

## بهسازی خاک‌های ماسه‌ای با رسوب زیستی کربنات کلسیم و فاکتورهای موثر بر آن

کریم روشن‌بخت<sup>۱</sup>، ماشاله خامه‌چیان<sup>۲\*</sup>، رضا حسن ساجدی<sup>۳</sup>، محمدرضا نیکودل<sup>۴</sup>

پذیرش مقاله: ۹۴/۳/۲

دریافت مقاله: ۹۲/۱۲/۷

### چکیده

رسوب زیستی کلسیت (MICP) روش نسبتاً سازگار با محیط زیست و مناسب برای بهسازی خاک است. این روش در اصل، بکارگیری شبکه‌ای از واکنش‌های شیمیایی است که برخی از این فعل و انفعالات توسط فعالیت‌های زیستی کنترل شده و محصولات جنبی آنها امکان بهبود در ویژگی‌های مهندسی خاک را فراهم می‌آورند. برای انجام بهسازی زیستی، جمعیت برجای میکروبی با تزریق باکتری اوره آز مثبت، ازدیاد یافته و سپس واکنش کننده‌های سیمانی به خاک، تزریق می‌شوند. در این مقاله فاکتورهایی که MICP در خاک را تحت تاثیر قرار می‌دهند، بطور خلاصه بررسی شده‌اند. فاکتورهای مختلفی شامل ریز مغذی‌ها، نوع باکتری، انطباق هندسی باکتری، تراکم سلول باکتری، دما، غلظت واکنش کننده‌ها، pH و روش تزریق مورد بررسی قرار گرفتند. این فاکتورها برای پیشرفت موفقیت‌آمیز MICP ضروری هستند. علاوه بر این یکسری آزمایش‌های اولیه برای بررسی پتانسیل کاربرد این روش جهت بهبود مقاومت برشی و کاهش تراوایی ماسه انجام شد و طی آن مواد، روش‌ها و فرایندهای عملی انجام آزمایش شرح داده شده است. نتایج نشان داد که طی بهسازی با MICP ضمن رسوب کلسیت سرعت موج برشی تا حدود ۱۰۰۰ متر بر ثانیه و مقاومت فشاری تک محوری تا حدود ۳۰۰ کیلوپاسکال افزایش یافته و تراوایی نیز کاهش قابل ملاحظه‌ای یافته است.

کلید واژه‌ها: بهسازی زیستی، رسوب زیستی کربنات کلسیم، بیوگروت

۱. دانشجوی دکتری، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، گروه زمین شناسی مهندسی

۲. دانشیار دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، گروه زمین شناسی مهندسی khamechm@modares.ac.ir

۳. دانشیار دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه بیوشیمی

۴. استادیار دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، گروه زمین شناسی مهندسی

## ۱. مقدمه

امروزه ساخت و سازهای جدید روی خاک‌های سست بدلیل رشد جهانی و کمبود زمین تقریباً اجتناب‌ناپذیر شده است. مشخصه عمومی خاک‌های ضعیف مقاومت پایین و تراکم‌پذیری بالای آنهاست. روش‌های مختلف بهسازی نیازمند اطمینان از کارایی و کفایت آنها بوده و درعین حال می‌بایست بدون آسیب به محیط‌زیست باشد. در سال‌های اخیر روشی نسبتاً سازگار با محیط‌زیست و مناسب برای بهسازی ابداع شده که رسوب زیستی کلسیت (MICP) نام دارد. این سیستم، بکارگیری شبکه‌ای از واکنش‌های شیمیایی است که محصولات جنبی آنها امکان بهبود در ویژگی‌های مهندسی خاک را فراهم آوردند (Nemati and Voordouw, 2003). کاربردهای این روش در زمینه‌های مختلف، دستاوردهای امیدوارکننده‌ای مانند مقاومت و دوام بتن (De Muynck et al., 2008, Achal et al., 2011)، دوام آجر (Sarda et al., 2007)، مقاومت خاک (Ruyt and Zon, 2009)، ممانعت از فرسایش و آبستگي (Gurbuz et al., 2011)، کاهش تراوایی ماسه (DeJong et al., 2010)، مسدود کردن انتخابی برای افزایش بازیافت نفت (Whiffin et al., 2007)، تهیه بتن زیستی (Roger Arun, 2011) و... را نشان می‌دهد. Ivanov and Chu (2008) مقایسه قیمت تقریبی بین مواد خام مورد استفاده در این روش و تزریقات شیمیایی مرسوم انجام دادند. آنها برای تزریق میکروبی قیمت ۰/۵ تا ۹ دلار بر متر مکعب را محاسبه کردند که بسیار ارزان‌تر از تزریق شیمیایی (۲ تا ۷۲ دلار در متر مکعب خاک) است.

