

## اثر مقادیر مختلف کربنات و سولفات کلسیم بر حرکت باکتری سودوموناس فلورسنس در ستون‌های شنی غیر اشباع

### چکیده

در سالهای اخیر حرکت باکتری‌های بیماریزا در خاک به عنوان عاملی در آلودگی آبهای سطحی و زیرزمینی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. خاک با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خود عامل مهمی در انتقال و پالایش باکتری‌ها محسوب می‌شود. کربنات کلسیم و سولفات کلسیم دو کانی مهم خاک در مناطق خشک و نیمه خشک هستند که تأثیر آنها بر حرکت باکتری‌ها در خاک مورد بررسی قرار نگرفته است. در این پژوهش اثر کربنات کلسیم با مقادیر صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد و سولفات کلسیم با مقادیر صفر، ۵ و ۱۰ درصد (در مخلوط با شن) بر حرکت باکتری سودوموناس فلورسنس در ستون‌های شنی با شرایط رطوبتی غیر اشباع بررسی شد. طرح مورد استفاده، فاکتوریل دو فاکتوره در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بود. مخلوط‌های مذکور را در سیلندره‌های پیرکس به طول و قطر به ترتیب ۲۰ و ۷ سانتیمتر ریخته و شرایط ماندگار جریان غیر اشباع در آنها ایجاد شد. سپس سوسپانسیون با غلظت ۱۰ و ۶ باکتری سودوموناس فلورسنس در سانتیمتر مکعب به صورت تزریق پله‌ای روی ستون‌ها اعمال شد. غلظت باکتری در سوسپانسیون خروجی تا حجم تجمعی خروجی ۵ برابر حجم آب منفذی (PV) اندازه‌گیری شد. مقدار کربنات کلسیم و سولفات کلسیم بر میزان باکتری خروجی مؤثر بودند. بیشترین میزان خروجی باکتری مربوط به نمونه شاهد (شن) و کمترین میزان خروجی مربوط به سطح ۲۰ درصد کربنات کلسیم بود. افزایش مقدار کربنات کلسیم سبب کاهش معنی‌دار میزان خروج باکتری از ستون‌های شن شد. اثر کربنات کلسیم بر آلودگی زه‌آب ستون‌ها در حجم‌های آب خروجی ۰/۵PV، ۰/۱PV، ۰/۲/۵PV و ۰/۵PV در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شد، ولی اثر تیمار سولفات کلسیم برای هیچ یک از حجم‌های آب خروجی در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار نشد. منحنی‌های رخنه بخوبی نشان‌دهنده کاهش میزان خروج باکتری با افزایش مقدار سولفات کلسیم و بویژه کربنات کلسیم بود. نتایج این تحقیق حاکی از قدرت بالای کانی‌های کربناته و سولفاته در پالایش باکتری‌های بیماری‌زاست، به طوری که می‌توانند موجب کاهش انتقال باکتری و آلودگی آبهای زیرزمینی شوند.

### کلیدواژه

کربنات کلسیم - سولفات کلسیم - حجم آب منفذی - منحنی رخنه - سودوموناس فلورسنس - شرایط جریان غیر اشباع

### سر آغاز

است. عدم استفاده صحیح از کودهای دامی در بیشتر کشورها آلودگی‌هایی را به همراه داشته است. همچنین دفع نامناسب و کاربرد غیر اصولی فاضلاب‌ها نیز به این مشکلات افزوده است. در بین انواع ریزجانداران، باکتری‌های بیماری‌زای گوناگونی وجود دارند که به روش‌های مختلف از جمله دفع نامناسب فاضلاب‌های شهری و صنعتی و استفاده نامناسب از

در بسیاری از کشورها، آلودگی آبهای سطحی و زیرزمینی به دلیل استفاده نادرست از این منابع موجب نگرانی‌های زیادی شده است. به طوری که آلودگی‌های آبهای سطحی و زیرزمینی در گستره وسیعی از جهان، زندگی انسان و سایر جانداران را با خطر مواجه کرده

نمود جریان ترجیحی در خاکهای سنگین) راحت‌تر صورت می‌گیرد. یکی از عوامل مؤثر بر جذب باکتری‌ها در خاک، سطح ویژه ذرات تشکیل دهنده خاک است. معمولاً هر چه سطح ویژه ذرات خاک بیشتر باشد، میزان جذب باکتری بیشتر خواهد بود. خاکهای با بافت سنگین به خاطر داشتن سطح ویژه بیشتر و با توجه به نوع غالب کانی‌های تشکیل دهنده، توانایی بیشتری در جذب باکتری‌ها دارند. علاوه بر سطح ویژه، وجود ذرات با اندازه بزرگتر می‌تواند موجب پیدایش منافذ درشت و جریان ترجیحی در خاک شود که خروج باکتری‌ها از خاک را افزایش می‌دهد. جریان از درون منافذ درشت و پیوسته و کانال‌ها، جریان‌های انگشت مانند، مجاری حاصل از فعالیت جانوران خاکزی، کانال‌های ریشه‌های قدیمی، خاک‌ورزی و تغییرات فیزیکی ساختمان خاک (انقباض و انبساط) از عوامل مهم ایجاد جریان‌های ترجیحی‌اند. Buchter, et al., 1966) عامل انتقال سریع آلاینده‌ها در خاک‌های غیراشباع را جریان ترجیحی دانستند. ذرات خاک با توجه به نوع بار الکتریکی، می‌توانند در جذب، یا دفع باکتری مؤثر باشند. نوع و مقدار بار الکتریکی ذرات خاک تعیین‌کننده نوع و قدرت جذب گونه‌های مختلف در خاک است.

