

مطالعه شکل‌های مختلف مس، روی، کادمیوم و سرب در فرآوری ورمی‌کمپوست کود گاوی

آتنا میربلوک^{۱*}، میرحسن رسولی صدقیانی^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۷)

چکیده

به منظور مطالعه تغییرات اشکال مختلف فلزات روی، مس، کادمیوم و سرب در طی فرآیند تهیه ورمی‌کمپوست، آزمایشی بر مبنای طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل تأثیر حضور و عدم حضور کرم‌خاکی بود، و روند فرآیند تولید ورمی‌کمپوست در بازه‌های زمانی صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز بعنوان فاکتور دوم انتخاب گردید. بخش‌های مختلف (تبادلی، کربناتی، بخش آلی، پیوند شده با اکسیدهای آهن و منگنز و باقیمانده) فلزات روی، مس، کادمیوم و سرب با استفاده از روش عصاره‌گیری پی در پی و ۵ مرحله‌ای (روش تسیر) در طی فرآیند تهیه ورمی‌کمپوست از کود گاوی تعیین شدند. نتایج نشان داد که اسیدیته ورمی‌کمپوست در تیمارهای دارای کرم‌خاکی ۰/۴ واحد کاهش و میزان کربن آلی محلول ۰/۱۵ درصد افزایش یافت. فراهمی زیستی عناصر روی، مس و کادمیوم بجز سرب نیز در تیمارهای کرم‌خاکی افزایش معنی‌داری را نشان دادند. بیشترین مقادیر روی، مس و کادمیوم در نتیجه فعالیت کرم‌های خاکی نیز به ترتیب در بخش‌های کربناتی، مواد آلی و تبادلی مشاهده شد، اما بیشترین سهم سرب مربوط به بخش پیوند شده با مواد آلی بود. غلظت عناصر روی و کادمیوم در بخش‌های تبادلی و کربنات‌ها به طور معنی‌داری در حضور کرم‌های خاکی افزایش یافت، عنصر روی ۱۶/۴ و ۱۸/۲۱ درصد و کادمیوم ۱۰ درصد افزایش را در این بخش‌ها نشان دادند، لیکن غلظت این عناصر در بخش باقیمانده در انتهای دوره کاهش یافت. چنین استنباط می‌شود که فراهمی زیستی عناصر سنگین با فعالیت کرم‌های خاکی در فرآیند تولید ورمی‌کمپوست افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: فراهمی زیستی، فلزات سنگین، عصاره‌گیری پی در پی، کود گاوی، ورمی‌کمپوست

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، مدرس مدعو دانشگاه پیام نور، ایران (مکانبه کننده)

۲-استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران

*پست الکترونیک: atena.mirbolook@yahoo.com

مقدمه

کرم‌های خاکی به طور گسترده در فرآوری طیف وسیعی از ضایعات آلی مثل لجن فاضلاب، بقایای گیاهی، ضایعات صنعتی و کودهای حیوانی استفاده می‌شوند. در طی فرآیند تولید ورمی‌کمپوست (کمپوست فرآوری شده با کرم‌های خاکی) (Dominguez, 1997) مواد آلی پس از بلعیده شدن و عبور از دستگاه گوارش کرم‌ها دستخوش تغییرات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی زیادی می‌شوند (Martin, 1991). از جمله این تغییرات، افزایش قابلیت دسترسی و در نتیجه حلالیت بیشتر عناصر برای گیاه می‌باشد (Atiyeh, 2002). با هضم ضایعات آلی توسط کرم‌های خاکی، فراهمی زیستی عناصر غذایی خاک مثل کربن، نیتروژن و فسفر افزایش یافته (Devliegher & Verstraete, 1996) و با دفع مواد موکوسی و اوره توسط کرم‌ها توزیع و فعالیت ریزجانداران خاک به طور معنی‌داری تغییر می‌کند (Sauve et al., 2000). گزارش‌های زیادی مبنی بر تأثیر فعالیت کرم‌های خاکی بر تغییر توزیع فلزات در بخش‌های مختلف خاک وجود دارد (Ma et al., 2002). ون و همکاران (Wen et al., 2006) گزارش کردند که در فرآیند تولید ورمی‌کمپوست، کربن آلی محلول (DOC) به دلیل تجزیه مواد آلی به ذرات ریزتر و با قابلیت انحلال بالاتر در آب و همچنین افزایش فعالیتهای میکروبی به طور معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند، همچنین آنان بیان کردند که افزایش معنی‌دار در بخش‌های محلول، تبادل و کربنات‌ناشی از تأثیر کرم‌های خاکی در فراهمی زیستی فلزات می‌باشد. این نتایج توسط یودویک و لسستن (Udovic & Lesten, 2007) نیز گزارش شده است. چنگ و وانگ (Cheng & Wong, 2002) نیز طی مطالعه‌ای نشان دادند که Zn پیوند شده با بخش مواد آلی در اثر فعالیت کرم‌های خاکی به طور معنی‌داری افزایش یافت. ون و همکاران (Wen et al., 2006) به مطالعه تغییرات بخش‌های مختلف فلزات سنگین در فرآیند تولید ورمی‌کمپوست پرداختند و افزایش معنی‌دار غلظت فلزات را در بخش‌های محلول، تبادل و کربنات‌ها و کاهش غلظت را در بخش‌های مواد آلی و سولفید گزارش کردند. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر فعالیت کرم خاکی بر روند تغییرات اشکال مختلف فلزات سنگین شامل مس، روی، سرب و کادمیوم در طی فرآیند تولید ورمی‌کمپوست کود گاوی در یک دوره ۹۰ روزه انجام گردید.

