



علوم محیطی

علوم محیطی سال هشتم، شماره اول، پاییز ۱۳۸۹
ENVIRONMENTAL SCIENCES Vol.8, No.1, Autumn 2011

۲۳-۲۸

مطالعه کمی جذب و واجذب آلاینده‌های میکروبی در خاک‌های آهکی

احمد فرخیان فیروزی^۱، مهدی همایی^{۱*}، مرتضی ستاری^۲

۱- گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- گروه باکتری‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

Quantitative Study of Microbial Contaminant Attachment and Detachment in Calcareous Soil

Ahmad Farrokhian Firouzi¹, Mehdi Homaei^{1*},
Morteza Sattari²

1- Department of soil science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University

2- Department of Bacteriology, Faculty of Medical Science, Tarbiat Modares University

Abstract

Bacteria attachment to soil is an important component in bacteria transport models. The objective of this study was to quantify the influence of calcium carbonate on bacteria attachment and detachment in calcareous soil. Consequently, 60 calcareous soil samples were collected from Central Province and their bacteria (*Escherichia coli*) adsorption isotherm, physical and chemical properties were measured. Three types of adsorption isotherms were evaluated. The results indicated that linear isotherm leads to a better prediction of bacteria attachment to calcareous soil in comparison with the Freundlich and Langmuir isotherms. A pedotransfer function was also derived to predict the k_d parameter of the linear isotherm from soil particle size distribution and calcium carbonate content. The attachment and detachment of bacteria in three treatments of calcium carbonate content (10, 21 and 37%) were tested in a completely randomized design (CRD) with three replications. According to the results, increasing soil calcium carbonate content leads to enhanced equilibrium and kinetic bacteria attachment ($p < 0.05$). Bacteria detachment also decreases by increasing soil calcium carbonate ($p < 0.05$).

Keywords: Adsorption isotherms, Bacteria attachment and detachment, Calcareous soil, *Escherichia coli*

چکیده

جذب باکتری به خاک از اجزای مهم مدل‌های انتقال آلاینده‌های میکروبی در خاک و آلودگی آب‌های زیرزمینی است. هدف از این پژوهش، مطالعه کمی نقش کربنات کلسیم بر جذب و واجذب آلاینده‌های میکروبی در خاک آهکی بود. بدین منظور، تعداد ۶۰ نمونه از خاک‌های آهکی استان مرکزی نمونه‌برداری شد. ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و ایزوترم جذب باکتری اشریشیا کلی (*Escherichia coli*) نمونه‌های خاک اندازه‌گیری شد. سه ایزوترم جذب مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد مدل ایزوترم جذب خطی در مقایسه با دو مدل فرندلیخ و لانگمویر برآوردی بهتر از جذب باکتری در خاک آهکی دارد. در این پژوهش، جذب و واجذب باکتری به خاک آهکی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه سطح مختلف ۱۰، ۲۱ و ۳۷ درصد کربنات کلسیم فعال و در سه تکرار در دو حالت تعادلی و سینتیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش مقدار کربنات کلسیم جذب سینتیک و تعادلی آلاینده میکروبی افزایش می‌یابد و این تفاوت در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین با افزایش مقدار کربنات کلسیم واجذب باکتری کاهش یافت و این تفاوت در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود.

کلیدواژه‌ها: ایزوترم جذب، باکتری اشریشیا کلی (*Escherichia coli*) خاک آهکی، جذب باکتری، واجذب باکتری.

* Corresponding author. E-mail Address: Mhomaei@modares.ac.ir

مقدمه

انتقال آلاینده‌های میکروبی به آب‌های زیرزمینی از مسائل بسیار مهم زیست‌محیطی است که می‌تواند در سطحی وسیع سبب شیوع بیماری شود. برخی باکتری‌ها می‌توانند از بخش غیراشباع خاک عبور کرده و باعث آلودگی منابع آب زیرزمینی شوند (Gebra, 1984; Mc Murry *et al.*, 1998). حدود ۷۰ درصد از بیماری‌های منتقل شده از طریق آب به دلیل آلودگی آب‌های زیرزمینی به میکروبیوم‌های بیماری‌زا است (Graun, 1991; Herwaldt *et al.*, 1992). پالایش طبیعی میکروبیوم‌ها از طریق خاک نیازمند این است که فاصله بین منبع آلودگی و منابع آب زیرزمینی به اندازه‌ای باشد که خاک به‌طور طبیعی سبب پالایش آلاینده شود. اما تعیین این فاصله مشکل است زیرا هنوز فرایندهای حاکم بر انتقال، جذب^۱ و غیرفعال شدن میکروبیوم‌ها در خاک به درستی شناخته نشده‌اند (Macler 1996; Yates and Jury, 1996; Yan *et al.*, 2000).

نتایج آزمایش Scholl و Harvey (1992) 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. هم‌چنین Foppen و Schijven (2005) میزان جذب باکتری اشریشیاکلی به رسوبات شامل ذرات شن کوارتز و 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 موافق برای جذب است، میزان جذب باکتری افزایش می‌یابد. این جذب در ابتدا خطی و سپس غیرخطی بود. این پژوهشگران علت غیرخطی بودن جذب را به ناهمگنی بار سطحی و ناهمگنی آنگریزی^۲ جمعیت باکتری اشریشیاکلی نسبت داده‌اند.

در پژوهشی دیگر Jin و Zhuang (2003) به منظور بررسی اثر بار مثبت اکسیدهای آلومینیوم بر جذب و انتقال ویروس‌های MS-2 و φX174 که دارای بار سطحی منفی هستند، انتقال این ویروس‌ها را در ستون‌های شن که ذرات آن دارای پوشش اکسید آلومینیوم بودند، مطالعه کردند. نتایج نشان داد که به ترتیب ۳۴ و ۱۰۰ درصد ویروس‌های MS-2 و φX174 به شکل برگشت‌ناپذیر جذب یا غیرفعال شدند.

نتایج پژوهش Guber (1984) نشان داد که ذرات جامدی که دارای pH_{PZC} بالایی هستند در مقایسه با ذرات با pH_{PZC} کمتر در شرایط طبیعی خاک، دارای بار سطحی مثبت بوده و توانایی بیشتری در جذب باکتری‌های گرم منفی دارند.

ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک و هم‌چنین بار سطحی باکتری بر جذب و انتقال باکتری در خاک موثرند. از جمله ویژگی‌های خاک موثر بر جذب باکتری، توزیع اندازه ذرات، توزیع منافذ، جرم ویژه ظاهری، مقدار رطوبت خاک، شدت جریان آب در خاک، نوع و مقدار رس، نوع و مقدار ماده آلی، اسیدیته خاک و قدرت یونی محلول خاک می‌باشند (Lindqvist and Bengtsson, 1991; Jackson *et al.*, 1994; Schijven and Hassanizadeh, 2000; Abu-Lail and Camesano, 2003; Guber *et al.*, 2007; Pachepsky *et al.*, 2008).

