

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

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

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

چکیده

به منظور مطالعه تغییرات شکل‌های مختلف فلزات روی، مس، کادمیوم و سرب در طی فرآیند تهیه ورمی کمپوست، آزمایشی بر مبنای طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول این آزمایش شامل تاثیر حضور و عدم حضور کرم خاکی بود و روند فرآیند تولید ورمی کمپوست در بازه های زمانی صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز بعنوان فاکتور دوم انتخاب شد. 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 ورمی کمپوست از کود گاوی تعیین شدند. نتایج نشان داد که اسیدیته ورمی کمپوست در تیمارهای دارای کرم خاکی ۰/۴ واحد کاهش و میزان کربن آلی محلول ۰/۱۵ درصد افزایش را نشان داد. فراهمی زیستی عناصر روی، مس و کادمیوم بجز سرب نیز در تیمار های کرم خاکی افزایش معنی داری را نشان دادند. بیشترین مقادیر روی، مس و کادمیوم در نتیجه فعالیت کرم‌های خاکی به ترتیب در بخش‌های کربناتی، مواد آلی و تبادلی نشان داده شد، اما بیشترین سهم سرب در بخش پیوندشده 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 باقی مانده در انتهای دوره کاهش یافت. چنین استنباط می‌شود که فراهمی زیستی عناصر سنگین با فعالیت کرم‌های خاکی در فرآیند تولید ورمی کمپوست افزایش می‌یابد.

واژه های کلیدی: کود گاوی، عصاره‌گیری پی در پی، فراهمی زیستی، فلزات سنگین، ورمی کمپوست

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، مدرس مدعو دانشگاه پیام نور، ایران (مکاتبه 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 فرایند تولید ورمی کمپوست (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 هم به طور معنی داری تغییر می‌کند (Sauve & Hendershot, 2000). گزارش‌های زیادی مبنی بر تاثیر 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 فرایند تولید ورمی کمپوست، کربن آلی محلول (DOC) به دلیل تجزیه مواد آلی به ذرات ریزتر و محلول‌تر در آب و همچنین افزایش فعالیت‌های میکروبی به طور معنی داری افزایش پیدا می‌کند، همچنین آنان بیان کردند که افزایش معنی دار در بخش‌های محلول، تبدالی و کربنات‌ها به دلیل تاثیر کرم‌های خاکی در فراهمی زیستی فلزات می‌باشد. این نتایج توسط یودویک و لستن (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 معنی داری افزایش یافت. ون و همکاران (Wen et al., 2006) به مطالعه تغییرات بخش‌های مختلف فلزات سنگین در فرایند تولید ورمی کمپوست پرداختند و افزایش معنی دار غلظت فلزات را در بخش‌های محلول، تبدالی و کربنات‌ها و کاهش غلظت را در بخش‌های مواد آلی و سولفید گزارش کردند. این مطالعه با هدف تاثیر فعالیت کرم خاکی بر روند تغییرات شکل‌های مختلف فلزات سنگین شامل مس، روی، سرب و کادمیوم در طی فرایند ورمی کمپوست 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 جاده کلات مشهد تهیه شد. کرم‌های خاکی *Eisenia fetida* از موسسه 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 شدند (Edwards et al., 1985). گلدانها در طول دوره آزمایش در شرایط ثابت دمایی ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۵ درصد ظرفیت نگهداری آب در شرایط تاریکی نگهداری شدند. از زمان شروع آزمایش در هر زمان اندازه گیری 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 همه نمونه‌ها با استفاده از آب مقطر در نسبت ۱۰:۱ (وزنی) اندازه گیری شد که 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 میلی لیتر 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) اندازه گیری شد. برای تعیین غلظت‌های کل فلزات سنگین (روی، مس، سرب و کادمیوم) نمونه‌ها با مخلوط سه اسید (اسید هیدرو فلئوریک HF، اسید نیتریک HNO₃، اسید هیپو کلریدریک HClO₄، ۱:۱:۲ حجمی/حجمی/حجمی) هضم شدند (Bao, 2005). برای تعیین غلظت فلزات در بخش‌های مختلف در طول دوره تهیه ورمی کمپوست پنج مرحله عصاره گیری پی پی پی باروش 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) اندازه گیری

شدند. نتایج حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار MINTAB بر مبنای طرح کاملاً تصادفی تجزیه آماری شدند و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و مقایسه‌ها

متعامد در سطح معنی داری ۰/۰۵ با استفاده از نرم افزار MSTATC مقایسه شدند.

