

## مدل‌سازی انتقال و نگهداشت آلاینده‌های میکروبی در خاک‌های آهکی تحت جریان اشباع آب در خاک

احمد فرخیان فیروزی<sup>۱</sup>، مهدی همایی<sup>۱\*</sup>، اروین کلومپ<sup>۲</sup>، روی کستیل<sup>۲</sup> و

مرتضی ستاری<sup>۳</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۹/۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۲/۲۱)

### چکیده

مطالعه انتقال میکروب‌ها در خاک از جنبه‌های مختلفی مانند آلودگی آب‌های زیرزمینی و پالایش زیستی خاک و آب زیرزمینی اهمیت دارد. هدف از این پژوهش مطالعه کمی انتقال باکتری در ستون‌های خاک آهکی دست‌نخورده تحت شرایط رطوبتی اشباع بود. بدین منظور، منحنی رخنه باکتری سودوموناس فلورسنس و کلراید در شرایط اشباع پایدار اندازه‌گیری شد. پس از پایان آزمایش انتقال باکتری، تعداد باکتری در لایه‌های مختلف خاک شمارش شد. مدل جذب-وا جذب سینتیک تک مکانی و دو مکانی برنامه HYDRUS-1D برای پیش‌بینی انتقال و جذب باکتری در ستون خاک استفاده شد. نتایج نشان داد مدل جذب-وا جذب سینتیک دو مکانی در مقایسه با مدل تک مکانی برآوردی بهتر از انتقال و نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک دارد. کارایی این مدل (E) در برآورد منحنی رخنه باکتری از ۰/۹۲ تا ۰/۹۵ و در برآورد نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک از ۰/۸۶ تا ۰/۹۴ بود. جذب باکتری به مکان ۱ نسبتاً سریع و وا جذب آن کند بود. در حالی که جذب باکتری و وا جذب آن از مکان ۲ سریع بود. ویژگی جذب سریع و وا جذب کند باکتری در مکان ۱ به کربنات کلسیم خاک نسبت داده شد که مکانی مناسب برای جذب باکتری است. نرخ وا جذب باکتری کمتر از ۰/۰۱ بود که نشان‌دهنده جذب تقریباً غیرقابل برگشت باکتری به کربنات کلسیم است. بیشتر باکتری‌ها پالایش شده در لایه‌های سطحی خاک نگهداشته شدند و با کاهش عمق مقدار نگهداشت باکتری به صورت نمایی کاهش یافت. نرخ حذف باکتری در خاک از ۴ تا ۴/۹ متغیر بود. نرخ بالای حذف باکتری به کربنات کلسیم خاک نسبت داده شد که دارای بار موافق برای جذب باکتری گرم منفی است.

واژه‌های کلیدی: انتقال باکتری، سودوموناس فلورسنس، جذب، جریان اشباع، خاک آهکی، وا جذب

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری و اساتید خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲. استاد مؤسسه ICG-4 مرکز تحقیقات پولیش آلمان

۳. دانشیار باکتری‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mhomaee@modares.ac.ir

## مقدمه

انتقال باکتری در خاک به دلایل مختلف در دهه اخیر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. از جمله این موارد می‌توان از تعیین خطر آلودگی منابع آب زیرزمینی با آلاینده‌های میکروبی، پالایش زیستی خاک و آب زیرزمینی، کنترل بیولوژیکی بیماری‌های گیاهی و نقش باکتری در افزایش سرعت انتقال آلاینده‌های آلی و معدنی نام برد (۳۴). با افزایش جمعیت، استفاده از کودهای دامی و فاضلاب‌ها در زمین‌های کشاورزی به منظور افزایش حاصلخیزی خاک و بهبود ویژگی‌های فیزیکی آن، افزایش یافته است. کاربرد نادرست آنها از طریق آلودگی شیمیایی و میکروبی سبب کاهش کیفیت آب سطحی و زیرزمینی شده و در نتیجه سلامت عمومی و زیست محیطی را به خطر انداخته است (۳۵). کاربرد کودهای دامی و فاضلاب‌ها بر این فرض بنا شده که خاک به عنوان فیلتری کامل عمل نموده و از ورود باکتری به آب زیرزمینی جلوگیری می‌کند. در حالی که، خاک محیطی ناهمگن بوده که دارای منافذ درشت است. این منافذ درشت که می‌تواند کرم راه‌ها، فضای بین خاکدانه‌ها، کانال‌های بجا مانده از ریشه پوسیده شده گیاهان و یا درز و ترک ایجاد شده در خاک رسی باشد، سبب انتقال سریع باکتری در خاک می‌شوند.

نتایج حاصل از پژوهش‌ها نشان می‌دهد میکروب‌ها می‌توانند فاصله زیادی را در خاک طی نموده و سبب آلودگی منابع آب شوند (۸، ۲۹، ۳۴ و ۳۵). آلودگی میکروبی در بیش از نیمی از چاه‌های آب آشامیدنی کشور ایالات متحده گزارش شده است و تخمین زده شده که ۷۵۰۰۰۰ تا ۵/۹ میلیون مورد بیماری و ۱۴۰۰ تا ۹۴۰۰ مرگ و میر در سال در این کشور در نتیجه مصرف آب آلوده زیرزمینی است (۱۹). هم‌چنین مصرف آب آلوده به باکتری *E. coli* O157:H7 در سال ۲۰۰۰ میلادی در کشور کانادا سبب مرگ ۶ نفر و بیماری بیش از ۲۰۰۰ نفر شد. نتایج تحقیقات نشان داد که چاه‌های منطقه که عمق آب آنها در ۷۰ متری از سطح زمین قرار داشت به وسیله میکروب‌های بیماری‌زای ناشی از کود دامی، آلوده شده بودند

(۱۶). تاکنون بیشتر مطالعات انجام شده در زمینه انتقال میکروب‌ها، در خاک‌های مصنوعی همگن یا رسوبات آبخوان دست‌خورده بوده است (۸، ۱۲ و ۳۴). پژوهش‌های اندکی انتقال باکتری را در خاک کشاورزی دست‌نخورده در شرایط اشباع یا غیراشباع مطالعه کرده‌اند. به‌علاوه این مطالعات به‌صورت کیفی بوده است (۱۰ و ۱۴). چندین مکانیزم انتقال پالایش باکتری را در خاک تحت شرایط جریان اشباع کنترل می‌کند. از جمله این مکانیزم‌ها می‌توان انتقال (شامل جریان توده‌ای و انتشار)، غیرفعال شدن، تبادل باکتری بین فاز مایع و جامد یعنی جذب و واجذب و پالایش فیزیکی (Straining) را نام برد. در مدل‌سازی انتقال باکتری در خاک بایستی بیان ریاضی مناسبی برای هر یک از مکانیزم‌ها ارائه شود. توفنکجی روش‌های مدل‌سازی انتقال میکروب‌ها در محیط متخلخل را به طور جامع مورد بررسی قرار داده است (۳۴).

انتقال باکتری در خاک به فاکتورهای پیچیده فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی نیز بستگی دارد. از جمله فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی، سرعت جریان آب، مقدار رطوبت، توزیع اندازه ذرات و منافذ، نوع کانی خاک و خصوصیات شیمیایی محلول خاک (اسیدیته و قدرت یونی) هستند. از خصوصیات بیولوژیکی می‌توان وضعیت فیزیولوژیکی سلول باکتری (مرحله رشد، تغذیه) و ویژگی‌های سطح سلول باکتری (بار، آبدوست یا آبگریز) را نام برد (۸). نتایج پژوهش شول و هاروی در سال نشان داد که جذب باکتری *Arthrobacter* sp. به ذرات کوارتز، مسکویت، سنگ آهک و ذرات کوارتز با پوشش آهن، بستگی به بار سطحی کانی‌ها دارد (۲۸). هم‌چنین فوپن و اسخایفن میزان جذب باکتری اشیریشیاکلی به رسوبات شامل ذرات شن کوارتز، ذرات با پوشش گئوتایت و کلسیت (۵ تا ۱۰۰ درصد پوشش) را اندازه‌گیری کردند. نتایج نشان داد با افزایش مقدار کانی‌های گئوتایت و کلسیت که بار سطحی آنها مثبت و موافق برای جذب باکتری گرم منفی است، میزان جذب باکتری افزایش می‌یابد (۷). در خاک‌های کشاورزی به دلیل وجود کانی‌های مختلف در خاک و در نتیجه ناهمگنی بار سطحی

موافق جذب مانند کربنات کلسیم است که جذب در آن بسیار سریع و واجذب بسیار آهسته است. درحالی‌که در مکان جذب ۲، فرآیند جذب و واجذب سریع است. در این پژوهش تلاش شده است تا نقش کربنات کلسیم خاک که دارای انرژی جذب متفاوتی در مقایسه با سایر کانی‌های خاک است در شرایط جریان اشباع به‌صورت کمی بیان شود.