جذب میکروبیوم به خاک را در مقیاس‌های مختلف پیمانهای^۴، ستون خاک و مزرعه‌ای می‌توان مطالعه کرد. در آزمایش‌های پیمانهای سوسپانسیون باکتری با مقدار معینی از خاک در ظرف مخصوص به هم‌زده می‌شود. غلظت باکتری در فاز مایع بصورت تابعی از زمان اندازه‌گیری می‌شود. هم‌چنین غلظت سوسپانسیون باکتری در ظرف مشابه ظرف آزمایش و در شرایطی مشابه آزمایش، ولی بدون خاک (ظرف کنترل)

اندازه گیری می شود. با آزمایش کنترل می توان مقدار غیرفعال شدن و مقدار باکتری هایی که به دیواره ظرف می چسبند را محاسبه کرد. در فرآیند جذب ابتدا غلظت باکتری در فاز مایع با زمان کاهش می یابد، اما پس از مدتی کوتاه به یک مقدار ثابت می رسد. در نقطه ای که تغییرات ثابت می شود، غلظت باکتری در فاز جامد و مایع بدست می آید. این تعادل ظاهری خیلی سریع بدست می آید، اما آنی نیست. در پژوهش های مختلف مقادیر متفاوتی برای زمان رسیدن به تعادل بدست آمده است. این زمان ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه گزارش شده است (Tylor et al., 1981; Bales et al., 1991; Gantzer et al., 1994).

معادلات حاکم بر جذب تعادلی باکتری در آزمایش پیمانهای

جرم کل باکتری در شرایط جذب تعادلی از معادله (۱) پیروی می کند. در این معادله فرض شده تغییرات جرم با زمان برابر صفر است:

$$C_t = \theta C + \rho_b S + \theta \mu_l C + \rho_b \mu_s S \quad (1)$$

$$\frac{dC_t}{dt} = 0 \quad (2)$$

که در آن C_t غلظت کل باکتری (CFU mL^{-1})، θ رطوبت حجمی، C غلظت باکتری در فاز محلول (CFU mL^{-1}) و μ_s و μ_l به ترتیب غیرفعال شدن در فاز مایع و جامد، S غلظت باکتری در فاز جامد (CFU g^{-1})، ρ_b جرم ویژه ظاهری خاک (ML^{-3}) می باشند. مقدار جذب باکتری در حالت تعادلی (S) از ایزوترم های جذب خطی، فروندلیخ^۵ (1926)، و لانگمویر^۶ (1918) قابل برآورد است (Yates et al., 1987).

۱- ایزوترم جذب خطی:

$$S = K_d C \quad (3)$$

که در آن S ، تعداد باکتری جذب شده به هر گرم خاک (CFU g^{-1})، K_d ضریب توزیع و C غلظت باکتری در فاز محلول (CFU mL^{-1}) است.

با توجه به نوع باکتری و اندازه ذرات خاک مقادیر متفاوتی برای ضریب K_d گزارش شده است. در پژوهشی Lindqvist and Enfield (1992) مقادیر متفاوتی از K_d برای جذب باکتری های مختلف به خاک شنی بدست آوردند. این پژوهشگران برای سه باکتری *Enterobacter sp.*، *Bacillus sp.* و *Pseudomonas* به ترتیب مقادیر ۸، ۱۵ و 120 mL g^{-1} بدست آوردند. هم چنین نتایج این پژوهش نشان داد که مقدار K_d با قطر ذرات رابطه عکس دارد. آن ها به ترتیب مقادیر ۱۵، $1/3$ و $1/4$ را برای ذرات شن با قطر $0/1$ تا $0/25$ ، $0/25$ تا $0/5$ و $0/5$ تا 1 میلی متر بدست آوردند.

در پژوهشی دیگر Ling و همکاران (2002) جذب باکتری *E. coli* را به خاک های لوم رسی^۷ (۳۵ درصد رس) و لوم سیلتی (۱۴ درصد رس) بررسی کردند. این پژوهشگران مقادیر 127 mg و $0/33 \text{ mg}$ را به ترتیب برای خاک های لوم رسی و لوم سیلت بدست آوردند.

۲- ایزوترم لانگمویر (1918):

$$S = \frac{S_{max} KC}{1 + KC} \quad (6)$$

که در آن S_{max} ، حداکثر ظرفیت جذب باکتری در فاز جامد (CFU g^{-1}) و K مقداری ثابت است که قدرت پیوند را نشان می دهد. در مدل لانگمویر فرض می شود که حداکثر جذب برابر یک لایه از مولکول های املاح بر سطح جاذب است. تمام مکان های جذب مشابه اند و هیچ گونه برهمکنشی بین مولکول های جذب شده وجود ندارد.

ظاهری خاک (ML^{-3}) و S غلظت باکتری جذب به خاک ($N L^{-3}$) می‌باشد. k_{att} و k_{det} به ترتیب نرخ جذب و واجذب باکتری از ذرات خاک (T^{-1}) و t زمان می‌باشد.

به دلیل این که در آزمایش پیمانهای غلظت یکنواخت است از دو پارامتر انتشار (D) و جریان توده-ای (v) می‌توان صرف‌نظر کرد. بنابراین رفتار سینتیکی قبل از رسیدن به جذب تعادل ظاهری باکتری را می‌توان با چهار پارامتر جذب باکتری به خاک (k_{att})، واجذب باکتری از خاک (k_{det}) و غیرفعال شدن باکتری در فاز مایع (μ_l) و جامد (μ_s) بیان کرد. در مدت زمان کوتاه آزمایش پیمانهای، فرض می‌شود غیرفعال شدن باکتری در فاز مایع (μ_l) و جامد (μ_s) برابر صفر است. لذا معادلات (۶) و (۷) به شکل زیر ساده می‌شوند.

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\rho_b}{\theta} \frac{\partial S}{\partial t} = 0 \quad (8)$$

$$\frac{\partial \rho_b}{\partial \theta} \frac{\partial S}{\partial t} = k_{att} C - \frac{\partial \rho_b}{\partial \theta} k_{det} S \quad (9)$$

حل تحلیلی معادله (۸) و (۹) به شکل زیر خواهد بود (Schjiven and Hassanizadeh, 2000)

$$C = C_0 \frac{k_{att} - \exp[-(k_{att} + k_{det})t]}{k_{att} + k_{det}} \quad (10)$$

خاک‌های با بیش از ۵ درصد آهک را اصطلاحاً خاک آهکی گویند (USDA, 1999). بر اساس گزارش سازمان خوار و بار جهانی حدود ۶۵ درصد از خاک‌های ایران آهکی می‌باشند (FAO/UNDP, 1972). وجود پوسته‌های کربنات کلسیم ($CaCO_3$) بر 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 غنی از کربنات‌ها هستند و آب و هوای گرم و خشک موجب می‌گردد که

Guber و همکاران (2005) جذب باکتری *E. coli* را به خاک کشاورزی با بافت لوم و لوم رسی شنی را با و بدون ذرات کلوئیدی کود دامی مورد مطالعه قرار دادند. جذب باکتری در سوسپانسیون بدون ذرات کلوئید کود دامی حالت خطی و همراه با ذرات کلوئیدی غیرخطی و از معادله ایزوترم جذب لانگمویر پیروی می‌کرد. بیشترین مقدار جذب باکتری در حالتی اتفاق افتاد که سوسپانسیون باکتری فاقد ذرات کلوئیدی کود دامی بود. ۳- ایزوترم فروندلیخ (1926):

$$S = K_f C^{1/n} \quad (5)$$

که در آن K_f و n پارامترهای تجربی می‌باشند.

