

## اثر مقادیر مختلف آهک و گچ بر انتقال باکتری *Pseudomonas fluorescens* در ستون‌های شنی تحت شرایط رطوبتی اشباع

کامبیز رستمی<sup>۱</sup>، علی اکبر محبوبی<sup>۲</sup>، محمد رضا مصدقی<sup>۳</sup> و علی اکبر صفری سنجانی<sup>۴</sup>

### چکیده

انتقال باکتری‌های بیماری‌زا که می‌توانند موجب آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی شوند، در سال‌های اخیر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با وجود گستردگی خاک‌های گچی و آهکی در ایران، اطلاعاتی در مورد نقش ترکیبات کربناته و سولفات‌ها بر فرآیند حرکت باکتری در خاک وجود ندارد. در این پژوهش اثر مقادیر مختلف آهک و گچ بر انتقال باکتری *Pseudomonas fluorescens* در ستون‌های شنی تحت شرایط رطوبتی اشباع بررسی شد. چهار سطح آهک: صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد و سه سطح: صفر، ۵ و ۱۰ درصد گچ در مخلوط با شنی به‌عنوان تیمارهای آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اعمال گردید. مخلوط‌های مذکور در سیلندرهای پیرکس به‌طول ۲۰ و قطر ۷ سانتی‌متر ریخته و شرایط ماندگار جریان اشباع آب در آن‌ها ایجاد شد. پس از برقراری شرایط ماندگار جریان، سوسپانسیون با غلظت مشخص ۱۰<sup>۶</sup> باکتری *P. fluorescens* در میلی‌لیتر روی ستون‌ها اعمال گردید. میزان غلظت باکتری در سوسپانسیون خروجی تا مقدار ۵ برابر حجم آب منفذی (PV) اندازه‌گیری شد. مقدار آهک و گچ به‌طور معنی‌داری بر میزان باکتری خروجی مؤثر بودند. بیشترین میزان خروجی باکتری مربوط به نمونه شاهد (شن) و کمترین آن مربوط به سطح ۲۰ درصد آهک بود. افزایش مقدار گچ و به‌ویژه آهک سبب کاهش معنی‌دار میزان خروج باکتری از ستون‌های شنی شد که در منحنی‌های رخنه به مشاهده گردید. اثر آهک و گچ بر آلودگی زه‌آب ستون‌ها معنی‌دار بود. نتایج این پژوهش حاکی از قدرت جذب بالای ترکیبات کربناته و سولفات‌ها در خاک بود، به طوری که این ترکیبات موجب کاهش انتقال باکتری و آلودگی آب‌های زیرزمینی گردیدند.

واژه‌های کلیدی: گچ، آهک، حجم آب منفذی، منحنی رخنه، *Pseudomonas fluorescens*

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

۲. استاد گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۳. استادیار گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۴. دانشیار گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

## مقدمه

باکتری *P. fluorescens* از جمله باکتری‌های گرم منفی می‌باشد 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 سوش‌های بیماری‌زای باکتری *Sodomonas* از نیم‌رخ خاک و ورود آن به آب‌های زیرزمینی از جنبه آلودگی محیط زیست واجد اهمیت است. برخی از سوش‌های باکتری *Sodomonas* در کشاورزی اهمیت دارند. این باکتری قادر است در فراهم‌سازی برخی از عناصر غذایی مورد نیاز گیاه مانند آهن نقش مهمی ایفا کند. این باکتری همچنین قادر است به خاطر توان تجزیه بالا، آلاینده‌های آلی را تجزیه نموده و در حل نمودن فسفر معدنی و تجزیه لیگنین نیز مؤثر باشد.

در پژوهش‌های انجام شده در مورد حرکت انواعی از باکتری‌ها در خاک، به تأثیر ویژگی‌های خاک از جمله میزان رطوبت خاک توجه زیادی شده است. در پژوهشی که پاولسون و میلز (۲۰۰۱) در مورد حرکت باکتری *E. coli* در ستون‌های شن (کوارتز) تحت 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. میزان جذب بیشتر باکتری در قسمت‌های بالایی ستون‌ها بیانگر غالب بودن پالایش فیزیکی<sup>۱</sup> در نگهداری باکتری در ستون‌های شن بود.

جانگ و همکاران (۱۹۸۳) نشان دادند که حرکت باکتری‌ها از جمله کلی‌فورم‌ها در خاک‌های سبک نسبت به خاک‌های سنگین (در صورت نبود جریان ترجیحی<sup>۲</sup>) راحت‌تر صورت می‌گیرد. خاک‌های با بافت سنگین به خاطر داشتن سطح ویژه بیشتر و با توجه به نوع غالب کانی‌های تشکیل

بررسی فرایند انتقال باکتری‌ها از جنبه آلودگی محیط زیست، گسترش بیماری‌ها و قدرت پالایندگی آنها دارای اهمیت ویژه‌ای است. لذا چگونگی انتقال باکتری‌ها در محیط‌های متخلخل و عوامل مؤثر بر آن موضوع پژوهش‌های فراوانی در سال‌های اخیر شده است. انتقال باکتری‌های بیماری‌زای حاصل از کاربرد فاضلاب‌ها باعث به خطر انداختن سلامت عمومی می‌گردد (جربا، ۱۹۸۵). 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 کودهای دامی در کشاورزی، می‌توانند باعث آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی شده و سبب شیوع انواع بیماری‌های عفونی شوند. خاک‌ها با ویژگی‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی جایگاه رشد و انتقال سوش‌های مختلف باکتریایی و سایر ریزجانداران می‌باشند. باکتری‌ها به روش‌های گوناگونی می‌توانند به خاک وارد شده و بر جانداران خاک‌زی و یا وابسته به خاک اثر بگذارند. خاک نیز به شکل‌های گوناگون بر جمعیت میکروبی و انتقال آنها اثر می‌گذارد (یونک و گوس، ۲۰۰۳).