جدول ۱- عصاره گیرها 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 shaking	عصاره گیر Extractant
تبادلی Exchangeable	2 ساعت (دمای 20 درجه سانتی گراد) 2 hours (temperature: 20°C)	MgCl (1 مولار) MgCl (1 molar)
پیوند با کربناتها bounded with carbonates	5 ساعت (دمای 20 درجه سانتی گراد) 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 سانتی گراد) 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 سانتی گراد) 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)
باقی مانده residual	4 ساعت (دمای 60 درجه سانتی گراد) 4 hours (temperature: 60°C)	(W:HNO ₃ :HCl) Aqua regia (W:HNO ₃ :HCl) Aqua regia

نتایج و بحث

معدنی شدن شدید نیتروژن به نیترات و نیتريت و همچنین فسفر به ارتو فسفات را از دیگر دلایل این امر دانستند. pH خاک اولین فاکتور در تعیین غلظت فلزات در محلول خاک بوده و با کاهش pH فرمهای قابل دسترس اکثر فلزات سنگین در خاکها افزایش می یابد بنابراین کاهش pH می تواند یکی از دلایل افزایش فراهمی زیستی فلزات سنگین در خاک باشد که این نتایج در طی فرایند تولید ورمی کمپوست در این آزمایش نیز حاصل گردید (El-Gharmali, 2002). فعالیت کرمهای خاکی به طور معنی داری کربن آلی محلول را نیز در طول دوره زمانی تهیه ورمی کمپوست افزایش داد. مطالعات نشان می دهند 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 واکنش های فلزات اثر می گذارند. با توجه به اینکه فعالیت کرمهای خاکی منجر به تجزیه مواد آلی به ترکیبات ساده تر و محلول تر و همچنین افزایش فعالیتهای میکروبی در خاکها می شود، DOC و به دنبال آن قابلیت دسترسی فلزات افزایش می یابد (Amir et al., 2005). در نتیجه افزایش DOC در محلول خاک، بین یونهای آزاد و یونهای کمپلکس شده با مواد آلی که حلالیت زیادی نیز دارند، رقابت ایجاد شده که در نهایت جذب فلزات را روی سطوح خاک کاهش می دهد (Guisquiani, 1997)

برخی ویژگیهای شیمیایی اندازه گیری 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 فرایند تهیه ورمی کمپوست افزایش معنی داری را نشان داد و از ۱ دسی زیمنس بر متر به ۳/۱ دسی زیمنس بر متر در پایان ۹۰ روز رسید. این افزایش در نمونه شاهد (بدون کرم) به طور معنی داری کمتر بود. بر اثر فعالیت کرم های خاکی حلالیت و تحرک عناصر زیاد شده و بیشتر به فرمهای قابل دسترس درمی آیند (Garg et al., 2005).

شاخص pH از پارامترهای مهم و موثر بر روی تحرک و زیست فراهمی فلزات سنگین در خاک می باشد و بنابراین تعیین تغییرات این شاخص در طول فعالیت کرمهای خاکی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. pH در نمونه های دارای کرم خاکی در طول فرایند تهیه ورمی کمپوست از ۸/۱ در زمان صفر به ۷/۷۳ در پایان ۹۰ روز رسید که این تغییرات در نمونه های بدون کرم (شاهد) از ۸/۱ به ۷/۶۸ بود. یکی از دلایل کاهش pH در طی فرایند تولید ورمی کمپوست، افزایش فعالیتهای میکروبی می باشد (Garg & Kaushik, 2005). لی و لو (Loh & Lee, 2005) گزارش کردند که دلیل کاهش pH تبدیل زیستی مواد آلی به انواع مواد حدواسط مختلف مثل اسیدهای آلی بوده و همچنین