مواد و روش‌ها

کود گاوی پوسیده مورد نیاز از یک واحد گاوداری واقع در ۵ کیلومتر ۵ جاده کلات مشهد تهیه شد. کرم‌های خاکی *Eisenia fetida* از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه و به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انتقال یافت. آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید. فاکتورهای آزمایش شامل کرم خاکی (حضور و عدم حضور) و زمان در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) بود. مقدار ۲ کیلوگرم کود گاوی در گلدانهای پلاستیکی ریخته شد و سپس تعداد ۲۰ عدد کرم بالغ با وزن کل ۸/۵ گرم به هر گلدان اضافه گردید (Edwards et al., 1985). گلدانها در طول دوره آزمایش در شرایط ثابت دمایی ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۵ در صد ظرفیت نگهداری آب در شرایط تاریکی نگهداری شدند. از زمان شروع آزمایش در هر زمان اندازه‌گیری، گلدانهای هر دوره حذف می‌شدند (برای هر دوره زمانی گلدانهای مجزا در نظر گرفته شده بود) و کرم‌های خاکی از مواد کمپوستی درون گلدان جدا شده و بقایا پس از هوا خشک شدن و گذشتن از الک ۲ میلیمتری برای تجزیه‌های شیمیایی آماده شدند. pH و EC در تمام نمونه‌ها با استفاده از آب مقطر با نسبت ۱:۱۰ (وزنی) اندازه‌گیری شد. برای این منظور همه نمونه‌ها به صورت مکانیکی به مدت ۳۰ دقیقه شیک و از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده شدند (Bao, 2005). برای تعیین کربن آلی محلول یک گرم از هر نمونه با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت شیک شده و بعد از سانتریفیوژ در دور ۴۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه و عبور محلول رویی از فیلتر ۰/۴۵ میکرون با دستگاه TOC متر (Shimadzu 5000) اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت‌های کل فلزات سنگین (روی، مس، سرب و کادمیوم) نمونه‌ها با مخلوط سه اسید (اسید هیدروفلوئوریک HF، اسید نیتریک HNO₃، اسید هیپو کلریدریک HClO₄، ۱:۱:۲، حجمی/حجمی/حجمی) هضم گردیدند (Bao, 2005). برای تعیین غلظت فلزات در بخش‌های مختلف در طول دوره تهیه ورمی‌کمپوست پنج مرحله عصاره‌گیری پی در پی با روش تسیر انجام شد که مراحل انجام آن در جدول ۱ آورده شده است (Tessier et al., 1979). غلظت فلزات در نمونه‌های بدست آمده از هر بخش توسط دستگاه جذب اتمی (FAAS, Thermo Element MK-M6) اندازه‌گیری

شدند. تجزیه آماری و مقایسات میانگین داده‌های حاصل از آزمایش با آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ با استفاده از نرم‌افزارهای MINTAB و MSTATC انجام گردید.

جدول ۱- عصاره‌گیرها و شرایط انجام آزمایش برای تعیین بخش‌های مختلف فلزات سنگین به روش تسیر

Table 1- Extractants and conditions of experiment for fractionation of heavy metals by Tessier procedure

فرم فلزات سنگین Form of heavy metal	مدت زمان شیک کردن Time of shaking	عصاره‌گیر Extractant
تبادلی Exchangeable	2 ساعت (دمای 20 درجه سانتیگراد) 2 hours (temperature: 20°C)	MgCl (1 مولار) MgCl (1 molar)
پیوند با کربناتها bounded with carbonates	5 ساعت (دمای 20 درجه سانتیگراد) 5 hours (temperature: 20°C)	NaOAc (1 مولار) NaOAc (1 molar)
پیوند با اکسیدهای آهن و منگنز bounded with Fe and Mn oxides	4 ساعت (دمای 85 درجه سانتیگراد) 4 hours (temperature: 85°C)	NH ₂ OH.HCl (0.1 مولار) NH ₂ OH.HCl (0.1 molar)
پیوند با مواد آلی bounded with organic matter	2 ساعت (دمای 85 درجه سانتیگراد) 2 hours (temperature: 85°C)	H ₂ O ₂ (30 درصد) و HNO ₃ (0.02 مولار) H ₂ O ₂ (30%) and HNO ₃ (0.02 molar)
باقیمانده residual	4 ساعت (دمای 60 درجه سانتیگراد) 4 hours (temperature: 60°C)	(W:HNO ₃ :HCl) Aqua regia (W:HNO ₃ :HCl) Aqua regia

