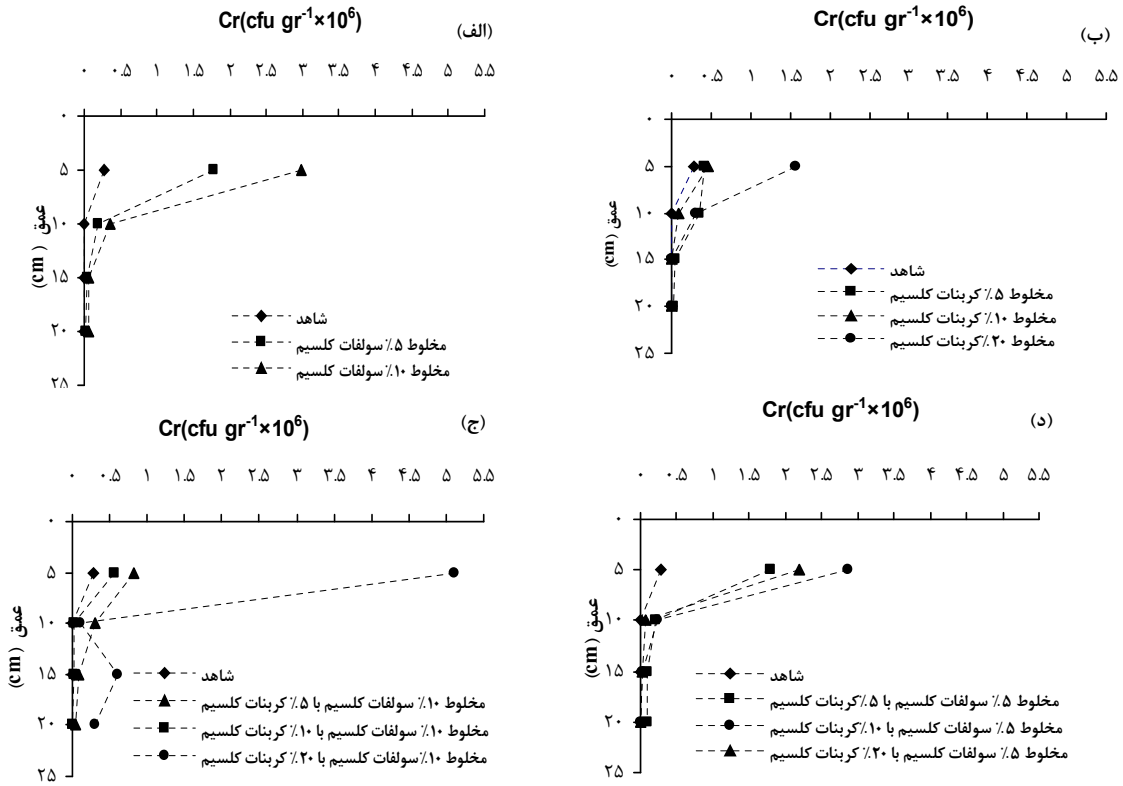
چگونگی پالایش باکتری در ستون‌های شنی به کمک ترسیم غلظت نسبی باقی‌مانده باکتری (C_r/C_0) در برابر عمق برای تیمار شاهد و تیمارهای مختلف سولفات کلسیم و کربنات کلسیم با شن در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۱- الف، میزان باکتری پالایش شده در تیمارهای سولفات کلسیم در تمام لایه‌ها نسبت به تیمار شاهد بیشتر می‌باشد. با افزایش سولفات کلسیم، میزان پالایش باکتری در لایه‌های بالایی به دلیل پالایش فیزیکی، بیشتر از لایه‌های پایینی شد. در تیمار ٪۱۰ سولفات کلسیم احتمالاً به دلیل رسوب بیشتر سولفات کلسیم در لایه آخر، میزان پالایش باکتری بیشتر شد (شکل ۱- الف). در تیمارهای کربنات کلسیم (شکل ۱- ب) نیز پالایش بیشتر باکتری در لایه‌های بالایی قابل مشاهده است که میزان پالایش برای تیمارهای با درصد بالاتر کربنات کلسیم بیشتر می‌باشد. در لایه‌های پایینی، میزان پالایش باکتری کمتری