بار الکتریکی خالص بیشتر باکتری‌ها، منفی است. بنابراین در خاکهای که بار وابسته به pH دارند، در pH های پایین جذب بیشتری از باکتری‌ها در خاک پیش‌بینی می‌شود (Goldschmidt, et al., 1973). با بررسی تأثیر pH بر حرکت باکتری‌ها در خاک به این نتیجه رسیدند که در pH های خنثی تا اسیدی در مقایسه با شرایط قلیایی، جذب باکتری‌ها بر روی سطوح ذرات خاک بیشتر صورت می‌گیرد. PH خاک بر pH آب نفوذی در خاک تأثیر می‌گذارد. با توجه به این‌که باکتری‌ها بیشتر در pH خنثی تا اسیدی زندگی می‌کنند، تأثیر pH بر جذب باکتری‌ها به ویژگی‌های خاک نیز بستگی دارد (Abu-Ashour, et al., 1988). معمولاً سطوح با بار مثبت دارای توان جذب باکتری بیشتری نسبت به سطوح با بار منفی‌اند (Scholl et al., 1990). از دیگر عوامل مهم و مؤثر بر انتقال باکتری‌ها در محیط‌های متخلخل، اندازه و چگالی آنهاست (Camper, et al., 1993 & Macleod, et al., 1988). کاهش اندازه باکتری‌ها سبب کاهش پالایش فیزیکی و افزایش انتقال آنها می‌شود (Reynolds, et al., 1989). سرعت جریان آب عامل مهمی در انتقال باکتری است، به طوری که کاهش سرعت نیوتونی عامل مهمی در کاهش میزان انتقال باکتری در محیط‌های متخلخل محسوب می‌شود. چرا که، داریم:

کودهای دامی در کشاورزی، می‌توانند باعث آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی و شیوع انواع بیماری‌های عفونی شوند (Gerba, 1985). چگونگی انتقال باکتری‌ها در محیط‌های متخلخل و عوامل مؤثر بر آن موضوع پژوهش‌های فراوانی در سالهای اخیر شده است. پژوهش‌های زیادی در مورد انتقال و سرنوشت ریزجانداران در محیط‌های متخلخل به منظور شناخت عوامل آلوده‌کننده و مؤثر بر شیوع بیماری‌ها صورت گرفته است (Tan, et al., 1991). عوامل مختلفی بر انتقال باکتری‌ها در نیمرخ خاک مؤثرند، از جمله این عوامل، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، عوامل اقلیمی و ویژگی باکتری‌ها مانند اندازه، نوع و توانایی حرکت باکتری در سیال هستند. خاک می‌تواند به عنوان پالاینده عمل کرده و بر انتقال باکتری‌ها تأثیر بگذارد (Jewet & et al., 1995; Unc & Goss, 2003). ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و محیط‌های متخلخل مانند pH، تخلخل، سرعت جریان آب، ویژگی‌های منافذ درشت، ماده آلی، بافت، دما، شرایط رطوبتی، قدرت جذبی و مقدار عناصر غذایی بر مقدار جذب و انتقال باکتری‌ها در خاک و محیط‌های متخلخل اثر می‌گذارند.

در پژوهش‌های انجام شده در مورد حرکت باکتری‌ها در خاک، به تأثیر ویژگی‌هایی مانند میزان رطوبت خاک توجه زیادی شده است. در مطالعه‌ای که (David, et al., 2001) روی حرکت باکتری سودوموناس فلورسنس در ستون‌های شن (کوارتز) با شرایط رطوبتی مختلف انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که هر چه میزان رطوبت به شرایط اشباع نزدیک‌تر باشد حرکت باکتری راحت‌تر صورت می‌گیرد. آنها مشاهده کردند که در شرایط رطوبتی اشباع و نزدیک به اشباع، میزان جذب باکتری در طول ستون‌های شن کاهش می‌یابد. مقدار باکتری استخراج شده بیشتر در قسمت‌های بالایی ستون‌ها مبین غالب بودن پالایش فیزیکی در نگهداری باکتری در ستون‌های شن بود. (Van elsas, et al., 1991) نیز اثر رطوبت بر میزان انتقال باکتری سودوموناس فلورسنس سویه R2f را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که در محیط‌هایی که میزان رطوبت کمتر از اشباع است، انتقال باکتری‌ها کمتر صورت می‌گیرد (Bitton, et al., 1974). عامل مهم مؤثر بر حرکت باکتری کلبسیلا آبروژنز در خاک شنی را میزان رطوبت آن دانستند.

از جمله عوامل مهم مؤثر بر انتقال باکتری، بافت و توزیع اندازه ذرات خاک است. نتایج (Jang, et al., 1983) نشان داد که حرکت باکتری‌ها در خاکهای سبک نسبت به خاک‌های سنگین (در صورت

( تعیین شد. تخلخل کل نیز با داشتن مقادیر چگالی حقیقی و چگالی ظاهری محاسبه شد.

### تهیه و استقرار ستون‌های آبشویی

برای تهیه ستون‌های آزمایشی از سیلندره‌های پیرکس به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۷ سانتی‌متر استفاده شد. سیلندرها به آرامی و با دقت از مخلوط‌های مورد نظر که قبلاً به صورت یکنواخت آمیخته شده بودند تا ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر پر شدند.

ستون‌ها از پایین به وسیله 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 استرون شدند. شرایط جریان ماندگار غیراشباع با شدت جریان مشابه در تمامی ستون‌های آزمایشی استفاده شد.

برای این کار شدت جریانی ( $4/65 \text{ cm h}^{-1}$ ) برابر با نصف کمترین KS اندازه‌گیری شده در بین تیمارهای مختلف (یعنی تیمار ۲۰٪ کربنات کلسیم و ۱۰٪ سولفات کلسیم، رجوع به جدول شماره ۱) در تمامی ستون‌های آبشویی اعمال شد.

### باکتری مورد استفاده

باکتری مورد استفاده در این پژوهش، سویه سودوموناس فلورسنس بود. این باکتری از جمله باکتری‌های گرم منفی با دو تاژک قطبی و قدرت تحرک بالاست که در خاک و بسیاری از محیط‌های دیگر قادر به رشد است. این باکتری از جنبه کشاورزی، آلودگی و تجزیه آلاینده‌ها دارای اهمیت ویژه‌ای است.