می‌توان گفت ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و محیط‌های متخلخل مانند: pH، تخلخل، سرعت جریان آب، ویژگی‌های منافذ درشت<sup>۱</sup>، مواد آلی، بافت، دما، شرایط رطوبتی، قدرت جذبی و مقدار عناصر غذایی بر مقدار جذب و انتقال باکتری‌ها در خاک و محیط‌های متخلخل اثر می‌گذارند. علاوه بر این، وجود موادی مانند آهک و گچ به ویژه در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک که این مواد از فراوانی بیشتری برخوردارند، می‌توانند به طور مستقیم و غیرمستقیم بر جذب و انتقال باکتری‌ها در خاک مؤثر باشند.

1. Macropores

2. Physical filtering  
3. Preferential flow

## مواد و روش‌ها

### ۱- مخلوط‌های مورد استفاده

مطالعه در شرایط آزمایشگاهی روی ستون‌های دارای شن شسته شده انجام گرفت. شن مورد استفاده فاقد مواد آلی ولی دارای ۷/۵ درصد آهک، ۲/۱ گرم بر کیلوگرم آهن بی‌شکل، ۸/۳۴ گرم بر کیلوگرم آهن بلوری، ۰/۳۲ گرم بر کیلوگرم آلومینیوم بی‌شکل و ۱/۱ گرم بر کیلوگرم آلومینیوم بلوری بود. تیمارهای استفاده شده شامل درصدهای مختلف آهک (صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) و گچ (صفر، ۵ و ۱۰ درصد) بود که به صورت وزنی با شن مخلوط گردید. اندازه ذرات شن، گچ و آهک در دامنه ۰/۲۵-۰/۱۵ mm انتخاب شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مخلوط‌های مورد آزمایش در جدول ۱ آمده است. در این پژوهش چگالی حقیقی با روش پیکنومتر و چگالی ظاهری با در نظر گرفتن جرم خشک و حجم مخلوط‌ها در سیلندرهای محاسبه شد (بلک، ۱۹۸۶). pH مخلوط‌ها با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتالی مدل متروم<sup>۲</sup>، هدایت الکتریکی آنها با هدایت‌سنج نوع دیجیتالی مدل متروم در نسبت‌های یک به پنج مخلوط به آب و ضریب آگذری اشباع ( $K_s$ ) آنها به روش آزمایشگاهی بار ثابت<sup>۳</sup> (کلوت و دیرکسن، ۱۹۸۶) تعیین گردید. تخلخل کل نیز با داشتن مقادیر چگالی حقیقی و چگالی ظاهری محاسبه شد.

### ۲- تهیه و استقرار ستون‌های آبشویی

برای تهیه ستون‌های مورد استفاده، سیلندرهای شیشه‌ای به تدریج از مخلوط‌های مورد نظر، که قبلاً به صورت یکنواخت آمیخته شده بودند، تا ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر پر گردیدند (شکل ۱). ستون‌ها از پایین اشباع شده تا هوای موجود در منافذ خارج شود و سپس برای استریل شدن در اتوکلاو قرار گرفتند. با رساندن شدت جریان در

دهنده، توانایی بیشتری در جذب باکتری‌ها دارند. وجود جریان‌های ترجیحی می‌تواند در انتقال سریع املاح و باکتری‌ها نقش مهمی را ایفا کند. بوچر و همکاران (۱۹۹۵) عامل انتقال سریع املاح در خاک‌های غیراشباع را جریان ترجیحی دانستند.

از جمله ویژگی‌های شیمیایی مؤثر بر انتقال باکتری‌ها، به pH خاک می‌توان اشاره نمود. گلداشمیت و همکاران (۱۹۷۳) اثر pH بر حرکت باکتری‌های کلی‌فورم روده‌ای<sup>۱</sup> را مطالعه کرده و به این نتیجه رسیدند که در pH‌های خنثی تا اسیدی در مقایسه با شرایط قلیایی به‌خاطر وجود بارهای مثبت ذرات، جذب باکتری‌ها روی سطوح ذرات خاک بیشتر می‌شود. 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 (شول و همکاران، ۱۹۹۰).

اندازه باکتری‌ها نقش مهمی در پالایش آنها در محیط‌های متخلخل دارد. باکتری‌های کوچک در طول کانال‌های موجود در مسیر انتقال در محیط‌های متخلخل، بهتر می‌توانند منتقل شوند. باکتری‌های بزرگ‌تر با تشکیل کلونی‌های بزرگ، در مسیر انتقال بیشتر نگهداری می‌شوند (رینولدز و همکاران، ۱۹۸۹).

اگر چه در دهه اخیر جنبه‌های مختلفی از چگونگی حرکت باکتری‌ها در خاک و عوامل مؤثر بر آن مورد توجه پژوهشگران بوده است، ولی هنوز اطلاعات در مورد نقش ترکیبات کربناته و سولفات در فرایند حرکت باکتری در خاک بسیار اندک است. با توجه به گستردگی خاک‌های آهکی و گچی در اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک منجمله ایران، این پژوهش اثرهای ترکیبات آهک و گچ بر فرایند حرکت باکتری *P. fluorescens* در شرایط رطوبتی اشباع را بررسی می‌کند.

2. Metrohm  
3. Constant-head method

1. Coliform bacteria

ستون شن ناچیز و قابل چشم‌پوشی بود. به‌منظور ایجاد شدت جریان مشابه در دیگر ستون‌ها، بار آبی بیشتری روی ستون‌هایی که آب‌گذری کمتری نسبت به شن داشتند، ایجاد گردید.

تمامی ستون‌ها به ضریب آب‌گذری شن خالص (حداکثر ضریب آب‌گذری)، شرایط جریان ماندگار اشباع با شدت جریان مشابه در تمام ستون‌های مورد آزمایش اعمال گردید. در حین آزمایش، بار آبی روی

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

تخلخل کل ( $\frac{V}{V}$ )	ضریب آب‌گذری 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>
—	—	—	—	۰/۲۷	۸/۲	—	CaCO <sub>3</sub>

دیگر نقاط سیستم) در واقع یک لایه مرزی به وجود می‌آید.