معادلات حاکم بر سینتیک جذب باکتری در آزمایش پیمانهای

در آزمایش پیمانهای سوسپانسیون باکتری و خاک بطور آبی به تعادل نمی‌رسند. جذب باکتری در مقیاس میکرو را می‌توان با دو مرحله توصیف کرد که هر کدام از این دو فرآیند مدت زمان خاصی به طول می‌کشد. در مرحله اول باکتری به سطح جامد انتقال داده می‌شود که اصطلاحاً "انتقال جرم گفته می‌شود. در مرحله دوم در نتیجه برهم‌کنش‌های شیمیایی و فیزیکی باکتری در سطح جامد ثابت و بی‌حرکت می‌شود.

معادله کلی حاکم بر جذب و انتقال باکتری در خاک را می‌توان به شکل زیر بیان کرد:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\rho_b}{\theta} \frac{\partial S}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - v \frac{\partial C}{\partial z} - \mu_l C \quad (6)$$

$$\frac{\partial \rho_b}{\partial \theta} \frac{\partial S}{\partial t} = k_{att} C - \frac{\partial \rho_b}{\partial \theta} k_{det} S - \mu_s \rho_b S \quad (7)$$

که در آن C غلظت باکتری در فاز مایع ($N L^{-3}$)، D ضریب انتشار ($L^2 T^{-1}$)، v سرعت منفذی آب (LT^{-1})، θ تخلخل کل ($L^3 L^{-3}$)، ρ_b جرم ویژه

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. کربنات کلسیم خاک می‌تواند از طرق مختلف بر جذب و انتقال باکتری در خاک تاثیرگذار باشد: رسوب کربنات کلسیم در دیواره منافذ خاک و تغییر قطر آن‌ها (Frenkel et al., 1978)، انرژی جذب سطحی متفاوت کانی کربنات کلسیم در مقایسه با ذرات خاک (USDA, NRCS, 1999)، یون کلسیم محلول (Ca^{+2}) با کاهش بار سطحی باکتری‌های گرم منفی و هم‌چنین افزایش قدرت یونی محلول خاک سبب افزایش جذب این باکتری‌ها به ذرات خاک می‌شود.

بنابراین با توجه به وسعت زیاد خاک‌های آهکی در ایران مطالعه کمی نقش این کانی بر جذب و انتقال باکتری ضروری است.

اهداف اصلی این پژوهش مطالعه کمی نقش کربنات کلسیم بر جذب و واجذب باکتری گرم منفی اشريشیاکلی در خاک‌های آهکی و تعیین بهترین مدل ایزوترم برآوردکننده جذب باکتری در خاک آهکی است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۶۰ خاک از منطقه ابراهیم آباد استان مرکزی نمونه‌برداری شد. خاک‌های آهکی این منطقه در زیر گروه بزرگ Cacixerollic Xerochrepts قرار دارند. نمونه‌های خاک پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی‌متری رد شدند. توزیع اندازه ذرات به روش هیدرومتری، مقدار کربن آلی به روش اکسیداسیون تر و تیتراسیون با فروآمونیم فسفات (Nelson, 1982)، مقدار کربنات کلسیم معادل (CCE) به روش Allison و

Moodie (1965) و کربنات کلسیم فعال (ACCE) به روش اگزالات آمونیم (Drouinean, 1942)، اندازه‌گیری شد. مقدار ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC) با جایگزینی کاتیون‌ها با استات سدیم (NaOAc) در pH معادل ۸/۵ (Chapman, 1965) اندازه‌گیری شد. اسیدیته گل اشباع و هدایت الکتریکی (کل املاح محلول) در عصاره اشباع نیز تعیین شدند.

در این پژوهش، جذب باکتری اشريشیاکلی به عنوان شاخص آلودگی میکروبی آب مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از سویه استاندارد ATCC25922 این باکتری استفاده شد. باکتری اشريشیاکلی از خانواده انتروباکتریاسه، غیرهوازی و گرم منفی است. این باکتری تقریباً $2 \mu m$ طول و $0.7 \mu m$ قطر دارد. باکتری اشريشیاکلی به دلیل بار سطح منفی و ضریب غیرفعال شدن کم قادر است مسیری طولانی را در خاک طی نماید. هم‌چنین تشخیص آن در آب نسبتاً ساده و سریع است. بنابراین، از آن به عنوان شاخص آلودگی میکروبی آب استفاده می‌شود. نتایج آزمایشگاهی که توسط Gebra و همکاران (1975) گزارش شده نشان می‌دهد که باکتری اشريشیاکلی قادر است بیش از ۴/۵ ماه در آب زیرزمینی در شرایط تاریکی زنده باشد.

روش تهیه محلول سوسپانسیون باکتری: یک

کلونی از سویه استاندارد ATCC25922 باکتری اشريشیاکلی در محیط مغذی^۸ به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رشد داده شد. سپس باکتری با استفاده از سانتریفیوژ در دور $8000 G$ به مدت ۵ دقیقه از محیط مغذی جدا شد. پس از آن باکتری جدا شده دو مرتبه با محلول کلرید سدیم ۰/۱۵ مولار شستشو داده شد. محلول سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^9 به دست آمد. این محلول در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و در آزمایش‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت. شایان

ذکر است که در این پژوهش تمامی آزمایش‌ها در دمای کنترل شده ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شدند. هم‌چنین از محلول کلرید سدیم ۰/۱۵ مولار برای رقیق‌سازی استفاده شد. محلول‌های سوسپانسیون با غلظت 10^4 ، 10^5 ، 10^6 ، 10^7 و 10^8 باکتری در میلی‌لیتر (CFU/mL) تهیه شدند.

آزمایش پیمانهای جذب تعادلی باکتری به خاک: ۲ گرم خاک هواخشک و ۲۰ میلی‌لیتر محلول سوسپانسیون باکتری با غلظت مشخص (نسبت ۱:۱۰) به لوله سانتریفیوژ ۵۰ میلی‌لیتری اضافه شد. نمونه به مدت ۹۰ دقیقه در دور ۱۸۰ شیکر شد. سپس برای جداسازی باکتری موجود در فاز مایع از فاز جامد، لوله‌ها در دور ۸۰۰G به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. برای هر نمونه خاک، آزمایش جذب تعادلی با سه تکرار انجام شد. هم‌چنین برای هر نمونه خاک یک آزمایش کنترل در نظر گرفته شد.