انتقال سویه‌های بیماریزای باکتری سودوموناس فلورسنس از نیمرخ خاک و ورود آن به آبهای زیرزمینی از جنبه آلودگی محیط زیست واجد اهمیت است. همچنین سویه‌های دیگر این باکتری در کشاورزی و رفع آلودگی‌های لایه‌های زیرین خاک اهمیت دارند. این باکتری در محیط‌های کشت King B و SI خالص‌سازی شد. در محیط کشت SI مدت ۷-۱۰ روز طول کشید تا باکتری رشد کند. برای استفاده از باکتری به صورت سوسپانسیون، باکتری به درون محیط مایع NB با قدرت نگهداری باکتری منتقل شد. غلظت مورد استفاده در تمام سوسپانسیون‌های مصرفی  $10^6$  باکتری در سانتی‌متر مکعب (cfu  $\text{cm}^{-3}$ ) بود که از محیط مایع NB ساخته شد.

غلظت ورودی ( $C_0$ ) برای تمامی تیمارهای آزمایشی یکسان و در طول آزمایش‌های آبشویی ثابت (تزریق پله‌ای) در نظر گرفته شد. برای تمام آزمایش‌های آبشویی علاوه بر کشت، از لام هموسیتومتر و میکروسکوپ نوری نیز برای تعیین  $C_0$  استفاده شد.

$$\bar{V} = \frac{q}{\theta}$$

در این معادله:

$\bar{V}$ : سرعت متوسط آب منفذی (سرعت ظاهری یا نیوتونی)،

q: شدت جریان داری و

$\theta$ : مقدار رطوبت حجمی است.

خاکهای بسیاری از نواحی خشک و نیمه خشک از جمله ایران دارای مقادیر چشمگیری کانی‌های کربنات کلسیم و سولفات کلسیم هستند (Al-Raw, et al., 1969) مؤسسه بررسی و نقشه‌برداری از خاکهای آهکی و گچی، ۱۹۵۱.

اطلاعات چندانی در مورد تأثیر این دو کانی بر انتقال باکتری‌ها در خاک وجود ندارد. این پژوهش اثر این دو کانی بر فرایند حرکت باکتری سودوموناس فلورسنس در ستون‌های شنی با شرایط رطوبتی غیر اشباع را بررسی می‌کند.

### مواد و روش‌ها

#### مواد مورد استفاده

این پژوهش در شرایط آزمایشگاهی روی ستون‌های شنی انجام گرفت. بستر ساخت ستون‌های آزمایشی شن ساحلی بود. شن مورد استفاده فاقد ماده آلی، ولی دارای ۷/۵ درصد کربنات کلسیم و به ترتیب ۲/۱ و ۸/۳۴ گرم بر کیلوگرم آهن بی‌شکل و بلوری و به ترتیب ۰/۳۲ و ۱/۱ گرم بر کیلوگرم آلومینیوم بی‌شکل و بلوری بود. تیمارهای آزمایشی شامل درصدهای مختلف وزنی کربنات کلسیم (تولیدی شرکت مرک) (صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) و سولفات کلسیم (صفر، ۵ و ۱۰ درصد) بود که با شن مخلوط شد.

اندازه ذرات شن، کربنات کلسیم و سولفات کلسیم در دامنه  $0/15-0/25 \text{ mm}$  انتخاب شد. بدین منظور ابتدا به کربنات کلسیم و سولفات کلسیم پودری، آب اضافه شد و پس از خشک و جامد شدن، آسیاب و اندازه ذرات در دامنه ذکر شده با الک جدا شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مخلوط‌های آزمایشی در جدول شماره ۱) ذکر شده است.

در تیمارهای آزمایشی جرم مخصوص حقیقی به روش پیکنومتر و جرم مخصوص ظاهری با در نظر گرفتن جرم خشک و حجم مخلوط‌ها در سیلندرها محاسبه شد.

pH مخلوط‌ها با استفاده از دستگاه پی‌اچ متر دیجیتال مدل متروم رسانایی الکتریکی آنها با رسانایی سنج نوع دیجیتال مدل متروم، در نسبت‌های ۵:۱ مخلوط به آب و ضریب آگذری اشباع (KS) آنها به روش آزمایشگاهی بار ثابت (Dirksen, & Klute, 1986)

جدول شماره (۱): برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مخلوط‌های مورد استفاده

تخلخل کل (% $\frac{V}{V}$ )	ضریب‌آبگذری اشباع ( $\text{cm h}^{-1}$ )	چگالی ظاهری ( $\text{Mg m}^{-3}$ )	چگالی حقیقی ( $\text{Mg m}^{-3}$ )	هدایت الکتریکی ( $\text{dS m}^{-1}$ )	pH	درصد وزنی در مخلوط	
						CaSO <sub>4</sub>	CaCO <sub>3</sub>
۴۴/۵	۹۷/۲	۱/۴۸	۲/۶۷	۰/۰۶	۷/۱	۰	۰
۴۷/۰	۵۸/۰	۱/۴۳	۲/۷۰	۲/۷۷	۷/۰	۵	۰
۴۸/۷	۵۳/۴	۱/۳۸	۲/۶۹	۲/۹۶	۷/۲	۱۰	۰
۴۷/۳	۳۶/۳	۱/۳۷	۲/۶۰	۰/۱۲	۷/۸	۰	۵
۴۸/۶	۲۴/۵	۱/۳۳	۲/۵۹	۲/۱۹	۷/۱	۵	۵
۴۸/۸	۱۶/۵	۱/۳۳	۲/۶۰	۲/۲۸	۷/۳	۱۰	۵
۴۶/۱	۴۵/۴	۱/۳۱	۲/۴۳	۰/۱۱	۷/۶	۰	۱۰
۴۹/۶	۱۲/۲	۱/۳۳	۲/۶۴	۲/۱۹	۷/۲	۵	۱۰
۵۲/۷	۱۱/۳	۱/۲۲	۲/۵۸	۲/۳۹	۷/۲	۱۰	۱۰
۵۱	۴۰/۷	۱/۱۹	۲/۴۲	۰/۲۲	۸/۱	۰	۲۰
۵۳/۵	۱۱/۱	۱/۲۰	۲/۵۸	۲/۲۵	۷/۰	۵	۲۰
۵۶/۴	۹/۳	۱/۱۲	۲/۵۷	۲/۵۸	۷/۲	۱۰	۲۰
—	—	—	—	۳/۴۷	۶/۸	CaSO <sub>4</sub> خالص	
—	—	—	—	۰/۲۷	۸/۲	CaCO <sub>3</sub> خالص	

### آزمایش‌های آبشویی

مرزی محدود بود. این شرایط معمولاً برای سیستم‌هایی که طول مسیر انتقال، محدود و مشخص دارند (مانند ستون‌های آزمایشگاهی) استفاده می‌شود.

