

ارزیابی میزان بهسازی خاک های آلوده هیدروکربنی در مخزن با استفاده از روش زیست تزریق رسوب کلسیم کربنات در خاک های شل و متراکم ماسه ای

محمدتقی بلوری بزاز^۱، جعفر بلوری بزاز^{۲*}

پذیرش مقاله: ۹۹/۰۶/۰۳

دریافت مقاله: ۹۸/۰۶/۲۰

چکیده

آلاینده های هیدروکربنی، علاوه بر این که همواره به عنوان یکی از مخاطرات اصلی محیط زیست به شمار می روند، در خاک های ماسه ای آلوده شده، پارامترهای مقاومتی آن را کاهش داده و به صورت یک خطر زیست محیطی و مهندسی در طبیعت رها می شوند. راهکارهای زیادی برای بهپالایی و بهسازی اینگونه از خاک ها مورد بررسی قرار گرفته است. در پژوهش حاضر، بهسازی خاک های آلوده به دو نوع هیدروکربن (روغن موتور و گازوئیل) با استفاده از روش تزریق مواد زیستی بر پایه سویه باکتری *Sporsarcina pasteuri* و سپس رسوب کردن کلسیم کربنات در یک مخزن با اتکا بر نفوذ ثقلی مواد بهسازی میکروبی انجام شده است. اثرات تراکم و بازدارندگی هیدروکربن ها در مواجهه با میکروارگانیسم ها (با استفاده از نتایج آزمون بازدارندگی دیسکی) از جمله مواردی است که بر میزان و نحوه بهسازی مؤثر بوده و بهسازی با هر درجه ای از موفقیت در خاک های آلوده هیدروکربنی صورت پذیرفته است. بدین ترتیب نتایج فرآیند بهسازی پس از تزریق مورد بررسی قرار گرفتند و مشخصا با توجه به بازدارندگی زیاد روغن موتور نسبت به گازوئیل، فرآیند بهسازی در این آلاینده کمتر از گازوئیل بود. همچنین بیشترین بهسازی زیستی در خاک فاقد آلاینده رخ داد.

کلید واژه ها: آلاینده هیدروکربنی، پارامترهای مقاومتی، بهسازی میکروبی، ترسیب کلسیم کربنات و *Sporsarcina pasteuri*

۱. دانشجوی دکتری مهندسی عمران، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲. عضو هیات علمی گروه مهندسی عمران، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران bolouri@um.ac.ir

* مسئول مکاتبات

۱. مقدمه

بهسازی خاک‌ها به ویژه خاک ماسه‌ای بد دانه بندی شده، با استفاده از روش‌های مؤثر و پایدار در بحث‌های زیست محیطی از جمله مهم‌ترین دستاوردهای ژئوتکنیکی است. نتایج مطالعات قبلی، پتانسیل بیشتری برای کاوش در کاربردهای وسیع‌تر روش‌های میکروبی در مهندسی ژئوتکنیک و بهسازی خاک‌ها نشان داده است (Umar et al., 2016). در فرآیند میکروبی بهسازی خاک با استفاده از رسوب کلسیم کربنات □ فرآیند شیمیایی رخ داده که اوره توسط باکتری‌های اوره‌از (که گونه‌ای از باکتری با تجزیه اوره است) به یون‌های آمونیوم و کربنات تجزیه و یون کربنات تولید شده با یون کلسیم واکنش داده و به عنوان کریستال‌های کلسیم کربنات رسوب می‌کنند (Cheng et al., 2016). در این روش، پیوند توده‌های خاک با کلسیم کربنات تولید شده در حین فرآیند میکروبی، سبب افزایش پارامترهای مقاومتی خاک می‌شود (DeJong et al., 2010). افزایش مقاومت برشی (Lin et al., 2015)، سختی برشی (Martinez et al., 2013) و زاویه اتساع در ماسه‌های بهسازی شده با استفاده از روش بهسازی میکروبی رسوب کلسیم کربنات (Montoya et al., 2013) دیده شده است.

از طرفی دیگر □ آلودگی خاک توسط نشت مواد و مشتقات نفتی ممکن است بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی آن تأثیر بگذارد (Nasehi et al., 2016). به طور کلی، حضور مواد هیدروکربنی مانند روغن یا گازوئیل، سبب کاهش زاویه اصطکاک داخلی خاک‌های دانه‌ای می‌شود (Abousnina et al., 2016, Shin and Das, 2000, Puri, 2000, Ghaly, 2001, Shin and Das, 2001, Ratnaweera and Meegoda, 2005). باید توجه داشت چسبندگی اندکی که خاک‌های دانه‌ای مانند SP و SM آلوده شده به مواد هیدروکربنی از خود نشان می‌دهند به دلیل افزایش چسبندگی ظاهری بین ذرات خاک‌ها به واسطه حضور مواد آلاینده است (Khomehchiyan et al., 2007).

روش‌های میکروبی برای اولین بار در سال ۲۰۱۷ در بهسازی خاک‌های آلوده شده به هیدروکربن که در آن با استفاده از

فلوکه باکتری، بهسازی خاک آلوده به روغن با موفقیت نسبی انجام پذیرفت (Cheng and Shahin, 2017). در این پژوهش، فرآیند بهسازی بر روی نمونه‌های تک محوره و به صورت محدود انجام شده است. یکی از مهم‌ترین رخدادهای در پژوهش بهسازی میکروبی، کاهش میزان ترسیب، با دور شدن از نقطه تزریق سوسپانسیون باکتری است. تشکیل سریع بلورهای کلسیم کربنات بخصوص در نقطه تزریق، مانع از انتقال مواد بهسازی، به نقاط دورتر نمونه می‌شود (Achal et al., 2009). دلیل دیگر تجمع بلورهای کلسیم کربنات در قسمت سطحی نمونه‌ها، نزدیک بودن آن به محیط آزاد اکسیژن است (Zhao et al., 2014). بنابراین در فرآیندهای صنعتی سازی استفاده از روش‌های میکروبی، یکی از مهم‌ترین موارد قابل بررسی، عمق تأثیر مواد باکتریایی در خاک‌ها، به ویژه خاک‌های آلوده به هیدروکربن می‌باشد. در واقع فرآیند ترسیب از علل کاهش نفوذپذیری در خاک‌های تیمار شده با روش میکروبی است (Ivanov and Chu, 2008, ASTM-D422-63, 2007).