در این پژوهش، به منظور بررسی نقش کربنات کلسیم در جذب باکتری، سه نمونه خاک با بافت لوم شنی که ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی تقریباً یکسانی داشتند، انتخاب شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه سطح 10% ، 21% و 37% کربنات کلسیم و در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر پایه آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

آزمایش پیمانهای سینتیک جذب باکتری به خاک: در این آزمایش ۲ گرم خاک و ۲۰ میلی‌لیتر محلول سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^8 باکتری در میلی‌لیتر، به ۱۸ لوله سانتریفیوژ ۵۰ میلی‌لیتری اضافه شد. نمونه‌ها در شیکر قرار داده شدند و در فواصل زمانی صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه ۳ نمونه برداشت شد. برای جداسازی باکتری موجود در فاز مایع از فاز جامد، لوله‌ها در دور ۸۰۰G به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس غلظت باکتری در فاز محلول شمارش شد. برای هر

نمونه خاک، آزمایش سینتیک جذب با سه تکرار انجام شد. هم‌چنین برای هر نمونه خاک یک آزمایش کنترل در نظر گرفته شد.

شمارش باکتری: برای تعیین غلظت باکتری در محلول از روش شمارش زنده استفاده شد. در این روش در ابتدا محلول سوسپانسیون باکتری به میزان لازم رقیق شده و با استفاده از پیپت سترون ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده بر روی محیط کشت ائوزین متیلین بلو (EMB) کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محیط رشد (انکوباتور) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. باکتری *E. coli* در محیط کشت EMB به صورت کلنی بنفش با جلای فلزی مشاهده می‌شود. پس از رشد باکتری، برای شمارش کلنی‌های باکتری از دستگاه دیجیتال شمارنده کلنی استفاده شد. تعداد باکتری جذب شده به خاک از تفریق تعداد کل سلول باکتری اولیه اضافه شده به خاک از باکتری شمارش شده در فاز مایع پس از سانتریفیوژ محاسبه شد. غلظت باکتری در فاز مایع و جامد به ترتیب با واحد کلنی در میلی‌لیتر (CFU/mL) و کلنی در گرم خاک (CFU/g) بیان شد.

پردازش داده‌ها: غیرنرمال بودن توزیع متغیرها، آزمون‌های فرض را غیرمعتبر می‌سازد. زیرا، این آزمون‌ها بر مبنای نرمال بودن توزیع داده‌ها استوار هستند (Ryan *et al.*, 1994). از این رو، چگونگی توزیع ویژگی‌های اندازه‌گیری شده و پارامترهای هر مدل با استفاده از آزمون نرمال بودن ارزیابی گردید. از برنامه کامپیوتری SPSS برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

تخمین پارامترهای جذب و واجذب: پارامترهای معادله‌های ایزوترم جذب تعادلی به روش حداقل مجموع مربعات خطا تعیین گردید. هم‌چنین از برآزش غیرخطی به روش تکرار لونی‌رگ-مارگورت پارامترهای نرخ جذب و واجذب معادله (۱۰) بدست

آمدند. بدین منظور از نسخه ۵ برنامه کامپیوتری Mathematica استفاده شد.

ارزیابی مدل‌های جذب: برای تعیین میزان

صحت هر یک از مدل‌های جذب خطی، لانگمویر و فرندلیخ از آماره‌های میانگین هندسی نسبی خطا (*GSDER*) و انحراف معیار هندسی نسبی خطا (*GSDER*) استفاده شد:

$$GMER = \exp\left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \ln(\varepsilon_i)\right) \quad (11)$$

$$\varepsilon_i = \frac{C_{pi}}{C_{mi}} \quad (12)$$

$$GSDER = \exp\left[\left(\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n [\ln(\varepsilon_i) - \ln(GMER)]^2\right)^{1/2}\right] \quad (13)$$

که در آن C_{mi} و C_{pi} به ترتیب غلظت برآورد شده و اندازه گیری شده باکتری می‌باشند. مقادیر *GMER* و *GSDER* برابر یک به معنی انطباق کامل بین مقدار اندازه گیری شده و برآورد شده است. مقدار *GMER* بزرگ‌تر از یک و کوچک‌تر از یک به ترتیب به معنی

تخمین بیشتر و کم‌تر از مقدار اندازه گیری شده است (Homaei and Farrokhan Firouzi, 2008).

نتایج

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه در جدول (۱) ارائه شده است. نتایج نشان داد که تغییرات مقدار کربنات کلسیم فعال خاک‌ها از ۱۰ تا ۳۵ درصد بوده است. از طرفی مقدار کربن آلی خاک‌های مورد مطالعه بسیار کم بوده است.

در این پژوهش سه مدل ایزوترم جذب خطی، فرندلیخ و لانگمویر برای برآورد میزان جذب باکتری گرم منفی اشیشیاکلی در خاک‌های آهکی استفاده شد. مقدار میانگین و انحراف معیار جذب باکتری در نمونه خاک‌های آهکی و نمونه کنترل (بدون خاک) در جدول (۲) آورده شده است. از نمونه کنترل برای محاسبه مقدار مرگ و میر و غیرفعال شدن باکتری در نتیجه شرایط آزمایش استفاده شد. پارامترهای مدل‌های جذب به روش حداقل مربعات خطا به دست آمد. مقدار پارامترهای مدل‌های جذب که به روش حداقل مربعات خطا برآورد

جدول ۱- میانگین، حداقل و حداکثر ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی اندازه گیری شده نمونه‌های خاک

ویژگی خاک	حداقل	حداکثر	میانگین
شن (%)	۶۲	۷۵	۶۹/۰۳
سیلت (%)	۱۲	۲۰	۱۵/۹
رس (%)	۱۳	۱۹	۱۵
کربن آلی (%)	۰/۰۸	۰/۳۵	۰/۲۲
کربنات کلسیم معادل (%)	۱۳	۳۹/۸	۲۴/۱۷
کربنات کلسیم فعال (%)	۱۰/۲۳	۳۵	۱۸/۷۲
اسیدیته (گل اشباع)	۷/۶	۸/۴	۷/۸۸
هدایت الکتریکی (dSm^{-1})	۰/۶۲	۲/۱۹	۱/۴۱
ظرفیت تبادل کاتیونی ($cmol\ kg^{-1}$)	۱۰	۱۵/۹	۱۳/۷۲

شده‌اند در جدول (۳) ارائه شده‌اند. نتایج این ارزیابی در جدول (۴) آمده است. نتایج نشان داد که مدل جذب خطی در مقایسه با دو مدل دیگر برآوردی بهتر از جذب باکتری در خاک آهکی داشته است (جدول ۴). مدلی بهترین برآورد را دارد که مقادیر محاسبه شده دو آماره *GMRE* و *GSDRE* آن برابر با یک باشد. مقدار *GMRE* >1 نشان دهنده برآورد بیشتر و مقدار <1 بیان کننده تخمین کم‌تر از مقدار اندازه‌گیری شده است. بر اساس نتایج، مدل جذب خطی در تمام غلظت‌ها برآورد بهتری از جذب باکتری داشته است. مقدار تغییرات دو باکتری در این خاک دارد.

