



کاربرد بایوچار حاصل از لجن فاضلاب بر جزءبندی مس و روی در حضور کرم خاکی در خاک آلوده آهنکی

فاطره کریمی^۱، *قاسم رحیمی^۲ و ابوالفضل خادمی جلگه‌نژاد^۳

^۱دانش آموخته دکتری گروه علوم خاک، دانشگاه بوعلی سینا، دانشجویار گروه علوم خاک، دانشگاه بوعلی سینا،

^۲دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۰۶

چکیده

سابقه و هدف: فعالیت‌های انسانی از جمله استفاده از لجن فاضلاب به‌عنوان کود باعث تجمع بیش از حد فلزات سنگین در خاک می‌شود. تبدیل لجن فاضلاب به بایوچار یک روش بالقوه برای دفع آن و یک تکنولوژی مقرون به صرفه برای اصلاح خاک‌های آلوده به دلیل کاهش دسترسی زیستی فلزات سنگین شناخته شده است. همچنین بهره‌گیری از روش‌های زیستی مانند استفاده از موجودات خاک‌زی از جمله کرم‌های خاکی، روشی نو و امیدبخش برای بهسازی خاک‌های آلوده می‌باشد. مطالعات مختلفی در مورد اثر بایوچار و کرم خاکی بر جزءبندی فلزات سنگین انجام شده است ولی تاکنون در مورد کاربرد توأم بایوچار و کرم خاکی بر جزءبندی مس و روی گزارشی ارائه نشده است. بنابراین پژوهش حاضر با بررسی تأثیر تغییر دمای گرماکافت و میزان کاربرد بایوچار بر جزءبندی فلز مس و روی و جذب این فلزات توسط کرم خاکی در یک خاک آهنکی آلوده طبیعی از زمین‌های اطراف معدن سرب و روی آهنگران انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط آزمایشگاه گروه علوم خاک دانشگاه بوعلی سینا هم‌زمان انجام شد. تیمار کرم خاکی گونه ایزینیا فتیدا (*Eisenia fetida*) در دو سطح (با و بدون کرم خاکی) و بایوچار تولید شده از لجن فاضلاب در دو دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس در سطح (۰ و دو، چهار و هشت درصد وزنی) به خاک آهنکی آلوده اضافه گردید. در ظرف‌های مربوط به تیمار کرم خاکی ۱۲ عدد کرم خاکی به هر ظرف وارد شد و ظرف‌ها در یک محفظه اقلیمی با ۱۶ ساعت نور و هشت ساعت تاریکی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۲ روز نگهداری شدند. اندازه‌گیری اجزاء فلزات مس و روی خاک از روش عصاره‌گیری پی‌درپی استفاده شد.

یافته‌ها: مطابق با نتایج تجزیه واریانس، فعالیت کرم خاکی در خاک تیمار شده با بایوچار تولید شده در دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس تأثیر معنی‌داری بر میزان فلز مس و روی در بخش تبادل‌ناشد. در حالی‌که در خاک تیمار شده با

* مسئول مکاتبه: ghasemr@gmail.com

بایوپچار تولید شده در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس موجب کاهش میزان مس و روی بخش تبدالی و افزایش میزان مس و روی در بخش باقی مانده گردید. افزایش میزان کاربرد بایوپچار موجب کاهش معنی دار میزان مس و روی در بخش تبدالی گردید؛ به طوری که این کاهش در بایوپچار تولید شده در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس بیش تر مشهود بود. بنابراین فعالیت کرم خاکی در سطح هشت درصد بایوپچار تولید شده در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس موجب کاهش میزان مس بخش تبدالی از ۰/۳۳۱ به ۰/۲۵۶ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به تیمار عدم حضور کرم خاکی گردید. میزان روی تبدالی از ۱/۲۴ میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد به ۰/۵۷۹ و ۰/۲۸۳ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب در تیمار هشت درصد بایوپچار تولید شده در دماهای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس کاهش یافت. به دلیل تحرک کم فلزات در خاک های تیمار شده با بایوپچار، غلظت فلزات مس و روی در بدن کرم خاکی کاهش یافته و این روند در بایوپچار تولید شده در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس نسبت به بایوپچار تولید شده در دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس به دلیل توانایی بالای جذب و کاهش غلظت این فلزات در بخش تبدالی بیش تر بود.

نتیجه گیری: فعالیت کرم های خاکی در خاک های تیمار شده با بایوپچار می تواند موجب تغییر جزء بندی فلزات سنگین و در نتیجه تغییر شکل آن ها از بخش هایی با قابلیت دسترسی و تحرک بیش تر به بخش هایی با پایداری بیش تر و کم تحرک تر گردد.

واژه های کلیدی: دما، فلزات سنگین، کرم خاکی، گرماکافت، لجن فاضلاب

مقدمه

امروزه آلودگی خاک خطرات رو به رشدی برای سلامتی انسان ها و محیط زیست به دنبال دارد و این آلودگی به سبب حضور ترکیبات شیمیایی حاصل از فعالیت های بشر منجر به تغییرات نامتعادل در محیط طبیعی خاک می شود. فعالیت های انسانی مانند معدن کاری، ذوب کاری، آبیاری با فاضلاب، جمع آوری نامناسب ضایعات جامد صنعتی، آفت کش ها و همچنین استفاده از لجن فاضلاب به عنوان کود باعث تجمع بیش از حد فلزات سنگین در خاک می شود (۸). بنابراین فلزات سنگین به دلیل ماهیت سمی و غیر قابل تجزیه بودنشان، می توانند خطرات جبران ناپذیری بر سلامت انسان، کیفیت خاک و سیستم های زیست محیطی به دنبال داشته باشند (۸، ۱۹ و ۲۷). دفع و استفاده از لجن فاضلاب مانند ذخیره سازی یا سوزاندن لجن و

همچنین استفاده مستقیم از آن در کشاورزی به عنوان یک معضل جدی شناخته شده است. بنابراین توسعه یک روش زیست محیطی و اقتصادی مناسب برای استفاده از لجن فاضلاب یک راهکار مهم اجتماعی به نظر می رسد (۸).

تبدیل لجن فاضلاب به بایوپچار یک روش بالقوه برای دفع آن و یک تکنولوژی جایگزین مقرون به صرفه و مؤثر برای حذف پاتوژن ها، آلاینده ها و ترکیبات خطرناک موجود در لجن شناخته شده است (۶ و ۱۷). بایوپچار یک محصول جانبی غنی از کربن است که بر اثر فرآیند گرماکافت زیست توده تحت شرایط بدون اکسیژن یا با مقادیر خیلی جزئی اکسیژن تولید می شود. خواص منحصر به فرد بایوپچار شامل سطح ویژه، تخلخل، دارا بودن انواع مختلف گروه های عاملی و پتانسیل جذب آلاینده های آلی و فلزات

خاکی می‌توانند در محیط‌های آلوده، فلزات سنگین را در بافت‌های بدنشان جمع‌آوری کنند (۲۳ و ۲۹). برای محیط‌های خاکی، کرم‌های خاکی یکی از موجودات زنده‌ای هستند که برای آزمون استاندارد سمیت خاک استفاده می‌شوند و برای ارزیابی فراهم زیستی فلزات مناسب هستند (۲۲ و ۳۳)

غلظت کل فلزات سنگین خاک که به‌عنوان معیاری برای تعیین آلودگی خاک استفاده می‌شود، اطلاعات دقیقی در مورد قابلیت دسترسی این عناصر برای جذب توسط موجودات زنده و پیش‌بینی انتقال این آلاینده‌ها به زنجیره غذایی در اختیار ما قرار نمی‌دهد، بنابراین ضروری است که شکل‌های شیمیایی فلزات سنگین در خاک به‌منظور درک بهتر سرنوشت این فلزات در این سیستم مشخص شود. جزبندی فلزات سنگین در میان اجزای خاک یکی از عوامل مهم تأثیرگذار و نشان‌دهنده تحرک و جذب فلزات توسط موجودات زنده خاک می‌باشد. بنابراین روش جزبندی پی در پی^۱، یک رویکرد قابل توجه به‌منظور تعیین قابلیت دسترسی و سمیت فلزات سنگین و ارزیابی توزیع مجدد فلزات به شکل‌های شیمیایی مختلف موجود در خاک می‌باشد (۲۹).