## مواد و روش‌ها

### ۱. خاک

به منظور مطالعه کمی جذب و انتقال باکتری در خاک تحت شرایط اشباع، ۲ ستون خاک دست‌نخورده از منطقه الشتر واقع در استان لرستان نمونه‌برداری شد. محل نمونه‌برداری در طول ۴۸ درجه و ۱۴ دقیقه شرقی و عرض ۳۳ درجه و ۴۹ دقیقه شمالی قرار دارد. خاک‌های آهکی این منطقه در زیر گروه بزرگ Calcixerollic Xerochrepts قرار می‌گیرند. ستون‌های نمونه‌برداری از جنس PVC دارای قطر ۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر بودند. قبل از شروع آزمایش انتقال، ستون‌های خاک از ته با محلول ۰/۰۱ مولار  $\text{CaCl}_2$  برای مدت ۲ روز اشباع شدند. در ته ستون خاک صفحه‌ای از جنس Plexiglas و غشایی از جنس پلی‌استرن قرار داده شد. هم‌چنین پیش از آغاز آزمایش غشای ته ستون خاک مورد آزمایش قرار گرفت که باکتری را کاملاً عبور داده و مانع عبور آن نمی‌گردد. به‌علاوه، لایه نازکی از شن کوارتز درشت دانه بر سطح ستون خاک برای جلوگیری از تخریب ساختمان خاک قرار داده شد. به منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه‌های دست‌خورده نیز تهیه شد. نمونه‌ها پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. توزیع اندازه ذرات به روش هیدرومتری، مقدار کربن آلی به روش اکسیداسیون تر و تیتراسیون با فروآمونیم فسفات (۲۴) و مقدار کربنات کلسیم فعال (ACC) به روش اگزالات آمونیم اندازه‌گیری شد (۵). ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC) با جایگزینی کاتیون‌ها با استات سدیم (NaOAc) در اسیدیته ۸/۵ اندازه‌گیری شد (۴).

ذرات خاک، امکان وجود بیش از یک مکان جذب وجود دارد. وجود پوسته‌های کربنات کلسیم ( $\text{CaCO}_3$ ) روی ذرات خاک و بلورهای کربنات کلسیم در اندازه‌های شن و سنگریزه از ویژگی‌های خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک است. عموماً مواد مادری در این نواحی از کربنات‌ها غنی هستند و آب و هوای گرم و خشک موجب می‌گردد که کربنات‌های حل شده در آب آبیاری و یا بارندگی پیش از آنکه به اعماق نفوذ کنند، با تبخیر به سطح خاک برگردند. طی این فرآیند، کربنات‌ها بر روی ذرات و یا دیواره منافذ خاک رسوب می‌یابند. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد مقدار  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  کانی کربنات کلسیم بین ۹/۵ تا ۱۰/۸ متغیر است (۷ و ۳۲). از طرفی با توجه به این‌که در شرایط طبیعی خاک آهکی کشاورزی دارای مقدار اسیدیته کمتر از ۹/۵ است، بنابراین در این شرایط انتظار می‌رود بارسطحی کانی کربنات کلسیم در خاک مثبت باشد زیرا این کانی  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  بیشتر از pH محلول خاک دارد. بنابراین با افزایش مقدار کربنات کلسیم که انرژی جذب متفاوتی با سایر کانی‌های خاک دارد. شرایط بهتری برای جذب بیشتر باکتری سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*) که دارای بار سطحی منفی است، فراهم خواهد شد.

خاک‌های با بیش از ۵ درصد آهک را اصطلاحاً خاک آهکی گویند (۳۶). بر اساس گزارش فائو حدود ۶۵ درصد از خاک‌های ایران آهکی هستند (۶). با توجه به وسعت زیاد خاک‌های آهکی در ایران و این‌که کربنات کلسیم در مقایسه با سایر کانی‌های خاک دارای انرژی متفاوتی برای جذب باکتری‌هاست، مطالعه انتقال باکتری در این خاک‌ها ضروری است. هدف از این پژوهش مطالعه کمی انتقال و نگهداشت باکتری گرم منفی سودوموناس فلورسنس در ستون‌های خاک آهکی دست‌نخورده تحت شرایط جریان اشباع بوده است. در این پژوهش امکان وجود بیش از یک مکان جذب سینتیک باکتری در خاک آهکی بررسی شده است. لذا فرض شد که خاک آهکی مورد مطالعه دارای دو مکان جذب سینتیک می‌باشد. مکان جذب سینتیک ۱، مربوط به کانی‌های بار

اسیدیته در گل اشباع و هدایت الکتریکی (کل املاح محلول) در عصاره اشباع تعیین شد.

## ۲. باکتری

در این پژوهش از باکتری سودوموناس فلورسنس (DSM 50108 Biotype II) استفاده شد. این باکتری خاکزی بوده و به عنوان مدل ریزجاندار زنده در مطالعات زیادی استفاده شده است (۳). باکتری سودوموناس فلورسنس متحرک، میله‌ای شکل، با بار سطحی منفی، قطر آن از ۰/۵ تا ۱ میکرون و طول آن از ۱/۵ تا ۴ میکرون با توجه به مرحله رشد و وضعیت غذایی آن متغیر است. باکتری دارای تاژک بوده و با سرعت ۲۰ تا ۶۰ میکرومتر در ثانیه و به‌طور متوسط ۱۴ سانتی‌متر در ساعت در آب حرکت می‌کند (۲۷).

## روش تهیه محلول سوسپانسیون باکتری

یک کلونی از سویه باکتری *Pseudomonas fluorescens* در محیط مغذی (Nutrient Broth)، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد داده شد. سپس باکتری با استفاده از سانتریفیوژ در دور ۸۰۰G به مدت ۵ دقیقه از محیط مغذی جدا شد. پس از آن، باکتری جدا شده دو بار با محلول کلرید کلسیم  $(CaCl_2)$ ، ۰/۰۱ مولار شستشو داده شد. سوسپانسیون باکتری با غلظت  $10^8$  تا  $10^9$  در میلی‌لیتر محلول ۰/۰۱ مولار کلرید کلسیم به‌دست آمد. این سوسپانسیون تهیه شده در آزمایش انتقال باکتری در خاک استفاده شد. برای شمارش باکتری در سوسپانسیون باکتری از دستگاه شمارنده سلول (Multisizer 3, Coulter Counter, BECKMAN) استفاده شد.

## ۳. آزمایش انتقال

آزمایش انتقال باکتری و کلراید در شرایط جریان اشباع پایدار (Steady State Condition) انجام شد. آزمایش انتقال به گونه‌ای طراحی شد که جریان اشباع پایدار با شیب هیدرولیکی واحد در طول ستون خاک برقرار شود. بدین منظور بار آبی ثابتی به

ارتفاع کمتر از ۵ میلی‌متر بر سطح ستون خاک اعمال گردید. به منظور برقراری بار ثابت بر سطح خاک، آب سرریز شده از طریق یک لوله به مخزن اصلی برگشت داده می‌شد. به دلیل این‌که ارتفاع آب در سطح ستون خاک ناچیز بود لذا فرض شد که شدت جریان داری (q) برابر با هدایت هیدرولیکی اشباع خاک ( $K_s$ ) است. کلیه شرایط آزمایش با برنامه LabView به‌طور خودکار کنترل می‌شد. محلول ۰/۰۱ مولار  $CaCl_2$  به عنوان محلول زمینه استفاده شد. ورود آب به سطح ستون خاک به وسیله باران‌سازی که محلول را به‌طور یکنواخت در سطح ستون توزیع می‌کردند، صورت گرفت. هر یک از محلول‌های کلراید یا سوسپانسیون باکتری با پمپ از مخزنی به سطح ستون خاک وارد شدند. با استفاده از دو حسگر الکتریکی سطح سیال، نمونه‌های زهاب خروجی با حجم ۱۵ میلی‌لیتر نمونه‌برداری شدند. در هر آزمایش انتقال تعداد ۷۵ نمونه از زهاب خروجی جمع‌آوری شد. هم‌چنین برای اندازه‌گیری غلظت کلراید، هدایت الکتریکی هر نمونه زهاب خروجی به‌طور خودکار اندازه‌گیری و پس از پایان آزمایش انتقال، غلظت آن با استفاده از منحنی کالیبره محاسبه شد. برای اندازه‌گیری منحنی رخنه کلراید  $(Cl^-)$ ، محلول ۰/۰۱ مولار  $CaCl_2$  با محلول ۰/۰۵ مولار  $CaCl_2$  برای مدت زمان معین (۵ ساعت) جایگزین شد. هم‌چنین برای اندازه‌گیری منحنی رخنه باکتری، سوسپانسیون باکتری با توجه به مدت زمان انجام آزمایش جایگزین محلول زمینه ۰/۰۱ مولار  $CaCl_2$  شد. به منظور اندازه‌گیری باکتری در نیمرخ خاک پس از پایان آزمایش انتقال باکتری، ستون خاک به لایه‌های ۱ سانتی‌متری برش داده شد.

## ۴. شمارش باکتری

### الف) شمارش باکتری در زهاب خروجی

برای شمارش باکتری از روش میکروسکوپ (Nickon ECLIPSE E 1000) و تحلیل تصاویر دیجیتال باکتری رنگ‌آمیزی شده با رنگ فلورسنس، استفاده شد. در این روش ابتدا باکتری موجود در سوسپانسیون خروجی از ستون خاک با

فلورسنس بومی خاک همانند روش آزمایش، یک ستون خاک شاهد آبشویی و تعداد باکتری در نیمرخ آن شمارش شد.