شرایط اولیه سیستم برای انتقال باکتری طوری ایجاد شد که غلظت باکتری در طول ستون‌های آزمایشی ثابت و برابر صفر بود. برای ایجاد این شرایط، ستون‌ها قبل از شروع آزمایش‌های آبشویی در درون اتوکلاو قرار داده شدند تا با دمای مرطوب ۱۲۱ درجه سانتیگراد و با فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه کاملاً استرون شده و محیط عاری از هر نوع موجود زنده شوند.

سپس به مقدار ۵ برابر حجم آب منفذی (PV) ستون‌ها، سوسپانسیون باکتری برای آبشویی مصرف شد. در حین آبشویی، از سوسپانسیون خروجی ستون‌ها به مقدار  $0/5\text{cm}^3$  در ۲۰ زمان مشخص (با فواصل  $25\text{PV}$ ) نمونه‌گیری شد.

نمونه‌های برداشت‌شده پس از رقیق‌سازی در محیط NA کشت و تعداد باکتری آنها شمارش شد. سپس غلظت باکتری در سوسپانسیون

همان‌طوری که گفته شد پس از استقرار ستون‌های آبشویی و ابقای شرایط جریان غیراشباع ماندگار، تزریق باکتری به صورت پله‌ای صورت گرفت. برای این منظور برای جلوگیری از اشباع شدن انتهای نمونه‌ها (ستون‌ها)، توسط پمپ خلاء مکشی در کف نمونه‌ها اعمال شد. سپس سوسپانسیون باکتری با شدت جریان ( $\text{cm h}^{-1}$ ) ۴/۶۵ از طریق مخزن اصلی روی تمامی ستون‌ها اعمال شد. در طول آزمایش شرایط مرزی نوع اول برقرار شد. در این شرایط، سوسپانسیون از مخزنی که بخوبی مخلوط شده و دارای غلظت ثابتی است به صورت پیوسته به سطح ستون خاک می‌رسد و سیستم هیچ اثری روی مخزن و غلظت ورودی ندارد. هر چند در واقع به علت وجود پخشیدگی و انتشار در سیستم (ناشی از متفاوت بودن غلظت در محل ورودی با دیگر نقاط سیستم) یک لایه مرزی به وجود می‌آید. شرایط مرز خروجی اعمال شده به سیستم از نوع شرایط

$C/C_0$  در هیچ کدام از حجم‌های آب خروجی در سطح ۱۰ درصد نیز معنی‌دار نشد. اثر متقابل تیمارها (کربنات کلسیم  $\times$  سولفات کلسیم) در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. افزایش قدرت یونی محلول، بویژه برای مخلوط‌های دارای سولفات کلسیم (حاصلضرب‌های حلالیت سولفات کلسیم و کربنات کلسیم به ترتیب برابر ۵-۱۰ $\times$ ۲/۶ و ۹-۱۰ $\times$ ۴/۸ هستند)، افزایش سطوح جذب و کاهش سرعت نیوتونی می‌تواند از دلایل اثر برای معنی‌دار کربنات کلسیم بر حرکت باکتری باشند. در حالی‌که در تیمار سولفات کلسیم به دلیل محدود شدن منافذ انتقال در اثر حلالیت بیشتر آن، اثر معنی‌داری مشاهده نشد. رقابت آنیون‌های موجود در محلول (سولفات و کربنات) با باکتری برای جذب روی سطوح جذبی نیز عامل مهمی در حرکت و پالایش آن محسوب می‌شود.

### اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت باکتری خروجی در حجم‌های آب خروجی مختلف

اثر کربنات کلسیم و اثر متقابل کربنات کلسیم  $\times$  سولفات کلسیم بر غلظت نسبی باکتری در حجم‌های زه‌آب خروجی ۰/۲۵PV، ۰/۵PV، ۱PV، ۲/۵PV و ۵PV در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار بود، در حالی‌که برای تیمار سولفات کلسیم در تمامی حجم‌های زه‌آب خروجی ذکر شده اثر معنی‌داری مشاهده نشد. اثر متقابل کربنات کلسیم  $\times$  سولفات کلسیم در حجم‌های آب خروجی ۰/۲۵PV، ۱PV و ۵PV در سطح آماری ۱ درصد و حجم‌های آب خروجی ۰/۵PV و ۲/۵PV در سطح آماری ۱۰ درصد معنی‌دار شد (جدول شماره ۲).

خروجی (C) بر اساس تعداد باکتری در واحد حجم ( $cfu\ cm^{-3}$ ) محاسبه شد.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

طرح آزمایشی مورد استفاده، فاکتوریل با دو فاکتور مقدار کربنات کلسیم و سولفات کلسیم در مخلوط‌های شنی و 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 غلظت نسبی باکتری خروجی ( $C/C_0$ ) در حجم‌های آب خروجی ۰/۲۵PV، ۰/۵PV، ۱PV، ۲/۵PV و ۵PV بود. مقایسه میانگین‌ها به روش LSD انجام گرفت. منحنی رخنه (BTC) باکتری به صورت  $\text{Log}(C/C_0)$  در برابر حجم آب خروجی به عنوان کسری از PV با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شد.

