# مطالعه و بررسی شاخصهای کنترل بهداشتی و میکروبی کمپوست

علی نجفی،محمد سهرابی،محمد آرین نژاد

مدیرعامل سازمان بازیافت مشهد
Nnajafi7@gmail.com

کارشناسان سازمان بازیافت مشهد
Sohraby1@yahoo.com

**چکیده**

یکی از مهمترین مشکلات زیست محیطی تولید روزافزون مواد زاید جامدآلی است. حجم زیاد و فسادپذیری از یک سو و کمبود امکان دفع و معضلات بهداشتی از سوی دیگر ، موجب گردیده است که امروزه مدیریت مواد زائد جامدآلی به یکی از مهمترین مباحث علم مدیریت پسماند مبدل شود . در این میان یکی از بهترین روشهای امحاء این مواد زائد تولید کمپوست می باشد . در این پژوهش تولید کمپوست بر پایه استانداردهای میکروبی مورد بررسی قرار گرفته است. نمونه گیری میکروبی از کلیه پایل های سالن تخمیر کارخانه کمپوست مشهد در مراحل و دوران های مختلف صورت گرفت . تعداد نمونه های تیماری مورد بررسی ۳۶ مورد بوده که پس از انجام آزمون های : کشت میکروبی، شناسایی و شمارش میکروارگانیسم های شاخص، همچنین کنترل روزانه دمای توده ها ، نتایج حاصله بیانگر کاهش آلودگی و حذف عوامل بیماری زا همزمان با افزایش دما بر اثر متابولیسم میکروارگانیسم ها و مواد و انرژی حاصله از این فرآیندها است. افزایش دما تا ۶۸ درجه سلسیوس اندازه گیری شده است و پس از پایان مراحل تخمیر و در کمپوست نهایی، میکروارگانیسم های شاخص شامل : کلی فرم مدفوعی و سالمونلا، درحد استاندارد اندازه گیری شدند و عوامل بیماری زایی یافت نشد .

**کلمات کلیدی :** میکروارگانیسم های شاخص – کمپوست – متابولیسم- مواد زائد جامدآلی – استاندارد میکروبی .

**مقدمه :**

کمپوست حاصل فرآیندی بیولوژیک است که در طی آن زباله هایی که منشاء آلی دارند، در اثر فعالیت میکروارگانیسم هـای موجـود در توده مواد آلی ، تجزیه می شوند و به حالت نسبتاً پایدار در می آیند. (۱) از آنجاییکه کمپوست عمدتاً از بقایا و زایدات جامد شـهری بدسـت می آید همیشه امکان حضور مواد زائد با منشاء جانوری و به تبع آن میکروارگانیسم های بیماری زا در ماده اولیه کمپوست وجود دارد .

تخریب عوامل بیماری زا پارامتر مهم در طراحی فرآیند کمپوست سازی می باشد ، بطوریکه نیم رخ دما و فرآیند هوادهی را تحت تاثیر قرار می دهد . اغلب این عوامل وقتی تمام قسمت های توده کمپوست درمعرض دمای حدود ۵۵ درجه سلسیوس قرار گیرند ، به سرعت از بین خواهنـد رفت . تنها تعداد کمی می توانند در دماهای بالای ۶۷ درجه سلسیوس برای یک مدت زمان کوتاه دوام بیاورند. حذف کلیه میکروارگانیسم های بیماری زا را می توان با رساندن توده پسماند در حال کمپوست به دمای ۷۰ درجه سلسـیوس بـه مـدت ۱ تـا ۲ سـاعت انجـام داد. (۳) درجـه حرارت مناسب رشد میکروارگانیسم های مختلف متفاوت است، بالاترین درجه حرارت قابل تحمل توسط ارگانیسم هـا معمـولاً درجـه حرارتـی است که پروتئین های آن در خارج از سلول در آن درجه پایدار شود . (۴)

به طور کلی می توان گفت ، مرگ عوامل بیماری زا تابعی از دما و زمان می باشد. به عنوان مثال گونـه هـای بـاکتری سـالمونلا مـی تواننـد در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در زمان ۱۵ تا ۲۰ دقیقه یا در دمای ۵۵ درجه سلسیوس در مدت زمان یک ساعت از بین بروند. استانداردهای ویـژه زمان-دما برای کنترل عوامل بیماری زا در سیستم کمپوست سازی پیشنهاد شده است . این شرایط در سیستم های کمپوست سازی که دارای بهره برداری مناسبی می باشند به راحتی قابل حصول می باشد . (۳)