شرایط مرز خروجی اعمال شده به سیستم از نوع شرایط مرزی محدود<sup>۱</sup> بود. این شرایط برای سیستم‌هایی که طول مسیر انتقال، محدود و مشخص است (مانند ستون‌های آزمایشگاهی) به کار می‌رود.

شرایط اولیه سیستم برای انتقال باکتری به‌صورتی بود که غلظت باکتری در تمام طول ستون خاک ثابت شد، یعنی:

در طول آزمایش شرایط مرزی نوع اول برقرار گردید. در این حالت غلظت ورودی به سیستم به‌صورت زیر می‌باشد:

$$C(0, t) = C_0 \quad (1)$$

که در این معادله  $C(0, t)$  غلظت ورودی به سیستم در زمان‌های مختلف ثابت و برابر  $C_0$  است. در این معادله فرض بر این است که سوسپانسیون از مخزنی که به‌خوبی مخلوط شده و دارای غلظت ثابتی است به‌صورت پیوسته به سطح ستون خاک می‌رسد و سیستم هیچ اثری روی مخزن و غلظت ورودی ندارد. هر چند به علت وجود پخشیدگی و پراکنش در سیستم (ناشی از متفاوت بودن غلظت محل ورودی با

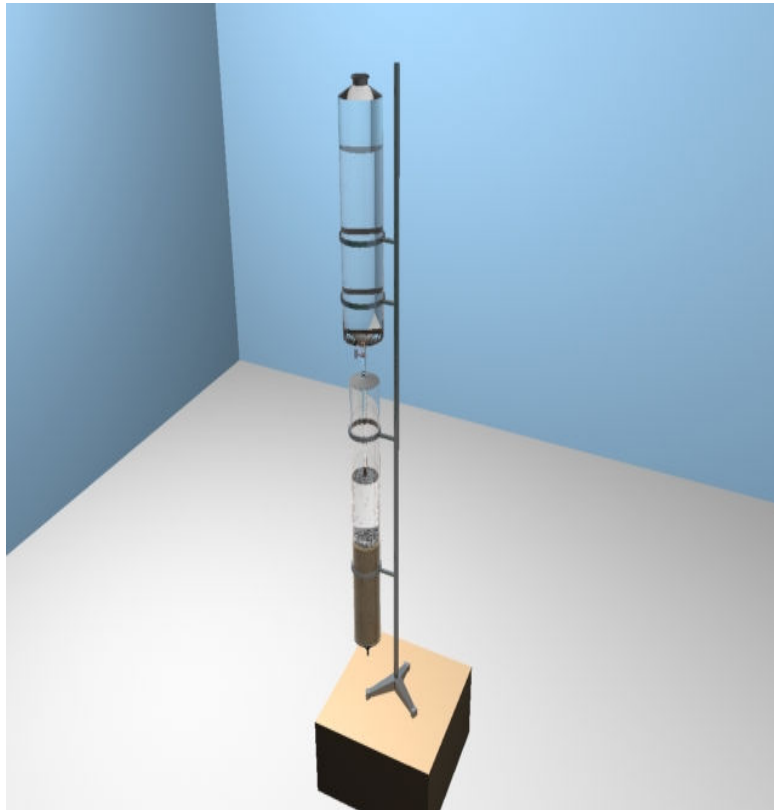
1. Finite system

ایجاد این شرایط، ستون مخلوط‌های مورد استفاده درون ظرف دارای آب مقطر قرار داده شد تا از پایین اشباع گردد. سپس با بستن خروجی قیف متصل به انتهای ستون و سر ستون آنرا در درون اتوکلاو قرار داده تا با دمای مرطوب ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد تحت فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه کاملاً استریل شده و محیط‌عاری از هر نوع موجود زنده گردد.

$$C(x, 0) = C_i \quad (2)$$

که در آن  $C_i$  غلظت اولیه باکتری در هر مقطعی از ستون (x) در زمان صفر است.

برای این منظور لازم است که غلظت باکتری در تمام طول نیم‌رخ یا ستون خاک یکسان و برابر صفر باشد. از این رو در این آزمایش غلظت باکتری در طول ستون‌های شن صفر در نظر گرفته شد. برای



شکل ۱: شماتیک دستگاه مورد استفاده برای شرایط جریان ماندگار اشباع

مایع NB<sup>۱</sup> با قدرت نگهداری باکتری منتقل شد. غلظت مورد استفاده در تمام سوسپانسیون‌های مصرفی  $10^6$  باکتری در میلی‌لیتر بود که از محیط مایع NB ساخته شد. غلظت اولیه ( $C_0$ ) برای تمامی ستون‌های آزمایشی یکسان در نظر گرفته شد. لذا برای تمام ستون‌ها علاوه بر کشت، از لام هموسیتمتر<sup>۲</sup> و میکروسکوپ نوری نیز برای تعیین  $C_0$  استفاده گردید.

### ۳- باکتری مورد استفاده در آزمایش‌های آبشویی

باکتری مورد استفاده در این پژوهش، گونه *P. fluorescens* سوش چائو بود. این باکتری گرم منفی بوده و به دلیل داشتن دو تاژک قطبی از قدرت تحرک بالایی برخوردار است. این باکتری در محیط‌های کشت King B و S1 خالص سازی گردید. در محیط کشت S1 مدت ۱۰-۷ روز طول کشید تا باکتری رشد کند. برای استفاده از باکتری به شکل سوسپانسیون، باکتری به درون محیط

1. Nutrient broth  
2. Hemocytometer

## ۴- چگونگی انجام آزمایش‌های آب‌شویی

سوسپانسون باکتری مورد استفاده با سرعت  $97/2 \text{ cm h}^{-1}$  از طریق مخزن اصلی<sup>۱</sup> روی ستون‌ها اعمال شد. به مقدار ۵ برابر حجم آب منفذی<sup>۲</sup> (PV) ستون‌ها، سوسپانسیون باکتری جهت آب‌شویی مصرف شد. در حین آب‌شویی، از خروجی ستون‌ها تعداد ۲۰ نمونه (هر نمونه دارای ۵ ml) سوسپانسیون) در ۲۰ زمان مشخص (با فواصل ۲۵ PV) برداشت شد. نمونه‌های برداشت شده پس از رقیق‌سازی در محیط کشت  $\text{NA}^3$  کشت و تعداد باکتری آن‌ها شمارش گردید.