افزایش DOC ارائه نمود. غلظت‌های کل چهار فلز روی، مس، سرب و کادمیوم هم در طول دوره تولید ورمی کمپوست در جدول ۲ آورده شده است. فعالیت کرم‌های خاکی باعث تغییر فراهمی فلزات سنگین نیز شد. بررسی توزیع فلزات سنگین در بخش‌های مختلف ورمی کمپوست، غلظت فلزات سنگین (روی، مس، سرب و کادمیوم) براساس روش تسیر در شکل‌های ۱ و ۲ آورده شده است.

پس افزایش DOC یکی از دلایل افزایش قابلیت دسترسی فلزات در حضور کرم‌های خاکی است (Wang et al., 2002). ون و همکاران (Wen et al., 2006) نیز ارتباط معنی داری را بین تاثیر فعالیت کرم خاکی *Eisenia fetida* در افزایش DOC و غلظت فلزات سنگین عصاره گیری شده با آب بدست آوردند. جونس (Jones, 1997) نیز نتایج مشابهی را در مورد افزایش زیست فراهمی فلزات سنگین به دلیل

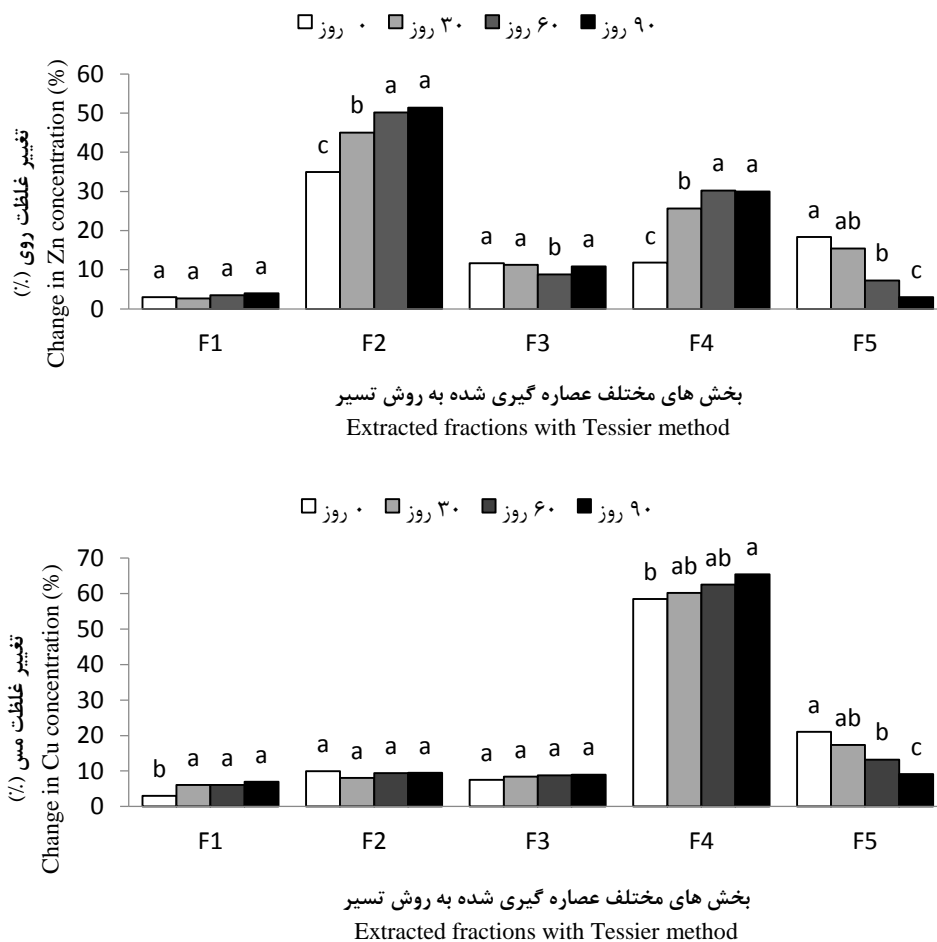
جدول ۲ - مقایسه میانگین‌های ویژگی‌های شیمیایی در تیمارهای بدون کرم (W0) و با کرم (W1) در پروسه تولید ورمی کمپوست