##### ۵. معادلات حاکم بر انتقال

###### الف) انتقال کلراید

انتقال املاح غیرواکنشگر (Non-reactive) مانند کلراید عموماً با معادله جریان توده‌ای-انتشار (Convection-Dispersion Equation) بیان می‌شود. برای شرایط جریان پایدار این معادله را می‌توان به شکل زیر نوشت:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -v \frac{\partial C}{\partial z} + D \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \quad [1]$$

که در آن C غلظت نمک در فاز مایع ( $\text{ML}^{-3}$ )، D ضریب انتشار (Dispersion coefficient) ( $\text{L}^2\text{T}^{-1}$ )، v سرعت متوسط منفذی آب ( $\text{LT}^{-1}$ )، t زمان و z عمق خاک (L) است. پارامترهای v و D منحنی رخنه کلراید با استفاده از روش غیرخطی بهینه‌سازی پارامتر (Non-linear parameter optimization) بر اساس الگوریتم لونیبرگ - مارگورت (Levenberg-Marquardt) برآورد شدند (۲۰). بدین منظور از برنامه CXTFIT که به‌طور تحلیلی معادله CDE را برای شرایط مرزی معین حل می‌نماید، استفاده شد (۳۳). سپس پارامترهای انتقال (D و v) تخمین زده شده و شدت جریان دارسی (q) که در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد برای تعیین مقدار رطوبت حجمی ( $\theta = \frac{q}{v}$ ) و ضریب انتشارپذیری ( $\lambda = \frac{D}{v}$ ) استفاده شدند. پارامترهای تخمین زده شده ( $\theta$  و  $\lambda$ ) و شدت جریان اندازه‌گیری شده در شبیه‌سازی انتقال باکتری با استفاده از برنامه HYDRUS-1D مورد استفاده قرار گرفتند (۳۰).

###### ب) انتقال باکتری

برای پیش‌بینی دقیق انتقال آلاینده‌های میکروبی در خاک و تعیین خطر آلودگی منابع آب، مدل‌هایی لازم است که بتوانند با تخمینی مناسب وضعیت انتقال، نگهداشت و غیرفعال شدن این آلاینده‌ها را برآورد کنند. گام نخست در مدل‌سازی انتقال

ماده رنگی SYBER سبز رنگ‌آمیزی شده سپس با استفاده از میکروسکوپ و با پشتیبانی برنامه LUCIA تصاویر دیجیتالی تهیه، و در نهایت تعداد کل باکتری با استفاده از برنامه KS400 (Carl Zeiss, Jena) شمارش می‌شود (۱۸). به منظور اندازه‌گیری تعداد باکتری سودوموناس فلورسنس بومی خاک موجود در زهاب خروجی، پیش از شروع آزمایش انتقال، غلظت باکتری در زهاب خروجی شمارش شد و در محاسبات انتقال باکتری اعمال شد.

###### ب) شمارش باکتری در نیمرخ خاک

برای شمارش باکتری در نیمرخ خاک بلافاصله پس از پایان آزمایش انتقال، ستون خاک به ۱۰ لایه یک سانتی‌متری برش داده شد. برای این منظور با استفاده از یک پیستون به انتهای خاک داخل سیلندر به آرامی نیرو وارد نموده تا خاک داخل سیلندر یک سانتی‌متر خارج شود. سپس با استفاده از یک تیغه تیز خاک برش داده شد. هر لایه خاک به‌طور کامل مخلوط شده و ۴ گرم از آن با ۴۰ میلی‌لیتر محلول فسفات بافر با اسیدیتته ۷ به لوله سانتریفیوژ ۵۰ میلی‌لیتری اضافه شد. نمونه در دستگاه شیکر به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۲۰۰ به‌هم زده شد. سپس برای جداسازی باکتری موجود در فاز مایع از فاز جامد، لوله‌ها در دور ۸۰۰G به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در صورت نیاز عمل شیکر و سانتریفیوژ چندین بار تکرار شد تا باکتری‌ها تا حد امکان به فاز مایع انتقال یابند. برای تعیین غلظت باکتری در محلول رویی به‌دست آمده از روش شمارش زنده (Plate Count) استفاده شد. در روش شمارش زنده در ابتدا محلول سوسپانسیون باکتری به میزان لازم رقیق شده و با استفاده از پپت سترون ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده روی محیط کشت S1 کشت داده شد (۱۳). پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از رشد باکتری‌ها، برای شمارش کلنی‌های باکتری از دستگاه دیجیتالی شمارنده کلنی (Digital Colony Counter) استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری تعداد باکتری سودوموناس

می‌باشد. مکان جذب سینتیک ۱ مربوط به کانی‌های با بار موافق مانند کربنات کلسیم است که جذب در آن بسیار سریع و واجذب بسیار آهسته است. درحالی‌که در مکان جذب ۲ فرآیند جذب و واجذب سریع است. به دلیل واجذب سریع باکتری از مکان جذب ۲، غیرفعال شدن باکتری در آن برابر صفر در نظر گرفته شد. در مدل جذب سینتیک تک مکانی فرض شد که پارامترهای مکان ۲ در معادله ۲ برابر صفر می‌باشند. برای برآورد پارامترهای مدل انتقال باکتری در خاک، از برنامه HYDRUS-1D استفاده شد (۳۰). این برنامه برای شبیه‌سازی حرکت آب، گرما و املاح در حالت اشباع و غیراشباع خاک به کار می‌رود. برنامه HYDRUS-1D معادله ریچاردز (Richards' Equation) را به صورت عددی برای جریان اشباع و غیراشباع آب و معادله جریان توده‌ای - انتشار (CDE) را برای انتقال املاح حل می‌کند. این برنامه امکان برآزش همزمان پارامترهای مدل را به منحنی رخنه (Breakthrough Curve) و داده‌های نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک (Profile Retention) با استفاده از روش بهینه‌سازی حداقل مربعات براساس الگوریتم لوببرگ - مارگوت فراهم می‌کند.

#### ۶. ارزیابی مدل‌ها

برای تعیین دقت هر یک از مدل‌های جذب سینتیک تک مکانی و دو مکانی از آماره‌های تعیین کارایی مدل (Model efficiency) و ریشه میانگین مربعات خطا (Root mean square error) استفاده شد (۳۳):

$$E = 1 - \frac{\sum_i (C_{obs}^i - C_{fit}^i)^2}{\sum_i (C_{obs}^i - C_{avg})^2} \quad [5]$$

$$RMSE = \left[ \frac{\sum_i (C_{obs}^i - C_{fit}^i)^2}{n} \right]^{1/2} \quad [6]$$

که در آنها،  $C_{obs}^i$  و  $C_{fit}^i$  به ترتیب تعداد باکتری برآزش داده

میکروب‌ها در خاک، استفاده از مدل جریان توده‌ای - انتشار (CDE) است. بدین منظور، مکانیزم‌های مختلف مؤثر بر انتقال باکتری‌ها در خاک شامل انتقال (جریان توده‌ای و انتشار)، غیرفعال شدن (Inactivation)، تبادل باکتری بین فاز مایع و جامد یعنی جذب (Attachment) و واجذب (Detachment) در مدل اصلاح شده CDE لحاظ شده است.

معادله کلی حاکم بر جذب و انتقال باکتری در خاک را می‌توان با مدل جذب - واجذب سینتیک دو مکانی (Two-site Kinetic Attachment-Detachment model) بیان کرد (۲۶). این مدل فرآیندهای جذب و واجذب را با نرخ سینتیک درجه اول (First-order kinetic process) توصیف می‌نماید. فرآیند جذب سینتیک در دو مرحله صورت می‌گیرد. در مرحله اول که انتقال جرم گفته می‌شود باکتری از فاز مایع به سطح ذرات خاک انتقال می‌یابد. در مرحله دوم، باکتری در نتیجه بر هم کنش‌های فیزیکوشیمیایی جذب سطح ذرات خاک می‌شود. در حالت یک بعدی مدل جذب - واجذب سینتیک دو مکانی انتقال باکتری را به شکل زیر بیان می‌کند:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\rho_b}{\theta} \frac{\partial S_1}{\partial t} + \frac{\rho_b}{\theta} \frac{\partial S_2}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - v \frac{\partial C}{\partial z} - \mu_1 C \quad [2]$$

$$\frac{\rho_b}{\theta} \frac{\partial S_1}{\partial t} = k_{att1} C - k_{det1} \frac{\rho_b}{\theta} S_1 - \mu_{S_1} \rho_b S_1 \quad [3]$$

$$\frac{\rho_b}{\theta} \frac{\partial S_2}{\partial t} = k_{att2} C - k_{det2} \frac{\rho_b}{\theta} S_2 - \mu_{S_2} \rho_b S_2 \quad [4]$$

که در آن C غلظت باکتری در فاز مایع ( $ML^{-3}$ )، D ضریب انتشار ( $L^2T^{-1}$ )، v سرعت منفذی آب ( $LT^{-1}$ )،  $\theta$  تخلخل کل ( $L^3L^{-3}$ )،  $\rho_b$  جرم ویژه ظاهری خاک ( $ML^{-3}$ )، S غلظت باکتری جذب شده به خاک ( $NL^{-3}$ ) است.  $k_{att}$  و  $k_{det}$  به ترتیب نرخ جذب و واجذب باکتری از ذرات خاک ( $T^{-1}$ ) و t زمان می‌باشد.  $\mu_1$  و  $\mu_2$  به ترتیب غیرفعال شدن باکتری در فاز مایع و جامد هستند. اعداد ۱ و ۲ در معادلات مذکور به ترتیب به مکان‌های جذب سینتیک اول و دوم اشاره دارند. در این پژوهش امکان استفاده از بیش از یک مکان جذب سینتیک در خاک‌های آهکی مورد مطالعه بررسی شد. لذا فرض شد که خاک آهکی مورد مطالعه دارای دو مکان جذب سینتیک