## ۵- تجزیه و تحلیل داده‌ها

طرح آزمایشی مورد استفاده، طرح فاکتوریل با دو فاکتور مقدار آهک و گچ در مخلوط‌های شنی در قالب طرح اصلی کاملاً تصادفی بود که در سه تکرار اجرا شد. با استفاده از نرم افزار SAS (موسسه SAS، ۱۹۹۰) داده‌های برداشت شده پردازش شد. متغیرهای وابسته مورد بررسی غلظت نسبی خروجی  $(\frac{C}{C_0})$  باکتری *P. fluorescens* در حجم‌های آب خروجی برابر ۰/۲۵PV، ۰/۵PV، ۱PV، ۲/۵PV و ۵PV بود (غلظت بر حسب تعداد باکتری در واحد حجم بود). در این مطالعه مقایسه میانگین‌ها به روش LSD صورت گرفت. منحنی رخنه<sup>۴</sup> به صورت غلظت نسبی خروجی  $(\frac{C}{C_0})$  در برابر حجم آب خروجی به عنوان کسری از PV با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شد.

## نتایج و بحث

تجزیه واریانس برای غلظت نسبی باکتری خروجی  $(\frac{C}{C_0})$  در حجم‌های آب خروجی مختلف

تحت تأثیر سطوح مختلف آهک، گچ و اثرات متقابل آن‌ها در جدول ۲ نشان‌داده شده است. اثر مقادیر آهک، گچ و اثرات متقابل آن‌ها بر غلظت نسبی باکتری *P. fluorescens* در حجم‌های زه‌آب خروجی ۰/۲۵ PV و ۰/۵PV در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار نشد. ولی در حجم‌های زه‌آب خروجی ۱PV، ۲/۵PV و ۵PV این اثرات در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار بود. افزایش قدرت یونی محلول (به‌ویژه برای مخلوط‌های دارای گچ) و افزایش سطوح جذب دلیلی برای معنی‌دار شدن اثر آهک، گچ و اثر متقابل آن‌ها بر غلظت باکتری زه‌آب خروجی در ۱PV، ۲/۵PV و ۵PV می‌باشد. با توجه به اینکه سرعت جریان در تمامی تیمارها یک‌سان بوده است، عدم تأثیر معنی‌دار در مقادیر کمتر حجم آب خروجی را می‌توان به دلیل نرسیدن جبهه آلودگی<sup>۵</sup> به انتهای ستون‌ها دانست.

۱- اثر تیمارهای آهک و گچ بر غلظت نسبی باکتری در حجم‌های مختلف آب خروجی از ستون‌های شنی

الف) حجم‌های آب خروجی ۰/۲۵PV و ۰/۵PV

اثر تیمارهای آهک، گچ و اثر متقابل آن‌ها بر غلظت نسبی باکتری *P. fluorescens* در حجم‌های زه‌آب خروجی ۰/۲۵PV و ۰/۵PV در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار نبود (جدول ۲). وجود شرایط اشباع، سهولت جریان در طول ستون و حل و رسوب کم ترکیبات در این زمان محدود می‌تواند دلیلی بر جذب کمتر باکتری در طول ستون و در نتیجه معنی‌دار نشدن میزان خروج باکتری در مقایسه با شاهد باشد.

ب) حجم‌های آب خروجی ۱PV، ۲/۵PV و ۵PV

در حجم آب خروجی ۱PV، اثر تیمارهای آهک و گچ و اثر متقابل آن‌ها بر غلظت باکتری *P. fluorescens* زه‌آب خروجی در سطح آماری

5. Pollution plume

1. Decanter  
2. Pore volume  
3. Nutrient agar  
4. Breakthrough curve (BTC)

عوامل جذبی (آهک و گچ) بر میزان باکتری خروجی معنی‌دار شده است. از طرف دیگر کاهش سرعت نیوتنی به دلیل رطوبت (تخلخل) بالای تیمارهای مذکور می‌تواند در کاهش انتقال باکتری در مقایسه با تیمار شن مهم باشد، چرا که داریم:

$$\bar{V} = \frac{q}{\theta} \quad (3)$$

که در این معادله،  $\bar{V}$ : سرعت متوسط جریان (سرعت ظاهری یا نیوتنی)،  $q$ : شدت جریان داری و  $\theta$ : مقدار رطوبت حجمی است.

۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). میانگین غلظت نسبی باکتری حاصل از تیمارهای آهک (میانگین همه تیمارهای گچ) به ترتیب شاهد  $< 0.5\% < 1.0\% < 2.0\%$  آهک بود (جدول ۳). تفاوت میانگین  $\frac{C}{C_0}$  تیمار شن با تیمارهای آهک در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار بود. با گذشت زمان، تمام مقادیر آهک در امتزاج با شن اثر جذبی خود را نشان‌داده و باعث کاهش میزان باکتری در زه‌آب خروجی شدند. همچنین در حجم‌های آب خروجی بالاتر، چون جبهه آلودگی به انتهای ستون‌ها رسیده است، نقش

جدول ۲: تجزیه واریانس غلظت نسبی ( $\frac{C}{C_0}$ ) باکتری خروجی تحت تاثیر تیمارهای آهک و گچ در حجم‌های آب

خروجی مختلف

نسبت F					درجه آزادی	منبع تغییر
$\Delta PV$	$2/\Delta PV$	$1 PV$	$0.5 PV$	$0.25 PV$		
۲۰۶/۸۱**	۱۰/۶۴**	۴۸/۹۴**	۰/۲۵	۰/۵۸	۲	گچ
۲۳۹/۴۲**	۱۱/۴۹**	۵۳/۹۴**	۰/۸۰	۱/۱۷	۳	آهک
۲۲۵/۰۳**	۱۱/۲۳**	۵۲/۰۶**	۰/۹۶	۱/۱۳	۱۱	آهک × گچ

\*\* نشان دهنده تأثیر معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد می‌باشد.