کاربرد بایوچار ممکن است موجب تغییر در خواص فیزیکی، شیمیایی و در نتیجه جزبندی فلزات سنگین خاک گردد و همچنین انتقال، تغییر شکل و سمیت بیولوژیکی فلزات را تحت تأثیر قرار دهد (۲۱). در مورد اثرات متقابل بایوچار بر تغییر شکل و تجمع آلاینده‌های آلی توسط کرم‌های خاکی در خاک (۱۶) و تأثیر بایوچار بر جمعیت کرم‌های خاکی (۳۸) گزارش‌هایی منتشر شده است. به‌طوری‌که گیو و همکاران (۱۶) به اهمیت کرم‌های خاکی در ارزیابی اثرات بایوچار بر بهبود خاک تاکید می‌کنند و نشان

سنگین موجب شده است تا نقش مهمی در کنترل آلاینده‌ها در محیط زیست داشته باشد (۸ و ۳۵). ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کلیدی بایوچار عمدتاً متأثر از نوع ماده آلی انتخاب شده برای تولید آن و شرایط فرایند گرمکافت است. در میان شرایط گرمکافت، دما و مدت زمان گرمادهی، مهم‌تر از بقیه عوامل تولید بایوچار هستند (۲۰، ۲۶ و ۴۱). دمای فرایند گرمکافت، تأثیر زیادی بر سطح ویژه، تخلخل و گروه‌های عاملی سطح بایوچار دارد. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که بایوچار تولید شده در دماهای بالا (به‌عنوان مثال، ۹۰۰ درجه سلسیوس) سطح ویژه بسیار بیشتری نسبت به بایوچار تولید شده در دماهای پایین (به‌عنوان مثال، ۴۰۰ درجه سلسیوس) داشته است (۸). بایوچار با افزایش میزان ماده آلی، CEC خاک و در نتیجه ایجاد کمپلکس با یون‌های فلزات سنگین می‌تواند منجر به کاهش قابلیت دسترسی فلزات سنگین خاک گردد (۱). از مهم‌ترین اهداف استفاده از تولید بایوچار تثبیت فلزات سنگین می‌باشد که هم باعث حاصلخیزی خاک و هم موجب اصلاح محیط زیست می‌گردد. اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین فقط به‌وسیله روش‌های استخراج یا تثبیت آلودگی امکان‌پذیر است. روش‌های استخراجی عموماً باعث تخریب خاک شده و بسیار پرهزینه است که کاربرد این روش‌ها را در مناطق وسیع آلوده محدود می‌کند (۴۰).

بهره‌گیری از روش‌های زیستی مانند استفاده از موجودات خاکی از جمله کرم‌های خاکی، روشی نو و امیدبخش برای بهسازی خاک‌های آلوده می‌باشد. این روش با کم‌ترین دست‌خوردگی خاک قابل اجراست و به‌دلیل طبیعی بودن و سازگاری با محیط زیست اثرات جانبی خاصی ندارد. لی و همکاران (۲۰۱۰) و نانونی و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کرد که کرم‌های

دو میلی‌متری برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آماده شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مانند بافت به روش هیدرومتری (۱۱)، pH و EC با نسبت ۱:۵ خاک به آب، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی‌سازی با اسید کلریدریک اندازه‌گیری شدند. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است.

لجن فاضلاب جهت تهیه بایوپچار از شهرک صنعتی بوعلی همدان جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در آزمایشگاه هوا خشک و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد و گرماکافت در کوره حرارتی در دو دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس انجام شد. برای حفظ فضای بدون اکسیژن گاز نیتروژن، با سرعت جریان ۱۰۰۰ میلی‌متر بر دقیقه از محفظه داخلی کوره عبور داده شد. برای اطمینان از عدم وجود اکسیژن قبل از روشن شدن دستگاه جریان گاز حامل برقرار گردید. به این منظور رآکتور تهیه بایوپچار طراحی و در داخل کوره الکتریکی قرار گرفت، رآکتور دارای یک ورودی گاز و یک خروجی برای فاز گاز و مایع تولیدی بود (شکل ۱). نرخ افزایش دمای گرماکافت ۲۵ درجه سلسیوس بر دقیقه بود. پس از رسیدن به دمای موردنظر، نمونه در کوره به مدت ۱۸۰ دقیقه (زمان ماند) نگه داشته شد. بعد از آن دستگاه خاموش و پس از تبادل حرارتی کوره با محیط و رسیدن دمای آن به زیر ۱۰۰ درجه سلسیوس، بایوپچار از کوره خارج شد و در نهایت بایوپچار تولید شده جهت انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

دادند که کاربرد بایوپچار به میزان کم‌تر از ۱ درصد موجب جذب آلاینده‌های آلی گردید ولی بر تجمع زیستی این آلاینده‌ها توسط کرم خاکی تأثیر معنی‌داری نداشته است. از طرفی اثرات منفی کوتاه مدت بایوپچار بر جمعیت کرم‌های خاکی می‌تواند با گذشت زمان کاهش یابد (۳۸). تاکنون پژوهش‌هایی در مورد کاربرد توأم بایوپچار و کرم خاکی بر جزبندی و توزیع مجدد فلزات سنگین به‌ویژه در خاک‌های آهکی کم‌تر انجام شده است. بنابراین بخش‌بندی فلزات مس و روی تحت تأثیر کاربرد بایوپچار و جذب این فلزات توسط کرم‌های خاکی به‌منظور ارزیابی امکان استفاده هم‌زمان بایوپچار و کرم خاکی برای تسهیل غیرمتحرک کردن این فلزات مورد بررسی قرار گرفتند. هدف از انجام این پژوهش بخش‌بندی فلزاتی مانند مس و روی تحت تأثیر مصرف توأم کرم خاکی و بایوپچار مشتق شده از گرماکافت لجن فاضلاب در دو دمای مختلف و جذب این فلزات توسط کرم خاکی در خاک آهکی آلوده معدن سرب آهنگران واقع در استان همدان شهرستان ملایر بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بر روی یک خاک آلوده طبیعی که از زمین‌های اطراف معدن سرب و روی آهنگران گردآوری شده بود، انجام شد. معدن سرمک آهنگران در ۲۶ کیلومتری شهرستان ملایر به سمت اراک در استان همدان، به ترتیب با طول و عرض جغرافیایی $44^{\circ} 59' 48''$ و $34^{\circ} 10' 20''$ واقع شده است. نمونه خاک مورد مطالعه از عمق ۰-۲۵ سانتی‌متری جمع‌آوری و بعد از هوا خشک شدن و عبور از الک



شکل ۱- دستگاه تهیه بایوچارها.

Figure 1. Biochars production instrument.

سلسیوس قرار داده شد. سپس با استفاده از رابطه ذیل محتوای خاکستر حاصل شد (۴).

$$\text{محتوی خاکستر (درصد)} = \frac{\text{وزن خاکستر (گرم)}}{\text{وزن خشک بایوچار (گرم)}}$$

این آزمایش در ظروف پلاستیکی به ابعاد (۱۷×۱۳×۱۸ سانتی‌متر) به صورت فاکتوریل و طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط محیطی آزمایشگاه گروه علوم خاک دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام شد. تیمار کرم خاکی گونه ایزینیا فتیدا در دو سطح (با و بدون کرم خاکی) و بایوچار تولید شده از لجن فاضلاب در دو دمای مختلف ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس (۱۸) در چهار سطح (صفر، دو، چهار و هشت درصد وزنی) به خاک آلوده اضافه گردید. ۵۰۰ گرم از خاک هوا خشک در هر ظرف قرار داده شد و تیمارهای بایوچار براساس سطوح تیماری اعمال گردید. سپس در ظرف‌های مربوط به تیمار کرم خاکی

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی لجن و بایوچار تولید شده در دو دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس در جدول ۲ آورده شده است. برای انجام آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی، ابتدا لجن فاضلاب و بایوچارها از الک دو میلی‌متری عبور داده شد (۱۲) سپس برخی ویژگی‌های آن مانند pH و EC از نسبت ۱:۵ بایوچار (لجن) به آب استفاده شد. آن‌گاه نمونه تکان داده شده و پس از ۲۴ ساعت، مقدار pH و قابلیت هدایت الکتریکی (EC) قرائت گردیدند (۲۹)، ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC)، به روش استات آمونیوم اصلاح شده یک مولار (pH=7) اندازه‌گیری گردید (۱۲). کربن، نیتروژن و هیدروژن به روش سوزاندن خشک با دستگاه CHNSO Analyzer اندازه‌گیری شدند. عصاره‌گیری از خاکستر با اسید کلریدریک ۲ مولار صورت گرفت. برای تعیین میزان خاکستر بایوچار، مقدار مشخصی از آن را وزن کرده و سپس به مدت ۳ ساعت تحت دمای ۵۵۰ درجه