اولیه ورودی ( $C_0$ ) در مقابل زمان نمایش داده شده است. مقایسه منحنی رخنه باکتری با کلراید به خوبی تفاوت بین آن دو را نشان می‌دهد. همانطوری که ملاحظه می‌شود در هر دو ستون خاک، باکتری قبل از کلراید در زهاب خروجی مشاهده شده و به نقطه اوج رسیده است و پس از پایان ورود محلول سوسپانسیون باکتری به سطح ستون خاک، منحنی رخنه باکتری قبل از کلراید سیر نزولی داشته است. این نوع رفتار باکتری توسط گوبر و همکاران که انتقال باکتری را در ستون‌های دست نخورده در حالت اشباع مطالعه کرده‌اند، مشاهده شده است (۱۴). هم‌چنین اسمیت و همکاران حرکت سویه‌های باکتری *E. coli* با کلراید را در خاک‌های با بافت سیلت مقایسه کردند. این پژوهشگران مشاهده نمودند در ستون خاک دست‌نخورده در حدود ۹۰ درصد از باکتری *E. coli* ورودی به ستون خاک پس از ۱۷ دقیقه از آن عبور کردند. این درحالی بود که فقط ۷۰ درصد از کلراید در زمان مشابه از ستون خاک عبور کرده بود (۳۱). نتایج مطالعات دیگر نشان داد که انتقال باکتری در خاک‌های با بافت لوم سیلتی (Silty loam) و لوم شنی (Sandy loam) ۳۵ مرتبه بیشتر از سرعت انتقال آب در خاک است (۳۵). انتقال سریع‌تر باکتری در مقایسه با کلراید را می‌توان به مسیرهای متفاوت انتقال باکتری و کلراید نسبت داد. زیرا باکتری برخلاف کلراید توانایی عبور از منافذ ریز را ندارد و تنها از منافذ درشت خاک عبور می‌کند. بنابراین میانگین سرعت انتقال باکتری بیشتر از کلراید بوده و زودتر از آن در زهاب خروجی مشاهده می‌شود. هم‌چنین مقایسه منحنی رخنه کلراید و باکتری نشان می‌دهد که غلظت نسبی باکتری در مقایسه با کلراید بسیار کمتر بوده است که نشان‌دهنده نگهداشت قوی باکتری در خاک در نتیجه مکانیزم‌های پالایش فیزیکی و جذب است. پارامترهای برآورد شده مدل جذب-واجذب سینتیک باکتری در جدول ۳ آمده است. مقدار نرخ جذب باکتری در این خاک‌ها در مدل تک مکانی از  $0.76 \text{ (h}^{-1}\text{)}$  تا  $0.1 \text{ (h}^{-1}\text{)}$  متغیر است که نرخ جذب نسبتاً بالایی است. دلیل جذب بالای باکتری در شرایط اشباع حاکم بر ستون‌های خاک مورد

شده و مشاهده شده در زمان  $t_i$  و مقدار میانگین مشاهده شده می‌باشد. هم‌چنین مقدار  $C_{avg}$  از رابطه زیر قابل محاسبه است:

$$C_{avg} = \sum_i^N \frac{C_{obs}}{N} \quad [۷]$$

که در آن،  $N$  تعداد مشاهدات است.

## نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ستون‌های خاک مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است. همانطوری که ملاحظه می‌شود بافت ستون‌های خاک مورد مطالعه لوم رسی (Clay loam) بوده و مقدار کربنات کلسیم فعال ستون خاک A و B به ترتیب ۳۱/۵ و ۲۶/۳ درصد می‌باشد.

## انتقال کلراید

در شکل ۱ منحنی‌های رخنه کلراید اندازه‌گیری شده و برآورد شده با مدل CXTFIT برای ستون‌های خاک ارائه شده است. ضریب تبیین ( $R^2$ ) بین مقادیر اندازه‌گیری شده و برآورد شده ۰/۹۹ است. منحنی‌های رخنه کلراید به خوبی نشان می‌دهند که شاخه صعودی آن دارای شیب تند بوده یا به عبارتی کلراید به سرعت در زهاب خروجی مشاهده شده است. از طرفی این منحنی‌ها دارای دنباله (Tailing) نسبتاً طولانی هستند. این ویژگی منحنی رخنه کلراید دلیل بر وجود منافذ درشت در ستون‌های خاک آهکی مورد مطالعه است. پارامترهای انتقال تخمین داده شده برای کلراید در جدول ۲ آمده است.

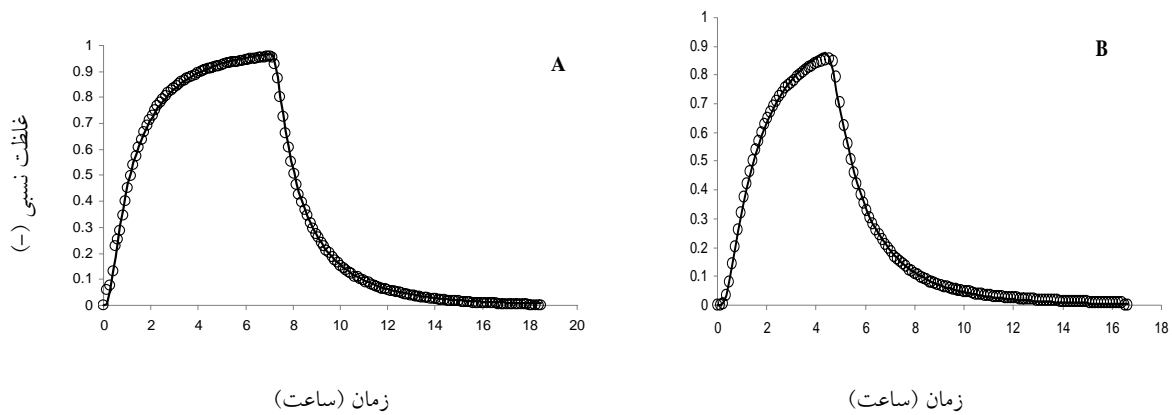
## انتقال باکتری

مقایسه انتقال باکتری با املاح غیرواکنش‌گر مانند کلراید به درک بهتر مکانیزم‌ها و فاکتورهای حاکم بر انتقال ذرات باکتری در خاک کمک می‌نماید. منحنی رخنه باکتری و کلراید برای هر یک از ستون‌های خاک در شکل ۲ آمده است. در این منحنی‌ها غلظت نسبی (نسبت غلظت در زهاب خروجی  $C$  به غلظت

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ستون‌های خاک مورد آزمایش

ستون خاک	رس (%)	سیلت (%)	جرم ویژه ظاهری ( $\text{gcm}^{-3}$ )	اسیدیته	EC ( $\text{dSm}^{-1}$ )	OC (%)	CEC ( $\text{cmol kg}^{-1}$ )	ACC (%)
A	۳۸	۳۲/۵	۱/۳	۷/۵	۱/۲۲	۱/۴	۱۵/۲	۳۱/۵
B	۳۶/۵	۳۴/۷	۱/۲	۷/۴	۱/۲	۱/۵	۱۴/۶	۲۶/۳

EC=هدایت الکتریکی، OC=کربن آلی، CEC=ظرفیت تبادل کاتیونی، ACC=کربنات کلسیم فعال

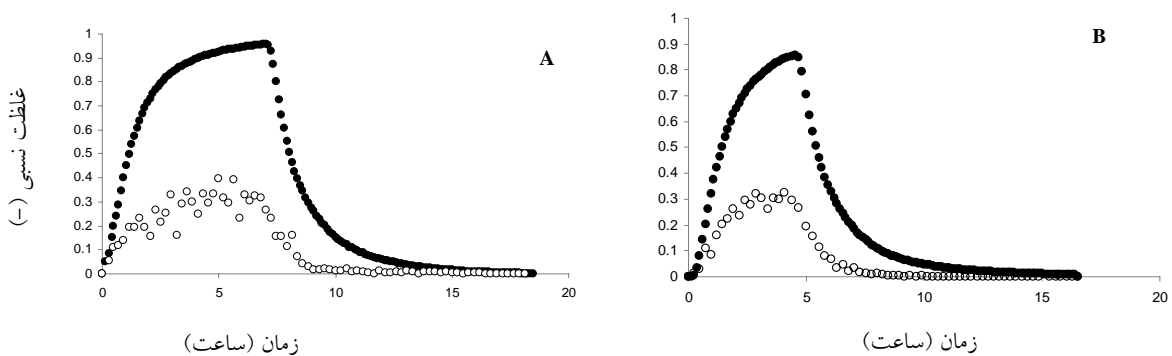


شکل ۱. منحنی رخنه کلراید اندازه‌گیری شده (دایره تو خالی) و برازش داده شده با مدل CXTFIT (خط ممتد)