نتایج و بحث

دلایل این امر دانستند. pH خاک اولین فاکتور در تعیین غلظت فلزات در محلول خاک بوده و با کاهش pH فرم‌های قابل‌دسترس اکثر فلزات سنگین در خاکها افزایش می‌یابد. بنابراین کاهش pH می‌تواند یکی از دلایل افزایش فراهمی زیستی فلزات سنگین در خاک باشد که این نتایج در طی فرآیند تولید ورمی‌کمپوست در این آزمایش نیز حاصل گردید (El-Gharmali, 2002). فعالیت کرم‌های خاکی به طور معنی‌داری کربن آلی محلول را نیز در طول دوره زمانی تهیه ورمی‌کمپوست افزایش داد. مطالعات نشان می‌دهند که DOC شامل چند نوع ترکیب آلی با وزن مولکولی کم (پلی-فنولها، اسیدهای آلیفاتیک ساده، اسیدهای آمینه و اسیدهای قندی) است (Fox & Comerfield, 1990) که در شرایط طبیعی در فاز محلول خاک حضور دارند و روی واکنش‌های فلزات اثر می‌گذارند. با توجه به اینکه فعالیت کرم‌های خاکی منجر به تجزیه مواد آلی به ترکیبات ساده‌تر و محلول‌تر و همچنین افزایش فعالیت‌های میکروبی در خاکها می‌شود، لذا DOC و به دنبال آن قابلیت دسترسی فلزات افزایش می‌یابد (Amir *et al.*, 2005). در نتیجه‌ی افزایش DOC در محلول خاک، بین یونهای آزاد و یونهای کمپلکس شده با مواد آلی که حلالیت زیادی نیز دارند، رقابت ایجاد می‌شود که در نهایت منجر به کاهش جذب فلزات بر سطوح خاک می‌شود (Guisquiani *et al.*, 1998). بنابراین افزایش DOC یکی از دلایل افزایش قابلیت دسترسی فلزات در حضور کرم‌های خاکی است (Wang *et al.*, 2002). ون و

برخی ویژگی‌های شیمیایی اندازه‌گیری شده در تیمارهای دارای کرم و بدون کرم در چهار دوره زمانی تهیه ورمی-کمپوست در جدول ۲ نشان داده شده است. هدایت الکتریکی در طی فرآیند تهیه ورمی‌کمپوست افزایش معنی‌داری نشان داد و از ۱ دسی زیمنس بر متر در ابتدای آزمایش، به ۳/۱ دسی زیمنس بر متر در پایان ۹۰ روز رسید. این افزایش در نمونه شاهد (بدون کرم) به طور معنی‌داری کمتر بود. بر اثر فعالیت کرم‌های خاکی حلالیت و تحرک عناصر افزایش یافته و بیشتر به فرم‌های قابل‌دسترس درمی‌آیند (Garg *et al.*, 2005). شاخص pH از پارامترهای مهم و مؤثر بر تحرک و زیست-فراهمی فلزات سنگین در خاک می‌باشد، لذا تعیین تغییرات این شاخص در طول فعالیت کرم‌های خاکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. pH در نمونه‌های دارای کرم‌خاکی در طول فرآیند تهیه ورمی‌کمپوست از ۸/۱ در زمان صفر به ۷/۷۳ در پایان ۹۰ روز رسید که این تغییرات در نمونه‌های بدون کرم (شاهد) از ۸/۱ به ۷/۶۸ بود. یکی از دلایل کاهش pH در طی فرآیند تولید ورمی‌کمپوست، افزایش فعالیت‌های میکروبی می‌باشد (Garg & Kaushik, 2005). لی و لو (Loh *et al.*, 2005) گزارش کردند که دلیل کاهش pH، تبدیل زیستی مواد آلی به انواع مواد حدواسط مختلف نظیر اسیدهای آلی بوده و همچنین معدنی شدن شدید نیتروژن به نیترات و نیتريت و نیز فسفر به ارتوفسفات را از دیگر

کادمیوم هم در طول دوره تولید ورمی‌کمپوست در جدول ۲ آورده شده است. لازم به ذکر است که فعالیت کرم‌های خاکی باعث تغییر فراهمی فلزات سنگین نیز شد. بررسی توزیع فلزات سنگین در بخش‌های مختلف ورمی‌کمپوست و غلظت فلزات سنگین (روی، مس، سرب و کادمیوم) بر اساس روش تسیر در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است.

همکاران (Wen *et al.*, 2006) نیز ارتباط معنی‌داری را بین تأثیر فعالیت کرم‌خاکی *Eisenia fetida* در افزایش DOC و غلظت فلزات سنگین عصاره‌گیری شده با آب بدست آوردند. جونس (Jones, 1997) نیز نتایج مشابهی را در مورد افزایش زیست‌فراهمی فلزات سنگین به دلیل افزایش DOC ارائه نمود. غلظت‌های کل چهار فلز روی، مس، سرب و

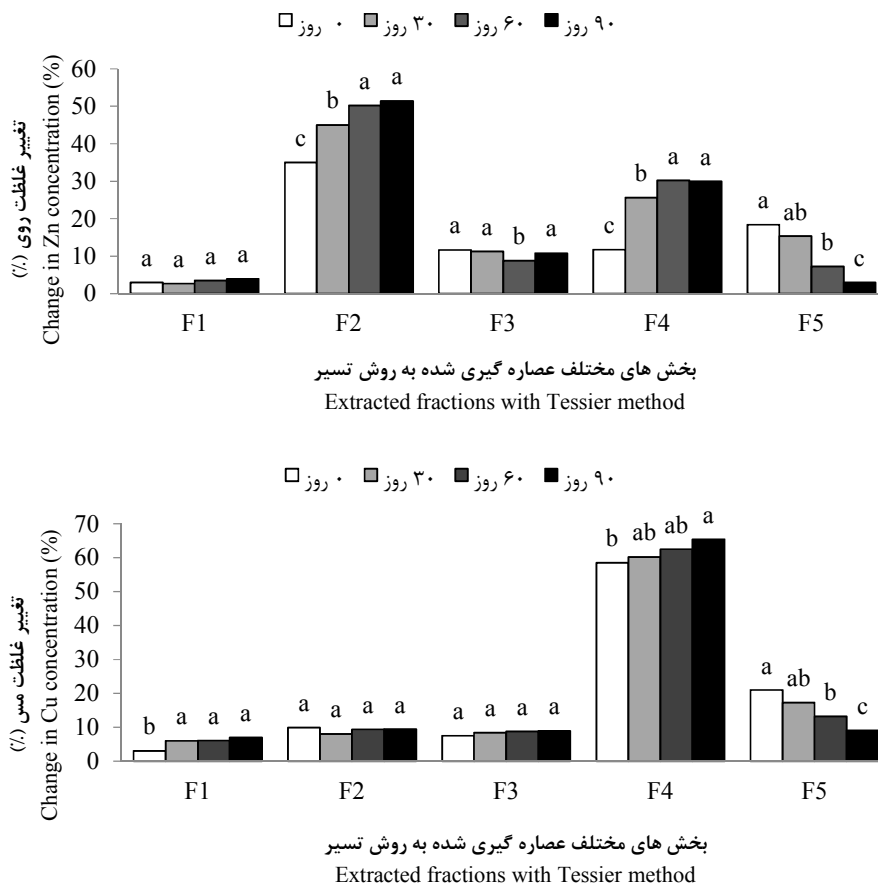
جدول ۲ - مقایسه میانگین‌های ویژگی‌های شیمیایی در تیمارهای بدون کرم (W0) و با کرم (W1) در پروسه تولید ورمی‌کمپوست