همان‌طور که بیان شد، تاکنون آنچه در ارتباط با خاک‌های آلوده و هیدروکربنی مورد بررسی قرار گرفته است، مقایسه پارامترهای خاک سالم و خاک آلوده شده با هیدروکربن بوده و بهسازی به روش میکروبی در این گونه از خاک‌ها مورد ارزیابی قرار نگرفته است؛ هم‌چنین نحوه انتشار مایع منفذی مربوط به سوسپانسیون باکتری بهسازی در خاک‌های آلوده شده نیز مورد توجه قرار نگرفته است. در پژوهش حاضر علاوه بر اینکه نحوه انتشار مواد بهسازی میکروبی در محیط آلوده شده به مواد هیدروکربنی مورد بررسی قرار گرفت، میزان کلسیم کربنات تولید شده در اعماق پس از انجام تزریق و تکمیل فرآیند کربناتسیون در ماسه آلوده اندازه گیری و برای اولین بار با استفاده از روش میکروبیولوژی بازاریاندگی دیسکی، تحلیل و بررسی انجام شده است.

در همین راستا مخزنی جهت انجام مراحل تزریق سوسپانسیون باکتری به خاک آلوده ساخته شد تا بتوان پس از فرآیند کربناتسیون میزان CaO اندازه گیری و نیز با

جدول ۱. مشخصات شیمیایی خاک مورد آزمایش حاصل از آنالیز طیف سنجی فلورسانس اشعه ایکس

Mineral types (%)	
SiO ₂	95.22
Al ₂ O ₃	0.58
Na ₂ O	0.03
MgO	0.71
K ₂ O	0.01
TiO ₂	0.11
MnO	0.04
CaO	0.71
P ₂ O ₅	0.02
Fe ₂ O ₃	1.72
SO ₃	0.001
LOI	0.42

جدول ۲. مشخصات فیزیکی ماسه فیروزکوه

Physical Parameters	Values
Gs	2.658
e _{max}	0.94
e _{min}	0.60
D ₁₀ (mm)	0.167
D ₆₀ (mm)	0.40
Cc	1.01
Cu	2.39

۲-۲. آلاینده

برای آلوده نمودن نمونه‌های محیط خاکی، از دو نوع آلاینده هیدروکربنی شامل گازوئیل و روغن موتور که ویژگی شیمیایی آن‌ها در جدول ۳ آمده، استفاده شده است.

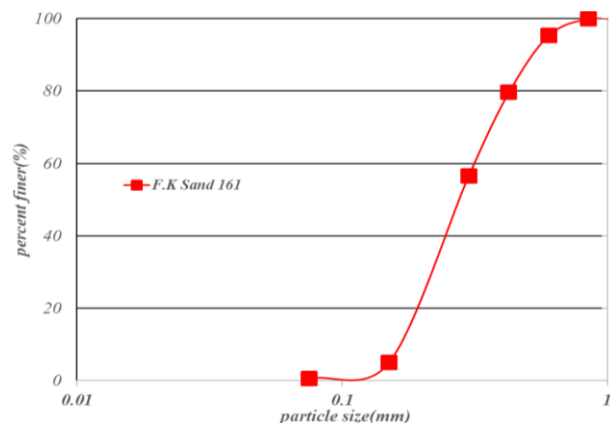
نمونه‌گیری دست نخورده از خاک بهسازی شده، پارامترهای مقاومتی خاک آلوده شده به گازوئیل و روغن موتور، ارزیابی گردد.

۲. مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از ماسه (که در مخزن شیشه‌ای ریخته شده) و دو نوع آلاینده هیدروکربنی رایج (روغن موتور و گازوئیل) به عنوان آلاینده محیط خاکی و نیز سویه باکتری *Sporsarcina Pasteuri* جهت بهسازی خاک آلوده استفاده شده که جزئیات آن در زیر شرح داده شده است.

۱-۲. خاک

خاک مورد استفاده در پژوهش حاضر ماسه ۱۶۱ فیروزکوه ایران که نحوه توزیع دانه‌بندی آن در شکل ۱ نشان داده شده است (ASTM-D422-63, 2007). رده‌بندی این ماسه بدانه-بندی شده یا SP (Stevens, 1982) است. هم‌چنین نتایج حاصل از طیف سنجی فلورسانس اشعه ایکس جهت ارزیابی میزان کانی‌ها و سایر مشخصات این ماسه به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است.



شکل ۱. نمودار دانه بندی ماسه فیروزکوه ۱۶۱ در مقایسه با ماسه‌های استفاده شده در سایر پژوهش‌ها

جدول ۳. مشخصات مایعات آلاینده

Flash and Fire Points (°C)	Kinematic Viscosity (mm ² /s) [ASTM D 2270:2004]		Liquid
	100°C	40°C	
[ASTM D 92-05a]	[ASTM D1310]		
-	217	17.82	165.23
75	-	-	3.05
			Motor Oil
			Gasoline

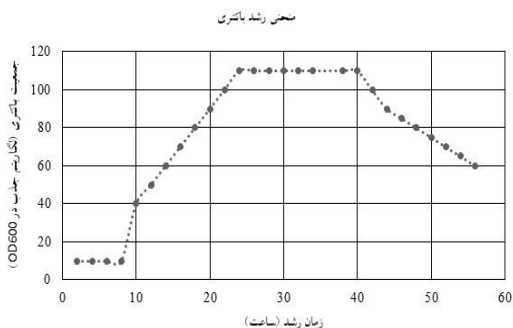
۳-۲. کشت و رشد سویه باکتری

سویه اصلی باکتری *Sporsarcina Pasteuri* ATCC11859

می‌باشد که دارای اوره‌آزی بالایی بوده و از بانک میکروارگانیزم ایران تهیه شده است. مراحل کشت و آماده سازی سوسپانسیون باکتری به شرح زیر شد:

- تهیه محیط کشت جامد Nutrient Agar
- اتوکلاو نمودن ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت جامد به مدت ۱۵ دقیقه
- اضافه کردن اوره ۲۰٪ به محیط کشت از طریق فیلتر کردن (ابتدا آب مقطر استریل و سپس با اوره مخلوط می‌گردد)
- ریختن محیط کشت در پلیت، کشت باکتری و قرار دادن پلیت در انکوباتور
- تهیه و اتوکلاو کردن محیط کشت مایع که ترکیبی از ۲۰ گرم عصاره مخمر (Yeast Extract)، ۱۷ مولار کلرید آمونیوم (NH₄Cl)، ۰/۱ میلی مولار کلرید نیکل (NiCl₂) و ۲۰ گرم اوره (CO(NH₂)₂) در یک لیتر آب مقطر است.
- رساندن اسیدیته محیط کشت به حالت بازی (pH=۹/۲۵)
- کشت باکتری در محیط مایع و قراردادن آن داخل شیکر انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت با سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه. منحنی رشد باکتری طبق نمودار شکل ۲ ارائه شده است.

- بررسی جمعیت باکتری با استفاده از آزمون اسپکتوفوتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر و استفاده از سوسپانسیون باکتری هنگامی که دانسیته نوری در طول موج مذکور معادل ۲/۲۵ باشد.



شکل ۲. نمودار رشد باکتری در محیط کشت مایع

بر حسب زمان

در توضیح موارد فوق، باید اشاره نمود که استفاده از نیکل کلرید، برای تکمیل فرآیند شیمیایی محیط کشت، جهت آزاد نمودن آنیون کلرید برای ترکیب شدن آن با آمونیم و در نهایت خروج آمونیوم کلرید از واکنش نهایی می‌باشد. در واقع حضور ترکیب نیکل کلرید، تسریع و بهبود فرآیند رسوب کلسیم کربنات را بدنبال خواهد داشت. از طرفی باید دانست، باکتری مورد استفاده در پژوهش (*Sporsarcina Pasteuri*) از گونه قلیادوست بوده، بنابراین محیط کشت آن نیز باید دارای اسیدیته بازی باشد؛ با این وجود، تولید کلسیم کربنات در محیط خاکی یا آبی، پس از رشد و افزایش جمعیت باکتری، در محیط‌های با اسیدیته پائین‌تر نیز امکان‌پذیر است. بیشترین زمان رشد باکتری مذکور، در بازه زمانی ۲۴ تا ۴۰ ساعت می‌باشد (منحنی رشد شکل ۲).

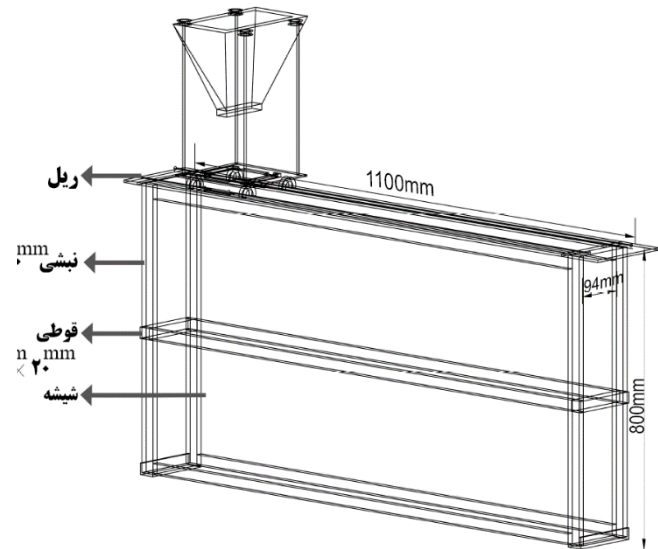
۴-۲. مخزن

مخزن مورد استفاده در این پژوهش مطابق شکل ۳، دارای جداره شیشه‌ای به ضخامت ۷ میلیمتر و ابعاد ۹۴ در ۱۱۰۰ میلیمتر و ارتفاع ۸۰۰ میلیمتر بوده است. سطح شیشه مخزن، امکان ردیابی نحوه و میزان نفوذ مایع سوسپانسیون و نیز نحوه

داخل مخزن از کف آن، ارتفاع سقوط نیز قابل تنظیم و ثابت نگه داشتن نسبت به محل قرارگیری ماسه است. پس از انجام آزمون‌های متوالی، ارتفاع سقوط ماسه مورد نیاز برای تراکم های ۷۵٪ و ۵۰٪ ماسه خشک و همچنین ضخامت مورد نیاز برای شکاف خروج ماسه در نظر گرفته شد.

با توجه به این که امکان استفاده از دستگاه بارش برای ریختن ماسه‌های آلوده به مایع‌های آلاینده در مخزن وجود ندارد، پس از پهن کردن هر لایه ماسه آلوده به هیروکربور مورد نظر به ضخامت حدود ۵ سانتیمتر، فرآیند کوبش (با استفاده از کوبه چوبی به ابعاد ۵×۵ سانتیمتر) تا رسیدن به دانسیته مورد نظر ادامه می‌یابد.

تشکیل رسوب را به آسانی فراهم می‌آورد.



شکل ۳. تصویر شماتیک از مخزن و اجزا و ابعاد آن

۳. آماده سازی نمونه‌ها

۱-۳. پر کردن مخزن

به منظور آماده سازی مخزن جهت انجام آزمون، ابتدا ۳۵ سانتیمتر از کف مخزن با ماسه خشک دارای دانسیته نسبی ۷۵٪ و سپس بسه به نوع آزمون تا ارتفاع ۶۵ سانتیمتری از کف، با ماسه خشک معمولی یا ماسه آلوده شده به روغن موتور یا ماسه آلوده شده به گازوئیل پر شده است. لازم به ذکر است که برای پر کردن مخزن از ماسه خشک از روش بارش و برای ماسه آلوده شده از روش تراکم و با استفاده از کوبه با ابعاد ۵×۵ سانتیمتر و ریختن ماسه آلوده با لایه‌های به ضخامت ۵ سانتیمتر و کوبیدن آن تا رسیدن به تراکم مورد نظر استفاده شده است.