این روش چه برای بالای سطح ایستابی و چه زیر سطح ایستابی قابل انجام بوده و در مورد عمق انجام نیز به محدودیتی اشاره نشده است. مهمترین محدودیت این روش، انطباق با شرایط دانه‌بندی خاک است. مرز پایین دانه‌بندی در محیط قابل استفاده، حدی است که امکان انتقال باکتری‌ها را به راحتی فراهم نماید. لذا اولین محدودیت در انتقال میکروبی، اندازه گلوگاههای حفرات خالی در ماتریکس خاک

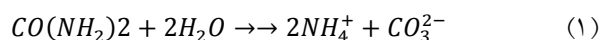
است (Dejong et al, 2010). البته در صورت ترکیب غیر برجای میکروبی و مواد غذایی با خاک، مرز قابل اصلاح تا رسهای واقعی گسترش می‌یابد (Dejong et al, 2010) مرز بالایی بهسازی نیز در مرحله اول وابسته به بخشی از میکروبی‌ها است که در محل تماس ذره‌ذره خاک عمل می‌کند (Dejong et al, 2010). بدیهی است که با بزرگتر شدن اندازه حفرات و کاهش تعداد نقاط تماس ذرات، کارایی تزریق زیستی کاهش می‌یابد.

کارایی این روش برای بهسازی ماسه با مقایسه مقاومت فشاری و تراوایی نمونه‌های کنترلی و بهسازی شده با روش MICP تعیین شده است.

## ۲. مرور ادبیات علمی

سیمانی شدن زیستی با ایجاد مواد پیوند دهنده ذرات، مقاومت برشی و تراکمی را افزایش می‌دهد. این مواد در نتیجه اضافه کردن باکتری و واکنش کننده‌های سیمانی کننده به خاک تشکیل می‌شوند. مواد سیمانی کننده خاک عمدتاً شامل کربنات‌ها سیلیکات‌ها، فسفات‌ها، سولفیدها و هیدروکسیدها می‌باشند (Ivanov and Chu, 2008). کربنات کلسیم (کلسیت) بدلیل فراوانی در طبیعت یکی از جذاب‌ترین مواد برای مطالعه در سیمانی شدن زیستی است.

آنزیم اوره‌آز بطور مستقیم به خاک اضافه شده یا توسط باکتری‌ها بطور درجا ایجاد می‌شود. این آنزیم اوره موجود در داخل خاک را طی یک واکنش شیمیایی (معادله ۱) که بنام هیدرولیز اوره شناخته شده است، تجزیه می‌کند:



آمونیم آزاد شده از هیدرولیز اوره موجب افزایش محلی در pH خاک شده و رسوب کربنات کلسیم را شروع می‌کند. کلسیت طی فرایند ترکیب یون‌های کربنات (که از هیدرولیز اوره ایجاد شده‌اند) و یون‌های کلسیم (که از کلرید کلسیم اضافه شده به محیط ایجاد شده‌اند)، طی واکنش شیمیایی معادله ۲ تشکیل می‌شود:

حرکت از یک حفره به حفره دیگر باید از آنها عبور کنند (Mitchell and Santamarina, 2005). اندازه گلوگاه‌های حفرات وابسته به بخش ریزتر ذرات خاک است و می‌تواند برابر با ۲۰٪ اندازه ذراتی در نظر گرفته شود که منطبق با ۱۰٪ عبوری در یک آزمایش دانه‌بندی مکانیکی باشد (Holtz, and Kovacs, 1981). مقادیر قابل ملاحظه‌ی سیلت و رس در خاک می‌تواند اثر بازدارنده روی حرکت باکتری‌ها داشته باشد. این اثر بازدارنده، موانعی در توزیع یکنواخت باکتری در خاک ایجاد می‌کند. لذا توجه کردن به نوع خاک، اندازه گلوگاه‌های حفرات و اندازه باکتری، برای انتخاب نوع باکتری که باید در MICP مورد استفاده قرار گیرد از اهمیت زیادی برخوردار است.

تراکم سلول باکتری: تراکم بالاتر سلول باکتری تزریق شده به نمونه خاک، قطعا مقدار کلسیت رسوب کرده طی MICP را افزایش خواهد داد (Okwadha and Li, 2010). سرعت هیدرولیز اوره در شرایطی که غلظت‌های مناسب از مواد سیمانی کننده در دسترس باشند، ارتباط مستقیم با تراکم سلول‌های باکتری دارد. تراکم بالای باکتری، اوره از بیشتری در واحد حجم، برای شروع هیدرولیز اوره تولید می‌کند. Li و همکاران (2011) و Stocks-Fischer و همکاران (1999) به این نکته اشاره می‌کنند که سلول‌های باکتری بعنوان نقاط هسته‌زایی برای رسوب کلسیت طی واکنش‌های بیوشیمیایی عمل می‌کنند.