### نتایج و بحث

تجزیه واریانس اثر تیمارهای کربنات کلسیم و سولفات کلسیم و اثر متقابل آنها بر غلظت نسبی باکتری خروجی ( $C/C_0$ ) در حجم‌های آب خروجی مختلف در جدول شماره (۲) نشان داده شده است.

اثر مقدار کربنات کلسیم بر ( $C/C_0$ ) زه‌آب خروجی در حجم‌های آب خروجی ۰/۲۵PV، ۰/۵PV، ۱PV، ۲/۵PV و ۵PV در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شد. در حالی‌که اثر مقدار سولفات کلسیم بر

جدول شماره (۲): تجزیه واریانس اثر تیمارهای سولفات کلسیم و کربنات کلسیم بر غلظت نسبی باکتری خروجی ( $C/C_0$ )

#### در حجم‌های آب خروجی مختلف (PV)

نسبت F					درجه آزادی	منبع تغییر
۰PV	۲/۵PV	۱PV	۰/۵PV	۰/۲۵PV		
۰/۹۳	۰/۵۹	۱/۸۸	۰/۳۵	۲/۱۲	۲	سولفات کلسیم
۱۲/۳۸**	۵/۹۳**	۱۳/۵۶**	۶/۶۳**	۴۲/۲۶**	۳	کربنات کلسیم
۵/۰۸**	۲/۰۹†	۴/۴۸**	۲/۰۶†	۱۳/۶۹**	۱۱	کربنات کلسیم $\times$ سولفات کلسیم

§.  $\times\times$  و † به ترتیب نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار در سطوح آماری ۱ و ۱۰ درصد هستند.

<۲۰٪ کربنات کلسیم (میانگین همه تیمارهای شن با سولفات کلسیم) بود. اثر متقابل تیمارها (کربنات کلسیم  $\times$  سولفات کلسیم) بر  $C/C_0$  در ۰/۲۵PV در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار شد. تیمار ۱۰٪ کربنات

در ۰/۲۵PV، میانگین ( $C/C_0$ ) زه‌آب حاصل از تیمارهای کربنات کلسیم به ترتیب ۰٪ (شن بدون کربنات کلسیم)  $< ۵\%$   $< ۱۰\%$

سولفات کلسیم) بود. تیمار شاهد (بدون کربنات کلسیم و سولفات کلسیم) بیشترین اثر افزایشی را بر حرکت باکتری نشان داد، ولی در سطح آماری ۱۰ درصد بین تیمارهای سولفات کلسیم اختلاف معنی داری از نظر  $C/C_0$  مشاهده نشد. اثر متقابل تیمارها (کربنات کلسیم  $\times$  سولفات کلسیم) نشانگر میزان عبور بیشتر باکتری در تیمار ۵٪ کربنات کلسیم در ترکیب با ۱۰٪ سولفات کلسیم نسبت به تیمارهای ترکیبی دیگر بود (جدول شماره ۴).

کلسیم در ترکیب با ۵٪ سولفات کلسیم دارای بیشترین غلظت باکتری در زه آب خروجی بود (جدول شماره ۳) در حجم آب خروجی ۰/۵PV، اثر مقادیر مختلف کربنات کلسیم و اثر متقابل کربنات کلسیم  $\times$  سولفات کلسیم بر  $(C/C_0)$  به ترتیب در سطوح آماری ۱ و ۱۰ درصد معنی دار بود ولی برای تیمار سولفات کلسیم اثر معنی داری مشاهده نشد.  $(C/C_0)$  حاصل از تیمارهای کربنات کلسیم به ترتیب ۰٪ (شن بدون کربنات کلسیم)  $< ۱۰\% < ۲۰\%$  کربنات کلسیم (میانگین همه تیمارهای

**جدول شماره (۳): مقایسه میانگین اثر تیمارهای سولفات کلسیم و کربنات کلسیم بر غلظت نسبی باکتری زه آب ( $C/C_0$ ) در حجم آب خروجی ۰/۲۵PV**

منبع تغییر کربنات	سولفات کلسیم			میانگین
	+	۵٪	۱۰٪	
۰	۰/۰۰۰۲۱	۰/۰۰۰۱۴	۰/۰۰۰۰۸۹	۰/۰۰۰۱۵
۵٪	۰/۰۰۰۰۱۵	۰/۰۰۰۰۴۵	۰/۰۰۰۰۱۵	۰/۰۰۰۰۱۲
۱۰٪	۰/۰۰۰۰۰۴۳	۰/۰۰۰۰۲۵	۰/۰۰۰۰۱۴	۰/۰۰۰۰۱۳
۲۰٪	۰/۰۰۰۰۰۰۹	۰/۰۰۰۰۰۱۳	۰/۰۰۰۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۰۱۹
میانگین	۰/۰۰۰۰۵۷	۰/۰۰۰۰۴۳	۰/۰۰۰۰۰۳	
(۰/۰۵) LSD	۰/۰۰۰۰۲۷	۰/۰۰۰۰۳۱	۰/۰۰۰۰۵۳	کربنات کلسیم $\times$ سولفات کلسیم

**جدول شماره (۴): مقایسه میانگین اثر تیمارهای سولفات کلسیم و کربنات کلسیم بر غلظت نسبی باکتری زه آب ( $C/C_0$ ) در حجم آب خروجی ۰/۵PV**

منبع تغییر کربنات کلسیم	سولفات کلسیم			میانگین
	+	۵٪	۱۰٪	
۰	۰/۰۰۰۲۵	۰/۰۰۰۱۴	۰/۰۰۰۲۹	۰/۰۰۰۲۳
۵٪	۰/۰۰۰۰۳۸	۰/۰۰۰۰۱۶	۰/۰۰۰۰۳۶	۰/۰۰۰۰۳
۱۰٪	۰/۰۰۰۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۱۸	۰/۰۰۰۰۱۷
۲۰٪	۰/۰۰۰۰۰۲۷	۰/۰۰۰۰۰۲۹	۰/۰۰۰۰۰۳۱	۰/۰۰۰۰۰۲۹
میانگین	۰/۰۰۰۰۷۴	۰/۰۰۰۰۴۷	۰/۰۰۰۰۸۷	
(۰/۰۵) LSD	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۲	کربنات کلسیم $\times$ سولفات کلسیم