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر تیمارهای سولفات و کربنات کلسیم بر توان پالایش یا غلظت نسبی باکتری نگه‌داری شده (C_r/C_0) در لایه ۲۰-۱۵ سانتی‌متری ستون‌های شنی

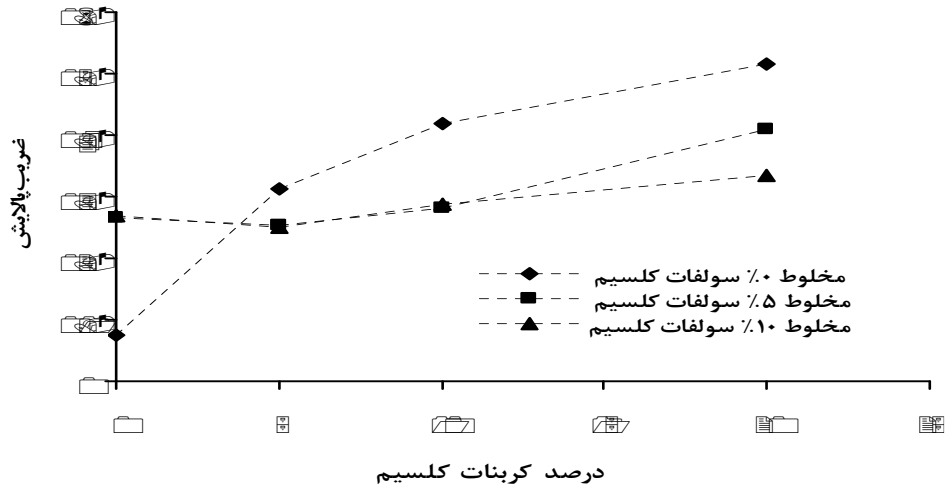
منبع تغییر	سولفات کلسیم			
کربنات کلسیم	۰	٪۵	٪۱۰	میانگین
۰	۰/۰۰۱۶	۰/۰۱۴	۰/۵	۰/۱۷
٪۵	۰/۱۷	۰/۰۲۶	۰/۲	۰/۱۳
٪۱۰	۰/۰۰۹	۰/۰۰۶	۰/۰۳۲	۰/۰۱۶
٪۲۰	۰/۰۰۸۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۹۲	۰/۰۱۵
میانگین	۰/۰۴۶	۰/۰۱۲	۰/۱۹	
	سولفات کلسیم	کربنات کلسیم	سولفات کلسیم × کربنات کلسیم	
LSD (۰/۰۵)	۰/۰۱۲	۰/۱۳۸	۰/۲۴۰	



شکل ۱. نیمرخ جذب باکتری در ستون‌های شن: الف) با مقادیر مختلف سولفات کلسیم (بدون کربنات کلسیم)، ب) با مقادیر مختلف کربنات کلسیم (بدون سولفات کلسیم)، ج) با ۱۰٪ سولفات کلسیم و با مقادیر مختلف کربنات کلسیم د) با ۵٪ سولفات کلسیم و با مقادیر مختلف کربنات کلسیم،

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]



شکل ۲. اثر تیمارهای آزمایشی بر ضریب پالایش (λ_f) باکتری در ستون‌های شن

برای مقادیر ۱۰٪ و ۲۰٪ کربنات کلسیم در مقایسه با مقدار ۵٪ کربنات کلسیم مشاهده شد که می‌تواند به دلیل عدم استخراج کل باکتری در این لایه‌ها و یا وجود شرایط نامناسب برای زنده ماندنی باکتری‌ها و در نتیجه مرگ و میر آنها باشد.