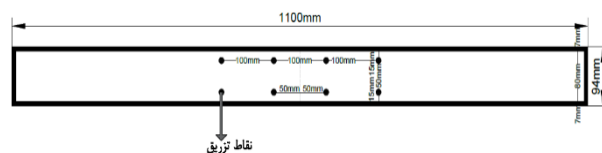
روش بارش، روشی مناسب برای رسیدن به تراکم مورد نظر در ماسه‌های خشک می‌باشد. عوامل موثر بر میزان تراکم تابع ارتفاع بارش ماسه و ضخامت شکاف دستگاه بارش ماسه است. دستگاه بارش که تصویری از آن در شکل ۴ آمده است، برای ریختن ماسه در یک مخزن با هر میزان تراکم در دانشگاه فردوسی مشهد ساخته و کالیبره شده است. ارتفاع مخزن بارش به گونه‌ای قابل تنظیم است که با افزایش ارتفاع ماسه



شکل ۴. تصویری از مخزن خاک و دستگاه بارش

۲-۳. روش بهسازی به کمک رسوب کلسیم کربنات

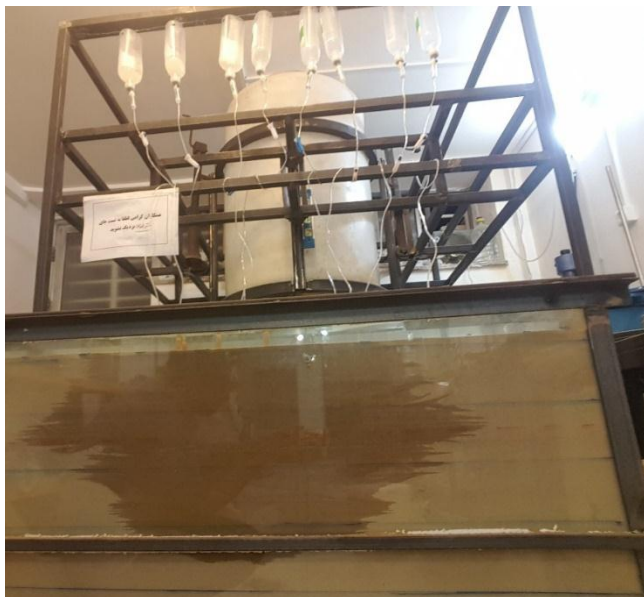
فرآیند بهسازی میکروبی در این پژوهش به صورت تزریق در خاک از طریق ۸ نقطه به فاصله ۱/۵ سانتیمتر از جداره دیواره مخزن و فاصله ۱۰ سانتیمتر از یکدیگر در طول آن می‌باشد. آرایش قرارگیری نقاط نسبت به یکدیگر، جداره مخزن و مرکز آن در شکل ۵ نمایش داده شده است.



شکل ۵. آرایش قرارگیری نقاط تزریق در سطح مخزن

با توجه به اینکه این پژوهش برای بهسازی خاک زیر پی‌های نواری بوده است، لازم بود به نحوی اندرکنش بین خاک بهسازی شده و بهسازی نشده توسط مواد میکروبی ملاحظه گردد. بدین ترتیب، در حد فاصل ۳۰ سانتیمتر در مرکز مخزن، فرآیند بهسازی انجام شد. همچنین باید به این موضوع توجه داشت که در یک فرآیند بهسازی، هیچ‌گاه بهسازی تمام محیط امکان‌پذیر نیست و فقط یک قسمت به عنوان قسمتی که دارای بیشترین تنش یا بیشترین آلاینده باشد، برای بهسازی انتخاب و با توجه به هزینه بهسازی، فرآیند میکروبی انجام می‌شود.

پس از ورود باکتری (معادل ۴ لیتر سوسپانسیون باکتری) و تثبیت آن به مدت حداقل ۱۲۰ دقیقه، تزریق محلول سیمانتاسیون در نقاط مشخص شده انجام شده است؛ تثبیت در این متن به معنای عدم حرکت محلول باکتریایی در خاک و نشستن آن بر روی دانه‌های خاک است؛ در واقع، پس از گذر زمان تثبیت، حرکت محلول در خاک و اعماق آن مشاهده نمی‌شد. بنابراین از هیچ محلول یا افزودنی برای تثبیت باکتری استفاده نشده است و فقط پس از گذر زمان، محلول سیمانتاسیون به خاک افزوده شد. این محلول، حاوی یک مولار کلسیم کلرید و اوره در یک لیتر آب مقطر استریل معادل حجم سوسپانسیون باکتری تزریق شده به خاک در مرحله اول است. پس از ۴۸ ساعت، فرآیند تزریق محلول سیمانتاسیون تکرار شده و این فرآیند در ۵ مرحله انجام گردید. مطابق شکل ۶، تزریق در نقاط با استفاده از سرم‌هایی که در ارتفاع ثابت ۱۰۰ سانتیمتر از سطح خاک (نقطه تزریق) قرار گرفته بودند و با سرعت تقریبی و قابل کنترل ۷۵ میلی‌لیتر بر دقیقه انجام شده است. با اتمام فرآیند بهسازی، مقدار تخلخل خاک از ۰/۷۸ به ۰/۶۳ کاهش یافت.