Table 2- Comparison of means of chemical characteristics in with and without worm treatments in vermicomposting

تیمارها	۰ روز	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز
treatments	0 days	30 days	60 days	90 days
EC (dS m ⁻¹)				
W ₀	1 ^{b*}	1.4 ^{ab}	1.9 ^{ab}	2.3 ^a
W ₁	1 ^b	1.9 ^{ab}	2.7 ^{ab}	3.1 ^a
pH				
W ₀	8.1 ^a	8 ^a	7.78 ^{ab}	7.73 ^b
W ₁	8.1 ^a	7.8 ^{ab}	7.78 ^{ab}	7.68 ^b
DOC (%)				
W ₀	0.42 ^c	0.45 ^b	0.55 ^a	0.56 ^a
W ₁	0.42 ^c	0.48 ^b	0.56 ^a	0.57 ^a
Total Zn (mg kg ⁻¹)				
W ₀	179 ^a	180 ^a	180 ^a	182 ^a
W ₁	179 ^b	181 ^b	185 ^b	205 ^a
Total Cu (mg kg ⁻¹)				
W ₀	97 ^a	95 ^a	96 ^a	98 ^a
W ₁	95 ^a	96 ^a	96 ^a	95 ^a
Total Pb (mg kg ⁻¹)				
W ₀	1.21 ^a	1.21 ^a	1.23 ^a	1.22 ^a
W ₁	1.21 ^a	1.23 ^a	1.22 ^a	1.21 ^a
Total Cd (mg kg ⁻¹)				
W ₀	0.47 ^a	0.48 ^a	0.48 ^a	0.48 ^a
W ₁	0.47 ^a	0.48 ^a	0.49 ^a	0.48 ^a

* اعداد دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند.

* The values followed by the same letter, are not significantly different at $p \leq 0.05$.



شکل ۱- مقایسه میانگین مقدار روی و مس در بخش‌های مختلف در یک دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی کمپوست

Figure 1- Comparison of means of zinc and copper amount in different fractions during 90 days vermicomposting (F5) بخش‌های مختلف شامل تبادل (F1)، پیوند شده با کربناتها (F2)، پیوند شده با اکسیدهای آهن و منگنز (F3)، پیوند شده با مواد آلی (F4) و بخش باقیمانده (F5) می‌باشند.

Different fractions involve exchangeable (F1), bounded with carbonates (F2), bounded with Fe and Mn oxides (F3), and bounded with organic matter (F4) and residual (F5).

در بخش‌های مواد آلی و کربناتها ظاهر شود. یودویک و لستن (Udovic & Lesten, 2007) گزارش نمودند که عنصر روی بیشتر تمایل دارد با بخش‌های باقیمانده و مواد آلی پیوند تشکیل دهد. توزیع فلز مس در بخش‌های مختلف نیز در شکل ۱ نشان داده شده است. بین ۶۰ تا ۷۰ درصد از کل مس با بخش مواد آلی پیوند شده است که با گذشت زمان در طول دوره تهیه ورمی کمپوست افزایش معنی‌داری (۱۰ درصد) را نشان می‌دهد. مس در سه بخش اول با گذشت زمان تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ولی کاهش آن در بخش باقیمانده در انتهای دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی-کمپوست معنی‌دار بود. به طور کلی توزیع بخش‌های مس به صورت $F4 > F5 > F2 \approx F3 > F1$ بود. بانرجی و همکاران (Banerjee, 2003) گزارش نمودند که مس به