تثبیت و پراکندگی باکتری در خاک: هنگام تزریق در خاک، باکتری اوره از مثبت باید بطور یکنواخت پخش شده و در محل خود تثبیت شود. روش نادرست تزریق ممکن است باعث قرار گرفتن باکتری‌ها در بخش مشخصی از خاک یا خروج آنها از داخل خاک شود. Harkes و همکاران (2003) روش‌هایی برای توزیع و تثبیت باکتری در یک لایه ۱۸ سانتی‌متری ماسه را مطالعه کردند. آنها دریافتند که تزریق سوسپانسیون باکتریایی رقیق نشده که با تزریق یک حجم حفرات از محلول تثبیت کننده با شوری بالا (محلول ۵۰ میلی



کلسیت ایجاد شده از این واکنش‌های شیمیایی موجب سیمانی شدن زیستی و انسداد زیستی در نمونه‌های خاک می‌شود. باکتری‌های زیادی قادر به تولید اوره از طی فعالیت زیستی خود هستند (Mobley et al., 1995). فاکتورهای متعددی روی نتیجه فرایند MICP موثر هستند که به برخی از آنها اشاره می‌شود:

مغذی‌ها: مغذی‌ها منبع انرژی باکتری‌ها هستند و بدلیل تهیه مواد غذایی مناسب و کافی برای باکتری‌های تولید کننده کلسیت از اهمیت بسزایی برخوردار هستند. مغذی‌ها طی مرحله کشت و بهسازی خاک به باکتری‌ها اضافه می‌شوند (Mitchell and Santamarina, 2005). فقدان مواد آلی در خاک نیز برای رشد باکتری‌ها یک محدودیت است. در بسیاری از کارهای قبلی غلظت سه گرم در لیتر Nutrient Broth یا Yeast Extract در محلول بهسازی جهت رسیدن به رشد و دوام کافی باکتری‌های مولد اوره گزارش شده است (DeJong et al., 2006, Stocks-Fischer et al., 1999, Qabany et al., 2011).

نوع باکتری: باکتری مناسب برای استفاده در MICP باید قادر به کاتالیز کردن فرایند هیدرولیز اوره باشد. این باکتری‌ها معمولا اوره از مثبت هستند. باکتری‌های اوره از مثبت عموما شامل گونه‌های *Bacillus*, *Sporosarcina*, *Spolactobacillus*, *Clostridium* and *Desulfotomaculum* هستند. باکتری‌های هوازی از آنجا که طی فرایند تنفس  $\text{CO}_2$  تولید می‌کنند ارجح هستند. *Bacillus sp.* نوع معمول باکتری است که در رسوب کربنات کلسیم طی فرایند تبدیل اوره به آمونیوم و دی اکسید کربن استفاده شده است (Hammes et al., 2003, Castanier et al., 1999).

انطباق هندسی باکتری: باکتری‌ها فراوانترین میکروارگانیسم‌های خاک هستند. اندازه آنها عموما از ۰/۵ تا ۳ میکرون است (Mitchell and Santamarina, 2005). حرکت آنها هم در نتیجه انتشار غیر فعال و هم بصورت خود محرک است. اولین محدودیت در انتقال میکروبی، اندازه گلوگاه‌های حفرات خالی در ماتریکس خاک است که میکروپها در حین

بالا کاهش یافته و لذا منجر به محدودیت یا ممانعت در تولید اوره‌آز از باکتری گردد (Nemati et al., 2005). بعبارت دیگر اگرچه در شوری بالا هنوز اوره‌آز برای فرایند MICP وجود دارد ولیکن با افزایش غلظت واکنش کننده‌ها رسوب و تشکیل کلسیت کاهش می‌یابد (De Muynck et al., 2010, Nemati and Voordouw, 2003).

pH رسوب کلسیت وقتی شروع می‌شود که اوره با آنزیم اوره آز تجزیه شود. Stocks-Fischer و همکاران (1999) دریافتند که فعالیت اوره‌آز از PH حدود ۶ تا ۸ به شدت افزایش می‌یابد. فعالیت اوره‌آز در pH حدود ۸ به ماکزیمم می‌رسد و پس از آن بتدریج شروع به کاهش می‌کند. با این حال تا pH حدود ۹ هنوز مقادیر مناسبی از فعالیت اوره‌آز وجود دارد.

روش تزریق: مطالعات روی بررسی روش مناسب و مطلوب برای فرایند MICP به وفور انجام شده‌اند. بیشتر محققین با روش تزریق که شبیه تزریق مواد مصنوعی برای بهسازی خاک است عمل کرده‌اند. Martinez و همکاران (2011) تحقیقاتی جهت بدست آوردن بهترین روش برای دستیابی به پراکندگی یکنواخت کلسیت در ستون ماسه انجام دادند. تزریق مرحله‌ای مایع سیمانی کننده، رسوب کلسیت یکنواختی در طول ستون نیم متری ماسه ایجاد کرد. از سوی دیگر، روش تزریق پیوسته رسوب کلسیت فراوان‌تری در محدوده نزدیک نقطه تزریق ایجاد کرد به نحوی که با فاصله از نقطه تزریق، مقدار کلسیت کاهش می‌یافت. نتایج مشابه با مدل‌سازی عددی که توسط Barkouki و همکاران (2010) انجام شد، نیز بدست آمد. روش تزریق مرحله‌ای می‌تواند محلول سیمانی کننده را قبل از رسوب کلسیت بطور یکنواخت در ستون پخش کند.

روش بررسی تاثیر بهسازی: جهت بررسی تاثیر بهسازی آزمایش‌های مختلفی مورد استفاده قرار گرفته است که می‌توان به تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی (Dejong et al., 2010, Alvarado, 2009, Shirakawa et al., 2011) و اندازه‌گیری سرعت موج برشی (Dejong et al., 2010)

مولار کلرید کلسیم) ادامه یابد، می‌تواند تقریباً همه سلول‌ها را در ستون خاک حفظ کند.