**جدول ۱- الزامات EPA برای کنترل عوامل بیماری زا در فرآیندهای کمپوست (۳)**

| الزام | ملاحظات |
|---|---|
| فرآیندهایی برای کاهش قابل ملاحظه پاتوژنها (PSRP) | برای روشهای کمپوست سازی در محفظه، پشته ساکن هوادهی یا توده طویل سطحی، پسماند در حداقل شرایط بهره برداری ۴۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۵ روز نگهداشته می شود. برای چهار ساعت در خلال این دوره دما از ۵۵ درجه سانتیگراد تجاوز می کند. |
| فرآیندهایی برای کاهش بیشتر پاتوژنها (PFRP) | برای روشهای کمپوست سازی در محفظه یا پشته ساکن هوادهی شده پسماند در شرایط بهره برداری ۵۵ درجه سانتی گراد یا بیشتر برای ۳ روز نگه داشته می شوند.<br>برای روش کمپوست سازی توده طویل سطحی،پسماند در شرایط بهره برداری ۵۵ درجه سانتیگراد یا بیشتر برای حداقل ۱۵ روز در طول دوره کمپوست سازی نگه داشته می شود. همچنین در طول دوره دمای بالا، حداقل ۵ بار همزمان (زیر و رو کردن) وجود خواهد داشت . |

دمای ۳۵ تا ۶۰ درجه سلسیوس بهترین دما برای تجزیه کمپوست است.(۷) و در محدوده دمای ۵۷ درجه سلسیوس جمعیت میکروبی تقلیل می یابد. به طور کلی مراحل مختلف تهیه کمپوست شامل سه مرحله است : در مرحله اول موادآلی سریع کمپوست می شوند یعنی موادآلی در دماهای ۵۵ تا ۷۵ درجه سلسیوس توسط باکتری های تر موفیل تجزیه میشوند. بذر علف های هرز و اغلب باکتریها و قارچ ها در طول مدت کمپوست سازی از بین می روند. مرحله دوم ، مرحله ضدعفونی است که همراه با محدودشدن موادآلی برای تجزیه آغاز می شوند.(۱) اگر در یک محیط مغذی چند منبع تغذیه ای وجود داشته باشد باکتریها ابتدا از منبع ساده تر استفاده می کنند. (۲) در طول مدت ضدعفونی دمای توده کمتر از ۴۰ درجه سلسیوس است و کمپوست دارای باکتری های مزوفیل و قارچ هاست، سومین مرحله بلوغ است که بسیار مهم است .

طبق تعریف : کمپوست زمانی به حدبلوغ کامل می رسد که به اندازه کافی ضدعفونی شده باشد بسیاری از پارامترهای کیفی کمپوست از بلوغ آن نشأت می گیرد . (۶)

کمپوست حاوی گونه های متعدد میکروارگانیسم می باشد ، به جهت اینکه شناسایی و شمارش تمامی این عوامل میسر نیست ، لذا از ارگانیسم های شاخص که در جدول ۲ به آنها اشاره شده است استفاده می شود. (۸و۹)

**جدول ۲ - ویژگی های میکروبی کمپوست (۸)**

| ردیف | میکروارگانیسم | حدقابل قبول | روش آزمون |
|---|---|---|---|
| ۱ | کلیفرم مدفوعی | ۱۰۰۰ | MPN/gr |
| ۲ | سالمونلا | ۳ | MPN/4gr |

**مواد و روش ها :**

به منظور ارزیابی میکروبی فرآیند تولید کمپوست ، شناسایی و شمارش میکروارگانسیم های شاخص استاندارد و تغییرات دما آزمایشات گوناگونی در آبان ماه ۱۳۸۸ در محل آزمایشگاه کارخانه کودآلی مشهد انجام پذیرفت. فاکتور مهم فیزیکی مورد ارزیابی در این آزمایش اندازه گیری و کنترل روزانه دمای توده ها بود. محل برداشت نمونه جهت انجام آزمایشات میکروبی و کشت میکروارگانیسم ها در محل معین توده و همان محلی است که اندازه گیری دما انجام گرفته است . آزمایشات میکروبی حداکثر یک ساعت پس از نمونه برداری انجام گرفت .

جهت انجام آزمایشات از وسایل و مواد زیر استفاده شد. دستگاهها شامل : آون، اتوکلاو، انکوباتور، کابینت UV و هود آزمایشگاهی، شعله رومیزی، کلنی کانتر دیجیتال ، میکروسکوپ ، سانتریفوژ ، ترمومتر الکلی و دیجیتال، ترازوی حساس، میکسر برقی و یخچال .

وسایل شامل : بشر ، ارلن مالیر، مزور، لام و لامل ، لوله آزمایش درب دار و لوله دورهام ، پلیت استریل یکبار مصرف، پیپت استریل، ظروف نمونه برداری درب دار استریل، حلقه کشت از جنس پلاتین –اپریدیوم .