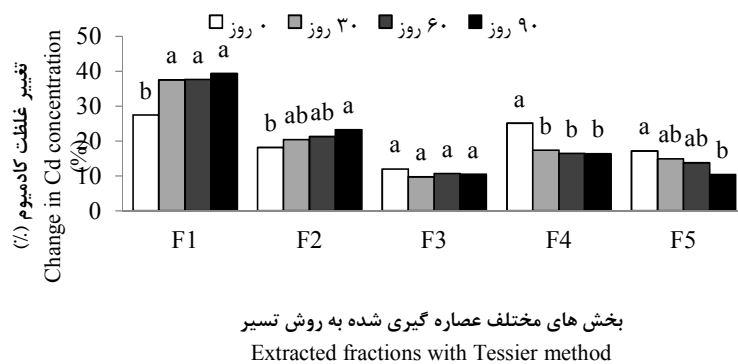
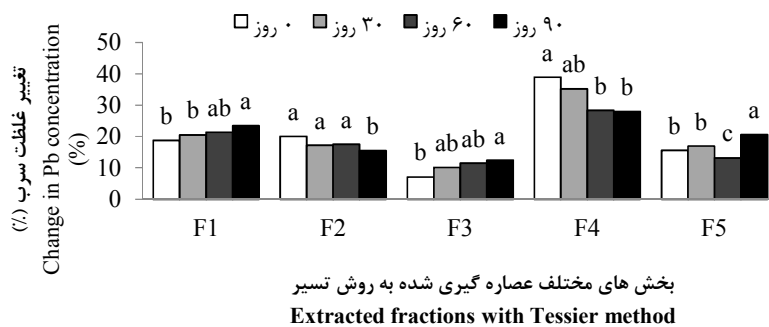
در شکل (۱)، توزیع فلز روی در بخش‌های مختلف در چهار دوره زمانی نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود توزیع فلز روی در بخش‌های مختلف به ترتیب $F2 > F1 > F3 \approx F4 > F5$ است. با گذشت زمان طی ۹۰ روز، غلظت فلز روی در بخش تبادل ۱ درصد افزایش یافت که از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی‌دار نشد ولی افزایش $16/4$ و $18/21$ درصدی آن در بخش کربناتها و مواد آلی و همچنین کاهش $15/39$ درصدی آن در بخش باقیمانده از نظر آماری معنی‌دار بودند. بیشترین میزان فلز روی در زمان صفر در بخش کربناتها و کمترین میزان آن در بخش تبادل مشاهده گردید. احتمال دارد دلیل این تغییر شکلها در پایان دوره تهیه ورمی کمپوست، کاهش میزان کربن و افزایش مواد هومیک باشد که منجر می‌شود فلز روی بیشتر

کادمیوم در بخش تبادلی به دلیل حلالیت بالای آن بوده و کادمیوم در انتهای فرآیند تولید ورمی کمپوست در بخش‌های با قابلیت دسترسی بیشتر، فراوان‌تر بود که این امر نشان‌دهنده تأثیر کرم‌های خاکی در افزایش حلالیت و تحرک کادمیوم می‌باشد. لی و همکاران (Li et al., 2010) گزارش کردند که در کود خوکی حدود ۶۷ درصد کادمیوم در بخش‌های تبادلی، کربنات و اکسیدهای آهن و منگنز (بخش‌های متحرک و قابل دسترسی) یافت شد و ۳۳ درصد باقیمانده در بخش‌های مواد آلی و باقیمانده متمرکز شدند. از آنجاییکه بر اثر فعالیت کرم‌های خاکی بسیاری از ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی خاکها مثل pH، DOC و جمعیت میکروبی تغییر می‌کنند، لذا به پیرو این تغییرات، توزیع بخش‌های فلزات سنگین و به دنبال آن فراهمی زیستی آنها نیز تغییر خواهد کرد (Salmon, 2001). با توجه به اینکه زیست‌فراهمی فلزات سنگین در محیط‌زیست و زنجیره غذایی و ارتباط این فرآیند با سمیت، تحرک و انتقال فلزات از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و همچنین کرم‌های خاکی تأثیر ویژه‌ای بر زیست‌فراهمی فلزات سنگین در خاکها دارند، به صورت جداگانه به بررسی تغییرات زیست-فراهمی فلزات در طی فرآیند تولید ورمی کمپوست پرداخته شد. تاکنون این واقعیت مشخص شده است که فعالیت کرم‌های خاکی زیست‌فراهمی فلزات سنگین را بالا می‌برد (Wen et al., 2006). شکل ۳ درصد افزایش زیست‌فراهمی فلزات سنگین را در نمونه‌های دارای کرم (ورمی کمپوست) و نمونه‌های بدون کرم نشان می‌دهد. زیست‌فراهمی هر فلز با مجموع درصد بخش‌های تبادلی، پیوند شده با کربنات و اکسیدهای آهن و منگنز تعیین شدند (Morera et al., 2001). فلز روی بیشترین زیست‌فراهمی را در طول دوره تهیه ورمی کمپوست نشان داد، به طوریکه از ۴۹/۶۹ درصد در زمان صفر به ۶۶/۲۳ درصد در پایان دوره ۹۰ روزه رسید. یعنی در نمونه‌های دارای کرم و بدون کرم به ترتیب ۱۷ و ۳/۷ درصد افزایش در زیست‌فراهمی روی مشاهده گردید. بعد از فلز روی، کادمیوم با حدود ۱۵/۵ درصد در مقام دوم، سرب با ۶/۵ درصد افزایش در مقام سوم و مس با ۵ درصد افزایش در مقام چهارم از نظر فراهمی زیستی (در حضور کرم‌های خاکی) قرار گرفتند. در نمونه‌های بدون کرم، زیست‌فراهمی مس ۲/۱ درصد، کادمیوم ۱۱/۳ درصد و سرب ۵ درصد افزایش نشان داد که برای دو فلز کادمیوم و مس معنی‌دار و در مورد سرب این تفاوت معنی‌دار نشد. با