کربنات کلسیم بود (جدول شماره ۵). تفاوت میانگین  $(C/C_0)$  تیمار شن بدون کربنات کلسیم با تیمارهای دارای کربنات کلسیم در سطح آماری ۱ درصد معنی دار بود. کاهش سرعت نیوتونی به دلیل رطوبت بالای تیمارهای مذکور می تواند در کاهش انتقال باکتری در مقایسه با

در حجم آب خروجی ۱PV، اثر کربنات کلسیم و اثر متقابل کربنات کلسیم  $\times$  سولفات کلسیم بر  $(C/C_0)$  در سطح آماری ۱ درصد معنی دار شد (جدول شماره ۲). میانگین غلظت نسبی باکتری حاصل از تیمارهای کربنات کلسیم (میانگین همه تیمارهای سولفات کلسیم) به ترتیب ۰٪ (شن بدون کربنات کلسیم)  $< ۱۰\% < ۲۰\%$

تیمارشن مهم باشد. تجزیه واریانس داده‌ها (جدول شماره ۲) نشان می‌دهد که در ۱PV، اثر سولفات کلسیم بر آلودگی زه‌آب معنی‌دار نبود.

### جدول شماره (۵): مقایسه میانگین اثر تیمارهای کربنات کلسیم و سولفات کلسیم بر غلظت نسبی باکتری زه‌آب ( $C/C_0$ )

#### در حجم آب خروجی ۱PV

منبع تغییر	سولفات کلسیم		
	+	%۵	%۱۰
کربنات کلسیم			میانگین
۰	۰/۰۰۰۱۱	۰/۰۰۰۱۱۴	۰/۰۰۰۱۵
%۵	۰/۰۰۰۰۱۲	۰/۰۰۰۰۲۳	۰/۰۰۰۰۲۵
%۱۰	۰/۰۰۰۰۲۱	۰/۰۰۰۰۳۴	۰/۰۰۰۰۲۴
%۲۰	۰/۰۰۰۰۴۶	۰/۰۰۰۰۳۷	۰/۰۰۰۰۳۷
میانگین	۰/۰۰۰۰۳۲	۰/۰۰۰۰۴۴	۰/۰۰۰۰۷۵
سولفات کلسیم	سولفات کلسیم	کربنات کلسیم	کربنات کلسیم × سولفات کلسیم
LSD (۰/۰۵)	۰/۰۰۰۰۴۵	۰/۰۰۰۰۵۲	۰/۰۰۰۰۱

در حالی که اثر سولفات کلسیم بر حرکت باکتری معنی‌دار نشد (جدول شماره ۲). میانگین ( $C/C_0$ ) حاصل از تیمارهای کربنات کلسیم به ترتیب ۰٪ (شن بدون کربنات کلسیم)  $0.10 < 0.20 < 0.50 < 1.00$  (جدول شماره ۶).

کمترین غلظت زه‌آب مربوط به تیمار ۲۰٪ کربنات کلسیم به دست آمد. اثر متقابل تیمارها (سولفات کلسیم × کربنات کلسیم) بر میانگین ( $C/C_0$ ) در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شد.

میزان باکتری در زه‌آب تیمارهای ۵٪ کربنات کلسیم در ترکیب با ۱۰٪ سولفات کلسیم نسبت به سایر تیمارهای ترکیبی بیشتر بود. تجزیه واریانس داده‌ها (جدول شماره ۲) نشان می‌دهد که اثر کربنات کلسیم و اثر متقابل تیمارها (سولفات کلسیم × کربنات کلسیم) بر ( $C/C_0$ ) در حجم آب خروجی ۵PV در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار شده است.

میزان باکتری در زه‌آب تیمارهای ۵٪ کربنات کلسیم در ترکیب با ۱۰٪ سولفات کلسیم و ۱۰٪ کربنات کلسیم در ترکیب با ۱۰٪ سولفات کلسیم، نسبت به سایر تیمارهای ترکیبی بیشتر بود (جدول شماره ۵). افزایش مقدار سولفات کلسیم و کربنات کلسیم سبب افزایش قدرت یونی، افزایش اعوجاج منافذ و افزایش سطوح جذب می‌شود که این عوامل در کاهش انتقال باکتری‌ها مؤثر است. (Gannon, et al., 1991) گزارش کردند که افزایش قدرت یونی محلول خاک سبب کاهش انتقال باکتری می‌شود.

فرض آنها بر این بود که افزایش قدرت یونی باعث کاهش ضخامت لایه دوگانه پخشیده (DDL) اطراف ذرات شده و افزایش جذب باکتری‌ها را سبب می‌شود. در حجم آب خروجی ۲/۵PV، اثر مقادیر کربنات کلسیم و اثر متقابل تیمارها بر ( $C/C_0$ ) به ترتیب در سطوح آماری ۱ و ۱۰ درصد معنی‌دار شد.

### جدول شماره (۶): مقایسه میانگین اثر تیمارهای کربنات کلسیم و سولفات کلسیم بر غلظت نسبی باکتری زه‌آب ( $C/C_0$ )

#### در حجم آب خروجی ۲/۵PV

سولفات	منبع تغییر		
	+	%۵	%۱۰
کربنات کلسیم			میانگین
۰	۰/۰۰۰۳۹	۰/۰۰۰۰۶۱	۰/۰۰۰۰۱۹
%۵	۰/۰۰۰۰۲۳	۰/۰۰۰۰۲۷	۰/۰۰۰۰۴۳
%۱۰	۰/۰۰۰۰۲۸	۰/۰۰۰۰۵۲	۰/۰۰۰۰۲۷
%۲۰	۰/۰۰۰۰۳۶	۰/۰۰۰۰۸۸	۰/۰۰۰۰۵۳
میانگین	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱۷	۰/۰۰۰۰۷۵
سولفات کلسیم	سولفات کلسیم	کربنات کلسیم	سولفات کلسیم × کربنات کلسیم
LSD (۰/۰۵)	۰/۰۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۰۴

باکتری در زه آب مربوط به تیمار شن با ۲۰٪ کرنات کلسیم مشاهده شد (جدول شماره ۷).