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر تیمارهای آهک و گچ بر غلظت نسبی ( $\frac{C}{C_0}$ ) باکتری زه‌آب در حجم آب خروجی ۱ PV

میانگین	گچ			آهک
	۱۰٪	۵٪	۰	
۰/۱۰۷	۰/۰۰۴۰۴	۰/۰۰۴۷۷	۰/۳۱۲	۰
۰/۰۰۳۰۱	۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۶	۰/۰۰۰۶۳	۵٪
۰/۰۰۲۲۷	۰/۰۰۴۳۷	۰/۰۰۲۴	۰/۰۰۰۰۵	۱۰٪
۰/۰۰۰۲۹	۰/۰۰۰۵۱	۰/۰۰۰۳۲	۰/۰۰۰۰۴	۲۰٪
	۰/۰۰۳۴۳	۰/۰۰۲۷۷	۰/۰۷۸	میانگین
	گچ × آهک	آهک	گچ	
	۰/۰۳۶۲	۰/۰۲۰۹	۰/۰۱۸۱	LSD (۰/۰۵)

به تیمار ۱۰٪ بیشتر بود. تیمار ۱۰٪ آهک قادر بود ۸ برابر بیشتر از تیمار ۲۰٪، باکتری از خود عبور دهد. تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان می‌دهد که در ۱ PV آب خروجی، اثر گچ در سطح

تیمار شاهد ۳۶ برابر بیشتر از تیمار ۵٪، ۴۷ برابر بیشتر از تیمار ۱۰٪ و ۳۶۹ برابر بیشتر از تیمار ۲۰٪ آهک، باکتری از خود عبور داد. همچنین میزان عبور باکتری در تیمار ۵٪ آهک، ۱/۳ برابر نسبت

تیمار ۲۰٪ آهک باکتری از خود عبور داد. همچنین میزان عبور باکتری در تیمار ۵٪ آهک، ۱/۶ برابر نسبت به تیمار ۱۰٪ آهک بیشتر بود، و تیمار ۱۰٪ آهک ۴/۳ برابر بیشتر از تیمار ۲۰٪ آهک باکتری از خود عبور داد.

میانگین غلظت نسبی باکتری زه‌آب حاصل از تیمارهای گچ به‌ترتیب شاهد < ۵٪ < ۱۰٪ گچ بود. تیمار شاهد (شن بدون گچ) ۳۴ برابر بیشتر از تیمار ۵٪ گچ و ۲۲ برابر بیشتر از تیمار ۱۰٪ گچ، باکتری از خود عبور داد. اثر متقابل تیمارها (گچ × آهک) بر میانگین غلظت نسبی باکتری زه‌آب تنها در تیمار شاهد (تیمار شن بدون آهک و گچ) در مقایسه با سایر تیمارها در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شد. میزان باکتری در زه‌آب تیمارهای ۱۰٪ آهک در ترکیب با ۱۰٪ گچ نسبت به سایر تیمارهای ترکیبی بیشتر بود.

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثر تیمار آزمایشی بر غلظت باکتری *P. fluorescens* زه‌آب در حجم آب خروجی ۵PV در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شده است. میانگین نسبی غلظت باکتری زه‌آب حاصل از تیمارهای آهک به‌ترتیب شاهد (شن بدون آهک) < ۵٪ < ۱۰٪ < ۲۰٪ آهک (میانگین تیمارهای گچ) بود. کمترین غلظت در زه‌آب مربوط به تیمار شن با ۲۰٪ آهک مشاهده شد (جدول ۵).

تیمار شاهد ۱۱ برابر بیشتر از تیمار ۵٪ آهک، ۲۷ برابر بیشتر از تیمار ۱۰٪ آهک و ۴۰۶ برابر بیشتر از تیمار ۲۰٪ آهک، باکتری از خود عبور داد. همچنین میزان عبور باکتری در ۵٪ آهک، ۲/۴ برابر بیشتر از تیمار ۱۰٪ آهک بود و ۱۰٪ آهک، ۱۵ برابر بیشتر از تیمار ۲۰٪ آهک، باکتری از خود عبور داد.

آماري ۱ درصد بر آلودگی زه‌آب معنی‌دار بود. میانگین غلظت نسبی باکتری حاصل از تیمارهای گچ به‌ترتیب شاهد < ۵٪ < ۱۰٪ (میانگین تیمارهای آهک) بود. تنها بین تیمار شاهد و سایر تیمارهای گچ اختلاف معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد مشاهده شد (جدول ۳). میانگین غلظت نسبی باکتری زه‌آب تنها در تیمار شاهد (شن بدون آهک و گچ) نسبت به سایر ترکیب تیمارها در سطح آماری ۱ درصد تفاوت معنی‌دار داشت. این موضوع بیانگر اثر معنی‌دار تیمارهای ترکیبی بر جذب باکتری نسبت به شاهد می‌باشد. میزان باکتری در زه‌آب تیمارهای ۵٪ آهک در ترکیب با ۵٪ گچ و ۵٪ آهک در ترکیب با ۱۰٪ گچ، نسبت به سایر تیمارهای ترکیبی بیشتر بود (جدول ۳). افزایش مقدار آهک یا گچ سبب افزایش قدرت یونی، افزایش اعوجاج منافذ<sup>۱</sup> و افزایش سطوح جذب می‌شود که این عوامل در کاهش انتقال باکتری‌ها مؤثر است. گانون و همکاران (۱۹۹۱) 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<sup>۲</sup> (DDL) اطراف ذرات شده و افزایش جذب باکتری‌ها را موجب می‌گردد.