فلزات یاد شده به بخش‌های محلول و تبادلی، آلی و کربناتی و باقی‌مانده جزبندی شدند. برای بررسی جزبندی فلزات مس و روی از روش عصاره‌گیری پی‌درپی اسپوزیتو و همکاران (۱۹۸۲) استفاده شد. غلظت فلزات مس و روی توسط دستگاه جذب اتمی مدل ۲۲۰ واریان (220 Varian Spectra AA) اندازه‌گیری شدند (۳۴). غلظت کل فلزات سنگین و قابل‌استخراج با عصاره‌گیری پی‌درپی در نمونه خاک، لجن فاضلاب و بایوچارها قبل از شروع آزمایش نیز در جدول ۳ آورده شده است. داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS و MSTATC تجزیه آماری گردید. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

۱۲ عدد کرم خاکی به هر ظرف وارد شد. ظرف‌های آزمایش با یک درپوش سوراخ‌دار به‌منظور محدود کردن تلفات آب ناشی از تبخیر پوشانده و در یک محفظه اقلیمی با ۱۶ ساعت نور و هشت ساعت تاریکی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. در طول اجرای آزمایش، کرم‌های خاکی مرده به‌منظور جلوگیری از اثر آن‌ها بر روی کرم‌های دیگر حذف شدند. پس از گذشت ۴۲ روز از شروع آزمایش، تمام کرم‌های باقی‌مانده برای آنالیز فلز مس و روی برداشت شدند. پس از حذف کرم‌های خاکی، هر نمونه خاک پس از هوا خشک شدن و گذراندن از الک دو میلی‌متری، به‌منظور تعیین جزبندی فلزات سنگین مورد بررسی قرار گرفتند. در این پژوهش،

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش.

Table 1. Some physical and chemical properties of soil used in the experiment.

ظرفیت تبادل کاتیونی CEC (Cmol (+) Kg ⁻¹)	کربنات کلسیم CaCO ₃ (%)	هدایت الکتریکی EC (dSm ⁻¹)	اسیدیته pH	رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	شن Sand (%)	بافت Texture	ویژگی Property
29.3	1.5	0.23	8.2	30.8	36	33.2	لوم رسی Clay loam	

جدول ۲- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی لجن فاضلاب و بایوچار تولیدشده از آن در دو دمای مختلف مورد استفاده در آزمایش.

Table 2. Some physical and chemical properties of sewage sludge and biochar produced at two different temperatures used in the experiment.

ظرفیت تبادل کاتیونی CEC (Cmol (+) Kg ⁻¹)	خاکستر Ash (%)	اسیدیته pH	کربن/ نیتروژن C/N	هیدروژن/ کربن H/C	اکسیژن O (%)	نیتروژن N (%)	هیدروژن H (%)	کربن C (%)	نمونه Sample
20	41.4	6.8	2.13	2.51	26.2	10.11	3.84	18.45	لجن فاضلاب Sewage sludge
26.4	45.8	7.6	2.28	1.51	24.4	9.42	2.28	18.06	بایوچار Biochar 300 °C
31.6	58.2	8.5	6.38	0.78	7.58	3.38	1.90	28.94	بایوچار Biochar 600 °C

جدول ۳- غلظت فلزات سنگین کل و بخش بندی آن‌ها در خاک، لجن فاضلاب و بایوچار تولید شده از آن در دو دمای مختلف مورد استفاده در آزمایش.

Table 3. The concentration of total heavy metals and their fractionation in the soil, sewage sludge and biochar produced at two different temperatures used in the experiment.

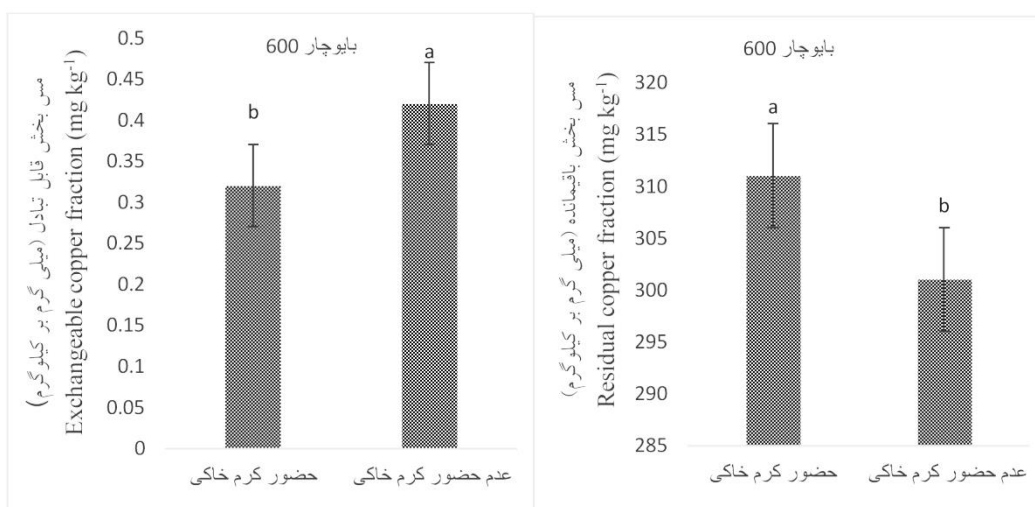
بایوچار Biochar 600 °C	بایوچار Biochar 300 °C	لجن فاضلاب Sewage sludge	خاک Soil	نمونه Sample
کل (mg kg ⁻¹) Total				
147	129	125	4380	سرب (Pb)
463	448	405	250	مس (Cu)
4485	4462	4440	335	روی (Zn)
187	134	99.5	70	نیکل (Ni)
6.4	5.6	5.2	6.2	کادمیم (Cd)
بخش بندی با عصاره گیری پیاپی Fractionation with sequential extraction (mg kg ⁻¹)				
سرب (Pb)				
0.42	0.57	0.9	8.7	بخش تبادلنی Exchangeable fraction
17.5	13.6	9.3	49.4	بخش آلی Organic fraction
4.43	6.4	8.7	2772	بخش کربناته Carbonate fraction
120	102	98	1378	بخش باقی مانده Residual fraction
مس (Cu)				
5.6	7.3	14.5	0.64	بخش تبادلنی Exchangeable fraction
98	85	64.7	5.03	بخش آلی Organic fraction
54	63	89.6	13	بخش کربناته Carbonate fraction
304	277	231	234	بخش باقی مانده Residual fraction
روی (Zn)				
76	147	191	1.24	بخش تبادلنی Exchangeable fraction
1026	932	785	1.92	بخش آلی Organic fraction
772	824	1145	52.3	بخش کربناته Carbonate fraction
2554	2458	2226	244	بخش باقی مانده Residual fraction
نیکل (Ni)				
2.2	3.57	4.39	1.26	بخش تبادلنی Exchangeable fraction
36	24	13.10	1.21	بخش آلی Organic fraction
4.54	5.23	5.56	6.2	بخش کربناته Carbonate fraction
143	98	71.4	61	بخش باقی مانده Residual fraction
کادمیم (Cd)				
0.18	0.25	0.33	0.80	بخش تبادلنی Exchangeable fraction
1.34	0.93	0.6	0.18	بخش آلی Organic fraction
0.85	1.15	1.42	2.61	بخش کربناته Carbonate fraction
3.87	3.21	2.77	1.7	بخش باقی مانده Residual fraction

نتایج و بحث

بخش بندی فلز مس: نتایج جدول ۴ نشان داد که فعالیت کرم خاکی در تمام سطوح کاربرد بایوچار تولید شده در دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس فقط بر میزان مس بخش آلی ($P < 0.01$) معنی دار بود. در حالی که حضور کرم خاکی در تمام تیمارهای کاربرد بایوچار تولید شده در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس تأثیر معنی داری بر میزان مس بخش تبادل، آلی و باقی مانده داشت. تأثیر سطوح کاربرد بایوچار بر تمام بخش های فلز مس در خاک تیمار شده با هر دو نوع بایوچار معنی دار بود. همچنین اثرات متقابل کرم خاکی و بایوچار بر میزان مس بخش آلی و کربناته در بایوچار دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس و میزان مس بخش آلی در بایوچار دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس معنی دار بود.