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

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

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

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



شکل ۱ - مقایسه میانگین درصد روی و مس در بخش های مختلف در یک دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی کمپوست

Figure 1-Comparison of means of zinc and copper percent in different fractions during 90 days vermicomposting
بخشهای تبدلی (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) می یابند.
Fractions are exchangeable (F1), bounded with carbonates (F2), bounded with Fe and Mn oxides (F3), and bounded with organic matter (F4) and residual (F5).

در شکل (۱)، توزیع فلز روی در بخشهای مختلف در چهار دوره زمانی نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود توزیع فلز روی در بخش های مختلف به ترتیب $F2 > F1 > F5 > F3 > F4$ است. با گذشت زمان طی ۹۰ روز، غلظت فلز روی در بخش تبدلی ۱ درصد افزایش یافت که در سطح ۵ درصد از نظر آماری معنی دار 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 باقی مانده از نظر آماری معنی دار بودند. بیشترین میزان فلز روی در زمان صفر در بخش کربناتها و کمترین میزان آن در بخش تبدلی مشاهده شد. دلیل این تغییر شکلها در پایان دوره تهیه ورمی کمپوست شاید کاهش میزان کربن و افزایش مواد هومیکی باشد که منجر می شود فلز روی بیشتر در بخش های مواد آلی و کربناتها ظاهر شود. یودویک و لستن

(Udovic & Lesten, 2007) گزارش کردند که عنصر روی بیشتر تمایل دارد با بخشهای باقی مانده و مواد آلی پیوند دهد. توزیع فلز مس در بخش های 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 معنی داری (۱۰ درصد) را نشان می دهد. مس در سه بخش اول با گذشت زمان تفاوت معنی داری را نشان نداد ولی کاهش آن در بخش باقی مانده در انتهای دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی کمپوست معنی دار بود. به طور کلی توزیع بخش های مس به صورت $F4 > F5 > F2 \approx F3 > F1$ بود. بانرجی و همکاران (Banerjee *et al.*, 2003) گزارش کردند که مس به دلیل خاصیت ذاتی خود می تواند واکنشی ویژه و بسیار قوی با مواد آلی و دیگر سطوح برقرار کند، دلیل این امر تمایل زیاد مس برای پیوند