محلول با شوری بالا موجب تحریک فلوکولاسیون شده و در نتیجه جذب باکتری و ابقای آن در ستون ماسه را افزایش می‌دهد (Ritvo et al., 2003, Torkzaban et al., 2008). با این حال محلول‌های با شوری پایین (مانند آب شیرین) هنگامی که پراکندگی یکنواخت باکتری در حجم زیادی از ماسه مدنظر باشد مناسب است. مقاومت یونی پایین و قدرت جذب باکتری در محلول‌های با شوری پایین به آنها اجازه می‌دهد که تا فاصله زیادی انتقال یابند (Harkes et al., 2010). در نهایت تزریق محلول تثبیت در سرعت‌های بالاتر در مقایسه با سرعت‌های کمتر تزریق، سلول‌های باکتری را تا فاصله‌ای دورتر انتقال می‌دهد.

دما: فعالیت و رشد میکروبی در محدوده ۲۰ تا ۳۰ درجه، حساسیت کمتری به دما دارند. سرعت هیدرولیز اوره در دمای ۳۰ درجه کمی بیشتر از ۲۰ درجه است. افزایش در دمای ۳۰ درجه تا بالاتر از ۳۰ درجه به سرعت تجزیه اوره را تشدید می‌کند (Nemati et al., 2005). به هر حال به لحاظ عملی، کنترل دما در نمونه خاک یا در صحرا هنگامی که MICP در حال اجراست، ممکن نیست.

غلظت واکنش کننده‌های سیمانی کننده: با توجه به محصولات یک مول اوره و یک مول کلرید کلسیم باید برای ایجاد کلسیت واکنش کنند. محلولی که دربرگیرنده غلظت‌های با مولاریته یکسان از این واکنش کننده‌ها باشد، تبدیل بهتری برای کلسیت فراهم خواهد کرد (Nemati et al., 2005). غلظت‌های بالاتر اوره و کلرید کلسیم مقدار کلسیت تولید شده را افزایش می‌دهد (Okwadha and Li, 2010, Nemati et al., 2005). البته این امر تحت غلظت‌های مشخصی از واکنش کننده‌ها معتبر است. شوری بالا اثر بازدارنده روی فعالیت میکروبی و رسوب کلسیت دارد. شوری محلول‌های سیمانی کننده عمدتاً با توجه به غلظت نمک کلسیم شناخته می‌شود. اوره و کلرید کلسیم با غلظت پایین به تجزیه اوره و تشکیل آمونیوم کمک می‌کند. ممکن است فعالیت میکروبی با شوری

خاک نیز بر اساس استاندارد ASTM D: 854-10 اندازه‌گیری شد.

### ۳-۳. غلظت مواد واکنش‌کننده سیمانی

محیط کشت مورد نیاز برای کشت باکتری با ترکیب‌های متفاوت مورد اشاره در منابع تهیه و کشت باکتری صورت گرفت. تراکم باکتری در محیط کشت با اندازه‌گیری دانسیته اپتیک در طول موج ۶۰۰ نانومتر مورد پایش قرار گرفت و در نهایت ترکیب محیط کشت مطابق جدول ۱ انتخاب گردید. کشت برای مدت حدود ۱۸ ساعت با کنترل دانسیته اپتیک انجام پذیرفت. جهت اطمینان از زنده ماندن باکتری‌ها قبل از استفاده در بهسازی، برداشت در انتهای فاز رشد صورت گرفت. غلظت واکنش‌کننده‌های سیمانی کننده شامل اوره و کلرید کلسیم نیز در جدول ۱ ارائه شده است.

### جدول ۱. ترکیب محیط کشت و محلولهای تزریق

محلول تزریقی	تشکیل دهنده	مقدار
محیط کشت	Yeast Extract	۲۰ گرم در لیتر
	NH <sub>4</sub> Cl	۱۰ گرم در لیتر
	NiCl <sub>2</sub>	۱۰ میکرومول در لیتر
مایع تثبیت	کلرید کلسیم	۰/۰۵ مولار
محلول‌سیمانی کننده	اوره	۱/۱ مولار
	کلرید کلسیم	۱/۱ مولار

### ۳-۴. آماده‌سازی ستون‌های نمونه برای آزمایش

نمونه‌های آزمایشگاهی داخل ستون‌هایی با قطر ۳ سانتی متر و حجم ۶۰ سی‌سی آماده شدند. به این منظور از سرنگ‌های ۶۰ سی‌سی استفاده شد. جهت آماده‌سازی نمونه ابتدا از یک لایه اسکاج در کف ستون استفاده شد که روی آن یک لایه فیلتر گراولی قرار گرفت. پس از آن نمونه ماسه‌ای با دانسیته نسبی مورد نظر قرار گرفته و در بالای ستون نیز مجدداً فیلتر و لایه

Dejong et al, 2009) آزمایش سه‌محوری (Alvarado, 2010, 2011, Roger Arun, 2011)، مقاومت فشاری نامحصور (Roger Arun, 2011, Alvarado, 2009)، مقاومت کششی برزیلین (Shirakawa et al, 2011 Roger Arun, 2011) و آزمایش تراوایی (Dejong et al, 2010) اشاره کرد.