مطابق شکل ۲ فعالیت کرم خاکی موجب کاهش میزان مس بخش قابل تبادل و افزایش میزان مس بخش باقی مانده گردید و این اثرات نیز در خاک تیمار شده با بایوچار دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس مشهود بود. با حضور کرم خاکی، کاهش میزان مس بخش قابل تبادل از ۰/۴۲ میلی گرم بر کیلوگرم به ۰/۳۲ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. به طوری که میزان مس بخش

باقی مانده از ۰/۳۱ میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار عدم حضور کرم خاکی به ۰/۳۱ میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار حضور کرم خاکی افزایش یافت (شکل ۲). افزایش pH ناشی از فعالیت کرم های خاکی ممکن است موجب بالا رفتن تمایل خاک برای جذب فلزات سنگین به دلیل وجود بارهای سطحی وابسته به pH کلویدها شود که در نتیجه منجر به کاهش غلظت فلزات سنگین در فاز محلول می گردد (۷ و ۳۱). از طرفی خاک بلعیده شده توسط کرم های خاکی با عبور از روده آنها تحت تأثیر تغییرات شیمیایی و میکروبی قرار می گیرد. بخشی از مواد آلی هضم می شود که منجر به افزایش pH و فعالیت های میکروبی روده می شود در نتیجه این احتمال برای پیوند فلزات با یونها و کربنات ها در مواد بلعیده شده افزایش می یابد. در حقیقت نمونه های به دست آمده از خاک های حاوی کرم های خاکی نشان دهنده پیوند فلزاتی مانند مس و روی با مواد آلی می باشد که به طور جزئی تبدیل به اجزایی با حلالیت بیشتر می شود. از این طریق کرم های خاکی منجر به کاهش تحرک مس و روی در خاک می شوند (۲۵).



شکل ۲- تأثیر فعالیت کرم خاکی بر اجزا مس قابل تبادل و باقی مانده (mg kg^{-1}).

Figure 2. Effect of earthworm activity on exchangeable and residual copper fractions (mg kg^{-1}).

جدول ۴- میانگین مربعات اثر کرم خاکی و کاربرد سطوح بایوچار تولیدشده در دو دمای مختلف بر بخش بندی فلز مس.

Table 4. Mean of squares for effects of earthworm and application levels of biochar produced at two different temperatures on fractions of copper.

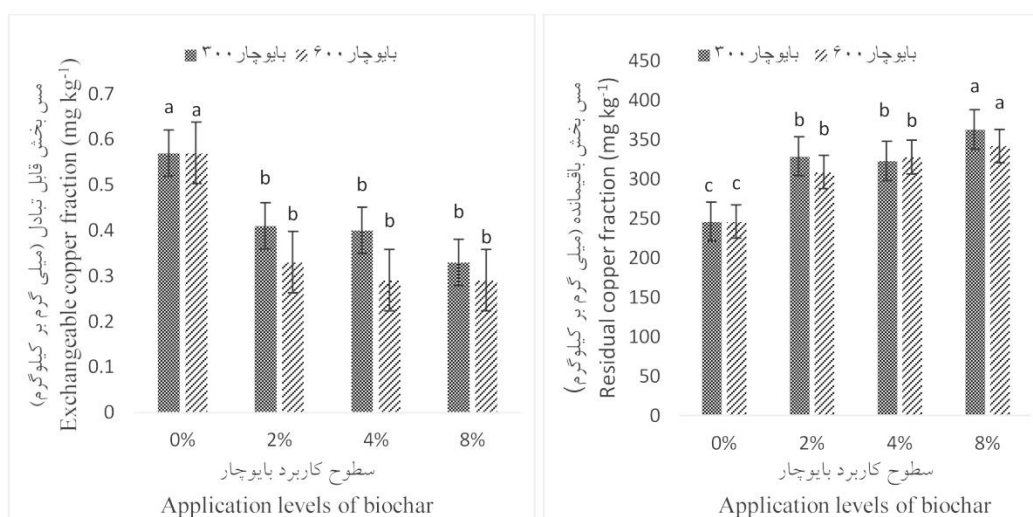
منابع تغییرات Sources of variations	بایوچار 300 °C						بایوچار 600 °C						درجه آزادی Degrees of freedom
	بایوچار 300 °C			بایوچار 600 °C			بایوچار 300 °C			بایوچار 600 °C			
	بخش تبادل Exchangeable fraction	بخش آلی Organic fraction	بخش کربناته Carbonate fraction	بخش باقی مانده Residual fraction	بخش تبادل Exchangeable fraction	بخش آلی Organic fraction	بخش کربناته Carbonate fraction	بخش باقی مانده Residual fraction	بخش تبادل Exchangeable fraction	بخش آلی Organic fraction	بخش کربناته Carbonate fraction	بخش باقی مانده Residual fraction	
کرم خاکی Earthworm	0.039 ^{ns}	41.3 ^{**}	0.020 ^{ns}	13.10 ^{ns}	0.065 [*]	38.6 ^{**}	0.187 ^{ns}	689 ^{**}	0.039 ^{ns}	41.3 ^{**}	0.020 ^{ns}	13.10 ^{ns}	1
سطوح بایوچار Levels of biochar	0.058 [*]	62.4 [*]	33.5 ^{**}	14755 ^{**}	0.105 ^{**}	46.6 ^{**}	40.0 ^{**}	10843 ^{**}	0.058 [*]	62.4 [*]	33.5 ^{**}	14755 ^{**}	3
کرم خاکی × سطوح بایوچار Earthworm × Levels of biochar	0.003 ^{ns}	4.85 ^{**}	0.85 [*]	1059 ^{ns}	0.002 ^{ns}	7.11 ^{**}	0.45 ^{ns}	17.7 ^{ns}	0.003 ^{ns}	4.85 ^{**}	0.85 [*]	1059 ^{ns}	3
خطا Error	0.012	0.48	0.19	345.39	0.012	0.48	0.17	19.6	0.012	0.48	0.19	345.39	16
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)	31.2	33.8	20.7	15.2	42.5	34.1	21.7	21.5	31.2	33.8	20.7	15.2	

^{ns}, ^{*} and ^{**} are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

^{ns}, ^{**} و ^{**} به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال 5٪ و 1٪.

آلی ناشی از کاربرد بایوچار موجب تشکیل اسیدهای آلی یا عوامل کلات‌کننده آلی می‌شوند که در نهایت کمپلکس‌های آلی بسیار پایدار با فلزات تشکیل می‌دهند که غیرقابل حل در آب می‌باشند. از طرفی بایوچار به دلیل دارا بودن منافذ ساختمانی، سطح ویژه و گروه‌های عاملی زیاد، توانایی بالایی برای جذب فلزات سنگین دارد به همین دلیل موجب افزایش غلظت فلزات سنگین در بخش باقی‌مانده و کاهش غلظت این فلزات در بخش قابل تبادل می‌شود (۴۲).

از طرفی با افزایش میزان کاربرد هر دو نوع بایوچار تولیدشده در دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس غلظت مس بخش قابل تبادل کاهش و غلظت مس بخش باقی‌مانده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳). نتایج پژوهش‌های زیو و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که با افزایش میزان کاربرد بایوچار غلظت Cr, Ni, Pb, Cu, Ni, Cd در بخش قابل تبادل کاهش و بخش باقی‌مانده این فلزات افزایش یافت که این نتایج با یافته‌های اکسیو و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد (۴۱ و ۴۳). افزایش میزان ماده



شکل ۳- اثرات کاربرد سطوح بایوچار دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس بر اجزای مس قابل تبادل و باقی‌مانده (mg kg⁻¹).

Figure 3. Effects of the application levels of biochar at the temperatures 300 and 600 °C on the exchangeable and residual Cu fractions (mg kg⁻¹).

کاربرد هشت درصد بایوچار تولید شده در دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس با حضور کرم خاکی به ترتیب بیش‌ترین مس بخش آلی را به‌میزان ۱۵/۴ و ۱۴/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به خود اختصاص دادند (جدول ۵). بایوچار با افزایش ماده آلی خاک و کمپلکس یون‌های فلزات سنگین خاک می‌تواند منجر به کاهش غلظت فلزات سنگین قابل تبادل خاک شود (۱).

اثرات متقابل کرم خاکی و سطوح مختلف بایوچار تولیدشده در هر دو دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس بر میزان مس بخش آلی معنی‌دار بوده است. به‌طوری‌که با حضور کرم خاکی افزایش معنی‌داری در میزان مس بخش آلی مشاهده شد (جدول ۵). کرم‌های خاکی می‌توانند بخش آلی فلزات را از طریق دفع ترکیبات آلی، تجزیه مواد آلی (۵) و تشکیل کمپلکس قوی با فلزات افزایش دهند. به‌طوری‌که

جدول ۵- اثر متقابل کرم خاکی و بایوچار تولیدشده در دو دمای مختلف بر اجزا مس (میلی گرم بر کیلوگرم).

Table 5. Interaction effects earthworm and biochar produced at two different temperatures on fractions of copper (mg kg^{-1}).