برای اندازه گیری فاکتورهای مورد نظر از روشهای استاندارد EPA و انجمن سلامت ایالات متحده استفاده شده است. (۱۰و۵)

مواد مورد مصرف شامل : محیط کشت های : لاکتوز برات (Lactose broth) بلادآگار (blood agar) برلیانت گرین بایل لاکتوز برات (Brilliant – green bile lactose broth) محیط آب پپتونه بدون ایندول (peptone water, indolfree) ائوزین متیلن بلوآگار (EMB agar)،مک کانگی آگار (MC agar)، مک کانگی آگار بدون نمک، XLD آگار، TSI آگار،اوره آگار، لیزین آیرون آگار، TSB براث، محلول رقیق کننده (آب پپتونه بافر) شناساگر ایندول (Kovacs ' reagent) آب مقطر استریل و سرم فیزیولوژی استریل .

نمونه برداری از ۱۸ پایل موجود در سالن شماره ۲ کارخانه کمپوست بطور همزمان در شرایط کاملاً یکسان انجام پذیرفت . بعلاوه یک نمونه کود تولیدی و بالغ و یک نمونه کمپوست در مرحله تولید ثانویه نیز برداشت شد. ابتدا نمونه ها در شرایط استریل کاملاً خرد و مخلوط شد. سپس از نمونه ها رقت های سریالی (۱/۱۰ ، ۱/۱۰۰ ، ۱/۱۰۰۰) تهیه شد. از این رقت ها آزمایش تست احتمالی کلی فرم به روش ۹ لوله ای در محیط کشت لاکتوز براث و دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت زمان ۲+۲۴ ساعت در انکوباتور صورت گرفت . در مرحله تکمیلی در محیط برلیانت گرین بایل لاکتوزبراث و دمای ۴۴ درجه سلسیوس کشت انجام گرفت. از آزمایشات مثبت بر روی EMB آگار کشت داده شد.

در آزمایش شناسایی سالمونلا، مقادیر ۱/۰ ، ۱۰/۰ و ۲۰/۰ میلی لیتر از نمونه همـوژنیزه (معـادل ۰/۱ ، ۱/۰ و ۲/۰ گـرم نمونـه اصـلی) پـس از انتقال به محیط غنی ساز TSB و انجام غنی سازی نمونه برای جداسازی در محیط کشت XLD آگـار کشـت داده شـدند . در مرحلـه بعـدی صفات بیوشیمیایی میکروارگانیسم در محیط کشت های TSI ، LIA و اوره براث مورد بررسی قرار گرفت. آنتی سرم پلی والان ۵ بـرای تائیـد سرولوژیکی بکار گرفته شد. پاتوژن های دیگری نیز مورد بررسی قرار گرفتند :

در بررسی انتروکوک اگرم نمونه خرد و مخلوط شده را با ۱۰ میلی لیتر رقیق کننده استریل مخلـوط کـرده و ۰/۱ میلـی لیتـر از آن را بـر روی بلادآگار حاوی ۶/۵ درصد Nacl کشت داده و به مدت۲+۲۴ ساعت اینکوبه شد.

در بررسی عامل سیاه زخم (با سیلوس آنتراسیس) ۱۰ گرم نمونه کمپوست را با ۵۰ میلی لیتر آب مقطر استریل مخلوط کرده و سوسپانسـیون حاصله را در بن ماری ۷۵ درجه سلیسوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس ۰/۰۱ میلی لیتر آن در شرایط هوازی بر روی محـیط بلادآگـار به مدت ۲+۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلیسوس کشت داده شدو کلنی های فاقد همولیز مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت.

در نهایت ۴ گرم نمونه کود بالغ در ۱۰ میلی متر آب مقطر استریل کاملاً مخلوط سـپس در ۱۵۰۰ دور بـه مـدت ۵ دقیقـه سـانتریفوژ گردیـد. محلول رویی را جدا کرده و دوباره با ۳۰۰۰ دور برای ۱۵ الی ۲۰ دقیقه به نحوی که ۹۵٪ رسوب گذاری صورت پذیرد، سانتریفوژ شد از رسـوب انتهایی گسترش تهیه شد که پس از رنگ آمیزی به روش ذیل نلسون از نظر با سیل اسیدفست (مایکلوباکتریوم) مورد بررسی قرار گرفت .

نتایج :

باکتری های همزیست با انسان و موجودات خونگرم به عنوان شاخصی از بلوغ میکروبی کمپوست می توانند نشانگر تاثیر افزایش دما بر فعالیت میکروارگانیسم ها و از طرفی بیانگر درستی و یا نادرستی مبحث کنترل کیفیت و سلامت کود باشند .