در سال‌های اخیر، این روش با کاربردهای متنوع آن مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در سطح دنیا کاربرد این روش به هدف افزایش مقاومت خاک به حدود دهه اخیر برمی‌گردد. در ایران نیز سابقه چندانی از تحقیق در این زمینه وجود ندارد. لذا در این تحقیق که در گروه زمین‌شناسی مهندسی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده، سعی شده ضمن معرفی این روش، پتانسیل کاربرد آن جهت بهبود مقاومت برشی و کاهش تراوایی ماسه بررسی و طی آن مواد، روش‌ها و فرایندهای عملی انجام آزمایش معرفی شوند.

### ۳. مواد و روش‌ها

#### ۳-۱. سویه باکتری مورد استفاده

باکتری استفاده شده برای انجام آزمایش‌های Sporosarcina Pasteurii است که قبلاً نیز مکرراً در بهسازی MICP جهت افزایش مقاومت خاک مورد استفاده قرار گرفته است. این باکتری از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران به شماره PTCC ۱۶۴۵ تهیه شد.

#### ۳-۲. تعیین مشخصات خاک مورد استفاده در بهسازی

خاک مورد استفاده در این مطالعه ماسه سیلیسی دانه‌بندی شده است که از شرکت ماسه فیروزکوه تهیه شده است. خاک مشخصات مصالح به کمک آزمایش‌های مختلف تعیین شد. دانه‌بندی و پارامترهای مربوط به آن مطابق استانداردهای ASTM D421-87, D: 422-63 تعیین شد. دانسیته حداقل براساس ASTM D 4254-00 و دانسیته حداکثر طبق استاندارد ASTM D 4253-00 تعیین و براساس آن ضریب پوکی حداقل و حداکثر محاسبه گردید. چگالی ویژه (G<sub>s</sub>) ذرات

اولین سری تزریق محلول سیمانی کننده انجام گرفت. سرعت تزریق در همه مراحل حدود دو میلی لیتر در دقیقه بود. با توجه به روابط استوکیومتری (stoichiometry)، که ارتباط کمی بین مواد واکنش دهنده و فراورده را در یک واکنش تعیین می کند، برای رسیدن به رسوب حدود ۱۶۰ گرم کلسیت در مترمکعب با استفاده از محلول یک مولار، در صورت تبدیل کامل تمام واکنش کننده‌ها، کمی بیشتر از سه مرتبه تزریق به اندازه یک حجم حفرات مورد نیاز است. لذا در این آزمایش، چهار سری تزریق با فاصله ۲۴ ساعت انجام گرفت. در هر مرحله‌ی تزریق از مایع خروجی نمونه‌هایی بصورت متوالی برای پایش تغییرات تهیه شد.

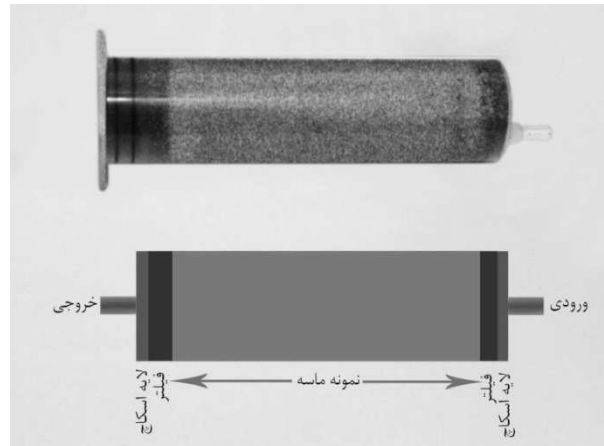
در نهایت نمونه‌ها با حدود یک و نیم حجم حفرات آب مقطر مورد شستشو قرار گرفت. نمونه‌ها تا چندروز به حال اشباع نگهداری شدند. پس از آن آبی که امکان خروج بصورت وزنی داشت تخلیه شد و نمونه‌ها تا زمان آزمایش بصورت مرطوب نگهداری شدند.

### ۳-۶. اندازه‌گیری غلظت یون آمونیوم

جهت اندازه‌گیری غلظت یون آمونیوم از معرف نسلر استفاده شد. به این منظور ابتدا محلول‌های با غلظت متفاوت از ۰/۰۵ تا ۵ میلی‌گرم در لیتر یون آمونیوم تهیه و به ۲ سی‌سی از محلول، ۰/۱ سی‌سی معرف نسلر اضافه شد. پس از ۵ دقیقه دانسیته اپتیک نمونه‌ها در طول موج ۴۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. گراف دانسیته اپتیک در برابر غلظت یون آمونیوم رسم گردید و ارتباط این دو پارامتر برای استفاده در اندازه‌گیری‌های یون آمونیوم بدست آمد.

نمونه‌های تهیه شده به حدی رقیق سازی شدند تا غلظت آنها در محدوده معتبر برای اندازه‌گیری به روش نسلر قرار گیرد. سپس به کمک معرف نسلر غلظت یون آمونیوم در نمونه رقیق شده با قرائت دانسیته اپتیک محاسبه شد. با توجه به میزان رقیق‌سازی، غلظت واقعی یون آمونیوم در نمونه محاسبه شد. از این روش برای اندازه‌گیری غلظت یون آمونیوم در زمان رشد و هم در نمونه‌های تزریق شده استفاده شد.