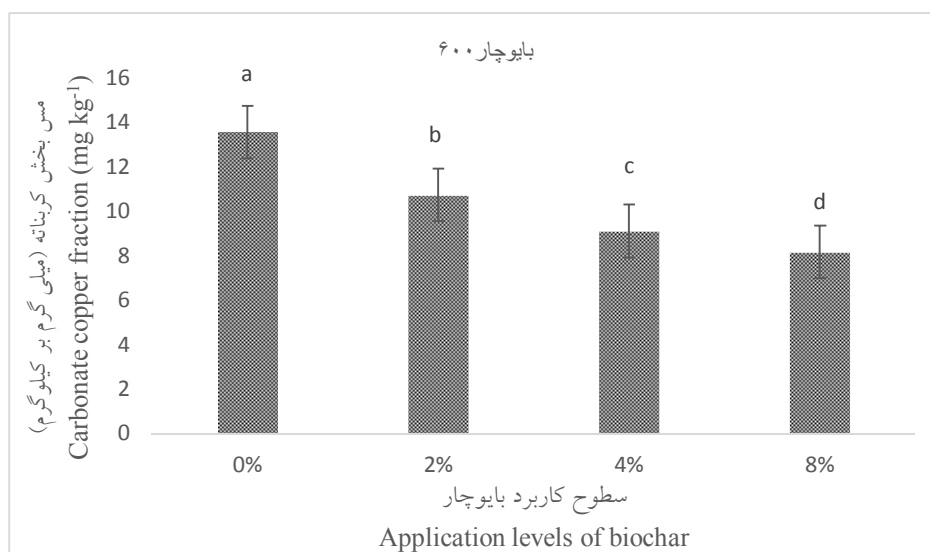
بایوچار 600 °C				بایوچار 300 °C				بایوچار Biochar	کرم خاکی Earthworm
بخش باقی مانده Residual fraction	بخش کربناته Carbonate fraction	بخش آلی Organic fraction	بخش تبادلی Exchangeable fraction	بخش باقی مانده Residual fraction	بخش کربناته Carbonate fraction	بخش آلی Organic fraction	بخش تبادلی Exchangeable fraction		
253 ^e	14.0 ^a	6.38 ^d	0.495 ^{ab}	252 ^d	14.0 ^a	6.38 ^e	0.495 ^{ab}	0%	با
312 ^d	10.5 ^e	7.37 ^d	0.288 ^{bc}	340 ^{ab}	10.4 ^c	9.23 ^{cd}	0.375 ^b	2%	کرم خاکی
333 ^b	9.36 ^d	12.4 ^b	0.231 ^e	304 ^c	9.08 ^d	13.3 ^b	0.369 ^b	4%	With earthworm
349 ^a	7.59 ^e	14.1 ^a	0.256 ^e	366 ^a	7.89 ^e	15.4 ^a	0.306 ^b	8%	
239 ^f	13.0 ^b	5.03 ^e	0.638 ^a	238 ^d	13.1 ^b	5.03 ^f	0.638 ^a	0%	بدون
305 ^d	10.6 ^c	7.23 ^d	0.396 ^{bc}	318 ^{bc}	11.1 ^c	8.33 ^d	0.438 ^b	2%	کرم خاکی
323 ^c	9.47 ^b	8.66 ^c	0.350 ^{bc}	341 ^{ab}	9.12 ^d	9.65 ^c	0.431 ^b	4%	Without earthworm
336 ^b	7.68 ^e	9.25 ^c	0.331 ^{bc}	359 ^a	8.41 ^{dc}	10.7 ^{cd}	0.363 ^b	8%	

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن ندارد.

Means within each column followed by the same letter are not statistically different at $\alpha=0.05$ by Duncan test.

بایوچار دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس غلظت مس بخش
کربناته از ۱۳/۵ در تیمار عدم کاربرد بایوچار به ۸/۱۵
میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار کاربرد هشت درصد
بایوچار تولیدشده در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس
به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

غلظت مس بخش کربناته تحت‌تأثیر مصرف توأم
کرم خاکی و سطوح کاربرد بایوچار دمای ۳۰۰ درجه
سلسیوس قرار گرفت، در حالی‌که اثرات متقابل کرم
خاکی و سطوح کاربرد بایوچار دمای ۶۰۰ درجه
سلسیوس بر میزان مس بخش کربناته معنی‌دار نبود
(جدول ۵). مطابق شکل ۴ با افزایش سطوح کاربرد



شکل ۴- اثرات کاربرد سطوح بایوچار تولیدشده در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس بر میزان مس بخش کربناته (mg kg^{-1}).

Figure 4. Effects of the application levels of biochar produced at the temperature 600 °C on the carbonate Cu fraction (mg kg^{-1}).

بخش‌بندی فلز روی: با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (۶) فعالیت کرم خاکی در تمام سطوح کاربرد بایوپچار تأثیر معنی‌داری بر تمام بخش‌های فلز روی به‌جز بخش تبدلی در بایوپچار دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس و بخش باقی‌مانده در بایوپچار دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس داشت. تمام بخش‌های فلز روی نیز تحت تأثیر سطوح کاربرد بایوپچار قرار گرفت. اثرات متقابل کرم خاکی و سطوح کاربرد بایوپچار نیز بر میزان فلز روی تمام بخش‌ها به‌جز بخش باقی‌مانده برای هر دو نوع بایوپچار تولیدشده در دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس معنی‌دار بود.

نتایج جدول ۷ نشان داد که حضور کرم خاکی در تیمار عدم کاربرد بایوپچار موجب کاهش معنی‌دار میزان روی تبدلی خاک از ۱/۱۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ۰/۶۰۴ و ۰/۳۰۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ترتیب در تیمار بایوپچار ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس گردید. در حالی‌که فعالیت کرم خاکی تأثیر معنی‌داری بر میزان فلز روی تبدلی خاک به‌خصوص در غلظت‌های بالاتر کاربرد بایوپچار (هشت درصد) نداشت. از طرفی افزایش معنی‌داری در غلظت روی آلی خاک با فعالیت کرم خاکی مشاهده شد، به‌طوری‌که در بالاترین سطح کاربرد بایوپچار دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس حضور و عدم حضور کرم خاکی تفاوت معنی‌داری نشان داد. در سطح هشت درصد بایوپچار دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس حضور کرم خاکی موجب افزایش میزان روی آلی خاک از ۹/۲۷ به ۱۰/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم گردید. افزایش روی در بخش آلی احتمالاً به‌علت فرایند معدنی شدن ماده آلی و هموسه شدن توسط تغذیه و فعالیت کرم خاکی است (۳۵). افزودن کرم خاکی به خاک شاهد (سطح صفر درصد بایوپچار)

موجب افزایش معنی‌دار میزان روی کربناته خاک از ۵۲/۳ به ۸۸/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم گردید در حالی‌که در سطوح بالاتر بایوپچار تأثیر معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۷). یودویک و لستان (۲۰۱۰) بیان کردند که در pH بالا، کرم‌های خاکی به‌دلیل دفع آمونیاک و یا کربنات کلسیم می‌توانند سبب رسوب فلز با کربنات‌ها در نتیجه منجر به افزایش معنی‌دار فلز روی در بخش کربناته می‌شوند (۳۵). ون و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که میزان فلزات سنگین (Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb) در بخش محلول، تبدلی و کربناته با حضور کرم خاکی افزایش یافت (۳۷). آقا بابایی و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که افزایش در کربن آلی خاک توسط فعالیت کرم خاکی ممکن است به افزایش غلظت فلزات سنگین در بخش محلول و تبدلی کمک کند (۲). از طرفی چنگ و وونگ (۲۰۰۲) نشان دادند که افزودن کرم خاکی میزان روی قابل‌تبادل و کربناته خاک را کاهش داد، اگرچه اختلاف در نتایج براساس نوع خاک به‌کار برده شده در آزمایش متفاوت است (۹). این نتایج متنوع را می‌توان به ویژگی‌های مختلف خاک و تفاوت‌های فیزیولوژیکی و اکولوژیکی در میان گونه‌های کرم خاکی نسبت داد (۲۷). بخش باقی‌مانده فلز روی در حضور کرم خاکی در غلظت‌های بالاتر کاربرد بایوپچار افزایش یافت، اگرچه این تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند. رویز و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که حضور کرم خاکی باعث افزایش فلزات مس و روی در بخش باقی‌مانده با استفاده از روش عصاره‌گیری پی‌درپی گردید (۳۱).

جدول ۷- اثر متقابل کرم خاکی و بایوچار تولید شده در دو دمای مختلف بر اجزا روی (میلی گرم بر کیلوگرم).

Table 7. Interaction effects earthworm and biochar produced at two different temperatures on fractions of zinc (mgkg⁻¹).