جدول ۲. پارامترهای انتقال کلراید در ستون‌های خاک مورد مطالعه

ستون خاک	$v$ ( $\text{cmh}^{-1}$ )	$D$ ( $\text{cm}^2\text{h}^{-1}$ )	$R^2$	$q$ ( $\text{cmh}^{-1}$ )	$\lambda$ (cm)	$\theta$ ( $\text{cm}^3\text{cm}^{-3}$ )
A	۵/۹۶	۳۶/۳۰	۰/۹۹	۲/۵۸	۶/۰۹	۰/۴۴
B	۴/۷۳	۲۲/۹۰	۰/۹۹	۲/۳۱	۴/۸۴	۰/۴۸

$v$ : سرعت منفذی،  $D$ : ضریب انتشار،  $q$ : شدت جریان دارسی،  $\lambda$ : انتشارپذیری و  $\theta$ : رطوبت خاک



شکل ۲. منحنی رخنه اندازه‌گیری شده کلراید (دایره توپر) و باکتری (دایره تو خالی) در ستون‌های خاک A و B

در مکان ۲ به ترتیب برای خاک A و B، ۰/۴۲ و ۰/۳۳ و مقدار واجذب ۰/۴۲ و ۰/۰۷ است. منحنی‌های رخنه اندازه‌گیری شده باکتری در شکل ۳ به خوبی نشان می‌دهند که غلظت باکتری در زهاب خروجی به سرعت به نقطه اوج رسیده و پس از آن منحنی رخنه دارای پراکندگی بسیار است که دلیل آن می‌تواند وجود مکان‌های با انرژی جذب و دفع متفاوت در خاک باشد. با این‌که آزمایش‌های انتقال باکتری در شرایط پایدار انجام شده است وجود نوسانات و نقاط اوج و افت مختلف در منحنی رخنه باکتری و پراکندگی داده‌ها نشان دهنده وجود ناهمگنی شیمیایی و فیزیکی خاک است (۲۵).

زیرا خاک از کانی‌های مختلف تشکیل شده که توانایی جذب و دفع متفاوتی دارند. هم‌چنین می‌تواند بیان‌کننده مسیرهای جریان متفاوت برای انتقال باکتری باشد. حداکثر غلظت نسبی باکتری ( $C_{max}/C_0$ ) منحنی‌های رخنه ستون خاک A و B در جدول ۴ ارائه شده است. مقدار غلظت نسبی ستون‌های خاک A و B به ترتیب ۰/۳۹ و ۰/۳۲ است. اگر حداکثر غلظت‌های نسبی باکتری ارائه شده در جدول ۴ با شدت جریان ستون‌های خاک ارائه شده در جدول ۲ تطابق داده شوند، ملاحظه می‌شود که ستون A دارای بیشترین مقدار شدت جریان و غلظت نسبی باکتری است. این، نشان می‌دهد در خاک با شدت جریان بیشتر مقدار پالایش باکتری کمتر بوده است، زیرا با افزایش شدت جریان فرصت برای جذب باکتری کاهش می‌یابد. از طرفی بنابر قانون پوازی (Poiseuille's Law) مقدار زیادی از کل جریان از منافذ درشت عبور نموده و در نتیجه مقدار بیشتری باکتری از خاک انتقال یافته است.

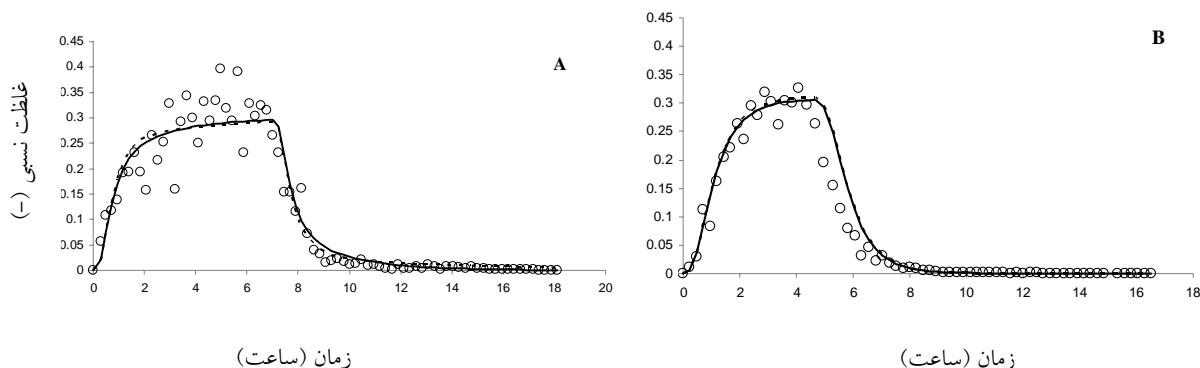
باکتری پس از طی مسافتی در خاک از فاز مایع حذف می‌شود نرخ حذف باکتری (Removal Rate) با پارامتر  $\log(C_{max}/C_0 m^{-1})$  بیان می‌شود (۲۵). در جدول ۴ نرخ حذف باکتری برای هر ستون خاک آمده است. مقدار این پارامتر در ستون‌های خاک A و B به ترتیب ۴/۰۲ و  $(\log m^{-1})$  ۴/۹۰ می‌باشد. مقدار زیاد نرخ حذف نشان‌دهنده توان بالای این خاک‌ها در پالایش باکتری است. نتایج پژوهش‌ها نشان داد که

مطالعه را می‌توان در نقش کانی‌های خاک جستجو کرد. خاک‌های مورد مطالعه دارای مقدار زیادی کانی کربنات کلسیم می‌باشند. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد مقدار  $pH_{PZC}$  کانی کربنات کلسیم بین ۹/۵ تا ۱۰/۸ متغیر است (۷ و ۳۲). از طرفی مقدار اسیدیته خاک‌های مورد مطالعه ۷/۴ تا ۷/۵ می‌باشد. لذا در این شرایط بارسطحی کانی کربنات کلسیم در خاک مورد مطالعه مثبت است. زیرا این کانی  $pH_{PZC}$  بیشتر از pH محلول خاک دارد. بنابراین، با افزایش مقدار کربنات کلسیم که دارای بار موافق جذب باکتری است شرایط بهتری برای جذب بیشتر باکتری *Pseudomonas fluorescens* که دارای بار سطحی منفی است، فراهم شده است. واجذب باکتری پتانسیلی برای ورود دوباره باکتری بیماری‌زا به آب و افزایش خطر آلودگی آن است. بیان کمی واجذب باکتری در تعیین پتانسیل انتقال باکتری ضروری است.

مشاهدات مزرعه‌ای و آزمایشگاهی نشان داده واجذب باکتری، سبب طولانی شدن دنباله منحنی رخنه می‌شود (۳۶). همانطوری‌که در جدول ۳ ملاحظه می‌شود در مدل تک مکانی مقدار  $k_{att}$  بیش از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر  $k_{det}$  می‌باشد که نشان‌دهنده این است که جذب باکتری در خاک‌های آهکی مورد مطالعه تقریباً غیرقابل برگشت است. در این پژوهش امکان استفاده بیش از یک مکان جذب سینتیک در خاک‌های آهکی مورد مطالعه نیز مورد بررسی قرار گرفت. پارامترهای مدل جذب سینتیک دو مکانی در جدول ۳ به خوبی نشان می‌دهند که خاک آهکی مورد مطالعه دارای دو مکان جذب سینتیک است. مکان جذب سینتیک ۱ مربوط به کانی‌های با بار موافق مانند کربنات کلسیم است که جذب در آن بسیار سریع و واجذب بسیار آهسته است. مقدار پارامتر جذب در مکان سینتیک ۱ در ستون خاک A و B به ترتیب ۰/۷۴ و ۰/۹۰ می‌باشند. این درحالی است که در این مکان مقدار واجذب بسیار ناچیز است. مقدار واجذب مکان سینتیک ۱ در ستون خاک A و B به ترتیب  $5/6 \times 10^{-5}$  و  $2 \times 10^{-4}$  می‌باشد. درحالی‌که در مکان جذب ۲ فرآیند جذب و واجذب سریع است. مقدار نرخ جذب باکتری

جدول ۳. پارامترهای مدل جذب و واجذب سینتیک تک مکانی و دو مکانی برازش داده شده بر منحنی رخنه باکتری (عدد داخل پرانتز انحراف استاندارد هر پارامتر را نشان می‌دهد).