دلیل خاصیت ذاتی خود می‌تواند واکنشی ویژه و بسیار قوی با مواد آلی و دیگر سطوح برقرار کند، دلیل این امر تمایل زیاد مس برای پیوند با گروه‌های عاملی OH^- و COO^- آلی می‌باشد. چنگ و ونگ (Cheng & Wong, 2002) نشان دادند که در حضور کرم‌های خاکی مس باند شده با مواد آلی افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند، همچنین آنها گزارش کردند که فراهمی این فلزات برای گیاه نیز افزایش می‌یابد چراکه ترکیبات آلی به راحتی بوسیله میکروارگانیسم‌های خاک تجزیه شده و فلزات در فاز محلول رها می‌شوند. لی و همکاران (Li et al., 2010) نیز نشان دادند که در اثر فعالیت کرم‌خاکی *Eisenia fetida* در کود خوکی حدود ۹۰ درصد از کل مس در بخش مواد آلی و بخش باقیمانده و ۱۰ درصد آن در سه بخش اول مشاهده شد. شکل ۲ توزیع عنصر سرب را در بین بخش‌های مختلف نشان می‌دهد. سرب به طور متعادلی در بین تمام بخش‌ها توزیع یافته است. ترتیب توزیع سرب در بین بخش‌ها به قرار زیر است: $F4 > F1 > F2 > F3 > F5$. در ابتدا بیشترین غلظت سرب در بخش مواد آلی مشاهده شد ولی با گذشت زمان در طی دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی کمپوست غلظت سرب در بخش مواد آلی به طور معنی‌داری کم شده و در بخش‌های تبادلی و اکسیدهای آهن و منگنز افزایش نشان داد. در طول مراحل تهیه ورمی کمپوست مواد آلی توسط میکروارگانیسم‌ها با شدت بیشتری تجزیه می‌شوند و سرب از روی سایت‌های آلی رها شده و با بخش تبادلی و کربنات پیوند می‌یابد. امیر و همکاران (Amir et al., 2005) در بررسی توزیع بخش‌های مختلف سرب نشان دادند که به دلیل افزایش شدت تجزیه در طول دوره تهیه کمپوست، سرب از بخش‌های آلی جدا شده و به بخش‌های تبادلی و کربنات‌ها با قابلیت دسترسی بیشتر، انتقال می‌یابد. توزیع کادمیوم در بین بخش‌های مختلف در شکل ۲ آورده شده است. کادمیوم در بین این فلزات بیشترین تمایل را برای انتقال به بخش تبادلی نشان داد، به طوریکه حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد کادمیوم در بخش تبادلی و کمترین غلظت کادمیوم نیز در بخش اکسیدهای آهن و منگنز بدست آمد. به طور کلی توزیع بخش‌های مختلف کادمیوم به ترتیب $F1 > F4 > F2 > F5 > F3$ بود. در طی دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی کمپوست، افزایش معنی-داری از نظر کادمیوم در بخش‌های تبادلی و کربنات (حدود ۱۰ درصد) و کاهش معنی‌دار آن در بخش‌های مواد آلی و باقیمانده (حدود ۹ درصد) مشاهده گردید. حضور بیشتر

افزایشی زیست‌فراهمی فلزات در طول دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی‌کمپوست نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با گذشت زمان بر اثر فعالیت کرمهای خاکی غلظت تمام فلزات در بخش‌های زیست‌فراهم افزایش می‌یابد. مس کمترین و کادمیوم بیشترین غلظت را در این بخشها به خود اختصاص می‌دهند.

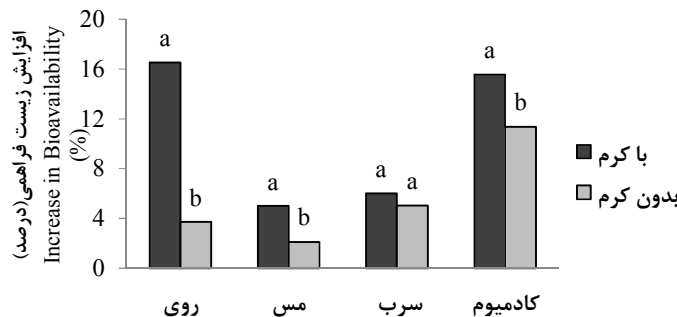
توجه به اینکه حدود ۲۰ درصد از کل مس در بخش‌های زیست‌فراهم قرار گرفت، لذا مس کمترین توانایی را برای زیست‌فراهمی در فرآیند تولید ورمی‌کمپوست دارد که این امر از پیوند قوی مس با مواد آلی ناشی می‌شود (Banerjee, 2003) و فلزات روی و کادمیوم به دلیل تحرک بیشتر زیست‌فراهمی بیشتری را نشان دادند. در شکل ۴ روند



شکل ۲- مقایسه میانگین مقدار سرب و کادمیوم در بخش‌های مختلف در یک دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی‌کمپوست

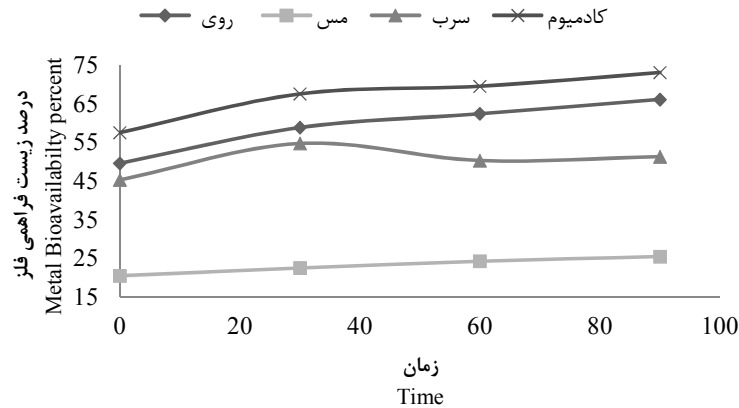
Figure 2- Comparison of means of lead and cadmium amounts in different fractions in 90 days vermicomposting (F5) بخش‌های مختلف شامل تبادلی (F1)، پیوند شده با کربناتها (F2)، پیوند شده با اکسیدهای آهن و منگنز (F3)، پیوند شده با مواد آلی (F4) و بخش باقی مانده (F5) می‌باشند.