شکل ۶. تصویر مخزن و سرم‌های تزریق

۳-۳. روش نمونه‌گیری

از مهم‌ترین عوامل در انجام فرآیند بررسی و پژوهش □ تأثیر وضعیت بهسازی خاک‌ها با روش‌های میکروبی، نمونه‌گیری مناسب و تا حد امکان دست‌نخورده از نمونه‌ها است. در این پژوهش نمونه‌گیری و تهیه نمونه برای انجام دو آزمون زیر بود:

- آزمون برش مستقیم برای خاک‌های بهسازی شده جهت ارزیابی پارامترهای مقاومتی
- آزمون شیمی‌تر برای محاسبه میزان کلسیم کربنات ترسیب شده

بدین ترتیب، برای آزمون برش مستقیم، در عمق ۵ سانتیمتری از سطح خاک و دقیقاً در مرکز مقطع مستطیلی مخزن، قالب نمونه‌گیری برش مستقیم با ابعاد ۶*۶ برای نمونه‌گیری جهت آزمون برش مستقیم قرار داده شد و فرآیند پر کردن مخزن ادامه یافت. بدین ترتیب، با پایان آزمون و زمان ۱۴ روزه، نمونه‌هایی جهت انجام آزمون برش مستقیم در ۳ تنش مختلف در اختیار قرار گرفتند. محل قرارگیری قالب‌های برش مستقیم برای آزمون برش مستقیم در شکل ۷ و همچنین یکی از نمونه‌های خارج شده از داخل عمق خاک پس از خروج

جدول ۴. برنامه آزمون ها

Sample Code	Density	Kinds of sand on upper layer
S75	75%	Sand without contamination
S50	50%	
M75	75%	Sand Contaminated with 6% Motor Oil
M50	50%	
G75	75%	Sand Contaminated with 6% Gasoline
G50	50%	

همچنین آزمون های انجام شده پس از فرآیند بهسازی به شرح زیر است:

۱- آزمون بازدارندگی دیسکی (Bauer et al., 1966)

جهت تعیین میزان حساسیت باکتری ها به مواد آلاینده حاضر در محیط کشت،

۲- آزمون برش مستقیم (ASTM-D2166, 1999) جهت

تعیین پارامترهای مقاومتی خاک بهسازی شده،

۳- تحلیل شیمی تر جهت تعیین میزان $CaCO_3$ تشکیل

شده در اعماق مختلف پس از انجام فرآیند بهسازی.

۵. بحث و تحلیل نتایج

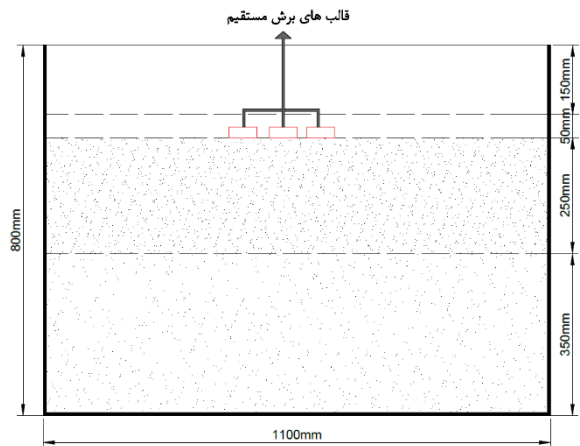
۵-۱. آزمون بازدارندگی دیسکی

روش های مختلفی برای تعیین حساسیت باکتری ها به آلاینده ها وجود دارد که در این پژوهش از آزمون بازدارندگی دیسکی (Disk Diffusion) که مراحل انجام آن در زیر آمده □

استفاده شده است (Bauer et al., 1966):

- تهیه محیط کشت جامد و کشت باکتری به صورت چمنی
- آغشته کردن دیسک شاهد به آب و دو دیسک مورد آزمایش هر یک به محلول رقیق شده روغن و گازوئیل به مدت ۱۵ دقیقه
- قرار دادن دیسک ها در داخل پتری (با دمای ثابت ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت) جهت کشت.

قالب در شکل ۸ مشخص شده است.



شکل ۷. محل قرارگیری قالب های برش مستقیم در مخزن

خاک و در عمق ۵ سانتیمتری



شکل ۸. نمونه اخذ شده با قالب ۶ سانتی متر × ۶ سانتی متر

دستگاه برش مستقیم از عمق خاک پس از بهسازی جهت انجام آزمون

در مورد نمونه های شیمی تر، جهت محاسبه میزان کلسیم کربنات، ۵۰ نقطه به عنوان نماینده داخل مخزن مشخص و از آن ها نمونه گیری و برای آزمون شیمی تر انتخاب شدند.

۴. برنامه آزمون ها

آزمون های انجام شده در تحقیق حاضر بر روی شش حالت مختلف مخزن پر شده و در قالب سه آزمون کلی انجام پذیرفت. شش حالت مختلف به شرح جدول ۴ می باشد:

به تنهایی می‌تواند عامل مهمی در کاهش موفقیت عملیات بهسازی میکروبی باشد.

۵-۲. آزمون برش مستقیم

جهت تعیین پارامترهای مقاومتی ماسه معمولی، ماسه آلوده و ماسه آلوده بهسازی شده، پس از خارج نمودن نمونه‌ها از قالب نمونه‌گیری و استقرار در دستگاه برش مستقیم و اعمال تنش قائم ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلو پاسکال مورد آزمایش قرار گرفتند که نتایج آن در جدول ۵ آورده شده است.

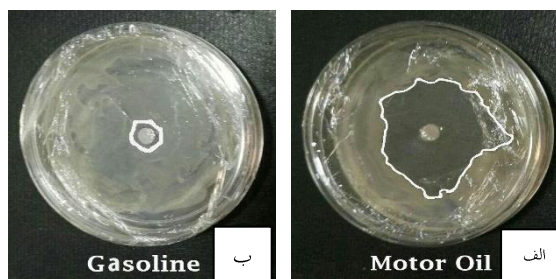
جدول ۵. نتایج آزمون برش مستقیم قالب های مدفون

C (kPa)	ϕ (°)	Sample Code
0	38	Normal Sand
630	52	S75
496	49	S50
33	20	M75
21	19	M50
17	29	G75
12	28	G50

بهبود پارامترهای مقاومت برشی در پژوهش‌های زیادی پس انجام فرآیند بهسازی میکروبی گزارش شده است. در این پژوهش، پس از انجام فرآیندهای میکروبی و گذر زمان ۱۴ روز، نمونه‌های خارج شده از زیر عمق خاک بهسازی شده، به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه قرار گرفتند.