Bایوچار Biochar 600 °C				Bایوچار Biochar 300 °C				Bایوچار Biochar	کرم خاکی Earthworm
بخش باقی مانده Residual fraction	بخش کربناته Carbonate fraction	بخش آلی Organic fraction	بخش تبادلی Exchangeable fraction	بخش باقی مانده Residual fraction	بخش کربناته Carbonate fraction	بخش آلی Organic fraction	بخش تبادلی Exchangeable fraction		
274 ^d	88.2 ^a	6.96 ^d	1.14 ^b	274 ^c	88.2 ^{a-b}	6.96 ^c	1.139 ^b	0%	با کرم خاکی With earthworm
239 ^c	52.2 ^{bd}	8.23 ^c	0.589 ^c	393 ^b	54.2 ^d	8.41 ^b	0.871 ^c	2%	
359 ^b	49.7 ^{cd}	9.40 ^b	0.470 ^d	373 ^b	51.2 ^{cd}	10.45 ^a	0.704 ^d	4%	
407 ^a	46.4 ^d	10.7 ^a	0.308 ^e	465 ^a	49.5 ^d	11.05 ^a	0.604 ^e	8%	
244 ^{de}	52.313 ^{bc}	1.92 ^f	1.242 ^a	244 ^c	52.3 ^{cd}	1.92 ^e	1.242 ^a	0%	بدون کرم خاکی Without earthworm
326 ^c	55.5 ^b	3.82 ^e	0.555 ^c	382 ^b	58.7 ^b	4.22 ^d	0.831 ^c	2%	
357 ^c	52.7 ^{bc}	7.57 ^{cd}	0.486 ^d	367 ^b	54.7 ^{bc}	8.68 ^b	0.719 ^d	4%	
395 ^a	46.4 ^d	9.27 ^b	0.283 ^e	436 ^a	51.6 ^{cd}	10.8 ^a	0.579 ^e	8%	

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن ندارد.

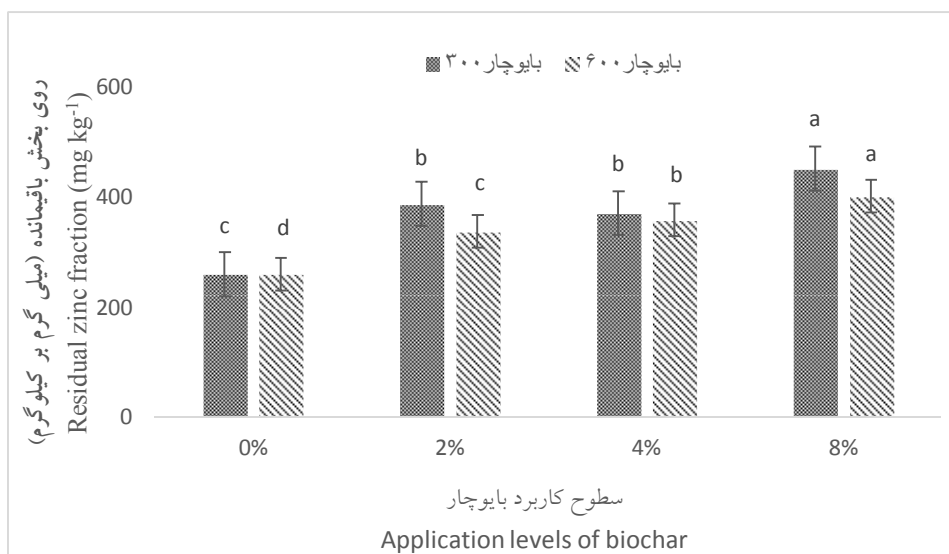
Means within each column followed by the same letter are not statistically different at $\alpha=0.05$ by Duncan test.

به تدریج کاهش یافت (۳)، به نظر می‌رسد این فلزات توسط واکنش‌های کمپلکس سطحی جذب ذرات بایوچار شده، در نتیجه منجر به کاهش غلظت این فلزات گردید (۲۲). تبدیل شکل قابل تبادل فلزات سنگین به شکل پیوند یافته با ماده آلی (کم‌تر قابل دسترس) از طریق واکنش‌های تشکیل کمپلکس می‌تواند دلیلی بر کاهش معنی‌دار فلزات سنگین قابل تبادل در خاک‌های اصلاح شده با بایوچار باشد (۵ و ۱۱). اثرات متقابل کرم خاکی و بایوچار نشان داد که کم‌ترین میزان روی بخش کربناته در تیمار کاربرد هشت درصد بایوچار به دست آمد، در واقع با افزایش میزان کاربرد بایوچار غلظت روی بخش کربناته کاهش یافت، به طوری که حضور و عدم حضور کرم خاکی در سطوح بالای کاربرد بایوچار (۸٪) برای هر دو نوع بایوچار دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۷). غلظت روی بخش باقی مانده با افزایش میزان کاربرد

افزایش میزان کاربرد بایوچار موجب کاهش معنی‌دار میزان روی بخش تبادلی و کربناته و افزایش معنی‌دار روی بخش آلی و باقی مانده گردید. میزان روی تبادلی از ۱/۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد به ۰/۵۷۹ و ۰/۲۸۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب در تیمار هشت درصد بایوچار دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس کاهش یافت، به طوری که روند این تغییرات در تیمار کاربرد بایوچار دمای ۶۰۰ سلسیوس بیش‌تر از بایوچار دمای ۳۰۰ سلسیوس بود. بیش‌ترین میزان روی بخش آلی نیز در حضور کرم خاکی با کاربرد بایوچار هشت درصد به دست آمد، اگرچه بین سطح کاربرد چهار و هشت درصد بایوچار دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۷). در پژوهشی که توسط آنجه و همکاران (۲۰۱۴) انجام شد نشان دادند که با افزایش میزان کاربرد بایوچار غلظت فلزات Pb, Cu, Zn, Cr, Cd

افزایش میزان فلزات سنگین بخش باقی مانده و کاهش فلزات قابل استخراج با اسید و بخش کربناته گردید. در واقع بایوچار می تواند باعث تغییر شکل فلزات مس و روی از بخش های قابل استخراج با اسید، قابل احیا و قابل اکسید به بخش باقی مانده گردد (۱۰).

بایوچار افزایش یافت، به طوری که تیمار کاربرد هشت درصد بایوچار دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس به ترتیب موجب افزایش غلظت روی بخش باقی مانده از ۲۵۹ میلی گرم بر کیلوگرم به ۴۵۱ و ۴۰۱ میلی گرم بر کیلوگرم گردید (شکل ۵). دایی و همکاران (۲۰۱۸) نیز نشان دادند که کاربرد بایوچار موجب



شکل ۵- اثرات کاربرد سطوح بایوچار تولیدشده در دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس بر میزان روی بخش باقی مانده (mg kg⁻¹).

Figure 5. Effects of the biochar application levels produced at the temperatures 300 and 600 °C on the residual Zn fraction (mg kg⁻¹).

درجه سلسیوس کاهش یافت. با استناد به نتایج جدولها (۶ و ۴) با افزایش میزان کاربرد بایوچار غلظت مس و روی بخش تبدلی به طور معنی داری کاهش یافت، به همین دلیل تحرک مس در خاک تیمار شده با بایوچار هشت درصد کم تر از خاک شاهد بود. بنابراین کاهش غلظت مس و روی بدن کرم خاکی با کاربرد بایوچار دمای ۶۰۰ نسبت به ۳۰۰ درجه سلسیوس می توان به تحرک کم تر این فلزات نسبت داد (شکل ۶). گومز و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که تحرک مس با کاربرد بایوچار کاهش یافته که این می تواند دلیلی بر کم تر بودن میزان مس در بدن کرم خاکی در خاک اصلاح شده با بایوچار باشد (۱۵).