در تیمارهای سولفات کلسیم پدیده اثر یون مشترک اتفاق می‌افتد و با توجه به تشکیل بیشتر زوج یونی $CaSO_4^\circ$، انحلال‌پذیری کربنات کلسیم در حضور سولفات کاهش می‌یابد. تیمار ۱۰٪ سولفات کلسیم نسبت به تیمار ۵٪ سولفات کلسیم در ترکیب با مقادیر مختلف کربنات کلسیم ، پالایش باکتری کمتری را نشان داد (شکل‌های ۱- ج و۱- د).

ضریب پالایش باکتری (λ_f)

همان‌طوری که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، ضریب پالایش باکتری (λ_f) برای تیمارهای بدون سولفات کلسیم، با افزایش میزان کربنات کلسیم روند افزایشی را نشان می‌دهد. تیمارهای ۵ و ۱۰ درصد سولفات کلسیم دارای λ_f تقریباً یکسانی بودند. با افزایش مقدار کربنات کلسیم در ترکیب با مقادیر ۵ و ۱۰ درصد سولفات کلسیم، λ_f با روند یک‌نواختی افزایش می‌یابد. اگر چه انحلال سولفات کلسیم در افزایش قدرت یونی محلول و در نتیجه پالایش بیشتر باکتری نقش داشت ولی احتمالاً حل شدن و خروج این کانی از محیط در انتقال بیشتر باکتری به خارج از ستون‌ها نیز مؤثر می‌باشد. ضریب پالایش در تیمارهای کربنات کلسیم در ترکیب با سولفات کلسیم کاهش یافته است. حل شدن و خروج سولفات کلسیم از یک سو و رسوب آن روی ذرات کربنات کلسیم از سوی دیگر از پالایش بیشتر باکتری می‌کاهد. هم‌چنین با حل شدن سولفات کلسیم، غلظت یون SO_4^{--} در محیط افزایش یافته که می‌تواند با باکتری برای جذب روی مکان‌های دارای بار مثبت رقابت کند.

نتیجه‌گیری

وجود ۷/۵ درصد کربنات کلسیم، مقادیری آهن و آلومینیوم به ریخت‌های بلوری و به ویژه بی‌شکل و هم‌چنین پالایش فیزیکی می‌تواند از عوامل مهم پالایش باکتری در شن مورد استفاده باشد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که کربنات کلسیم به‌طور معنی‌دار و قابل توجهی توان پالایش خاک را افزایش می‌دهد. علاوه بر اثر پالایش سطحی و قدرت یونی تیمارهای سولفات کلسیم و کربنات کلسیم، افزایش اعوجاج منافذ در اثر افزودن آنها و در نتیجه کاهش سرعت آب منفذی می‌توانند در

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

کاهش انتقال و در نتیجه پالایش بیشتر باکتری در مقایسه با تیمار شاهد مهم باشند.

حلالیت کمتر و وجود سطوح پالایشی زیاد کربنات کلسیم و تأثیر قدرت یونی بیشتر در تیمارهای سولفات کلسیم را می‌توان به‌عنوان فاکتورهای مهم و مؤثر بر انتقال باکتری در این دو تیمار دانست. بررسی پارامتر ضریب پالایش باکتری نشان از اثر این دو تیمار بر انتقال باکتری در شرایط رطوبتی اشباع داشت. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که خاک‌های دارای کانی‌های کربناته و سولفاته به خوبی قادر به پالایش میکروبی در شرایط رطوبتی اشباع بوده و در امور تصفیه‌ای و بهداشتی قابل استفاده می‌باشند. به خاطر مقادیر زیاد و اهمیت سولفات کلسیم و به ویژه کربنات کلسیم در خاک‌های کشور جا دارد پژوهش‌های بیشتری در این زمینه به ویژه در شرایط طبیعی و در محل صورت گیرد.

سپاسگزاری

بخشی از هزینه‌های این پژوهش توسط دانشگاه بوعلی سینا همدان و بخشی از طریق طرح شماره ۸۴۱۴۷ صندوق حمایت از پژوهش‌گران کشور پرداخت شده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱. صفری سنجانی، ع. ا. ۱۳۸۲. *بیولوژی و بیوشیمی خاک*. انتشارات دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان.