اسکاچ قرار گرفته و ستون پک شد. تصویری از یک ستون پک شده در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. نمونه‌ای از ستون آماده شده برای بهسازی

جهت رسیدن به یک دانسیته نسبی خاص، ابتدا وزن ماسه خشک مورد نیاز برای رسیدن به دانسیته مدنظر مشخص شده و در سه قسمت یکسان و مجزا وزن شدند. سپس هر قسمت از خاک وزن شده داخل ستون قرار گرفته و با ضربه متراکم شد تا به حجم مورد نظر رسیده شود.

در نهایت ستونها اتوکلاو شده و پس از نصب، برای آزمایش آماده شد. در نصب ستونها به نحوی اقدام شد که تزریق از پایین ستون انجام گرفته و مایع خروجی از بالای ستون تخلیه شده و امکان جمع آوری آن وجود داشته باشد. شلنگ‌های تزریق به ترتیبی آماده شدند که ستونها در بین مراحل تزریق اشباع باقی بمانند.

### ۳-۵. روش انجام بهسازی

پس از نصب ستونها و اشباع با آب مقطر اتوکلاو شده، تا حدود دو برابر حجم حفرات از پایین به بالا شستشو شدند. سپس هر یک از ستونها با سوسپانسیون باکتری آماده شده با دانسیته اپتیک حدود یک مورد تزریق قرار گرفته و بلافاصله با معادل یک حجم حفرات، از مایع تثبیت کننده تزریق شدند. به نمونه‌ها حدود ۴ ساعت فرصت تثبیت داده شد و بعد از آن

## ۳-۷. آزمایش‌ها پس از بهسازی

آزمایش‌هایی که پس از تکمیل بهسازی انجام شدند شامل آزمایش نفوذپذیری، سرعت موج، مقاومت فشاری تک محوری و میکروسکوپ الکترونی بودند.

آزمایش نفوذپذیری با روش هد ثابت روی نمونه‌های آماده شده، قبل و بعد از بهسازی انجام گرفت.

در این تحقیق سرعت موج  $p$  در نمونه‌های بهسازی شده اندازه‌گیری و با توجه به روابط موجود بین سرعت موج برشی و موج تراکمی، سرعت موج برشی در نمونه‌های بهسازی شده محاسبه شده است (Castagna et al., 1993).

بررسی میزان افزایش مقاومت نمونه‌ها طی بهسازی، با آزمایش مقاومت فشاری تک محوری روی نمونه‌های بهسازی شده صورت گرفت. به این منظور نمونه‌ها با نسبت قطر به طول یک به دو تهیه و آزمایش شدند. آزمایش‌های مطابق روش استاندارد انجام آزمایش مقاومت فشاری تک محوری (استاندارد شماره ASTM D2166) انجام شدند.

درصد کلسیت رسوب کرده در نمونه‌های بهسازی شده، با روش کلسیمتری برنارد اندازه‌گیری شد. در این روش محاسبه درصد کلسیت با اندازه‌گیری میزان گاز آزاد شده طی واکنش با اسید کلریدریک رقیق صورت می‌گیرد.

بررسی‌های میکروسکوپ الکترونی روی دو نوع نمونه تهیه شده از ستون‌های بهسازی شده صورت گرفته است. نمونه‌ها به دو صورت مقطع صیقلی و نمونه‌هایی جهت بررسی سه بعدی بافت مصالح بهسازی شده، آماده شده و مورد بررسی با میکروسکوپ الکترونی قرار گرفتند.

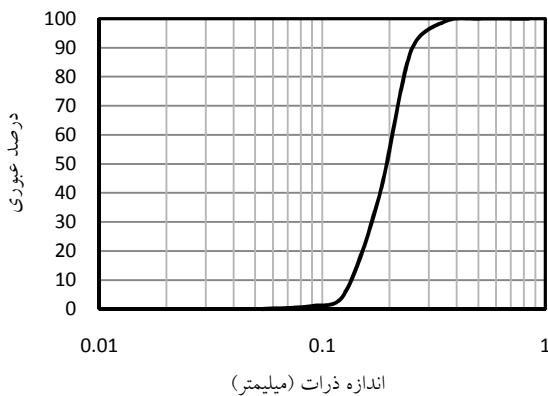
## ۴. نتایج و بحث

## ۴-۱. مشخصات خاک

نمونه خاک مورد استفاده در این تحقیق، خاک ماسه‌ای بد دانه بندی شده سیلیسی با درصد بسیار ناچیز کلسیت است. منحنی دانه‌بندی ماسه مورد استفاده در شکل ۲ نمایش داده شده است. مشخصات فیزیکی مصالح نیز در جدول ۲ ارائه شده است.

## ۴-۲. منحنی رشد باکتری

قبل از شروع بهسازی منحنی رشد باکتری و همزمان با آن میزان تولید یون آمونیوم که معرف میزان فعالیت باکتری است به منظور تعیین مناسب‌ترین زمان برای تزریق باکتری تهیه شد که در شکل ۳ ارائه شده است.