در ادبیات فنی، بررسی مقاومت برشی خاک‌های بهسازی شده میکروبی فقط در خاک‌های فاقد آلاینده انجام شده و افزایش پارامترهای مقاومتی تا حدود نتایج مندرج در ردیف دوم و سوم جدول ۵ در کارهای (Cheshomi et al., 2018) و (Azadi et al., 2017) نیز مشاهده شده است. در پژوهش (Azadi et al., 2017) مشابه پژوهش حاضر، نمونه‌ها پس از خشک شدن کامل تحت برش قرار گرفتند؛ که این خود سبب بهبود وضعیت اتصالات ایجاد شده بین دانه‌ها است. (Feng and Montoya, 2015) نیز بهبود پارامترهای مقاومت برشی را پس از بهسازی در آزمون برش مستقیم مشاهده کردند، با این تفاوت که نمونه‌ها قبل از انجام آزمون برش خشک نشده

- بررسی هاله‌های ایجاد شده اطراف دیسک‌ها و مقایسه با دیسک شاهد
 - ایجاد هاله بازدارنده اطراف دیسک آغشته به روغن موتور به اندازه ۱۲/۵ میلیمتر
 - ایجاد هاله بازدارنده اطراف دیسک آغشته به گازوئیل به اندازه ۵ میلیمتر
- درفرآیند بازدارندگی دیسکی، دیسک شاهد با دیسک‌های آلوده شده به محلول رقیق شده از آلاینده‌های هیدروکربنی مورد مقایسه قرار گرفته و سپس همه دیسک‌ها بر روی محیط کشت قرار می‌گیرند (Sandle, 2016). مطابق شکل ۹ □ پس از انجام آزمون، با توجه به نتایج می‌توان دریافت که بازدارندگی روغن موتور نسبت به گازوئیل بیشتر بوده و نوعی فعالیت آنتی بیوتیکی اطراف آن دارد. گواه این موضوع نیز، وجود دایره روشن اطراف دیسک آلوده به روغن موتور با قطر حدود ۱۲/۵ میلیمتر است.



شکل ۹. نتایج آزمون بازدارندگی؛ الف: هاله بازدارندگی اطراف دیسک روغنی و ب: هاله بازدارندگی اطراف دیسک گازوئیلی

با توجه به اندازه هاله بازدارندگی اطراف دیسک، می‌توان به ارزیابی میکروارگانیزم در برابر آلاینده با سه دسته‌بندی حساس، متوسط و مستعد و مقاوم پرداخت (CLSI, 2009). بر همین مبنای، *Sporsarcina Pasteuri* در برابر گازوئیل در دسته بندی متوسط و مستعد و در برابر روغن در دسته بندی حساس قرار می‌گیرد. طبق پیش‌بینی، آلاینده‌ها از خود خاصیت بازدارندگی بالایی را نشان می‌دهند که این موضوع

بودند.

جهت تحلیل بهتر نتایج بهسازی میکروبی خاک های ماسه ای آلوده به هیدروکربن در خاک ها با دو نوع تراکم، تاثیر آلاینده، نوع مایع منفذی و اثر تراکم به شرح موارد زیر بررسی شدند:

- تاثیر آلاینده ها: به طور کلی، در فرآیند بهسازی میکروبی، یکی از مهم ترین مراحل، چسبیدگی باکتری پس از تزریق (قبل از تزریق محلول سیمانتاسیون) به دانه خاک است تا پس از مجاورت با محلول سیمانتاسیون، پل کلسیتی بین دانه ها به وجود آمده و بهسازی تکمیل شود. با حضور آلاینده ها بین دانه ها □ دو رخداد قابل بررسی است: الف) فرآیند بازدارندگی □ همان طور که اشاره شد، بازدارندگی روغن نسبت به گازوئیل بیشتر بوده اما هر دو خاصیت بازدارندگی دارند. ب) فقط سلول های باکتریایی آب گریز مایل به اتصال به سطوح آب گریز هستند (Rosenberg, 2006). سطوح آلوده شده، آب گریز هستند. این موضوع اثر منفی بر فرآیند ثبات و بی حرکتی میکروارگانیسم روی دانه خاک جهت شروع و انجام فرآیند بهسازی میکروبی دارد (Cheng et al., 2016).

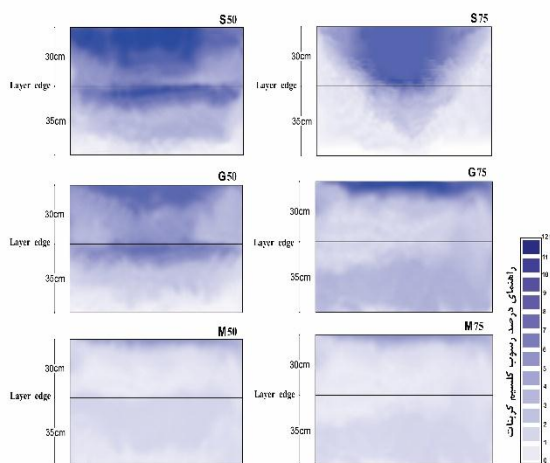
- اثر تراکم: ماسه ها، فارغ از نوع آلودگی، در دو تراکم نسبی متفاوت در لایه فوقانی قرار گرفته اند. آنالیز وضعیت دانه ها به صورت میکروسکوپی، لازمه نتیجه گیری صحیح است. در مورد ماسه های با تراکم بالا، با توجه به فاصله کم دانه ها از یکدیگر، سریعاً چسبیدگی میکروارگانیسم های سوسپانسیون به دانه ها رخ داده، سپس با اضافه شدن محلول سیمانتاسیون، پل های اتصال بین دانه های خاک بوجود می آید. در هر صورت رسیدن سوسپانسیون و محلول سیمانتاسیون، سبب به وجود آمدن کلسیم کربنات بین دانه های خاک (خواه متصل یا غیر متصل) می شود. توضیح فرآیند فوق □ بدون در نظر گرفتن آلاینده و نوع آن است. در ماسه های خشک،

با بهترین شرایط، پل های کربناتسه □ اتصال بین دانه ها را برقرار می کنند. حال آنکه در ماسه های آلوده شده، با وجود اثر بازدارندگی و آب گریزی آنها، در تراکم بالاتر، حجم زیادی از کلسیم کربنات بدون اتصال یا با اتصال ضعیف بین دانه ها تشکیل و همین موضوع سبب بهبود پارامترهای مقاومتی در خاک های آلوده می شود.