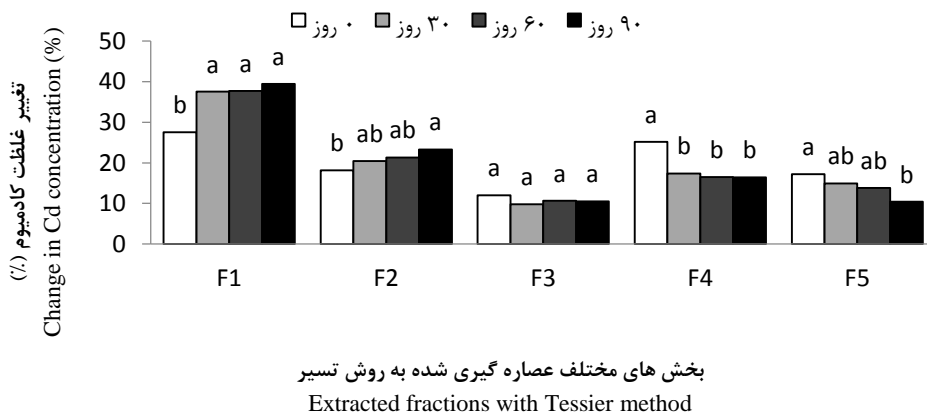
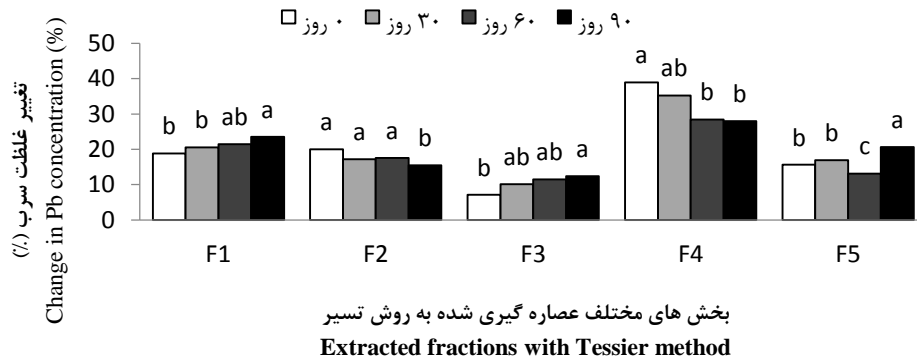
بیشتر، فراوان تر بود که این امر نشان دهنده تاثیر کرم‌های خاکی در افزایش حلالیت و تحرک کادمیوم می باشد. لی و همکاران (Li et al., 2010) گزارش کردند که در کود خوکی حدود ۶۷ درصد کادمیوم در بخش‌های تبادلی، کربنات و اکسیدهای آهن و منگنز (بخش‌های متحرک و قابل دسترس) یافت شد و ۳۳ درصد باقی مانده در بخش های مواد آلی و باقی مانده متمرکز شدند.

از آنجاییکه بر اثر فعالیت کرم‌های خاکی بسیاری از ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی خاکها مثل pH، DOC، جمعیت میکروبی و... تغییر می کند، توزیع بخش‌های فلزات سنگین و به دنبال آن فراهمی زیستی آنها نیز تغییر خواهد کرد (Salmon, 2001). با توجه به اینکه زیست فراهمی فلزات سنگین در محیط زیست و زنجیره غذایی و ارتباط این فرایند با سمیت، تحرک و انتقال فلزات از اهمیت ویژه ای برخوردار است و همچنین کرم‌های خاکی تاثیر ویژه ای روی زیست فراهمی فلزات سنگین در خاکها دارند، به بررسی جداگانه تغییرات زیست فراهمی فلزات در طی فرایند تولید ورمی کمپوست پرداخته شد. تا کنون این واقعیت مشخص شده است که فعالیت کرم‌های خاکی زیست فراهمی فلزات سنگین را بالا می برد (Wen, 2006). شکل ۳ درصد افزایش زیست فراهمی فلزات سنگین را در نمونه های دارای کرم (ورمی کمپوست) و نمونه های بدون کرم نشان می دهد. زیست فراهمی هر فلز با مجموع درصد بخش های تبادلی، پیوند شده با کربنات و اکسیدهای آهن و منگنز تعیین شدند (Morera, 2001). فلز روی بیشترین زیست فراهمی 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 نمونه های دارای کرم ۱۷ درصد افزایش و در نمونه های بدون کرم ۳/۷ درصد افزایش در زیست فراهمی روی مشاهده شد. 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 نمونه های بدون کرم زیست فراهمی مس ۲/۱ درصد، کادمیوم ۱۱/۳ درصد و سرب ۵ درصد افزایش نشان داد که برای دو فلز کادمیوم و مس معنی دار و در مورد سرب این تفاوت معنی دار نشد. از آنجاییکه حدود ۲۰ درصد از کل مس در بخش های زیست فراهم قرار گرفت، یعنی مس کمترین توانایی را برای زیست فراهمی