پارامتر	ستون A		ستون B	
	تک مکانی	دو مکانی	تک مکانی	دو مکانی
$(h^{-1})k_{att1}$	$1/2$ ( $4/3 \times 10^{-2}$ )	$9 \times 10^{-1}$ ( $1 \times 10^{-1}$ )	$7/6 \times 10^{-1}$ ( $3 \times 10^{-2}$ )	$7/4 \times 10^{-1}$ ( $2/9 \times 10^{-1}$ )
$(h^{-1})k_{det1}$	$3/2 \times 10^{-2}$ ( $6/6 \times 10^{-3}$ )	$5/6 \times 10^{-2}$ ( $5/7 \times 10^{-3}$ )	$4/7 \times 10^{-4}$ ( $4/7 \times 10^{-5}$ )	$2 \times 10^{-4}$ ( $2 \times 10^{-3}$ )
$(h^{-1})k_{att2}$	-	$4/2 \times 10^{-1}$ ( $1/4 \times 10^{-1}$ )	-	$3/3 \times 10^{-2}$ ( $2/1 \times 10^{-2}$ )
$(h^{-1})k_{det2}$	-	$4/2 \times 10^{-1}$ ( $3/7 \times 10^{-1}$ )	-	$7/1 \times 10^{-3}$ ( $5/8 \times 10^{-2}$ )
$\mu_s$	$1/9 \times 10^{-1}$ ( $1/1 \times 10^{-1}$ )	$1/9 \times 10^{-1}$ ( $1/1 \times 10^{-2}$ )	$1/6 \times 10^{-5}$ ( $1/2 \times 10^{-7}$ )	$1/9 \times 10^{-6}$ ( $1/1 \times 10^{-7}$ )
$R^2$	۰/۹۲	۰/۹۳	۰/۹۸	۰/۹۹



شکل ۳. منحنی رخنه باکتری اندازه‌گیری شده (دایره تو خالی) و برآورد شده با مدل جذب- واجذب سینتیک تک مکانی (خط چین) و دو مکانی (خط ممتد)

جدول ۴. حداکثر غلظت نسبی و نرخ حذف باکتری در خاک‌های مورد مطالعه

ستون خاک	حداکثر غلظت نسبی	نرخ حذف باکتری
A	۰/۳۹	۴/۰۲
B	۰/۳۲	۴/۹۰

خاک دارای ساختمان، امکان انتقال باکتری را با حداقل پالایش فیزیکی فراهم می‌کند. بنابراین اثر ساختمان خاک و منافذ درشت بر پالایش فیزیکی هنوز شناخته نشده است. بنابراین بیان کمی نقش این فرآیند در نگهداشت باکتری در خاک مورد مطالعه امکان‌پذیر نمی‌باشد. زمانی رسوب باکتری رخ می‌دهد که بین چگالی باکتری و آب تفاوت وجود داشته باشد. اگر باکتری چگال‌تر از آب باشد و ویژگی‌های جریان به گونه‌ای باشد که شرایط برای رسوب‌گذاری بهتر از تعلق باشد در این حالت ممکن است باکتری در بخش ساکن خاک رسوب نماید. برای محاسبه رسوب باکتری از قانون استوکس (Stokes' Law) استفاده می‌شود.

نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده است که رسوب ثقلی نقش مهمی در پالایش ذرات با قطر بیش از ۵ میکرومتر دارد (۳۷)، این در حالی است که باکتری‌های سودوموناس فلورسنس قطری کمتر از آن دارند. بنابراین می‌توان گفت نقش رسوب در پالایش باکتری در این آزمایش ناچیز بوده است. منحنی اندازه‌گیری شده و برآورد شده نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک در شکل ۵ ارائه شده است. همانطوری که ملاحظه می‌شود منحنی نگهداشت اندازه‌گیری شده شکل تقریباً نمایی دارد و بیشتر باکتری‌ها در لایه‌های سطحی خاک نگهداشته شده‌اند و با افزایش عمق مقدار نگهداشت کاهش می‌یابد.

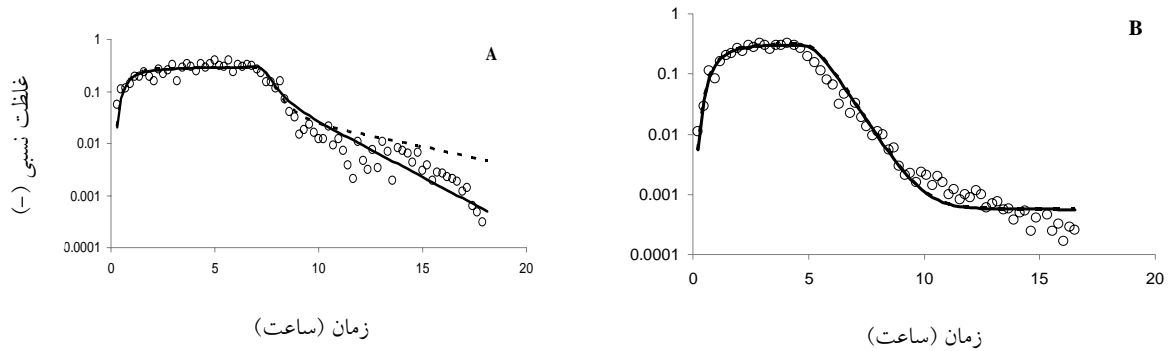
#### ارزیابی کارایی مدل‌های جذب- واجذب

نتایج ارزیابی دو مدل جذب سینتیک تک مکانی و دو مکانی در جدول ۵ ارائه شده است. برای ارزیابی دو مدل در برآورد منحنی رخنه باکتری و نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک از آماره‌های تعیین کارایی مدل (E) و ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) استفاده شد. مدل کارآمد، مدلی است که منحنی رخنه و همچنین نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک را به خوبی برآورد نماید. مقایسه مقادیر آماره کارایی مدل (E) نشان می‌دهد که مدل دو مکانی برآوردی بهتر از منحنی رخنه و نگهداشت باکتری در خاک دارد. مقادیر RMSE در جدول ۵ خطای

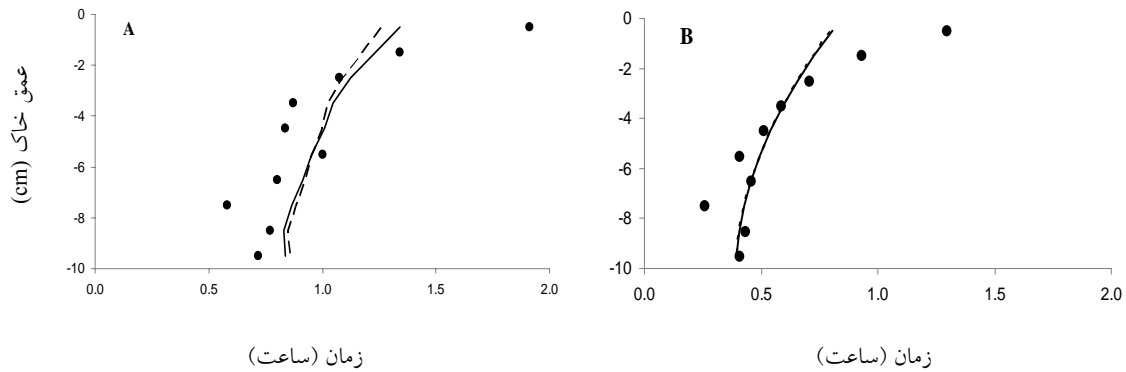
نرخ حذف باکتری‌های روده‌ای در خاک‌های سوئیس با بافت و ساختمان متفاوت در شرایط جریان غیراشباع از ۰/۱۲ تا ۱۷/۵ متغیر است (۲۲ و ۲۳). هم‌چنین نتایج پژوهش‌های دیگر نشان داده است که نرخ حذف باکتری در شرایط غیر اشباع در خاک‌های با بافت لوم رس سیلتی (Silty Clay Loam) ۴/۹ تا  $(\log m^{-1})$  ۳/۵، لوم شنی (Sandy Loam) ۰/۰۹ تا  $(\log m^{-1})$  ۰/۸ و لوم سیلتی ۱/۹ تا ۴/۷ بوده است (۱۵). به منظور بررسی بهتر دقت مدل‌های جذب- واجذب سینتیک در برآورد دنباله منحنی رخنه، در شکل ۴ منحنی‌های رخنه باکتری در مقیاس لگاریتمی ارائه شده‌اند. اغلب منحنی رخنه نیمه لگاریتمی باکتری، ویروس و ذرات کلئید دارای چولگی (Skewness) است. یک افزایش تدریجی در شاخه صعودی آن و سپس یک سطح هموار و نهایتاً در شاخه نزولی آن دنباله‌ای خیلی بلند مشاهده می‌شود. نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده که مدل جذب سینتیک تک مکانی نتوانسته است بر هر دو شاخه صعودی و نزولی منحنی رخنه و دنباله آن برازش یابد (۲۶). در این پژوهش نیز منحنی‌های رخنه نیمه لگاریتمی بخوبی نشان می‌دهند که مدل جذب- واجذب سینتیک دو مکانی در مقایسه با مدل تک مکانی برآوردی بهتر از کل دامنه منحنی رخنه به‌ویژه دنباله آن داشته است.