میانگین ( $C/C_0$ ) حاصل از تیمارهای کرنات کلسیم به ترتیب ۱۰٪ (شن بدون کرنات کلسیم)  $5\% < 10\% < 20\%$  کرنات کلسیم (میانگین تیمارهای سولفات کلسیم) بود. کمترین غلظت

**جدول شماره (۷) مقایسه میانگین اثر تیمارهای کرنات کلسیم و سولفات کلسیم بر غلظت نسبی باکتری زه آب ( $C/C_0$ ) در حجم آب خروجی PV ۵**

منبع تغییر کرنات کلسیم	سولفات کلسیم		
	۰	۵٪	۱۰٪
۰	۰/۰۰۰۵۱	۰/۰۰۰۲۶	۰/۰۰۰۳۴
۵٪	۰/۰۰۰۲۹	۰/۰۰۰۳۳	۰/۰۰۰۱۵
۱۰٪	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۳۴	۰/۰۰۰۲۵
۲۰٪	۰/۰۰۰۰۴۵	۰/۰۰۰۳۹	۰/۰۰۰۲۲
میانگین	۰/۰۰۰۱۴	۰/۰۰۰۱۷	۰/۰۰۰۹۷
LSD (۰/۰۵)	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲
	سولفات کلسیم	کرنات کلسیم	سولفات کلسیم × کرنات کلسیم

شکل شماره (۱-الف) نشان می‌دهد که تیمارهای ۵ و ۱۰ درصد سولفات کلسیم میزان باکتری کمتری نسبت به تیمار شاهد از خود عبور داده‌اند. نکته جالب این است که غلظت باکتری در زه آب برای دو تیمار ۵ و ۱۰ درصد سولفات کلسیم تقریباً یکسان بود. قدرت یونی زیاد محلول دارای سولفات کلسیم، عامل مهمی در کاهش میزان انتقال باکتری است. با توجه به قدرت یونی تقریباً یکسان دو تیمار دارای سولفات کلسیم پیش‌بینی می‌شد که اثر یکسانی را نشان دهند. منحنی رخنه باکتری برای مقادیر مختلف کرنات کلسیم (شکل شماره ۱-ب) نشان می‌دهد که با افزایش مقدار کرنات کلسیم، غلظت باکتری در زه آب کاهش می‌یابد. تعداد بیشتر ذرات کرنات کلسیم با قدرت یونی و پی-اچ بالاتر و نیز کاهش بیشتر سرعت آب منفذی در مخلوط ۲۰٪ کرنات کلسیم می‌تواند دلیل تفاوت موجود از نظر میزان خروج باکتری نسبت به مقادیر دیگر کرنات کلسیم باشد.

### بحث و نتیجه‌گیری

وجود ۷/۵ درصد کرنات کلسیم، مقادیری آهن و آلومینیوم به شکل‌های بلوری و بخصوص بی‌شکل و همچنین پالایش فیزیکی می‌تواند از عوامل مهم جذب و پالایش باکتری در شن مورد استفاده باشد. نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که افزودن کرنات کلسیم به طور معنی‌دار و چشمگیری از انتقال باکتری‌ها در محیط‌های متخلخل غیراشباع می‌کاهد. علاوه بر اثر جذب سطحی و قدرت یونی تیمارهای کرنات کلسیم و سولفات کلسیم، افزایش اعوجاج منافذ در اثر افزودن آنها و کاهش سرعت نیوتونی به دلیل تخلخل بالای تیمارهای مذکور و

اثر متقابل تیمارها (سولفات کلسیم × کرنات کلسیم) بر میانگین ( $C/C_0$ ) در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار بود. میزان باکتری در زه آب تیمار ۵٪ کرنات کلسیم در ترکیب با ۵٪ سولفات کلسیم، نسبت به سایر تیمارهای ترکیبی بیشتر بود. در تحقیقی که (David, et al., 2001) در مورد تأثیر املاح (نمک‌های) موجود در آب بر حرکت باکتری E.coli انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که پساب ساختگی در مقایسه با آب‌های دارای به ترتیب KCl و  $CaCl_2$  اثر کمتری بر خروج باکتری از ستون‌های شن دارد. کلرور کلسیم به‌علت اثر زیادی که در افزایش قدرت یونی می‌گذارد، بیشترین اثر کاهش را بر انتقال داشته و کلرید پتاسیم نقش بینابینی دارد. بنابراین افزایش قدرت یونی محلول، قدرت و میزان نگهداری باکتری در شن را افزایش می‌دهد.

### منحنی‌های رخنه باکتری

منحنی‌های رخنه باکتری (BTC) در تیمار شاهد (شن)، و تیمارهای مخلوط سولفات کلسیم و کرنات کلسیم با شن در شکل ۱ به صورت نیمه لگاریتمی ( $\log \frac{C}{C_0} v s . P V$ ) نشان داده شده است. منحنی‌های رخنه نشان می‌دهند که باکتری‌ها در حین انتقال، تحت تأثیر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ترکیبات موجود در ستون‌ها قرار گرفته‌اند. با توجه به توزیع اندازه منافذ گسترده‌تر در مخلوط‌های شن با سولفات کلسیم و شن با کرنات کلسیم، تأثیر عوامل پخشیدگی و انتشار بر انتقال باکتری مشاهده شد.



نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که خاکهای دارای کانی‌های کربناته و سولفات به خوبی قادر به پالایش میکربی بوده و در امور تصفیه‌ای و بهداشتی قابل استفاده‌اند. به دلیل مقادیر بالای کربنات کلسیم و سولفات کلسیم و اهمیتی که در خاکهای کشور دارد، می‌باید تحقیقات بیشتری در این زمینه، بویژه در شرایط محلی و طبیعی خاکهای کربناتی و سولفاتی صورت گیرد.