آماره *GMRE* و *GSDRE* برای مدل خطی به ترتیب $0/68$ تا $1/08$ و $1/01$ تا $3/02$ بوده است. در حالی که ایزوترم جذب فروندلیخ در غلظت‌های زیاد باکتری، برآوردی بهتر از جذب باکتری داشته است. مدل جذب لانگمویر کم‌ترین دقت را در برآورد جذب باکتری در تمامی دامنه غلظت‌ها نشان می‌دهد. ایزوترم جذب باکتری اندازه‌گیری شده و برآورد شده برای خاک آهکی با 21 درصد کربنات کلسیم در شکل (۱) آمده است. همان گونه که ملاحظه می‌شود، ایزوترم جذب خطی برآورد بهتری نسبت به دو مدل دیگر در جذب باکتری در این خاک دارد.

جدول ۲- میانگین (\pm انحراف معیار) جذب باکتری در خاک‌های آهکی مورد مطالعه

غلظت اولیه باکتری (CFU/mL)	غلظت باکتری در نمونه کنترل (CFU/mL)	میانگین جذب باکتری (CFU/g)
$3/4 \times 10^4$	$3/2 \times 10^4$	$2/7 \times 10^4$ ($\pm 3/5 \times 10^2$)
$4/5 \times 10^5$	$4/3 \times 10^5$	$3/65 \times 10^5$ ($\pm 3/6 \times 10^2$)
$3/3 \times 10^6$	$3/2 \times 10^6$	$2/7 \times 10^6$ ($\pm 3 \times 10^4$)
4×10^7	$3/9 \times 10^7$	$3/6 \times 10^7$ ($\pm 3 \times 10^4$)
5×10^8	$4/8 \times 10^8$	4×10^8 ($\pm 3/9 \times 10^6$)

جدول ۳- میانگین پارامترهای مدل‌های جذب خطی، فروندلیخ در خاک‌های آهکی مورد مطالعه

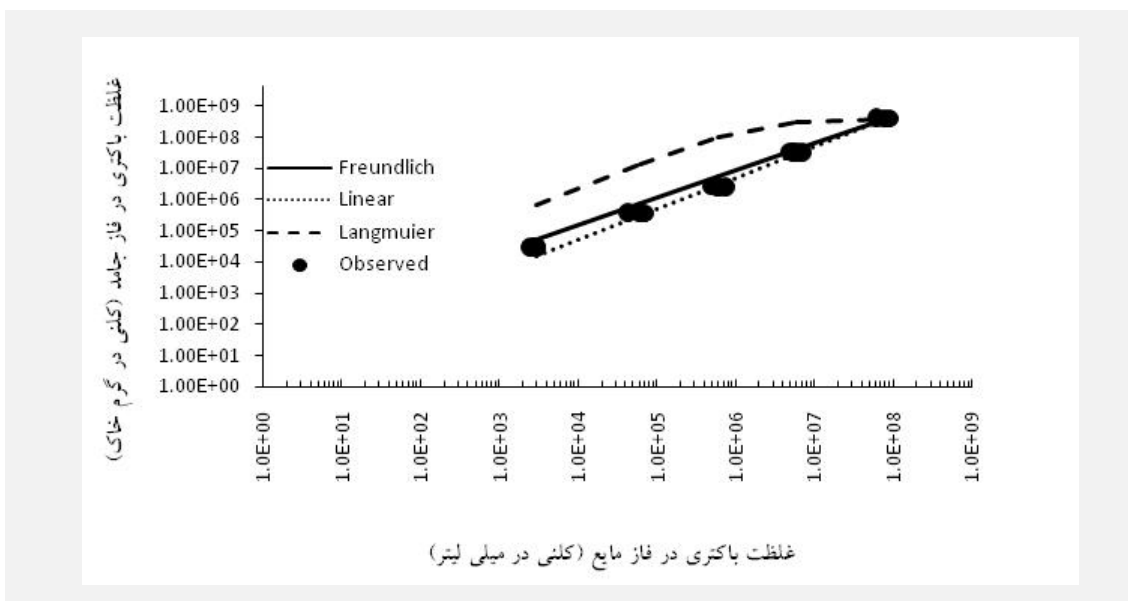
مدل	پارامتر	میانگین
خطی	K_d	5/48
	k_f	2998/5
فروندلیخ	n_f	1/53
	S_{max}	1×10^{11}
لانگمویر	K	$4/33 \times 10^{-7}$

خاک‌ها در جدول (۵) آمده است. هم‌چنین توزیع اندازه ذرات این خاک‌ها در شکل (۲) نشان داده شده است. میانگین مقدار جذب باکتری در سه خاک مورد نظر در جدول (۶) آمده است.

آزمایش جذب تعادلی: به منظور بررسی نقش کرنات کلسیم در جذب باکتری، سه نمونه خاک با بافت لوم شنی که ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی تقریباً یکسانی داشتند، انتخاب شدند. خصوصیات شیمیایی این

جدول ۴- مقایسه سه ایزوترم خطی، فروندلیخ و لانگمویر در برآورد مقدار جذب باکتری در غلظت‌های مختلف سوسپانسیون باکتری

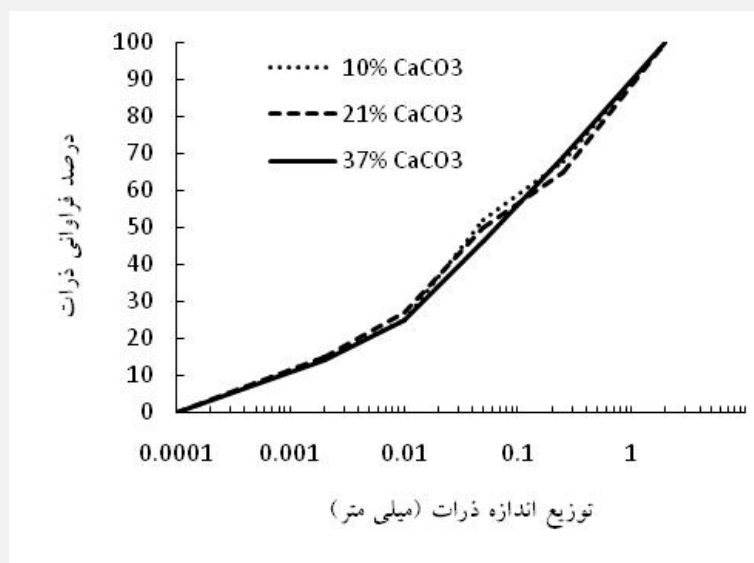
GSDRE			GMRE			غلظت سوسپانسیون باکتری (CFU/mL)
لانگمویر	فروندلیخ	خطی	لانگمویر	فروندلیخ	خطی	
۱۱/۷۰	۲/۰۸	۳/۰۲	۲۴۱/۲۳	۱۲/۰۵	۰/۹۸	$۳/۲ \times 10^4$
۱۱/۱۹	۱/۷۶	۱/۵۷	۲۱۸/۳۱	۸/۰۵	۰/۹۹	$۴/۳ \times 10^5$
۱۱/۱۵	۱/۶۳	۱/۴۳	۱۹۱/۶۹	۴/۸۴	۱/۰۸	$۳/۲ \times 10^6$
۸/۸۹	۱/۴۶	۱/۵۱	۵۳/۳۴	۱/۳۲	۰/۶۸	$۳/۹ \times 10^7$
۱۵/۴۹	۱/۰۳	۱/۰۱	۱۹/۰۱	۰/۹۸	۰/۹۸	$۴/۸ \times 10^8$