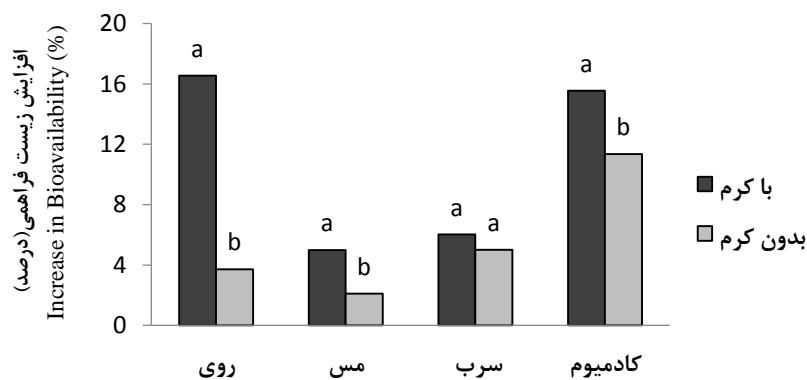
با گروه‌های عامل COO^- و OH^- مواد آلی می باشد. چنگ و ونگ (Cheng & Wong, 2002) نشان دادند که در حضور کرم‌های خاکی مس باند شده با مواد آلی افزایش معنی داری پیدا می کند، همچنین آنها گزارش کردند که فراهمی این فلزات برای گیاه نیز افزایش می یابد زیرا ترکیبات آلی به راحتی بوسیله میکروارگانیسم‌های خاک تجزیه شده و فلزات در فاز محلول رها می شوند. لی و همکاران (Li et al, 2010) نیز نشان دادند که در اثر فعالیت کرم خاکی *Eisenia fetida* در کود خوکی حدود ۹۰ درصد از کل مس در بخش مواد آلی و بخش باقی مانده و ۱۰ درصد آن در سه بخش اول مشاهده شد. شکل ۲ توزیع عنصر سرب را در بین بخش های مختلف نشان می دهد. سرب به طور متعادلی در بین همه بخش ها توزیع یافته است. ترتیب توزیع سرب در بین بخش ها 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 معنی داری 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 می شوند و سرب از روی سایت‌های آلی رها شده و با بخش تبادلی و کربنات پیوند می یابد. 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 بخش های آلی جدا شده و به بخش های تبادلی و کربنات‌ها با قابلیت دسترسی بیشتر انتقال می یابد. توزیع کادمیوم در بین بخش های 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 بخش های 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 معنی دار آن در بخش‌های مواد آلی و باقی مانده (حدود ۹ درصد) مشاهده گردید. حضور بیشتر کادمیوم در بخش تبادلی به دلیل حلالیت بالای آن بوده و کادمیوم در انتهای فرایند تولید ورمی کمپوست در بخش های با قابلیت دسترسی

است. همانطور که مشاهده می شود با گذشت زمان بر اثر فعالیت کرمهای خاکی غلظت همه فلزات در بخش های زیست فراهم افزایش می یابد. مس کمترین غلظت و کادمیوم بیشترین غلظت را در این بخشها به خود اختصاص می دهند.

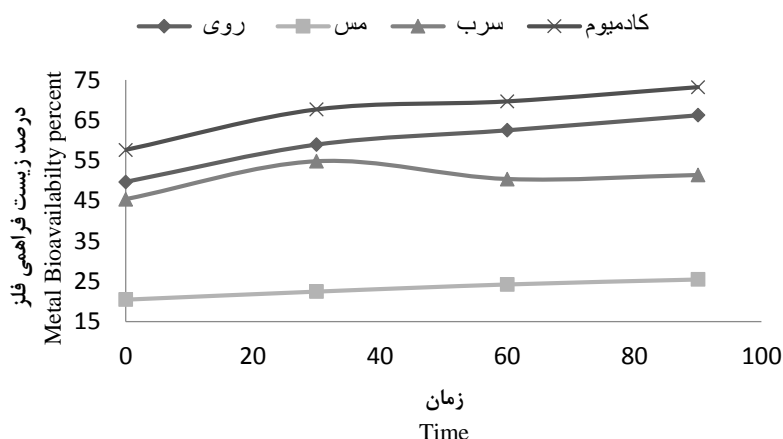
در فرایند تولید ورمی کمپوست دارد که به دلیل پیوند قوی مس با مواد آلی می باشد (Banerjee, 2003) و فلزات روی و کادمیوم به دلیل تحرک بیشتر زیست فراهمی بیشتری را نشان دادند. در شکل ۴ روند افزایشی زیست فراهمی فلزات در طول دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی کمپوست نشان داده شده