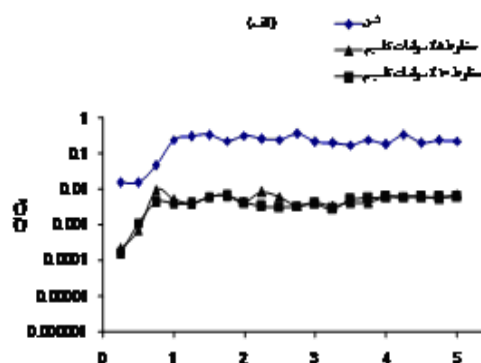
### تشکر و قدردانی

بخشی از هزینه‌های این پژوهش توسط دانشگاه بوعلی‌سینا همدان پرداخت شده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

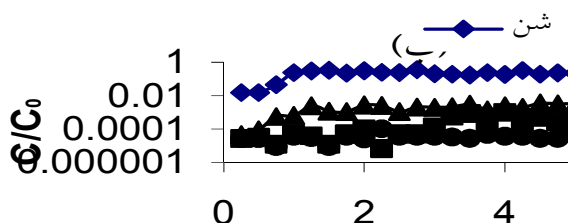
### یادداشت‌ها

- 1-Breakthrough curve (BTC)
- 2-Colony forming units (CFU)
- 3-Constant-head method
- 4-Diffuse double layer
- 5-Diffusion
- 6-Dispersion
- 7-Effluent concentration
- 8-Fingering flow
- 9-Finite system
- 10-Hemocytometer
- 11-Influent concentration
- 12-Initial condition
- 13-In situ
- 14-Klebsiella aero genes
- 15-Pore volume
- 16-Preferential flow
- 17-Macroporous flow
- 18-Macropores
- 19-Merck
- 20-Metrohm
- 21-Nutrient broth
- 22-Nutrient agar
- 23-Physical filtering
- 24-Saturated hydraulic conductivity
- 25-Step input or injection
- 26-Tortuosity

مرگ و میر در ستون‌های دارای کربنات کلسیم و سولفات کلسیم می‌توانند در کاهش انتقال باکتری در مقایسه با تیمار شاهد مهم باشند. میزان انتقال باکتری در مخلوط‌های دارای کربنات کلسیم کمتر از مخلوط‌های دارای سولفات کلسیم بود. حلالیت کمتر و وجود سطوح جذبی زیاد کربنات کلسیم و تأثیر یونی بیشتر در سولفات کلسیم را می‌توان به عنوان عوامل مهم و مؤثر بر انتقال باکتری در این دو تیمار دانست.



کسری از حجم آب منفذی



کسری از حجم آب منفذی

شکل شماره (۱): منحنی رخنه باکتری: الف) در ستون‌های شن با مقادیر مختلف سولفات کلسیم (بدون کربنات کلسیم)، ب) در ستون‌های شن با مقادیر مختلف کربنات کلسیم (بدون سولفات کلسیم)،  $C_0$  غلظت ورودی باکتری و  $C$  غلظت باکتری خروجی در حجم‌های آب خروجی مختلف هستند.

### منابع مورد استفاده

- Abu-Ashour, J., et al. 1988. Movement of bacteria in unsaturated soil columns with macropores. Trans. ASAE, 41: 1043-1050.
- Al-Raw, A. H., M. L., Jakson, and F. D., Hole. 1969. Mineralogy of some arid and semiarid land soils of Iraq. Soil Sci. 107: 480-486.

- Bitton, G., N., Lahav, Y., Henis. 1974. Movement and retention of *Klebsiella aerogenes* in soil columns. *Plant and Soil*, 40: 373-380.
- Buchter, B., et al. 1966. Heterogeneous flow and solute transport in an unsaturated stony soil monolith. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 59: 14-21.
- Camper, A. K., et al. 1993. Effects of motility and adsorption rate coefficient on transport of bacteria through saturated porous media. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(10): 3455-3462
- 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.
- Gannon, J. T., et al. 1991. Effect of sodium chloride on transport of bacteria in a saturated aquifer material. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 2497-2501.
- Gerba, C. P. 1985. Microbial contamination of the subsurface. In: Ward, C. H., Gigar, W. and McCarty, P. L. (eds.), *Ground Water Quality*. John Wiley & Sons, Inc., New York. p. 53-67.
- Goldschmidt, J., et al. 1973. Effects of dissolved salts on the filtration of coli form bacteria in sand dunes. In: Jenkins, S. H., (Ed.), *Advances in Water Pollution Research*. Pergamon Press, New York. p. 147-156.
- Jang, L. K., et al. 1983. Selection of bacteria with favorable transport properties through porous rock for the application of microbial enhanced oil recovery. *Appl. Environ Microbiol.* 46: 1066-1072.
- Jewett. D. C., et al. 1995. Bacterial transport in laboratory columns and filters: Influence of ionic strength and pH on collision efficiency. *Water. Res.* 7:1673-1680.
- Klute A., C., Dirksen. 1986. Hydraulic conductivity and diffusivity: laboratory methods. In: Klute, A., (Ed.), *Methods of Soil Analysis: Part I. Physical and Mineralogical Methods*, 2nd ed. Agronomy Monograph, ASA, WI, pp: 687- 734.
- Macleod, F. A., H. M., Lappin-Scott, and J. W., Costerton. 1988. Plugging of a model rock system by using starved bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1365-1372.
- Reynolds, P.J., et al. 1989. Mechanisms of microbial movement in subsurface materials. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 2280-2286.
- Tan, Y., et al. 1991. Movement through soil of a biological control agent *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol. Biochem.*, 23(9): 821-825.
- Unc, A., M. J., Goss. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. *Water Air Soil Pollut.* 149: 327-337.
- Van Elsas, J., D., Trevores, Van L. S., Overbook. 1991. Influence of soil properties on the vertical movement of genetically-marked *Pseudomonas fluorescens* through large soil microcosms. *Biol. Fertile. Soils.*10: 249-255.