غلظت فلز مس و روی در بدن کرم خاکی: نتایج نشان داد که سطوح کاربرد بایوچار در هر دو نوع بایوچار دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس تأثیر معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر غلظت فلز مس و روی بدن کرم خاکی داشت. (جدول ۸). به طوری که غلظت مس بدن کرم خاکی از ۱۳/۷ میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد (عدم کاربرد بایوچار) به ۵/۸۱ و ۵/۰۶ میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار ۸ درصد بایوچار دمای ۳۰۰ و ۶۰۰ درجه سلسیوس کاهش یافت. غلظت روی بدن کرم خاکی نیز از ۲۰۱ میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد (عدم کاربرد بایوچار) به ۱۳۸ و ۱۲۷ میلی گرم بر کیلوگرم در تیمار هشت درصد بایوچار دمای ۳۰۰ و ۶۰۰

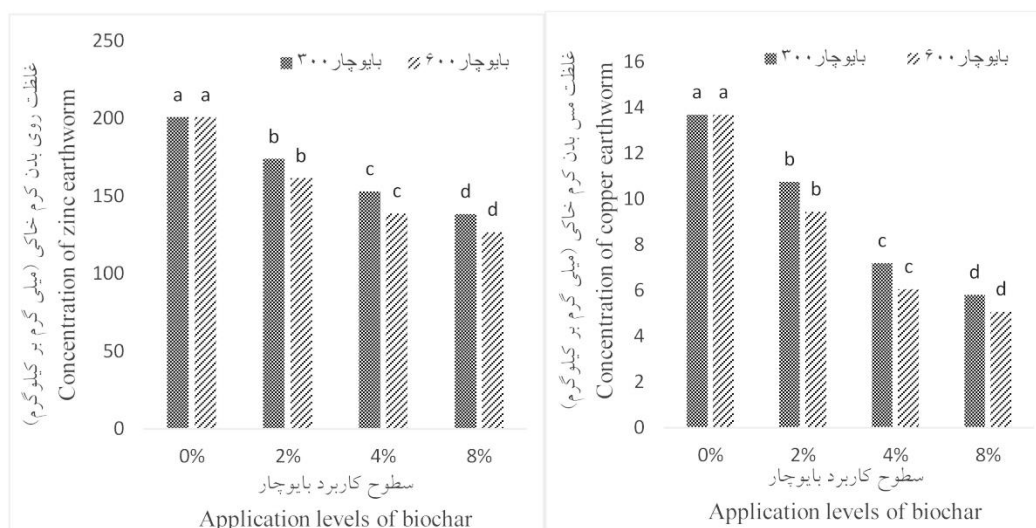
جدول ۸- میانگین مربعات اثر کاربرد سطوح بایوچار تولیدشده در دو دمای مختلف بر غلظت فلز مس و روی بدن کرم خاکی.

Table 8. Mean of squares for effects of application levels of biochar produced at two different temperatures on concentration of copper and zinc earthworm.

روی Zn		مس Cu		درجه آزادی Degrees of freedom	منابع تغییرات Sources of variations
بایوچار Biochar 300 °C	بایوچار Biochar 300 °C	بایوچار Biochar 600 °C	بایوچار Biochar 300 °C		
3179**	2201**	45.5**	38.0**	3	سطوح بایوچار Levels of biochar
0.088	0.332	0.004	0.003	8	خطا Error
18.7	14.7	41.2	34.4	-	ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)

ns, * و ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ns, * and ** are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.



شکل ۶- مقایسه میانگین‌های غلظت فلز مس و روی (mg kg^{-1}) برای کاربرد سطوح بایوچار تولیدشده در دو دمای مختلف.

Figure 6. mean comparison on concentration of copper and zinc (mgkg^{-1}) for application levels of biochar produced at two different temperatures.

در بخش تبدلی فلز مس و روی مشاهده گردید، به طوری که روند کاهش غلظت این فلزات در بخش تبدلی با حضور کرم خاکی بیش تر بود. بنابراین این نتایج نشان دهنده توزیع مجدد فلزات در خاک‌های اصلاح شده با بایوچار در حضور کرم خاکی می باشد که موجب تغییر شکل فلزات از بخش‌هایی با تحرک

نتیجه گیری کلی

نتایج نشان داد که کاربرد بایوچار موجب افزایش معنی دار غلظت مس و روی بخش آلی و باقی مانده گردید. از طرفی با افزایش دمای گرماکافت و میزان کاربرد بایوچار دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس نسبت به بایوچار دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس کاهش معنی داری

۶۰۰ درجه سلسیوس نسبت به بایوچار دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس به دلیل توانایی بالای جذب و کاهش غلظت این فلزات در بخش تبدیلی بیش تر بود.

بیش تر به بخش های پایدار و کم تحرک تر می شود. از طرفی به دلیل تحرک کم فلزات در خاک های تیمار شده با بایوچار، غلظت فلزات مس و روی در بدن کرم خاکی کاهش یافته و این روند در بایوچار دمای

منابع

1. Abdel-Fattah, T.M., Mahmoudb, M.E., Ahmedb, S.B., Huff, N.D., Lee, J.W., and Kumar, S. 2015. Biochar from woody biomass for removing metal contaminants and carbon sequestration. *J. Indus. Engin. Chem.* 22: 103-109.
2. Aghababaei, F., Raiesi, F., and Hosseinpur, A. 2014. The combined effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on microbial biomass and enzyme activities in a calcareous soil spiked with cadmium. *Applied Soil Ecology.* 75: 33-42.
3. Anegebe, B., Okuo, J.M., Ewekay, E.O., and Ogbeifun, D.E. 2014. Fractionation of lead-acid battery soil amended with Biochar. *Bayero J. Pure Appl. Sci.* 7: 2. 36-43.
4. ASTM International. 2013. ASTM D1762-84. 2013. Standard test method for chemical analysis of wood charcoal, <http://www.astm.org/Standards/D1762.htm> (accessed April 2014).
5. Brown, G., Barois, I., and Lavelle, P. 2000. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *Europ. J. Soil Biol.* 36: 177-198.
6. Caballero, J.A., Front, R., Marcilla, A., and Conesa, J.A. 1997. Characterization of sewage sludges by primary and secondary pyrolysis. *J. Anal. Appl. Pyrol.* 40-41: 433-450.
7. Cao, X.D., Chen, Y., Wang, X.R., and Deng, X.H. 2001. Effects of redox potential and pH value on the release of rare earth elements from soil. *Chemosphere.* 44: 655-661.
8. Chen, X., Chen, G., Chen, L., Chen, Y., Lehmann, J., McBride, M.B., and Hay, A.G. 2011. Adsorption of copper and zinc by biochars produced from pyrolysis of hardwood and corn straw in aqueous solution. *Bioresource Technology.* 102: 19. 8877-8884.
9. Cheng, J., and Wong, M.H. 2002. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils. *Biology and Fertility of Soils.* 36:72-78.
10. Dai, S., Li, H., Yang, Z., Dai, M., Dong, X., Ge, X., Sun, M., and Shi, L. 2018. Effects of biochar amendments on speciation and bioavailability of heavy metals in coal-minecontaminated soil. *Human and Ecological Risk Assessment.* 24: 7. 1887-1900.
11. Farfel, M., Orlova, A., Chancy, R., Lees, P., Rohde, C., and Ashley P. 2005. Biosolids compost amendment for reducing soil lead hazards: a pilot study of organic amendment and grass seeding in urban yards. *The Science of the Total Environment.* 340: 81-95.
12. Gaskin, J.W., Steiner, C., Harris, K., Das, K.C., and Bibens, B. 2008. Effect of Low Temperature Pyrolysis Conditions on Biochars for Agricultural Use. *Transactions of the ASABE.* 51: 6. 2061-2069.
13. Gasco, G., Paz-Ferreiro, J., and Me'ndez, A. 2012. Thermal analysis of soil amended with sewage sludge and biochar from sewage sludge pyrolysis. *J. Ther. Anal. Calorimet.* 108: 769-775.
14. Ge G.H., and Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis. P 383-411. In: A. Klute (ed.) *Methods of Soil Analysis. Physical Properties.* Soil Science Society of America, Madison, WI.
15. Gomez-Eyles, J.L., Sizmur, T., Collins, C.D., and Hodson, M.E. 2011. Effects of biochar and the earthworm *Eisenia fetida* on the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons and potentially toxic elements. *Environmental Pollution.* 159: 2. 616-622.