2. Bales, R. C., S. Li, K. M. Maguire, M. T. Yahya, C. P. Gerba and R. W. Harvey. 1995. Virus and bacterial transport in a sandy aquifer. Ground Water 33(4): 653-661.
3. Bitton, G., N. Lahav and Y. Henis. 1974. Movement and retention of *Klebsiella aerogenes* in soil columns. Plant Soil 40: 373-380.
4. Camper, A. K., J. T. Hayes, P. J. sturman, W. L. Jones and A. B. Cunningham. 1993. Effects of motility and adsorption rate coefficient on transport of bacteria through saturated porous media. Appl. Environ. Microbiol. 59(10): 3455-3462.
5. David, K. P. and A. L. Mills. 2001. Transport of *Escherichia coli* in sand columns with constant and changing water contents. J. Environ. Qual. 30: 238-245.
6. Goldschmidt, J., D. Zohar, Y. Argamon and Y. Kott. 1973. Effects of dissolved salts on the filtration of coliform bacteria in sand dunes. *In*: S. H. Jenkins (Ed.), Advances in Water Pollution Research, Pergamon Press, NY.
7. Hurst, C. J., G. R. Knudsen, M. J. McInerney, L. D. Stetzenback and M. V. Walters. 1997. Manual of Environmental Microbiology. Am. Soc. Microbiol. Washington, D. C.
8. Jewett, D. C., T. A. Hibert, B. E. Logan, R. C. Arnold and R. C. Bales. 1995. Bacterial transport in laboratory columns and filters: Influence of ionic strength and pH on collision efficiency. Water. Resour. Res. 7: 1673-1683.
9. Klute, A. and C. Dirksen. 1986. Hydraulic conductivity and diffusivity: laboratory methods. PP. 687– 734. *In*: A. Klute (Ed.), Methods of Soil Analysis: Part I. Physical and Mineralogical Methods, 2nd ed., Agronomy Monograph, ASA, WI.
10. Lance, J. C. and C. P. Gerba. 1984. Virus movement in soil during saturated and unsaturated flow. Appl. Environ. Microbiol. 47: 335-337.
11. Linda, L., C. Rehmann and C. Welty. 1999. Stochastic analysis of virus transport in aquifers. Wate. Resour. Res. 35 (7): 1987-2006.
12. Pieper, A. P., J. N. Ryan, R. W. Harvey, G. L. Amy, T. H. Illangasekare and D. W. Metage. 1997. Transport and recovery of bacteriophage PRD1 in an unconfined sand aquifer: Effect of sewage-derived organic matter. Environ. Sci. Technol. 31: 1163-1170.
13. Scholl, M. A., A. L. Mills, J. S. Herman and G. M. Hornberger. 1990. The influence of mineralogy and solution chemistry on the attachment of bacteria to representative aquifer minerals. J. Contamin. Hydrol. 6: 321-336.
14. Toride, N., F. J. Leij and M. Th. Van Genuchten. 1999. The CXTFIT code for estimating transport parameters from laboratory or field tracer experiments. Res. Rep. No. 137، U. S. Salinity Lab., USDA, ARS, Riverside, CA.
15. Unc, A. and M. J. Goss. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. Water Air Soil Pollut. 149: 327-337.
16. Van Elsas, T. J. D. and L. S. Van Overbook. 1991. Influence of soil properties on the vertical movement of

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]

genetically-marked *Pseudomonas fluorescens* through large soil microcosms. Biol. Fertil. Soils 10: 249-255.
17. Warnemuende, E. and R. S. Kanwar. 2002. The effect of swine manure application on bacterial quality of leachate from intact soil columns. Trans. ASAE. 45(6): 1849-1857.
18. Wollum, A. G. and D. K. Cassel. 1978. Transport of microorganisms in sandy columns. Soil Sci. Soc. Am. J. 42: 72-76.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.44.8.8]