در حجم آب خروجی ۲/۵ PV، اثر مقادیر آهک و گچ و اثر متقابل آنها بر غلظت باکتری *P. fluorescens* زه‌آب در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). میانگین غلظت نسبی باکتری *سودوموناس فلورسنس* زه‌آب حاصل از تیمارهای آهک به‌ترتیب شاهد (شن خالص) < ۵٪ < ۱۰٪ < ۲۰٪ آهک (میانگین تیمارهای شن با گچ) بود (جدول ۴). کمترین غلظت زه‌آب مربوط به تیمار ۲۰٪ آهک بدست آمد. تیمار شن بدون آهک ۳۴ برابر بیشتر از تیمار ۵٪ آهک، ۵۲ برابر بیشتر از تیمار ۱۰٪ آهک و ۲۲۵ برابر بیشتر از

1. Poretortuosity  
2. Diffuse double layer



جدول ۴: مقایسه میانگین اثر تیمارهای آهک و گچ بر غلظت نسبی ( $\frac{C}{C_0}$ ) باکتری سودوموناس زه آب در حجم آب

خروجی ۲/۵PV

میانگین	گچ			آهک
	%۱۰	%۵	.	
۰/۰۸۱	۰/۰۰۱۵۵	۰/۰۰۴۱	۰/۲۳۷	.
۰/۰۰۲۴	۰/۰۰۳۷	۰/۰۰۲۵	۰/۰۰۱۱۴	%۵
۰/۰۰۱۵۵	۰/۰۰۴۵	۰/۰۰۰۱۱۴	۰/۰۰۰۰۳	%۱۰
۰/۰۰۰۳۶	۰/۰۰۰۸۲	۰/۰۰۰۲۲	۰/۰۰۰۰۴	%۲۰
	۰/۰۰۲۶۴	۰/۰۰۱۷۳	۰/۰۵۹	میانگین
	گچ×آهک	آهک	گچ	
	۰/۰۵۹۲	۰/۰۳۴۲	۰/۰۲۹۶	LSD (۰/۰۵)

جدول ۵: مقایسه میانگین اثر تیمارهای آهک و گچ بر غلظت نسبی ( $\frac{C}{C_0}$ ) باکتری سودوموناس زه آب در حجم آب

خروجی ۵PV

میانگین	گچ			آهک
	%۱۰	%۵	.	
۰/۰۷۸	۰/۰۰۵۷	۰/۰۰۷۱	۰/۲۲۱	.
۰/۰۰۶۹	۰/۰۰۶۲	۰/۰۰۸۷	۰/۰۰۵۷	%۵
۰/۰۰۲۸۸	۰/۰۰۲۸	۰/۰۰۵۶	۰/۰۰۰۲۵	%۱۰
۰/۰۰۰۱۹۲	۰/۰۰۰۲۷	۰/۰۰۰۲۷	۰/۰۰۰۰۳۶	%۲۰
	۰/۰۰۳۷	۰/۰۰۵۴	۰/۰۵۶۷	میانگین
	گچ×آهک	آهک	گچ	
	۰/۰۱۲۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۶۱	LSD (۰/۰۵)

محلول، ظرفیت نگهداری باکتری در شن را افزایش می‌دهد. در پژوهشی که پاولسون و میلز (۲۰۰۱) در مورد تأثیر املاح (نمک‌های) موجود در آب بر حرکت باکتری *E. coli* انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که پس آب ساختگی در مقایسه با آب دارای به ترتیب ۷۵۰ میلی‌گرم بر لیتر KCl و ۳۵۲ میلی‌گرم بر لیتر  $CaCl_2$  اثر کمتری بر خروج باکتری از ستون‌های شن دارد. کلرید کلسیم به خاطر اثر زیادی که بر افزایش قدرت یونی می‌گذارد، بیشترین اثر کاهش بر انتقال را داشته و کلرید پتاسیم نقش بینابینی دارد.

میانگین غلظت نسبی باکتری زه آب حاصل از تیمارهای گچ به ترتیب صفر درصد  $< ۱۰\% < ۵\%$  گچ بود. تنها بین تیمار صفر درصد گچ و سایر تیمارهای گچ اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۱ درصد مشاهده شد.

اثر متقابل تیمارها (گچ×آهک) بر میانگین غلظت باکتری زه آب تنها بین تیمار شاهد (تیمار بدون آهک و گچ) و سایر تیمارها در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار بود. میزان باکتری *P. fluorescens* در زه آب تیمار ۵٪ آهک در ترکیب با ۵٪ گچ، نسبت به سایر تیمارهای ترکیبی بیشتر بود. بوچر و همکاران (۱۹۶۶) بیان کردند که افزایش قدرت یونی

## ۲- منحنی‌های رخنه باکتری

کردند. در حالی که در پژوهش حاضر، کاهش ضخامت لایه دوگانه پخشیده (DDL) و تراکم یون‌های کلسیم می‌تواند موجب کاهش غلظت باکتری در زه‌آب خروجی شده باشد. صاف شدن منحنی رخنه در حجم‌های آب خروجی بالاتر در تیمارهای آهک نسبت به تیمارهای گچ نشان از قدرت جذبی بالای آهک دارد (مقایسه شکل ۱-الف و ۱-ب). در کل می‌توان گفت قدرت یونی محلول‌های دارای گچ نسبت به آهک نقش بیشتری در جذب باکتری‌ها دارد. از طرف دیگر آهک با حلالیت کمتر نسبت به گچ، به عنوان ذره‌ای با توان جذب سطحی بالا عمل می‌کند.