شکل ۱- ایزوترم جذب باکتری اندازه‌گیری شده و برآورد شده برای خاک آهکی با ۲۱ درصد کرنات کلسیم فعال

جدول ۵- میانگین، حداقل و حداکثر ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی اندازه‌گیری شده نمونه‌های خاک

ویژگی خاک	خاک (۱)	خاک (۲)	خاک (۳)
کربن آلی (%)	۰/۱۸	۰/۲۵	۰/۲۱
کرنات کلسیم معادل (%)	۱۳	۳۰	۳۹
کرنات کلسیم فعال (%)	۱۰	۲۱	۳۷
اسیدیته (گل اشباع)	۷/۶	۷/۹	۷/۸۸
هدایت الکتریکی (dSm^{-1})	۰/۸۲	۱/۴	۲/۱



شکل ۲- منحنی توزیع اندازه ذرات سه نمونه خاک مورد مطالعه در طرح کاملاً تصادفی

جدول ۶- میانگین جذب باکتری در سه خاک با ۱۰، ۲۱ و ۳۷ درصد کربنات کلسیم فعال

غلظت اولیه باکتری (CFU/mL)	غلظت باکتری در نمونه کنترل (CFU/mL)	۱۰٪ کربنات کلسیم (CFU/g)	۲۱٪ کربنات کلسیم (CFU/g)	۳۷٪ کربنات کلسیم (CFU/g)
$3/4 \times 10^4$	$3/2 \times 10^4$	$2/83 \times 10^4$	$2/9 \times 10^4$	$3/02 \times 10^4$
$4/5 \times 10^5$	$4/3 \times 10^5$	$3/6 \times 10^5$	$3/7 \times 10^5$	$4/05 \times 10^5$
$3/3 \times 10^6$	$3/2 \times 10^6$	$2/53 \times 10^6$	$2/6 \times 10^6$	$2/91 \times 10^6$
4×10^7	$3/9 \times 10^7$	$3/26 \times 10^7$	$3/3 \times 10^7$	$3/58 \times 10^7$
5×10^8	$4/8 \times 10^8$	$3/86 \times 10^8$	4×10^8	$4/4 \times 10^8$

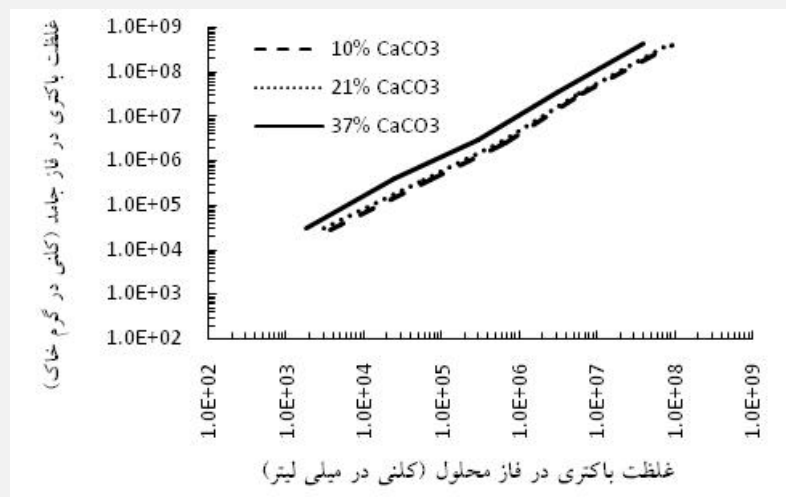
نتایج این آزمایش نشان داد با افزایش مقدار کربنات کلسیم فعال، مقدار جذب باکتری افزایش می‌یابد. اما تفاوت مقدار جذب باکتری بین سطوح ۱۰٪ و ۲۱٪ در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود، در حالی که بین سطوح ۲۱٪ و ۳۷٪ در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. دلیل این افزایش جذب باکتری با افزایش مقدار کربنات کلسیم خاک را می‌توان در بار موافق این کانی برای جذب باکتری جستجو کرد. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که مقدار pH_{PZC} کانی کربنات کلسیم بین ۹/۵ تا ۱۰/۸ متغیر است.

مثبت است. زیرا این کانی pH_{PZC} بیشتر از pH محلول خاک دارد. بنابراین با افزایش مقدار کربنات کلسیم با بار سطحی مثبت، شرایط بهتری برای جذب بیشتر باکتری *E. coli* که دارای بار سطحی منفی است، فراهم شده است.

در شکل (۳) میانگین ایزوترم جذب باکتری اندازه‌گیری شده برای سه خاک با ۱۰، ۲۱ و ۳۷ درصد کربنات کلسیم فعال آمده است. همان طوری که مشاهده می‌شود تفاوت بین جذب باکتری در سطوح ۲۱ و ۳۷ درصد کربنات کلسیم قابل توجه است.

آزمایش سینتیک جذب: این آزمایش برای بررسی نقش کربنات کلسیم در سینتیک جذب و واجذب باکتری به خاک انجام شد. بدین منظور سه نمونه خاک با بافت لوم شنی که ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی جدول (۵) آمده است، انتخاب گردید. در ابتدا پارامترهای معادله (۱۰)، شامل k_{att} و k_{det} با برآزش غیرخطی به روش تکرار لونیگ-مارگورت بر داده‌های اندازه‌گیری شده بدست آمدند. سپس پارامترهای نرخ سینتیک جذب (k_{att}) و واجذب (k_{det}) باکتری در سه سطح ۱۰، ۲۱ و ۳۷ درصد کربنات کلسیم فعال مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج مقایسه میانگین مقادیر

پارامترهای جذب (k_{att}) و واجذب باکتری (k_{det}) در سه خاک مورد نظر در جدول (۷) ارائه شده است. نتایج نشان داد که نرخ سینتیک جذب باکتری (k_{att}) با افزایش مقدار کربنات کلسیم فعال خاک، افزایش می‌یابد و این افزایش در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. هم‌چنین نتایج نشان داد که با افزایش مقدار کربنات کلسیم فعال، نرخ واجذب (k_{det}) باکتری از خاک کاهش می‌یابد و این مقدار کاهش واجذب باکتری بین تیمارهای ۱۰ و ۲۱ درصد کربنات کلسیم فعال در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود، در حالی که تیمارهای ۲۱ و ۳۷ درصد تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان دادند. شکل (۴) منحنی‌های سینتیک جذب اندازه‌گیری شده و برآورد شده برای خاک‌های با سه سطح مختلف کربنات کلسیم را نشان می‌دهد. این منحنی‌ها نشان می‌دهند که جذب باکتری تقریباً پس از ۹۰ دقیقه به تعادل رسیده است.