شکل ۲. منحنی دانه بندی مصالح مورد استفاده در بهسازی نمونه‌های ماسه مورد آزمایش قرار گرفته در این مطالعه، با دانسیته نسبی ۰.۸۵ تهیه شده اند.

## جدول ۲. مشخصات فیزیکی مصالح مورد استفاده در بهسازی

توصیف خاک	$C_c$	$C_u$	$D_{50}$ (mm)	$e_{min}$	$e_{max}$	$G_s$
SP	۰/۸۳	۱/۴۶	۰/۲	۰/۸۹	۰/۵۹	۲/۶۵



شکل ۳. منحنی رشد باکتری و میزان تولید یون آمونیوم در خلال رشد

## ۴-۳. غلظت یون آمونیوم

جهت اندازه‌گیری غلظت یون آمونیوم از معرف نسلر مطابق روش توضیح داده شده استفاده شد. با شروع هر مرحله

مشاهده می‌شود که پس از انجام دو مرحله تزریق، غلظت یون آمونیوم که معرفی از میزان فعالیت باکتری و رسوب کلسیت است، کاهش محسوسی داشته است. با توجه به مقدار غلظت یون آمونیوم بدست آمده و محاسبات استوکیومتری، بخش عمده اوره تزریق شده در مراحل اول و دوم تزریق در واکنش شرکت کرده (بیش از ۹۵ درصد) و انتظار مصرف شدن مقدار متناسب از یون کلسیم نیز وجود دارد. در مراحل سوم و چهارم تزریق، این مقدار افت کرده و به حدود ۱۵ تا ۳۰ درصد رسیده است. از مهمترین دلایل این امر می‌توان به کاهش جمعیت باکتریایی در نتیجه شسته شدن از داخل محیط یا گیر افتادن آنها داخل بلورهای کلسیت تشکیل شده در طی پیشرفت فرایند اشاره کرد.

#### ۴-۴. آزمایش تراوایی

روی نمونه‌های آماده شده برای بهسازی، قبل از انجام عملیات بهسازی و پس از آن آزمایش نفوذپذیری با روش هد ثابت انجام گرفت. نفوذپذیری محاسبه شده برای نمونه‌ها در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳. تغییرات نفوذپذیری در نمونه‌های بهسازی شده

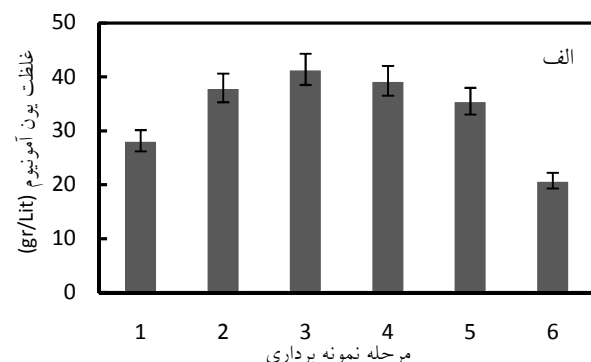
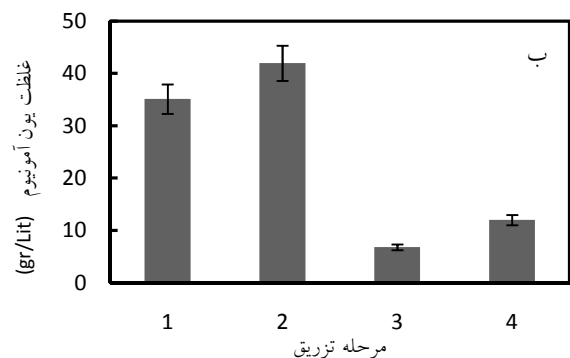
نفوذپذیری قبل از بهسازی (Cm/Sec)	نفوذپذیری بعد از بهسازی (Cm/Sec)
دانسیته ۸۵ درصد	
$1/15 \times 10^{-2}$	$2/5 \times 10^{-3}$

#### ۴-۵. آزمایش سرعت موج

سرعت موج برشی یک ویژگی خاک است که می‌تواند در شناسایی دانسیته و سختی خاک مورد استفاده قرار گیرد. همچنین بطور مستقیم در ارزیابی روانگرایی و شناسایی ویژگی‌های خاک هم در آزمایشگاه و هم در صحرا کاربرد دارد (Alvarado, 2009). یک ماسه سست معمولی سرعت موج برشی بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ متر بر ثانیه دارد. خاک روانگرا سرعت موج برشی کمتر از ۵۰۰ متر بر ثانیه دارد. بهسازی

تزریق، از مایع خروجی نمونه که برای مدت ۲۴ ساعت در داخل نمونه باقی مانده بصورت مرحله‌ای نمونه‌گیری شد. هر ۴ سی‌سی بعنوان یک نمونه مجزا نمونه‌برداری شد. در هر مرحله تزریق، حدود ۶ تا ۷ نمونه برداشت شد.