- اثر وجود مایع منفذی: در مورد ماسه های آلوده، با اضافه شدن آلاینده به خاک، نفوذپذیری آنها کاهش می یابد (Khamehchiyan et al., 2007, Nazir, 2011)، بنابراین میزان نفوذ مایع سوسپانسیون و سیمانتاسیون در خاک کاهش یافته، حجم زیادی از تولید کربنات کلسیم در سطح بوجود می آید. با توجه به نزدیکی قالب های برش به سطح نمونه، افزایش پارامترهای مقاومتی قابل پیش بینی است. در مورد خاک های ماسه ای، از جمله مهم ترین عوامل در نحوه رفتار آنها حین برش، ویسکوزیته مایع متخلخل (به خصوص در مورد مایعات هیدروکربنی) درون آنها است (Meegoda and Ratnaweera, 1994). کشش سطحی مایع حفره ای در محیط های خاک های دانه ای، چسبندگی حین برش را ایجاد می کند (Mitarai and Nori, 2006). بنابراین می توان وجود چسبندگی در نمونه های آلوده شده را علاوه بر فرآیند کربناتاسیون به حضور مایع حفره ای ویسکوز نیز وابسته دانست. از طرفی ویسکوزیته بالاتر روغن نسبت به گازوئیل دلیل بالاتر بودن چسبندگی در نمونه های روغنی بوده است.

۳-۵. آزمون شیمی تر

شیمی تجزیه شاخه ای از دانش بنیادین شیمی است که به مطالعه روش های جداسازی، شناسایی و بررسی کمی اجزای طبیعی یا مصنوعی یک ماده می پردازد. به همین منظور نیز باید به نحوی نمونه برداری از خاک های بهسازی شده در نقاط



شکل ۱۰. میزان نسبی درصد جرمی کلسیم کربنات تولید شده در فرآیند بهسازی میکروبی در مخارن خاک سالم و آلوده

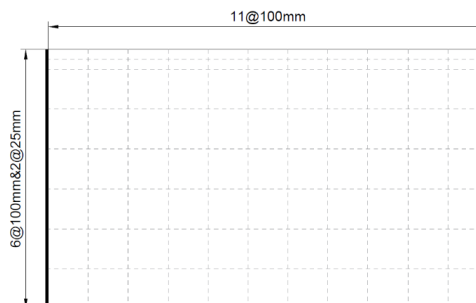
۶. نتیجه گیری

- ارزیابی بهسازی خاک آلوده هیدروکربنی با استفاده از روش زیستی در یک مخزن، شروعی برای پژوهش‌ها در حوزه رفع مشکلات مهندسی خاک های آلوده با استفاده از روش هایی سازگار با محیط زیست است.
- در تمام نمونه ها، در سطوح اولیه تزریق فرآیند ترسیب انجام و درصد بالایی از کربنات کلسیم تولید می شود.
- پراکندگی و توزیع $CaCO_3$ در ماسه با دو تراکم مختلف، متفاوت است، بدین صورت که در ماسه‌های با تراکم بالاتر، به علت گیر افتادگی باکتری، در تزریق اولیه، در لایه‌های اول، فرآیند ترسیب سریعاً انجام شده و با هر بار تزریق مایع سیمانتاسیون، شکافت پوسته کاتیونی در باکتری‌های گیر افتاده در لایه های ابتدایی رخ داده و فضا تنگ تر می شود.
- میزان ترسیب در نمونه‌های آلوده شده به روغن موتور نسبت به گازوئیل بسیار کمتر است؛

مختلف آن انجام و با توجه به درصد تولید کربنات کلسیم در خاک نمایشی از آن به تصویر درآید. به همین منظور نیز شبکه بندی طبق شکل ۱۰ انجام گردید.

برای تعیین میزان کلسیم کربنات تولید شده، پس از ترسیب، پس از هر آزمون، از مرکز هر کدام از شبکه‌های مشخص شده در شکل ۱۰، یک نمونه برای انجام آزمون شیمی تر برداشته و میزان کربنات کلسیم آن مشخص شد. بیشترین درصد جرمی تولید شده، مربوط به سطح تزریق شده ماسه فاقد آلودگی با تراکم ۷۵٪ به میزان ۱۲/۹٪ بود. پس از مشخص شدن درصد ترسیب مرکز هر شبکه، با استفاده از نرم افزار اتوکد، میزان نسبی درصد جرمی تولید شده، با هاشور اسپری و به صورت دقیق مشخص و شکل‌های ۱۱ بدست آمده است.

در ماسه‌ها با دولایه متفاوت از تراکم، سوسپانسیون باکتری و محلول سوسپانسیون، پس از نفوذ و گذر از لایه با تراکم اولیه کمتر (لایه بالایی با تراکم نسبی ۵۰٪) به محض رسیدن به لایه ماسه سالم با تراکم بالا، فرآیند ترسیب میکروبی، مجدداً با گیر افتادن باکتری‌ها در شروع لایه خاک سالم با تراکم ۷۵٪ انجام شده و ملاحظه می‌گردد، در همین مرز درصد بالایی از رسوب کلسیم کربنات وجود دارد. در تمامی مخزن‌های آلوده، فرآیند بازدارندگی آلاینده‌ها در لایه آلوده دیده می‌شود. بلافاصله پس از اتمام لایه آلوده، شروع ترسیب در لایه متراکم و سالم صورت می‌پذیرد این موضوع حین خارج کردن نمونه‌های خاک از سطح به عمق مخزن به وضوح قابل رویت و ملاحظه می‌باشد.