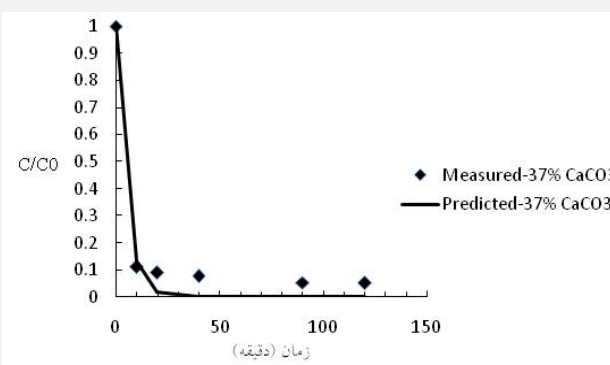
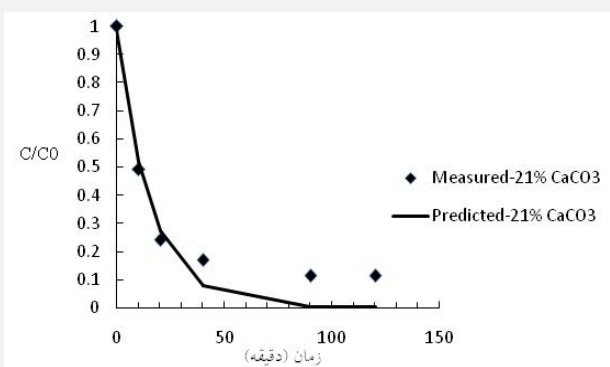
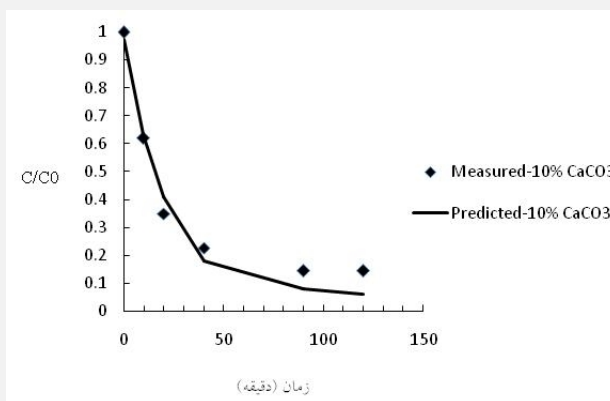


شکل ۳- میانگین ایزوترم جذب باکتری برای سه خاک با ۱۰، ۲۱ و ۳۷ درصد کربنات کلسیم

جدول ۷- مقایسه میانگین پارامترهای سینتیک جذب و واجذب باکتری

k_{det}	k_{att}	مقدار کربنات کلسیم فعال خاک (%)
۰/۰۰۱۲۶ ^a	۰/۰۴۰۹ ^a	۱۰
۰/۰۰۱۰۲ ^a	۰/۰۶۲۹۳ ^b	۲۱
۰/۰۰۰۲۷ ^b	۰/۲۰۳۳ ^c	۳۷

در هر ستون اختلاف میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند.



شکل ۴- منحنی‌های جذب سینتیک اندازه‌گیری شده و برآورد شده برای سه خاک با ۱۰، ۲۱ و ۳۷ درصد کربنات کلسیم

بحث

شناسایی فاکتورهای موثر بر جذب و انتقال باکتری در خاک برای تعیین خطر آلودگی منابع آب سطحی و زیرزمینی و توسعه برنامه‌های حفاظتی، بسیار اهمیت دارد. کربنات کلسیم خاک از جمله فاکتورهای موثر بر جذب و انتقال باکتری می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش مقدار کربنات کلسیم خاک مقدار جذب باکتری گرم منفی *E. coli* افزایش می‌یابد. هم‌چنین بیش از 10^8 سلول باکتری به هر گرم خاک آهکی با بافت لوم شنی جذب شد. افزایش پالایش باکتری با افزایش مقدار کربنات کلسیم خاک می‌تواند به دلایل زیر باشد:

۱- در شرایط طبیعی مقدار pH_{PZC} کربنات کلسیم خاک بالاست. این مقدار از ۹/۵ تا ۱۰/۸ متغیر است. از طرفی، مقدار pH خاک‌های آهکی مورد مطالعه از ۷/۶ تا ۸/۴ می‌باشد. لذا در این شرایط بار سطحی کانی کربنات کلسیم در خاک مثبت و موافق برای جذب باکتری گرم منفی است.

۲- ذرات خاک و باکتری *E. coli* هر دو دارای بار سطحی منفی اند. از طرفی یون محلول کلسیم سبب خنثی شدن بار منفی سطح باکتری و هم‌چنین افزایش قدرت یونی محلول خاک می‌شود. با افزایش قدرت یونی محلول خاک، لایه دوگانه الکتريکی اطراف باکتری و هم‌چنین سطح کانی خاک کاهش می‌یابد. بنابراین باکتری به اندازه‌ای به سطح ذرات خاک نزدیک می‌شود که نیروهای واندروالس بر نیروهای الکترواستاتیکی دفع‌کننده فائق آمده و باکتری جذب ذرات خاک می‌شود.

۳- کربنات کلسیم موجود در خاک تاثیر زیادی بر ویژگی‌های فیزیکی خاک مانند توزیع اندازه ذرات و منافذ خاک دارد که جذب و انتقال باکتری را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

بنابراین با توجه به نتایج این پژوهش کانی کربنات کلسیم با انرژی جذب متفاوت در مقایسه با سایر کانی‌های خاک، می‌تواند نقش موثری بر جذب باکتری و کاهش آلودگی میکروبی منابع آب داشته باشد.

پی‌نوشت‌ها

- 1-Attachment
- 2-Hydrophobic heterogeneity
- 3-The pH of zero net surface charge (pH_{PZC})
- 4-Batch experiment
- 5-Freundlich isotherm
- 6-Langmuir isotherm
- 7-Clay Loam
- 8-Nutrient broth

منابع

- Abu-Lail N.I. and T.A. Camesano (2003). Role of lipopolysaccharides in the adhesion, retention, and transport of *Escherichia coli* JM109. *Environment Science Technology*, 37: 2173-2183.
- Allison, F.E. and C.D. Moodie (1965). Carbonates. In: Black, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis: Part 2*. pp. 1379-1396. Madison, American Society of Agronomy.
- Bales, R.C., S.R. Hinkle, T.W. Kroeger and K. Stocking (1991). Bacteriophage adsorption during transport through porous media: chemical perturbations and reversibility. *Environment Science Technology*, 25: 2088-2095.
- Chapman, H.D. (1965). Cation exchange capacity. In: Black, C.A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis: Part 2*. pp. 891-900. Madison, American Society of Agronomy.