#### نگهداشت باکتری در خاک

نگهداشت باکتری در خاک اشباع می‌تواند در نتیجه مکانیزم‌های مختلفی مانند جذب سطح ذرات خاک، پالایش فیزیکی و رسوب (Sedimentation) باشد. پالایش فیزیکی زمانی رخ می‌دهد که ذرات سوسپانسیون قادر نباشند از منافذ با قطر کمتر از قطر ذره عبور نمایند. برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که پالایش فیزیکی زمانی اتفاق می‌افتد که نسبت قطر کلئید به میانگین قطر ذرات خاک بیش از ۰/۵ درصد باشد (۲). وقتی که این نسبت به بیش از ۰/۸ برسد مقدار پالایش بسیار چشمگیر خواهد بود (۲۱). البته این مقادیر برای محیط‌های متخلخل همگن فاقد ساختمان، ارائه شده‌اند. منافذ درشت ایجاد شده در



شکل ۴. منحنی رخنه انتقال باکتری اندازه‌گیری شده (دایره تو خالی) و برآورد شده با مدل جذب-وا جذب سیستیک تک مکانی (خط چین) و دو مکانی (خط ممتد)، در مقیاس لگاریتمی



شکل ۵. مقدار باکتری اندازه‌گیری شده در نیمرخ خاک (دایره تو پر) و برآورد شده با مدل جذب-وا جذب سیستیک تک مکانی (خط چین) و دو مکانی (خط ممتد)

جدول ۵. نتایج ارزیابی مدل‌های جذب-وا جذب سیستیک تک مکانی و دو مکانی با آماره‌های کارایی مدل (E) و ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE)

ستون خاک B		ستون خاک A		برآورد شده	مدل
RMSE	E	RMSE	E		
۰/۲	۰/۹۴	۰/۰۴	۰/۹۰	منحنی رخنه	تک مکانی
۰/۱۸	۰/۸۶	۰/۲۵	۰/۹۳	نیمرخ خاک	
۰/۱۹	۰/۹۵	۰/۰۳	۰/۹۲	منحنی رخنه	دو مکانی
۰/۱۸	۰/۸۷	۰/۲۲	۰/۹۴	نیمرخ خاک	

جدول ۶. تعادل جرم باکتری اندازه‌گیری شده و برآورد شده در زهاب خروجی و نگهداشته شده در نیمرخ خاک

ستون خاک	اندازه‌گیری شده		برآورد شده با مدل تک مکانی		برآورد شده با مدل دو مکانی	
	زهاب خروجی	نیمرخ خاک	زهاب خروجی	نیمرخ خاک	زهاب خروجی	نیمرخ خاک
A	۰/۱۵	۰/۷۰	۰/۱۵	۰/۷۱	۰/۱۵	۰/۷۲
B	۰/۱۴	۰/۶۸	۰/۱۹	۰/۶۳	۰/۱۹	۰/۶۴

### نتیجه‌گیری

انتقال آلاینده‌های میکروبی به آب‌های زیرزمینی از مسائل بسیار مهم زیست‌محیطی است که می‌تواند در سطحی وسیع سبب شیوع بیماری شود. در کشورهای در حال توسعه آب زیرزمینی منبع اصلی آب آشامیدنی بیش از ۱۳۰۰ میلیون نفر است (۹). به دلیل استفاده از کودهای دامی و فاضلاب‌های آلوده در اراضی کشاورزی و همچنین دفن نادرست زباله‌های شهری، منابع آب آشامیدنی در خطر آلودگی قرار دارند. برای پیش‌بینی انتقال آلاینده‌های میکروبی در خاک مدل‌هایی لازم است که بتوانند با تخمینی مناسب وضعیت انتقال این عوامل را برآورد کنند. گام نخست در مدل‌سازی انتقال باکتری در خاک شناسایی مکانیزم‌ها و فاکتورهای موثر بر جذب و انتقال آن در خاک است. در گام بعدی بایستی این مکانیزم‌ها و فاکتورها به صورت کمی بیان شوند. چندین مکانیزم انتقال و سرنوشت باکتری را در خاک تحت شرایط اشباع کنترل می‌نمایند. از جمله این مکانیزم‌ها می‌توان انتقال (شامل جریان توده‌ای و انتشار)، غیرفعال شدن، پالایش فیزیکی، تبادل باکتری بین فاز مایع و جامد یعنی جذب و واجذب را نام برد. در مدل‌سازی انتقال و سرنوشت باکتری در خاک بایستی بیان ریاضی مناسبی برای هر یک از مکانیزم‌ها ارائه شود. یکی از فاکتورهای حاکم بر مقدار جذب باکتری نوع کانی خاک است. خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک غنی از کانی کربنات کلسیم می‌باشند. کربنات کلسیم خاک از طرق مختلف می‌تواند بر جذب و انتقال باکتری در خاک تأثیرگذار باشد: رسوب کربنات کلسیم در دیواره منافذ خاک و تغییر قطر آنها (۱۱)، انرژی جذب سطحی متفاوت کانی کربنات کلسیم در مقایسه با ذرات خاک (۳۶)، یون کلسیم محلول ( $Ca^{+2}$ ) کربنات

مدل‌ها را در برآورد منحنی رخنه و نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک نشان می‌دهد. هر چه مقدار RMSE به صفر نزدیک‌تر باشد برآورد مدل بهتر بوده است. این نتایج نشان می‌دهد که مدل سینتیک دو در مقایسه با تک مکانی برآوردی بهتر از منحنی رخنه و نگهداشت باکتری در خاک داشته است. همچنین منحنی رخنه باکتری اندازه‌گیری شده و برآورد شده با مدل‌های جذب-واجذب سینتیک تک مکانی و دو مکانی در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود مدل سینتیک دو مکانی تخمینی بسیار خوب از منحنی رخنه انتقال باکتری داشته است. ضریب تبیین بین مقادیر اندازه‌گیری شده و برآورد شده منحنی رخنه باکتری در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که ضریب تبیین بین مقادیر اندازه‌گیری شده منحنی رخنه باکتری و برآورد شده آن با مدل تک مکانی برای ستون خاک A و B به ترتیب ۰/۹۲ و ۰/۹۸ می‌باشند. درحالی‌که ضریب تبیین بین مقادیر اندازه‌گیری شده منحنی رخنه باکتری و برآورد شده آن با مدل دو مکانی برای ستون‌های A و B به ترتیب ۰/۹۳ و ۰/۹۹ هستند.

### تعادل جرم در آزمایش انتقال باکتری (Mass Balance)

همان‌طوری که در جدول ۶ دیده می‌شود مقدار باکتری مشاهده شده در زهاب خروجی ستون‌های خاک A و B به ترتیب ۱۵/۲ و ۱۴/۱ درصد بوده است. یعنی بیش از ۸۵ درصد باکتری ورودی در خاک نگهداشته شده است. اما مقدار باکتری اندازه‌گیری شده در نیمرخ خاک A و B تقریباً ۷۰٪ بوده است، به عبارتی حدود ۱۵ درصد از باکتری‌های نگهداشته شده در خاک به دلیل غیرفعال شدن یا شرایط فیزیولوژیکی، توانایی رشد در محیط کشت را نداشته‌اند.

خاک‌های آهکی مورد مطالعه می‌تواند نشان‌دهنده نقش کانی کربنات کلسیم در جذب تقریباً برگشت‌ناپذیر باکتری به آن باشد. نتایج نشان داد که نگهداشت باکتری در هر دو ستون خاک بسیار بیشتر از مقدار انتقال یافته از ستون خاک بود. مقدار باکتری مشاهده شده در زهاب خروجی از ۱۴/۱ تا ۱۵/۲ درصد بود. به عبارت دیگر در حدود ۷۵ درصد باکتری‌ها در ستون خاک نگهداشته شدند که نشان‌دهنده توان نسبتاً بالای خاک‌های آهکی مورد مطالعه در پالایش باکتری است.

مقدار نرخ حذف باکتری در این خاک‌ها بسیار بالا بود. نرخ حذف باکتری در خاک‌ها مورد مطالعه در شرایط اشباع ۴/۰۲ تا  $4/90 \text{ (log m}^{-1}\text{)}$  بود. این ویژگی خاک‌های آهکی مورد مطالعه می‌تواند در مدیریت دفن زباله و فاضلاب‌های آلوده مورد توجه قرار گیرد. تاکنون مطالعات بسیار اندکی انتقال باکتری را در خاک دارای ساختمان تحت شرایط اشباع و غیراشباع به صورت کمی بررسی کرده‌اند. هنوز اطلاعات کافی در زمینه مکانیزم‌های پالایش باکتری در خاک طبیعی وجود ندارد و اثر ساختمان خاک و منافذ درشت بر پالایش فیزیکی به درستی شناخته نشده است. لذا توصیه می‌شود مطالعات بیشتری به منظور درک بهتر مکانیزم‌های پالایش و فاکتورهای شیمیایی و فیزیکی خاک مؤثر بر جذب و انتقال باکتری در شرایط طبیعی مزرعه انجام گیرد.

### سپاسگزاری

این پژوهش در مؤسسه Agrosphere (ICG-4) مرکز تحقیقات Jülich آلمان انجام شد. بدین وسیله از مدیر محترم این مؤسسه جناب آقای پرفسور Harry Vereeken که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

کلسیم با کاهش بار سطحی باکتری‌های گرم منفی و هم‌چنین افزایش قدرت یونی محلول خاک سبب افزایش جذب باکتری گرم منفی به ذرات خاک می‌شود. هدف از این پژوهش مطالعه کمی انتقال و نگهداشت باکتری سودوموناس فلورسنس در خاک آهکی دست‌نخورده تحت شرایط اشباع پایدار بود. هم‌چنین با توجه به انرژی جذب متفاوت کربنات کلسیم در مقایسه با سایر کانی‌های خاک، این کانی به عنوان یک مکان دارای بار موافق برای جذب باکتری گرم منفی فرض شد. لذا امکان استفاده از بیش از یک مکان جذب باکتری در خاک آهکی مورد بررسی قرار گرفت. مدل‌های جذب- واجذب سینتیک تک مکانی و دو مکانی برای برآورد منحنی رخنه و نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک استفاده شدند. نتایج نشان داد مدل جذب- واجذب سینتیک دو مکانی منحنی رخنه و نگهداشت باکتری در خاک آهکی را به خوبی برآورد می‌نماید. کارایی این مدل (E) در برآورد منحنی رخنه باکتری از ۰/۹۲ تا ۰/۹۵ و در در برآورد نگهداشت باکتری در نیمرخ خاک از ۰/۸۶ تا ۰/۹۴ بود.