Different fractions involve exchangeable (F1), bounded with carbonates (F2), bounded with Fe and Mn oxides (F3), and bounded with organic matter (F4) and residual (F5).



شکل ۳- مقایسه میانگین زیست‌فراهمی فلزات سنگین در تیمارهای با و بدون کرم پس از ۹۰ روز خواباندن

Figure 3- Comparison of mean of heavy metals bioavailability in with and without worm treatments after 90 days incubation



شکل ۴- تغییرات زیست‌فراهمی فلزات سنگین در پروسه ۹۰ روزه تولید ورمی‌کمپوست
Figure 4- Changes in bioavailability of heavy metals in 90 days vermicomposting

هروکس و همکاران (Lherroux *et al.*, 1997) مقدار مس و روی زیست‌فراهم در کود خوکی را به ترتیب ۲۳ و ۹۸ درصد گزارش کردند یعنی فلز روی زیست‌فراهمی بسیار بیشتری نسبت به مس در پروسه تولید ورمی‌کمپوست پیدا می‌کند. با اینکه فلز روی بیشترین زیست‌فراهمی را در بین این چهار فلز کسب کرد، ولی مقدار آن در بخش تبدالی در انتهای دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی‌کمپوست، تنها ۴ درصد بود و حداکثر غلظت فلز روی در بخش پیوند شده با کربنات‌ها مشاهده شد. از نظر حضور در بخش تبدالی، کادمیوم و سرب در رتبه‌های اول و دوم بودند ولی میانگین درصد سرب و کادمیوم در بخش کربنات‌ها بسیار کمتر از فلز روی بود. لی و همکاران (Li *et al.*, 2009) هم نتایج مشابهی را در مورد سرب و کادمیوم بدست آوردند. بنابراین تمایل فلزات سنگین به بخش‌های مختلف بعد از تیمار با کرم‌های خاکی پس از ۹۰ روز به صورت زیر مشاهده شد: بخش تبدالی : $Cd > Pb > Cu \approx Zn$ ، بخش باند شده با کربنات‌ها: $Zn >>$

$Cd \approx Pb > Cu$ ، بخش باند شده با اکسیدهای آهن و منگنز: $Cu >>$ ، بخش باند شده با مواد آلی: $Pb > Cd \approx Zn > Cu$ ، بخش باقیمانده: $Pb > Zn > Cd$

نتیجه‌گیری کلی

در این آزمایش تحت تأثیر کرم‌های خاکی، pH نمونه‌ها کاهش و DOC آنها افزایش یافت. بر اثر فعالیت‌های کرم‌های خاکی و تجزیه مواد آلی به ترکیبات ریزتر، غلظت فلزات سنگین در بخش‌های تبدالی، کربناتی و اکسیدهای آهن و منگنز (زیست‌فراهمی فلزات سنگین) افزایش یافت. روی و کادمیوم بیشترین و مس کمترین زیست‌فراهمی را در ورمی‌کمپوست حاصله کسب کردند. این تغییر در توزیع بخش‌های مختلف نشان می‌دهد که فعالیت کرم‌های خاکی یک فاکتور مهم و تأثیرگذار در توزیع فلزات در بخش‌های مختلف و زیست‌فراهمی آنها در ورمی‌کمپوست می‌باشد

Reference

- Amir S., Hafidi M., Merlina G., and Revel J. 2005. Sequential extraction of heavy metals during composting of sewage sludge. *Chemosphere*, 59: 801-810.
- Atiyeh R.M., and Lee S. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm processed organic wastes on plant growth. *Bio resource Technology*, 84: 7-14.
- Banerjee A.K. 2003. Heavy metal levels and solid phase speciation in street dusts of Delhi India. *Environmental Pollution*, 123: 95-105.
- Bao S.D. 2005. Analytical Methods of Soil and Agricultural Chemistry, 3th Ed. China Agricultural Press, Beijing, 154p.
- Cheng J., and Wong M.H. 2002. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 36: 72-78.