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد سرب و کادمیوم در بخش های مختلف در یک دوره ۹۰ روزه تهیه ورمی کمپوست
Figure 2- Comparison of means of lead and cadmium percent in different fractions in 90 days vermicomposting
بخشهای 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) می باشند.
Fractions are 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 زیست فراهمی فلزات سنگین در تیمارهای با و بدون کرم پس از ۹۰ روز خواباندن
Figure 3- Comparison of mean 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

Pb > Cu > Zn > Cd، بخش باند شده با اکسیدهای آهن و منگنز: Pb > Cu > Zn > Cd، بخش باند شده با مواد آلی: Pb > Cu > Zn > Cd، بخش باقی مانده: Pb > Cu > Zn

نتیجه‌گیری کلی

در این آزمایش تحت تاثیر 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 تبادل، 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 تاثیرگذار در توزیع فلزات در بخش‌های مختلف و زیست‌فراهمی آنها در ورمی‌کمپوست می‌باشد.

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. کادمیوم و سرب در رتبه‌های اول و دوم از نظر حضور در بخش تبدالی 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 بعد از ۹۰ روز به صورت زیر مشاهده شد: بخش تبدالی: Zn >> Cd ≈ Pb > Cu > Zn

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.
- Antoniadis V., and Alloway B.J. 2002. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environmental Pollution*, 117: 515-521.
- Arnold R.E., Hodson M.E., and Comber S. 2007. Effect of speciation on the toxicity of Cu to the earthworm *Eisenia fetida*. *Applied Geochemistry*, 22: 2397-2405.
- Atiyeh R.M., and Lee, S. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm processed organic wastes on plant growth. *Bioresource 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.
- Cheng J., Wong M.H. 2002. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 36: 72-78.
- Curri M., Hodson M.E., Arnold R.E., and Langdon C.J. 2005. Single versus multiple occupancy—effects on toxicity parameters measured on *Eisenia fetida* in lead nitrate-treated soil. *Environmental Toxicity and Chemistry*, 24: 110-116.
- 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.
- Edward C.A., and Bohlen, P.J., 1996. Biology and Ecology of Earthworms, 3th, Champan and Hall. London.
- 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. London and New York, Elsevier, 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 afetida*: A comparative study. *Bioresource Technology*, 97: 391-395.
- Garg V.K., and Kaushik P. 2005. Vermistabilization of textile mill sludge spiked with poultry droppings by an epigic 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.
- Kale R.D. 1998. Earthworms: natures gift for utilization of organic wastes. *Earthworm's Ecology*. CRC Press, 355-77.
- 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 afetida* 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., Mazkaran 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.
- Parkin T.B., and Berry EC. 1999. Microbial nitrogen transformation in earthworm burrows. *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 1765-1771.
- 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.
- Toyota K., and Kimura M. 2000. Microbial community indigenous to the earthworm *Eisenia fetida*. *Biology and Fertility Soils*, 31: 187-190.
- 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., Hu X., Liu Y., and Wang W. 2004. The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils. *Biology and Fertility Soils*, 40:181-187.
- 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.
- Yu X., Cheng, J., and Wong M.H. 2005. Earth worms mycorrhiza interaction on Cd uptake and growth of ryegrass. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 195-201.

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 of unit and dissolved organic carbon (DOC) increased 0.15 percent in treatments of with 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 of metals (Cd, Zn, and Cu) during the vermicomposting process.

Key words: 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