## نتیجه‌گیری

وجود ۷/۵ درصد آهک، مقادیری آهن و آلومینیوم به شکل‌های بلوری و به‌ویژه بی‌شکل و هم‌چنین پالایش فیزیکی از عوامل مهم جذب باکتری در شن مورد استفاده می‌تواند باشد. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که گچ و آهک به‌طور معنی‌دار و قابل توجهی از انتقال باکتری‌ها در محیط‌های متخلخل اشباع می‌کاهند. علاوه بر اثر جذب سطحی و قدرت یونی تیمارهای آهک و گچ، افزایش اعوجاج منافذ در اثر افزودن آنها کاهش سرعت نیوتنی به دلیل رطوبت بالای تیمارهای مذکور می‌تواند در کاهش انتقال باکتری در مقایسه با تیمار شن مهم باشد.

میزان انتقال باکتری در مخلوط‌های دارای آهک کمتر از مخلوط دارای گچ بود. حلالیت کمتر و وجود سطوح جذبی زیاد آهک و تأثیر یونی در گچ را می‌توان به‌عنوان فاکتورهای مهم و مؤثر بر انتقال باکتری در این دو تیمار دانست (حاصل ضرب‌های انحلال‌پذیری گچ و آهک به ترتیب برابر  $2/6 \times 10^{-5}$  و  $4/8 \times 10^{-9}$  می‌باشند). بنابراین می‌توان گفت افزایش قدرت یونی، جذب سطحی، پالایش فیزیکی، اعوجاج منافذ و کاهش سرعت نیوتنی در ستون‌های دارای آهک و گچ در کاهش انتقال باکتری‌ها مهم بوده

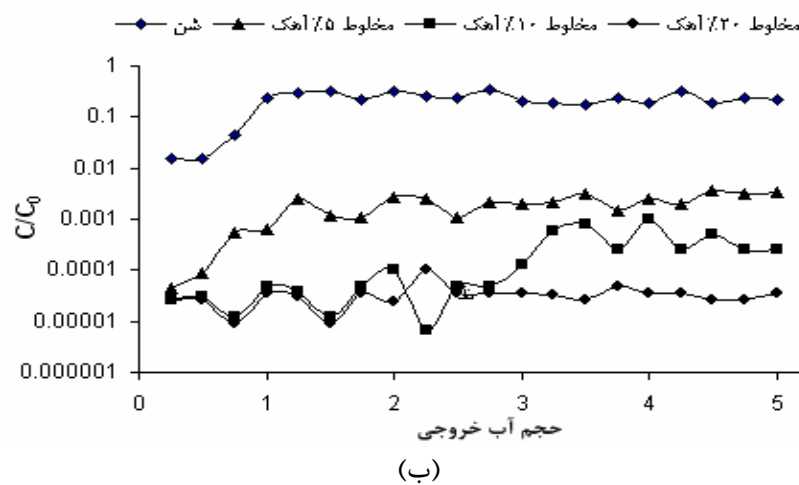
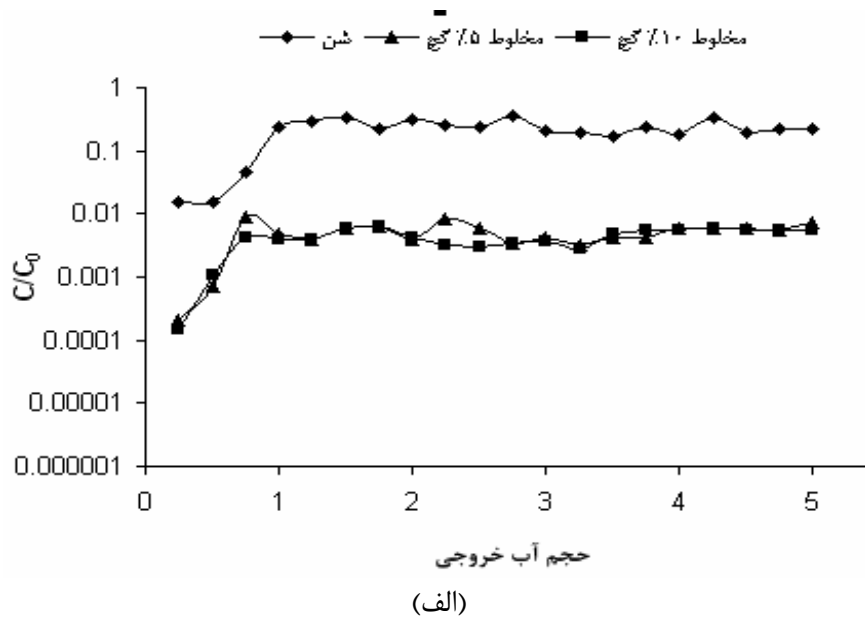
منحنی‌های رخنه (BTC) باکتری در تیمار شاهد (شن)، و تیمارهای مخلوط گچ و آهک با شن در شکل ۱ به‌صورت نیمه‌لگاریتمی نشان‌داده شده است. منحنی‌های رخنه نشان می‌دهند که باکتری‌ها در حین انتقال، تحت تأثیر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ترکیبات موجود در ستون‌ها قرار گرفته‌اند. با توجه به توزیع اندازه منافذ گسترده‌تر در مخلوط‌های شن با گچ و شن با آهک تأثیر عوامل پخشیدگی<sup>۱</sup> و پراکنش<sup>۲</sup> در انتقال باکتری مشاهده شد، در حالی که در نمونه شن جریان توده‌ای<sup>۳</sup> نقش عمده‌تری داشت. به‌عبارت دیگر منحنی رخنه باکتری در تیمار شاهد (شن) به جریان پیستونی<sup>۴</sup> نزدیک‌تر بود.