- Devliegher W., and Verstraete W. 1996. *Lumbricus terrestris* in a soil core experiment: Effects of nutrient-enrichment processes (NEP) and gut-associated processes (GAP) on the availability of plant nutrients and heavy metals. *Soil Biology and Biochemistry*, 28: 489-496.
- Dominguez J., and Edwards C.A. 1997. Effects of stocking rate and moisture content on the growth and maturation of *Eisenia andrei* (*Oligochaeta*) in pig manure. *Soil Biology and Biochemistry*, 29: 743-746.
- Edwards C.A., Burrows I., Fletcher K.E., and Jones B.A. 1985. The use of earthworms for composting farm wastes. In: Gasser J.K.R. (Ed.), *Composting Agricultural and other Wastes*. Elsevier, London and New York, pp. 229-241.
- El-Gharmali A. 2002. Study of the effect of earthworms *Lumbricus terrestris* on the speciation of heavy metal in soils. *Environmental Technology*, 23: 775-780.
- Fox T.R., and Comerfield N.B. 1990. Low Molecular weight organic acid in selected forest soils of the south-eastern USA. *Soil Science Society of American Journal*, 54: 1763-1767.
- Garg P., Gupta A., and Satya S. 2005. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia fetida*: A comparative study. *Bioresource Technology*, 97: 391-395.
- Garg V.K., and Kaushik P. 2005. Vermi-stabilization of textile mill sludge spiked with poultry droppings by an epigeic earthworm *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology*, 96: 1063-1071.
- Guisquiani P.L., Concezzi L., Businelli M., and Macchioni A. 1998. Fate of pig sludge liquid in calcareous soil: agricultural and environmental implication. *Journal of Environmental Quality*, 27: 364-371.
- Jones D.L. 1997. Trivalent metal (Cr, Y, Ro, La, Pr, Cd) sorption in two acid soils and its consequences for bioremediation. *European Journal of Soil Science*, 48: 697-702.
- Lherroux L. Roux S., Appriou P., and Martinez J. 1997. Behavior of metals following intensive pig slurry application to a natural field treatment process in Brittany (France). *Environmental Pollutant*, 97: 119-130.
- Li L., Xu Z., Wu J., and Tian G. 2010. Bioaccumulation of heavy metal in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentration in pig manure. *Bioresource Technology*, 101: 3430-3436.
- Li L.Y., Wu J.Y., Tian G.M., and Xu Z.L. 2009. Effect on the transit through the gut of earthworm (*Eisenia fetida*) on fractionation of Cu and Zn in pig manure. *Journal of Hazardous Materials*, 167: 634-640.
- Loh T.C., Lee Y.C., Liang J.B., and Tan D. 2005. Vermicomposting of cattle and goat manures by *Eisenia fetida* and their growth and reproduction performance. *Bioresource Technology*, 96:111-114.
- Ma Y., Dickinson N.M., and Wong M.H. 2002. Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm *Pheretima* and effects of burrowing on metal availability. *Biology and Fertility of Soils*, 36: 79-86.
- Martin A. 1991. Short and long term effects of the endogenic earthworms *Millsonia anomala* of tropical savannas, on soil organic matter. *Biology and Fertility of Soils*, 11: 234-238.
- Morera M.T., Echeverria J.C., Mazkieran C., and Garrido J.J. 2001. Isotherms and sequential extraction procedures for evaluating sorption and distribution of heavy metals in soil. *Environmental Pollution*, 113: 135-144.
- Salmon S. 2001. Earthworm excreta (mucus and urine) affect the distribution of springtails in forest soils. *Biology and Fertility Soils*, 34: 304-310.
- Sauve S., Hendershot W., and Allen H.E. 2000. Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environmental Science and Technology*, 34: 1125-1131.
- Tessier A., Campbell P., and Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metal. *Analytical Chemistry*, 51: 844-851.
- Udovic M., and Lesten D. 2007. The effect of earthworms on the fractionation and bioavailability of heavy metals before and after soil remediation. *Environmental Pollution*, 148: 663-668.
- Wang Z.W., Shan X.Q., and Zhang S.Z. 2002. Comparison of speciation and bioavailability of rare earth elements between wet rhizosphere soil and air-dried bulk soil. *Analytical Chemistry Acta*, 441:147-156.
- Wen B., Liu Y., Hu X., and Shan X. 2006. Effect of earthworms (*Eisenia fetida*) on the fractionation and bioavailability of rare earth elements in nine Chinese soils. *Chemosphere*, 63: 1179-1186.

Study of Different Fractions of Zn, Cu, Pb and Cd During Vermicomposting of Cattle Manure

Atena Mirbolook^{1*}, Mir Hasan Rasouli-Sadaghiani²

(Received: September 2016

Accepted: December 2016)

Abstract

In order to study the changes in different fractions of Zn, Cu, Cd and Pb during the vermicomposting process of cattle manure, an experiment was conducted based on completely randomized design with factorial arrangement replicated three times. The first experimental factor was presence and absence of earthworm, and period of vermicomposting (0, 30, 60 and 90 days) was taken into account as the second factor. A five-step sequential extraction procedure recommended by Tessier was used for fractionation of Zn, Cu, Cd and Pb during the process of vermicomposting of cow manure. The exchangeable, carbonate-bound, Fe-Mn oxides-bound, organic matter-bound and residual fractions of metals were determined using atomic absorption apparatus (FAAS, Thermo element MK-M6). The results showed that pH of vermicompost decreased 0.4 units and dissolved organic carbon (DOC) increased 0.15 percent in treatments which had worm. The bioavailability of Zn, Cu and Cd, not Pb increased significantly in the compost samples. Following earthworm activity, the highest content of Zn, Cu and Cd were observed as bounded by carbonate, organic matter and exchangeable fractions, respectively, while the most amount of Pb was found in organic band fraction. Zn and Cd concentrations in carbonate and exchangeable fractions significantly increased in earthworm treatments, Zn 16.4 and 18.21 percent and Cd 10 percent increased in this fractions, however the concentration of those in residual fraction decreased by the end of incubation period. It is concluded that earthworm activity increases the bioavailability of some metals (Cd, Zn, and Cu) during the vermicomposting process.

Keywords: Bioavailability, Cattle manure, Heavy metal, Sequential extraction, Vermicompost

1-Ph.D Student, Department of Soil Science, Urmia University, Lecturer in Payame Noor University, Iran

2- Professor, Department of Soil Science, Urmia University, Iran

*Corresponding Author Email: atena.mirbolook@yahoo.com