**جدول ۳ : نتایج آزمایشات میکروبی کمپوست**

| | |
|---|---|
| کلی فرم مدفوعی | ۷/۵ * $10^2$ |
| سالمونلا | Negative |
| باسیلوس آنتراسیس | Negative |
| انتروکوک | Negative |
| مایکوباکتریوم | Negative |

**جدول ۴ : عمر توده و میزان دما در پایل های سالن تخمیر**

| شماره پایل | عمر پایل (روز) | دما | شماره پایل | عمر پایل (روز) | دما |
|---|---|---|---|---|---|
| 2/B | ۲۷ | ۶۸ | 3/A | ۲۴ | ۵۹ |
| 4/B | ۲۱ | ۵۹ | ۴ /A | ۲۰ | ۵۷ |
| 5/B | ۱۷ | ۵۵ | ۵ /A | ۱۸ | ۵۳ |
| 6/B | ۱۴ | ۵۳ | ۶/A | ۱۴ | ۵۱ |
| 7/B | ۱۰ | ۴۹ | ۷/A | ۱۰ | ۴۷ |
| 8/B | ۸ | ۴۴ | ۸ /A | ۸ | ۴۵ |
| 9/B | ۴ | ۳۷ | ۹/A | ۷ | ۴۰ |
| 10/B | ۲ | ۳۱ | ۱۰ /A | ۳ | ۳۵ |
| 11/B | ۰ | ۲۵ | ۱۱/A | ۱ | ۲۵ |

در نمونه های اولیه مورد آزمایش باکتری سالمونلا شمارش گردید. اما پس از طی مراحل افزایش دما و در محصول نهایی یافت نشد. با افـزایش دما جمعیت میکروبها نیز متناسب با آن تغییر می کند. ارزیابی باکتری های شاخص و عوامل بیماری زای موجودات خونگرم که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند نشان دهنده آن است که در مراحل ۳ گانه بلوغ کمپوست خصوصاً در فاز افزایش درجه حرارت و فـاز ضـدعفونی ایـن پاتوژن ها از میان رفته اند و میکروارگانیسم های دیگری جایگزین آنها شده اند .

افزایش دمای حاصل از فرآیندهای متابولیکی توده میکروبی موجب مهار و کنترل جمعیت میکروبی می شود. از طرفی زمانی که دما به حداکثر مقدار خود می رسد ، سرعت فعالیت متابولیکی کاهش می یابد که شاید به علت تغییر ساختار پروتئین ها باشد و همانطور که قبلاً اشاره شد بالاترین درجه حرارت قابل تحمل توسط ارگانیسم ها معمولاً درجه حرارتی است که پروتئین های آن در خارج از سلول در آن پایدار شود .

## منابع :


۱- رضی لادن ، اصغرزاده احمد ، ملکوتی محمد جعفر ، کافی محسن (بهار ۱۳۸۴) ، شاخص های کیفی کمپوست سازی، نشریه فنی شماره ۴۱۷ ، انتشارات سنا ، تهران .

۲- ربانی چاوگانی عذرا (پاییز ۱۳۷۹) ، مبانی بیوشیمی ، چاپ دوم. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.

۳- چوبانگلوس جورج، تیسن هیلاری، ویجیل ساموئل (تابستان ۸۸)، مدیریت جامع پسماند.

ترجمه دکتر نعمت ا.. جعفرزاده حقیقی فرد ، دکتر کامیار یغماییان ، مهندس محمد حسینی، مهندس حمیده بهرامی، چاپ اول انتشارات خانیران

۴- جاوتز –ملنیک – آدلبرگ (۱۳۷۹) میکروبیولوژی جاوتز ۹۸ . ترجمه دکتر جمیله نوروزی، موسسه فرهنگی انتشاراتی حیان اباصالح

5- American public health association standard methods for the examination water and wastewater part 9221 , 9222 , 9260. 20 th edition , 2001 .

6- Anonymous (1999). Compost quality assurance program for solvita quality seed (www.woodsend.org)

7- Bach P.D,K.Nakasaki, M.shida and H.kubota 1987 thermal balance in composting operation .j.Ferment thechnol . 65(2) : 199-209

8- Brinton williamf. , ph.D, compost quality standards and Guidelines : An international view , final report , Dec 2000.

9- Lemonier , M.etal : long term Survival of pathogenic and Sanitation indicator bacteria in experimental biowast compost , applied and environmental microbiology , 2005 .

10- USEPA. Method 1682 , Salmonella in Sewage sludge biosolid by modified semisolid rappaport – vassiliadis (MSRV) Medium , july 2006.