هم‌چنین نتایج نشان داد که مدل سینتیک دو مکانی برآوردی بهتری از دنباله منحنی رخنه باکتری داشت. در مدل جذب سینتیک دو مکانی جذب باکتری به مکان ۱ نسبتاً سریع و واجذب از آن بسیار کند بود. درحالی‌که جذب باکتری و واجذب آن از مکان ۲ سریع بود. با توجه به این‌که کانی غالب خاک‌های مورد مطالعه کربنات کلسیم بوده، از طرفی کربنات کلسیم دارای بار موافق برای جذب باکتری گرم منفی سودوموناس فلورسنس است، لذا ویژگی جذب سریع و واجذب بسیار کند باکتری در مکان ۱ را می‌توان به کربنات کلسیم خاک نسبت داد. مقدار ناچیز واجذب باکتری در

### منابع مورد استفاده

- Allison, L.E. and C. D. Moodie. 1965. Carbonates. PP. 1379-1396. In: Black, A. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2, American Society of Agronomy, Madison.
- Bradford, S. A., M. Bettahar, J. Šimůnek and M. Th. van Genuchten. 2004. Straining and attachment of colloids in physically heterogeneous porous media. Vadose Zone J. 3: 384-394.

3. Brunner B.M., D. M. S. Mano, I. Scheunert, and T. Langenbach. 1991. Mobility of the organochlorine compound dicofol in soil promoted by *Pseudomonas fluorescens*. *Ecotoxicol. and Environ. Safety, Environ. Res. B.* 44: 154-159.
4. Chapman, H. D. 1965. Cation exchange capacity. PP. 891-900. *In: Black, C.A. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Monogr. Ser., vol. 9. American Society of Agronomy, Madison, WI.*
5. Drouinean, G. 1942. Dosage rapide du calcaire actif du sol: nouvelles donnees sur la separation et la nature des fractions calcaires. *Ann. Agron.* 12: 441-450.
6. FAO/UNDP. 1972. Calcareous soils. Report of the Regional Seminar on Reclamation and Management of Calcareous Soils. 27 Nov. -2 Dec. Cairo, Egypt.
7. Foppen, J. W. A. and J. F. Schijven. 2005. Transport of *E. coli* in columns of geochemically heterogeneous sediment. *Water Resour.* 39: 3082-3088.
8. Foppen, J. W. A. and J. F. Schijven. 2006. Evaluation of data from the literature on the transport and survival of *Escherichia coli* and thermotolerant coliforms in aquifers under saturated conditions. *Water Res.* 40: 401-426.
9. Foster, S. S. D. 2000. Groundwater resources at the turn of the millennium: taking stock and looking forward. *In: Sillo et al. (Eds.), Groundwater: Past Achievements and Future Challenges, Balkema, Rotterdam, The Netherlands, ISBN 90 5809 159 7.*
10. Frazier, C. S., R. C. Graham, P. J. Shouse, M. V. Yates and M. A. Anderson. 2002. A field study of water flow and virus transport in weathered granitic bedrock. *Vadose Zone J.* 1: 113-124.
11. Frenkel, H., A. Hadas and W. A. Jury. 1978. The effect of salt precipitation and high sodium concentration on soil hydraulic conductivity and water retention. *Water Resour. Res.* 14: 217-222.
12. Gargiulo, G., S. A. Bradford, J. Simunek, P. Ustohal, H. Vereecken and E. Klumpp. 2008. Bacteria transport and deposition under unsaturated flow conditions: The role of water content and bacteria surface hydrophobicity. *Vadose Zone J.* 7(2): 406-419.
13. Gould, W. D., C. Hagedorn, T. R. Bradinelli and R. M. Zablotticz. 1985. New selective media for enumeration and recovery of fluorescent pseudomonads from various habitats. *Appl. and Environ. Microbiol.* 49(1): 28-32.
14. Guber, A. K., D. R. Shelton and Ya. A. Pachepsky. 2005. Transport and retention of manure-borne coliforms in undisturbed soil columns. *Vadose Zone J.* 4: 828-837.
15. Ho, G. E., R. A. Gibbs, K. Mathew and W. F. Parker. 1992. Groundwater Recharge of Sewage Effluent through amended sand. *Water Res.* 26 (3): 285-293.
16. Howard, K. W. F. 2001. Polluted groundwater-deadly lessons from Walkerton, Ontario, Canada. PP. 521-525. *In: Seiler and Wohnlich (Eds.), New Approaches to Characterising Flow. Balkema Pub., Amsterdam.*
17. Johnson, W. P., K. A. Blue, B. E. Logan and R. G. Arnold. 1995. Modeling bacterial detachment during transport through porous media as a residence-time dependent process. *Water Resour. Res.* 31: 2649-2658.
18. Klauth, P, R. Wilhelm, E. Klumpp, L. Poschen and J. Groeneweg. 2004. Enumeration of soil bacteria with the green fluorescent nucleic acid dye Sytox green in the presence of soil particles. *J. Microbiol. Methods* 59: 189-198.
19. Macler, B. A. and J. C. Merkle. 2000. Current knowledge on groundwater microbial pathogens and their control. *Hydrogeol. J.* 8(1): 29-40.
20. Marquardt, D. W. 1963. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *SIAM J. Appl. Math.* 11: 431-441.
21. McDowell-Boyer, L. M., J. R. Hunt and N. Sitar. 1986. Particle transport through porous media. *Water Resour. Res.* 22: 1901-1921.
22. McLeod, M., J. Aislabie, J. Ryburn, A. McGill and M. Taylor. 2003. Microbial and chemical tracer movement through two Southland soils, New Zealand. *Aust. J. Soil Res.* 41: 1163-1169.
23. McLeod, M., J. Aislabie, J. Ryburn, and A. McGill. 2004. Microbial and chemical tracer movement through granular, ultic, and recent soils. *N.Z. J. Agric. Res.* 47: 557-563.
24. Nelson, R. E. 1982. Carbonate and gypsum. PP. 181-199. *In: Page, A. L. (Ed.), Methods of Soil Analysis. American Society of Agronomy, Madison, WI.*
25. Pang, L., M. Macleod, J. Aislabie, J. Simunek, M. Close and R. Hector. 2008. Modeling transport of microbes in ten undisturbed soils under effluent irrigation. *Vadose Zone J.* 7: (97-111).
26. Schijven, J. and J. Šimunek. 2002. Kinetic modeling of virus transport at field scale. *J. Contaminate Hydrol.* 5 (1-2): 113-135.
27. Schlegel H. G. 1992. *Allgemeine Mikrobiologie.* Georg Thieme Verlag, New York.
28. Scholl, M. A. and R. W. Harvey. 1992. Laboratory investigations on the role of sediment surface and groundwater chemistry in transport of bacteria through a contaminated sandy aquifer. *Environ. Sci. Technol.* 26 (7): 1410-1417.
29. Shelton, D. R., Y. A. Pachepsky, A. M. Sadeghi, W. L. Stout, J. S. Karns and W. J. Gburek. 2003. Release rates of manure-borne coliform bacteria from data on leaching through stony soil. *Vadose Zone J.* 2: 34-39.

30. Simunek, J., M. Sejna, H. Saito, M. Sakai and van M. TH. Genuchten. 2008. The HYDRUS-1D software package for simulating the one-dimensional movement of water, heat, and multiple solutes in variably-saturated media, Version 4.0x, Hydrus Series 3, Department of Environmental Sciences, University of California Riverside, Riverside, CA, USA.
31. Smith, M. S., G. W. Thomas, R. E. White and D. Ritonga. 1985. Transport of *Escherichia coli* through intact and disturbed soil columns. J. Environ. Quality 14: 87-91.
32. Somasundaran, P. and G. E. Agar. 1967. The zero point of charge of calcite. J. Colloid Interface Sci. 24: 433-440.
33. Toride, N., F. J. Leij and M. T. van Genuchten. 1999. The CXTFIT Code for Estimating Transport Parameters from Laboratory or Field Tracer Experiments Version 2.1. Research Report, vol. 137. U.S. Salinity Laboratory, Riverside, CA.
34. Tufenkji, N. 2007. Modeling microbial transport in porous media: Traditional approaches and recent developments. Adv. Water Resour. 30: 1455-1469.
35. Unc, A. and M. J. Goss. 2004. Transport of bacteria from manure and protection of water resources. Appl. Soil Ecol. 25: 1-18.
36. USDA Natural Resources Conservation Service. 1999. Soil taxonomy. A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. 2<sup>nd</sup> ed., USDA. S.C.S. Agric. U. SW. Gov. Print office, Washington, DC.
37. Yao, K. M., M. T. Habibian and C. R. O'Melia. 1971. Water and wastewater filtration. Concepts and applications. Environ. Sci. Technol. 5(11): 1105-1112.