- survival of the adsorbed virus. *Environment Technology*, 15: 271–278.
- Gargiulo, G., S. Bradford, J. Simunek, P. Ustohal, H. Vereecken and E. Klumpp (2007). Bacteria transport and deposition under unsaturated conditions: The role of the matrix grain size and the role of the matrix grain size and the bacteria surface protein. *Journal of Contaminant Hydrology*, 92: 255-273.
- Gerba, C.P. (1984). Applied and theoretical aspects of virus adsorption to surfaces. *Advance Applied Microbiology*, 30: 133–168.
- Gerba, C.P. (1985). Microbial contamination of the subsurface. In: Ward, C.H., Giger, W., McCarty, P.L. (Eds.), *Groundwater Quality*. New York: Wiley.
- Gerba, C.P. and G.E. Schaiberger (1975). Effect of particulates on virus survival in seawater. *Journal of Water Pollutant Control Fed.*, 47: 93–103.
- Graun, G.F. (1991). Causes of waterborne outbreaks in the United States. *Water Science Technology*, 24: 17–20.
- Guber, A.K., D.R. Shelton and Ya. A. Pachepsky (2005). Effect of Manure on *Escherichia coli* Attachment to Soil. *Journal of Environment Quality*, 34: 2086–2090.
- Guber A.K., Y.A. Pachepsky, D.R. Shelton and O. Yu (2007). Effect of bovine manure on
- Chen, G. and K. Strevett (2001). Impact of surface thermodynamics on bacterial transport. *Environment Microbiology*, 3: 237-245.
- Drouinean, G. (1942). Dosage rapide du calcaire actif du sol: nouvelles donnees sur la separation et la nature des fractions calcaires. *Ann. Agronomy*, 12: 441–450.
- FAO/UNDP (1972). Calcareous soils. Report of the regional seminar on reclamation and management of calcareous soils. 27 Nov.-2 Dec. Cairo, Egypt.
- Foppen, J.W.A. and J.F. Schijven (2005). Transport of *E.coli* in columns of geochemically heterogeneous sediment. *Water Resources*, 39: 3082–3088.
- 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 Resources Research*, 14: 217-222.
- Freundlich, H. (1926). *Colloid and capillary chemistry*. London: Methuen.
- Gannon, J., U. Mingelgrin, M. Alexander and R.J. Wagenet (1991). Bacterial transport through nonhomogenous soil. *Soil Biology Biochemical*, 23:1155–1160.
- Gantzer, C., F. Quignon and L. Schwartzbrod (1994). Poliovirus–1 adsorption onto and desorption from montmorillonite in seawater,

- Lindqvist, R. and G. Bengtsson (1991). Dispersal dynamics in ground water bacteria. *Microbial Ecology*, 21:49–71.
- Lindqvist, R. and C.G. Enfield (1992). Cell density and non-equilibrium sorption effects on bacterial dispersal in groundwater microcosms. *Microbial Ecology*, 24(1): 25-41.
- Ling, T.Y., E.C. Achberger, C.M. Drapcho and R.C. Bengston (2002). Quantifying adsorption of an indicator bacteria in a soil water system. *Trans. ASAE*, 45(3): 669-674.
- Macler, B.A. (1996). Developing the Ground Water Disinfection Rule. *Journal of American Water Works. Assoc*, 88: 47–55.
- McMurry, S.W., M.S. Coyne and E. Perfect (1998). Fecal coliform transport through intact soil blocks amended with poultry manure. *Journal of Environment Quality*, 27: 86–92.
- Nelson, R.E. (1982). Carbonate and gypsum. In: Page, A.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis*. pp. 181–199. Madison, American Society of Agronomy.
- Pachepsky, Y.A., O. Yu, J.S. Karns, D.R. Shelton, A.K. Guber and J.S. van Kessel (2008). Strain-dependent variations in attachment of *E.coli* to soil particles of different sizes. *Int. Agrophysics*, 22: 61-66.
- Powelson, D.K. and A.L. Mills (2001). Transport of *Escherichia coli* in sand columns with constant and changing water contents. *Journal of Environment Quality*, 30: 238-245.
- fecal coliform attachment to soil and soil particles of different sizes. *Applied Environment Microbiology*, 73: 3363-3370.
- Herwaldt, B.L., G.F. Craun, S.L. Stokes and D.D. Juranek (1992). Outbreaks of waterborne disease in the United States. 1989–90. *Water Works Assoc*, 84: 129–135.
- Homaei, M. and A. Farrokhan Firouzi (2008). Deriving point and parametric pedotransfer functions of gypsiferous soils. *Australian Journal of Soil Research*, 46: 219-227.
- Jackson, A., D. Roy and G. Breitenbeck (1994). Transport of a bacterial suspension through a soil matrix using water and an anionic surfactant. *Water Resources*, 28: 943–949.
- Jin, Y., M.V. Yates, S.S. Thompson and W.A. Jury (1997). Sorption of viruses during flow through saturated sand columns. *Environment Science Technology*, 31: 548–555.
- Keswick, B.H. and C.P. Gerba (1980). Viruses in groundwater. *Environment Science Technology*, 14: 1290–1297.
- Keswick, B.H., C.P. Gerba, S.L. Secor and I. Cech (1982). Survival of enteric viruses and indicator bacteria in groundwater. *Journal of Environment Science Health A*, 12: 903–912.
- Langmuir, D. (1918). The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica, and platinum. *Journal of American Chemistry Society*, 40: 1361–1403.

- Unc, A. and M.J. Goss (2004). Transport of bacteria from manure and protection of water resources. *Applied Soil Ecology*, 25: 1-18.
- USDA, NRCS (1999). Soil taxonomy: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. Washington, DC: Department of Agriculture Soil Conservation Service.
- Yan J., Y. Che and Y. Li (2000). Virus removal and transport in saturated and unsaturated sand columns. *Journal of Contaminant Hydrology*, 43: 111-128.
- Yates, M.V. and W.A. Jury (1996). On the use of virus transport modeling for determining regulatory compliance. *Journal of Environment Quality*, 24: 1051–1055.
- Yates, M.V, S.R. Yates, J. Wagner and C.P. Gerba (1987). Modelling virus survival and transport in the subsurface. *Journal of Contaminant Hydrology*, 1: 329–345.
- Zhuang J. and Y. Jin (2003). Virus retention and transport through Al-oxide coated sand columns: effects of ionic strength and composition. *Journal of Contaminant Hydrology*, 60: 193- 209.
- Ryan, B.F. and B.L. Joiner. (1994). *Minitab Handbook*. Belmont, Duxbury Press.
- Schaap M.G., F.J. Leij and M.T.H. van Genuchten (2001). Rosetta: a computer program for estimating soil hydraulic parameters with hierarchical pedotransfer functions. *Journal of Hydrology*, 256: 163-176.
- Schijven, J.F. and S.M. Hassanizadeh (2000). Removal of Viruses by Soil Passage: Overview of Modeling, Processes, and Parameters. *Critical Review of Environment Science Technology*, 30(1): 49–127.
- 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. *Environment Science Technology*, 26 (7): 1410–1417.
- 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 Journal*, 2: 34–39.
- Somasundaran, P. and G.E. Agar (1967). The zero point of charge of calcite. *Journal of Colloid Interface Science*, 24:433–440.
- Taylor, D.H., R.S. Moore and L.S. Sturman (1981). Influence of pH and electrolyte composition on adsorption of poliovirus by soils and minerals. *Applied Environment Microbiology*, 42: 976-84.