16. Gu, J., Zhou, W., Jiang, B., Wang, L., Ma, Y., Guo, H., Schulin, R., Ji, R., and Evangelou, M. 2016. Effects of biochar on the transformation and earthworm bioaccumulation of organic pollutants in soil. *Chemosphere*. 145: 431-437.
17. Hwang, I.H., Ouchi, Y., and Matsuto, T. 2007. Characteristics of leachate from pyrolysis residue of sewage sludge. *Chemosphere*. 68: 10. 1913-1919.
18. Joseph, S.D., Camps-Arbestain, M., Lin, Y., Munroe, P., Chia, C.H., Hook, J., van Zwieten, L., Kimber, S., Cowie, A., Singh, B.P., Lehmann, J., Foidl, N., Smernik, R.J., and Amonette, J.E. 2010. An Investigation into the reactions of biochar in soil. *Austr. J. Soil Res.* 48: 501-515.
19. Karami, N., Clemente, R., Moreno-Jiménez, E., Lepp, N.W., and Beesley, L. 2011. Efficiency of green waste compost and biochar soil amendments for reducing lead and copper mobility and uptake to ryegrass. *J. Hazard. Mater.* 191: 1. 41-48.
20. Kim, K.H., Kim, J.Y., Cho, T.S., and Choi, J.W. 2012. Influence of pyrolysis temperature on physicochemical properties of biochar obtained from the fast pyrolysis of pitch pine (*Pinus rigida*). *Bioresource Technology*. 118: 158-162.
21. Lahori, A.H., Guo, Z., Zhang, Z., Li, R., Mahar, D.A., Awasthi, M., Shen, F., Ali Sial, T., Kumbhar, F., Wang, P., and Jiang, S. 2017. Use of biochar as an amendment for remediation of heavy metal-contaminated soils, Prospects and Challenges. 27: 991-1014.
22. Lanno, R., Wells, J., Conder, J., Bradham, K., and Basta, N. 2004. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology and environmental safety*. 57: 39-47.
23. Li, L., Xu, Z., Wu, J., and Tian, G. 2010. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresource Technology*. 101: 10. 3430-3436.
24. Loganathan, P., Vigneswaran, S., Kandasamy, J., and Naidu, R. 2012. Cadmium sorption and desorption in soils: a review. *Critical Reviews in Environmental Science & Technology*. 42: 5. 489-533.
25. Lukkari, T., Teno, S., Vaisanen, A., and Haimi, J. 2006. Effects of earthworms on decomposition and metal availability in contaminated soil: microcosm studies of populations with different exposure histories. *Soil Biology and Biochemistry*. 38: 359-370.
26. Méndez, A., Tarquis, A.M., Saa-Requejo, A., Guerrero, F., and Gascó, G. 2013. Influence of pyrolysis temperature on composted sewage sludge biochar priming effect in a loamy soil. *Chemosphere*. 93: 4. 668-676.
27. Mohamed, I., Zhang, G.S., Li, Z.G., Liu, Y., Chen, F., and Dai, K. 2015. Ecological restoration of an acidic Cd contaminated soil using bamboo biochar application. *Ecological Engineering*. 84: 67-76.
28. Morgan, J.E., and Morgan, A.J. 1999. The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa*): implications for ecotoxicological testing. *Applied Soil Ecology*. 13: 9-20.
29. Nannoni, F., Rossi, S., and Protano, G. 2014. Soil properties and metal accumulation by earthworms in the Siena urban area (Italy). *Applied Soil Ecology*. 77: 9-17.
30. Rajkovich, S., Enders, A., Hanley, K., Hyland, C., Zimmerman, A.R., and Lehmann, J. 2012. Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to a temperate soil. *Biology and Fertility of Soils*. 48: 271-284.
31. Ruiz, E., Rodríguez, L., and Alonso-Azcárate, J. 2009. Effects of earthworms on metal uptake of heavy metals from polluted mine soils by different crop plants. *Chemosphere*. 75: 1035-1041.
32. Shan, X.Q., Lian, J., and Wen, B. 2002. Effect of organic acids on adsorption and desorption of rare earth elements. *Chemosphere*. 47: 701-710.

33. Spurgeon, D.J., Weeks, J.M., and Van Gestel, C.A. 2003. A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology: The 7th international symposium on earthworm ecology Cardiff Wales Pedobiologia. 47: 588-606.
34. Sposito, G., Lund, L.J., and Chang, A.C. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge. I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. Soil Sci. Soc. Amer. J. 46: 260-264.
35. Udovic, M., and Lestan, D. 2010. Fractionation and bioavailability of Cu in soil remediated by EDTA leaching and processed by earthworms (*Lumbricus terrestris* L.). Environmental Science and Pollution Research. 17: 561-570.
36. Wanga, K., Qiaoa, Y., Zhanga, H., Yuea, S., Lia, H., Jib, X., and Liuc, L. 2018. Bioaccumulation of heavy metals in earthworms from field contaminated soil in a subtropical area of China, Ecotoxicology and Environmental Safety. 148: 876-883.
37. Wen, B., Hu, X., Liu, Y., Wang, W.S., Feng, M.H., and Shan, X.Q. 2004. The role of earthworms (*Esenia fetida*) on influencing bioavailability of heavy metals in soils. Biology and Fertility of Soils. 40: 181-187.
38. Weyers, S.K., and Spokas, K.A. 2011. Impact of biochar on earthworm populations. A review. Applied and Environmental Soil Science. Pp: 1-12.
39. Wu, W., Yang, M., Feng, Q., McGrouther, K., Wang, H., Lu, H., and Chen, Y. 2012. Chemical characterization of rice straw-derived biochar for soil amendment. Biomass and Bioenergy, 47: 268-276.
40. Wuana, R.A., and Okieimen, F.E. 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. International Scholarly Research Notices Ecology. Pp: 1-20.
41. Xu, N., Lin, D., Xu, Y., Xie, Z., Liang, X., and Guo, W. 2014. Adsorption of aquatic Cd²⁺ by biochar obtained from corn Stover. J. Agro-Environ. Sci. 33: 5. 958-964.
42. Zhang, R.H., Li, Z.G., Liu, X.D., Wang, B., Zhou, G.L., Huang, X.X., Lin, C.F., Wang, A., and Brooks, M. 2017. Immobilization and bioavailability of heavy metals in greenhouse soils amended with rice straw-derived biochar. Ecological Engineering. 98: 183-188.
43. Zhu, Q., Wu, H., Wang, L., Yang, G., and Zhang, X. 2015. Effect of biochar on heavy metal speciation of paddy soil. Water, Air and Soil Pollution. 226: 429.



Application of biochar derived sewage sludge on fractionation of copper and zinc in the presence of earthworms in calcareous contaminated soils

F. Karimi¹, *Gh. Rahimi² and A. Khademi Jolgeh Nezhad³

¹Ph.D. Graduate, Dept. of Soil Science, Bu-Ali Sina University,

²Associate Prof., Dept. of Soil Science, Bu-Ali Sina University,

³M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science, Shahid Bahonar University of Kerman

Received: 06.12.2018; Accepted: 02.05.2019

Abstract

Background and Objectives: Human activities, including the use of sewage sludge as fertilizer, cause excessive accumulation of heavy metals in the soil. The conversion of sewage sludge to biochar is a potential way its disposal and is a cost-effective technology for the remediation of soils contaminated with heavy metals and the environment due to the reduction of bioavailability of heavy metals. Also, using biological methods such as the use of soil organisms, including earthworms, is a new and promising way to improve contaminated soils. Several studies have been done about the effects of biochar and earthworms on fractionation of heavy metal at the world, but a report has not yet been presented about the effect of integrated application of biochar and earthworms on fractionation of copper and zinc elements. Therefore, the present study was carried out to investigate the effect of pyrolysis temperature change and application rate of biochar on the Copper (Cu) and Zinc (Zn) fractions and their uptake by *E. fetida* earthworms in a contaminated calcareous soil from the area surrounding the old Ahangaran lead-zinc mine.

Materials and Methods: The experiment was carried out as a factorial experiment based on completely randomized design with three replications under environmental conditions of the laboratory of Soil Sciences Department of Bu-Ali Sina University in Hamedan. Experimental factors included earthworms *Eisenia fetida* species in 2 levels (with and without earthworms) and biochar produced from sewage sludge at two different temperatures of 300 and 600 °C in 4 levels (0, 2, 4 and 8%) were added to contaminated calcareous soil. 12 earthworms were introduced into each container, and the containers were stored in a climatic chamber with 16 hours of light and 8 hours of darkness at 25 °C for 42 days. The method of sequential extraction was used to investigate the fractionation of Cu and Zn.

Results: According to the results of the analysis, activity of the earthworm in the soil treated with biochar produced at 300 °C had no significant effect on the amount of copper and zinc in the exchangeable fraction. While reduced the amount of Cu and Zn in the exchangeable fraction and increased the amount of Cu and Zn in the residual fraction of the soil treated with biochar produced at a temperature of 600 °C. Increasing the application rate of biochar significantly reduced the amount of copper and zinc in the exchange sector, as this decrease was evident in the biohazard produced at a temperature of 600 °C. So, the activity of the earthworm at a level of 8% biochar produced at a temperature of 600 °C resulted in a decrease of the amount of exchangeable copper from 0.391 to 0.256 in comparison to the absence of earthworms. The concentration of exchangeable zinc decreased from 242.1 mgkg⁻¹ in control treatment to 0.579 and 0.283 mgkg⁻¹ in 8% biochar produced at 300 and 600 °C treatments, respectively. Due to low motility of heavy metals in soils treated with biochar, the concentration of Cu and Zn in the

* Corresponding Author; Email: ghasemr@gmail.com

body of the earthworm has decreased and this trend was higher in exchangeable fraction in the biochar produced at 600 °C compared to the biochar produced at 300 °C due to its high adsorption capacity.

Conclusion: Therefore, heavy metals fractionation could be changed as a result of the activity of earthworms in soils treated with biochar, this trend indicates that the distribution of the metals in biochar amended soil is gradually shifting from the more labile fractions to the more stable fraction.

Keywords: Earthworm, Heavy metals, Pyrolysis, Sewage sludge, Temperature