شکل ۱-الف نشان می‌دهد که مقادیر ۵ و ۱۰ درصد گچ میزان باکتری کمتری نسبت به تیمار شاهد از خود عبور داده‌اند. نکته جالب این است که غلظت باکتری در زه‌آب برای دو سطح ۵ و ۱۰ درصد گچ تقریباً یکسان بود. قدرت یونی زیاد محلول دارای گچ، عامل مهم در میزان انتقال باکتری است. با توجه به قدرت یونی تقریباً یکسان دو سطح گچ انتظار می‌رفت که اثر یکسانی را نشان‌دهند. منحنی رخنه باکتری برای مقادیر مختلف آهک (شکل ۱-ب) نشان می‌دهد که با افزایش مقدار آهک، غلظت باکتری در زه‌آب کاهش می‌یابد. تعداد ذرات بیشتر آهک با قدرت یونی و pH بالاتر در مخلوط ۲۰٪ آهک می‌تواند دلیل تفاوت موجود از نظر میزان خروج باکتری نسبت به سطوح دیگر آهک باشد.

گلداشمیت و همکاران (۱۹۷۳) معتقدند که pH خنثی تا اسیدی در مقایسه با شرایط قلیایی سبب جذب بیشتر باکتری‌ها روی سطوح ذرات خاک می‌شود. آن‌ها تراکم بارهای الکتریکی مثبت روی سطوح جذب را عامل جذب بیشتر باکتری گزارش

1. Diffusion
2. Dispersion
3. Mass flow
4. Piston flow

است. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که خاک‌های دارای کانی‌های کربناته و سولفات‌ه به‌خوبی قادر به پالایش میکروبی بوده و در امور تصفیه‌ای و بهداشتی قابل استفاده می‌باشند.



شکل ۱: منحنی رخنه باکتری *P. fluorescens* (الف) در ستون‌های شن با مقادیر مختلف گچ (بدون آهک)، و (ب) در ستون‌های شن با مقادیر مختلف آهک (بدون گچ)

کشور پرداخت شده است که سپاسگزاری می‌گردد. این پژوهش در دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام شد که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

**سپاسگزاری**  
بخشی از هزینه‌های این پژوهش از طریق طرح شماره ۸۴۱۴۷ صندوق حمایت از پژوهش‌گران

منابع

- Blake, G .R. 1986, Bulk density. In: Klute, A. (Ed.). Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods. Soil Sci. Soc. Am. Madison. WI. pp. 363-375.
- Buchter, B., Hinz, C., Flury, M. and Flühler, H. 1995. Heterogeneous flow and solute transport in an unsaturated stony soil monolith. Soil Sci. Soc. Am. J. 59: 14-21.
- Gannon, J. T., Tan, Y. H., Baveye, P. and Alexander, M. 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., McCarty, P. L. and Gigar, W. (Eds.), Ground Water Quality. John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 53-67.
- Goldschmidt, J., Zohar, D., Argamon, Y. and Kott, Y. 1973. Effects of dissolved salts on the filtration of coliform bacteria in sand dunes. In: Jenkins, S. H. (Ed.). Advances in Water Pollution Research, Pergamon Press, New York, pp. 147-156.
- Jang, L. K., Change, P. W., Findley, J. and Yen, T. F. 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.
- Klute A. and Dirksen, C. 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.
- Powelson, D. K. and Mills, A. L. 2001. Transport of *Escherichia coli* in sand columns with constant and changing water contents. J. Environ. Qual. 30: 238-245.
- Reynolds, P. J., Sharma, P., Jenneman, G. E. and McInerney, M. J. 1989. Mechanisms of microbial movement in subsurface materials. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2280-2286.
- SAS Institute. 1990. SAS User's Guide: Statistics. Ver. 6a. Cary, N. C.
- Scholl, M. A., Mills A. L., Herman, J. S. and Hornberger, G. M. 1990. The influence of mineralogy and solution chemistry on the attachment of bacteria to representative aquifer materials. J. Contamin. Hydrol. 6: 321-336.
- Unc, A., and Goss, M. J. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. Water Air Soil Pollut. 149: 327-337.

## Lime and gypsum effects on *Pseudomonas fluorescens* transport through sand columns in saturated condition

Rostami, K., Mahboubi, A. A., Mosaddeghi, M. R. and Safari Sinegani<sup>1</sup> A. A.

### Abstract

Transport of pathogenic bacteria that can potentially contribute to surface and groundwater contamination, is paraimportant. In spite of the widespread distribution of gypsic and calcisols in Iran, there is no information on the effects of lime and gypsum on bacteria transport phenomenon. This study was carried out to evaluate the influence of lime and gypsum on *Pseudomonas fluorescens* transport through sand columns under saturated steady-state conditions. Four levels of lime: 0, 5, 10 and 20% w/w and three levels of gypsum: 0, 5 and 10% w/w were mixed with sand and arranged as a factorial design (completely randomized) with three replicates. The mixtures were poured into pyrex cylinders (with 20 cm height and 7 cm diameter) and steady-state water flow was imposed on the columns. Then, the influent was switched to a constant concentration ( $10^6$  cfu ml<sup>-1</sup>) of *Pseudomonas fluorescens*. The leaching of the column was continued for five pore volumes (PV) and the bacteria concentration of the effluent was measured. Adding the lime and gypsum both affected the effluent concentration, significantly. The highest and the lowest pollutions of the drain water occurred in the pure sand columns and 20% lime treatments, respectively. Lime addition significantly decreased the bacteria transport through the columns. The impacts of lime and gypsum on effluent concentration were significant. The breakthrough curves could obviously represent the lowering of bacteria flux with lime and gypsum additions. Overall, the results demonstrated the high adsorptive and filtering capacities of carbonate and sulfate compounds which could reduce the bacteria transport and contamination of aquifers.

**Keywords:** Gypsum, Lime, Pore volume, Breakthrough curve, *Pseudomonas fluorescens*

---

1. Former Graduate Student, Prof., Assist. Prof. and Assoc. Prof. respectively, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hameadan, Iran