شکل ۹. شبکه بندی مخزن برای نمونه گیری آزمون شیمی تر

- با توجه به نتایج فوق، مهم‌ترین نکاتی که باید برای صنعتی‌سازی استفاده از روش بهسازی زیستی در خاک‌های آلوده هیدروکربنی باید موارد زیر مورد توجه قرار گیرد : ۱- استفاده از هر عامل کاهش‌دهنده بازدارندگی مواد هیدروکربنی در مقابل میکروارگانیزم عامل بهسازی، ۲- استفاده از محیطهای کشت ارزان‌تر جهت ایجاد صرفه اقتصادی در فرآیند صنعتی‌سازی، ۳- بررسی میزان تاثیر میکروارگانیزم بر تجزیه زیستی اجزای مواد هیدروکربنی.
- بازدارندگی دیسکی بالاتر روغن نسبت به گازوئیل از مهمترین عوامل این رخداد است.
- افزایش میزان پارامترهای مقاومتی به صورت قابل توجهی در نمونه‌های با تراکم بالا در سطح رخ داد. بدین معنا که اگر نمونه‌گیری برای انجام آزمون برش مستقیم در عمق‌های زیرین انجام می‌شد، احتمال افزایش میزان پارامترهای مقاومتی کاهش می‌یابد.

منابع

- Abousnina, R. M., Manalo, A., Shiau, J. & Lokuge, W. 2016. An overview on oil contaminated sand and its engineering applications. *International Journal of Geomate*, 10, 1615-22.
- Achal, V., Mukherjee, A., Basu, P. C. & Reddy, M. S. 2009. Lactose mother liquor as an alternative nutrient source for microbial concrete production by *Sporosarcina pasteurii*. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 36, 433-438.
- ASTM-D422-63 2007. e2 Standard Test Method for Particle-Size Analysis of Soils (Withdrawn 20).^(۱۶)
- ASTM-D2166 1999. American Society for Testing and Materials D2166 (1999) Standard test method for unconfined compressive strength of cohesive soils. *Annual Books of ASTM Standards*.
- Azadi, M., Ghayoomi, M., Shamskia, N. & Kalantari, H. 2017. Physical and mechanical properties of reconstructed bio-cemented sand. *Soils and Foundations*, 57, 698-706.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C. & Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45, 493.
- Cheng, L. & Shahin, M. A. 2017. Stabilisation of oil-contaminated soils using microbially induced calcite crystals by bacterial flocs. *Géotechnique Letters*, 1-6.
- Cheng, L., Shahin, M. A. & Mujah, D. 2016. Influence of key environmental conditions on microbially induced cementation for soil stabilization. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 143.
- Cheshomi, A., Mansouri, S. & Amoozegar, M. A. 2018. Improving the Shear Strength of Quartz Sand using the Microbial Method. *Geomicrobiology Journal*, 1-8.
- Clsi, C. 2009. Performance of standards for antimicrobial disk susceptibility tests. approved standards, M2-A10.
- Dwjong, J. T., Mortensen, B. M., Martinez, B. C. & Nelson, D. C. 2010. Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36, 197-210.
- Feng, K. & Montoya, B. M. 2015. Drained shear strength of MICP sand at varying cementation levels. In *IFCEE 2015* 2242-2251.
- Ghaly, A. M. Strength remediation of oil contaminated sands. In *The Seventeenth International Conference on Solid Waste Technology and Management*, 2001 Philadelphia.
- Hosseini, F. M. M., Ebadai, T. & Eslami, A. 2017. Properties of fine soils contaminated with gas oil. *Materials Testing*, 59, 803-810.
- Ivanov, V. & Chu, J. 2008. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7, 139-153.
- Khamehchiyan, M., Charkhabi, A. H. & Tajik, M. 2007. Effects of crude oil contamination on geotechnical properties of clayey and sandy soils. *Engineering Geology*, 89, 220-229.

- Lin, H., Suleiman, M. T., Brown, D. G. & Kavazanjian JR, E. 2015. Mechanical behavior of sands treated by microbially induced carbonate precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 142, 04015066.
- Martinez, B. C., Dejong, J. T., Ginn, T. R., Montoya, B. M., Barkouki, T. H., Hunt, C. & Major, D. 2013. Experimental optimization of microbial-induced carbonate precipitation for soil improvement. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 139, 587-598.
- Meegoda, N. J. & Ratnaweera, P. 1994. Compressibility of contaminated fine-grained soils.
- Mitarai, N. & Nori, F. 2006. Wet granular materials. *Advances in Physics*, 55, 1-45.
- Montoya, B. M., Dejong, J. T. & Boulanger, R. W. 2013. Dynamic response of liquefiable sand improved by microbial-induced calcite precipitation. *Géotechnique*, 63, 302.
- Nasehi, S. A., Uromeihy, A., Nikudel, M. R. & Morsali, A. 2016. Influence of gas oil contamination on geotechnical properties of fine and coarse-grained soils. *Geotechnical and Geological Engineering*, 34, 333-345.
- Nazir, A. K. 2011. Effect of motor oil contamination on geotechnical properties of over consolidated clay. *Alexandria Engineering Journal*, 50, 331-335.
- Puri, V. K. 2000. Geotechnical aspects of oil-contaminated sands. *Soil and Sediment Contamination*, 9, 359-374.
- Ratnaweera, P. & Meegoda, J. N. 2005. Shear strength and stress-strain behavior of contaminated soils.
- Rosenberg, M. 2006. Microbial adhesion to hydrocarbons: twenty-five years of doing MATH. *FEMS microbiology letters*, 262, 129-134.
- Sandle, T. 2016. Antibiotics and preservatives. In *Pharmaceutical Microbiology - Elsevier*, 171-183.
- Shin, E. C. & Das, B. M. 2000. Some physical properties of unsaturated oil-contaminated sand. In *Advances in Unsaturated Geotechnics* 142-152.
- Shin, E. C. & Das, B. M. 2001. Bearing capacity of unsaturated oil-contaminated sand. *International Journal of offshore and polar Engineering*, 11.
- Stevens, J. 1982. Unified soil classification system. *Civil Engineering*. ASCE, 52, 61-62.
- Umar, M., Kassim, K. A. & Chiet, K. T. P. 2016. Biological process of soil improvement in civil engineering. *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering*, 8, 767-774.
- Zhao, Q., Li, L., Li, C., Li, M., Amini, F. & Zhang, H. 2014. Factors affecting improvement of engineering properties of MICP-treated soil catalyzed by bacteria and urease. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 26, 04014094.