تغییرات غلظت یون آمونیوم طی یک مرحله از تزریق، در نمونه‌های متوالی اخذ شده، مورد بررسی قرار گرفت. بعنوان نمونه، یکی از این گراف‌ها در شکل ۴-الف ارائه شده است. در اولین نمونه با توجه به فاصله بیشتر تا محل تزریق، غلظت یون آمونیوم کمتر بوده و در نمونه آخر نیز با توجه به عدم دقت کافی در برآورد حجم حفرات و تغییر آنها با رسوب کلسیت و همچنین وجود مصالح فیلتر، غلظت اندازه‌گیری شده کمتر است. در دیگر نمونه‌ها اختلاف زیادی در مقدار اندازه‌گیری شده مشاهده نمی‌شود که نشان‌دهنده فعالیت تقریباً یکنواخت در بیشتر طول نمونه است. علاوه بر این، مقدار متوسط غلظت یون آمونیوم در هر مرحله از تزریق نیز مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته که در شکل ۴-ب ارائه شده است.



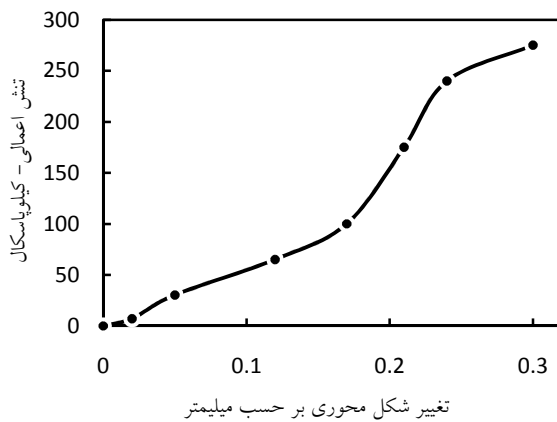
شکل ۴. تغییرات غلظت یون آمونیوم (الف) طی یک مرحله از تزریق و (ب) در مراحل مختلف تزریق



کیلوپاسکال است. میانگین مقاومت نمونه‌ها نیز حدود ۲۶۰ کیلوپاسکال است.

جدول ۴. تغییرات مقاومت تک محوری در نمونه‌های آزمایش شده

شماره نمونه	نمونه ۱	نمونه ۲	نمونه ۳	نمونه ۴
مقاومت نهایی (کیلوپاسکال)	۲۱۲	۲۷۵	۳۰۲	۲۵۰



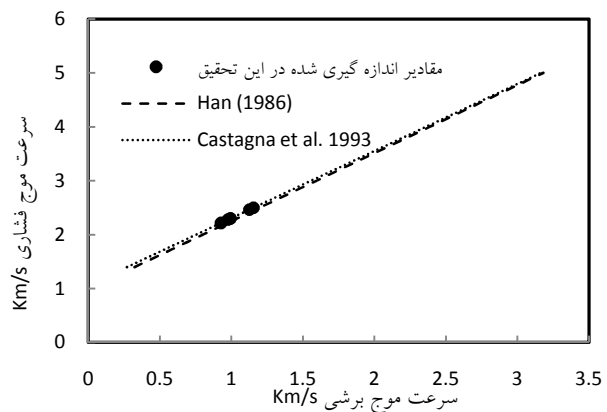
شکل ۶. نمونه ای از نتایج آزمایش مقاومت فشاری تک محوری

#### ۴-۷. اندازه گیری درصد کلسیت

کلسیت رسوب کرده در نمونه‌ها به کمک آزمایش کلسیمتری برنارد اندازه‌گیری شد. به این منظور نمونه‌هایی از سه قسمت نمونه (نزدیک ورودی، میانه نمونه و نزدیک خروجی) تهیه و درصد کلسیت آن تعیین شد. نتایج بررسی‌ها در شکل ۷ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که درصد کلسیت رسوب کرده در بخش‌های مختلف نمونه‌ها کمی متفاوت است. درصد کلسیت اندازه‌گیری شده از حداقل ۴ درصد در نزدیک خروجی تا حداکثر ۷ درصد در نزدیک ورودی متغیر است. این مقادیر بطور متوسط ۴/۶ درصد در خروجی و ۶/۷ درصد در نزدیک ورودی است. روند کاهشی درصد کلسیت در همه نمونه‌ها با فاصله از محل ورودی ستون تزریق مشاهده می‌شود.

زیستی سرعت موج برشی را تا بیش از ۱۰۰۰ متر بر ثانیه می‌تواند افزایش دهد (Alvarado, 2009).

در این تحقیق میزان سرعت موج فشاری  $p$  در نمونه‌های بهسازی شده اندازه‌گیری شده و با توجه به روابط موجود بین سرعت موج برشی و موج تراکمی، سرعت موج برشی در نمونه‌های بهسازی شده محاسبه شده است (Castagna et al., 1993). به این منظور روابط ارائه شده توسط محققین مختلف جهت برقراری ارتباط میان سرعت موج برشی و فشاری در محدوده سرعت‌های محاسبه شده مورد بررسی قرار گرفته است. برخی از این روابط در قالب شکل ۵ ارائه شده است. نتایج اندازه‌گیری‌های سرعت موج نیز روی همین شکل نمایش داده شده است. بر اساس محاسبات انجام شده سرعت موج برشی بطور میانگین به حدود ۱۰۰۰ تا ۱۱۰۰ متر بر ثانیه افزایش یافته است.

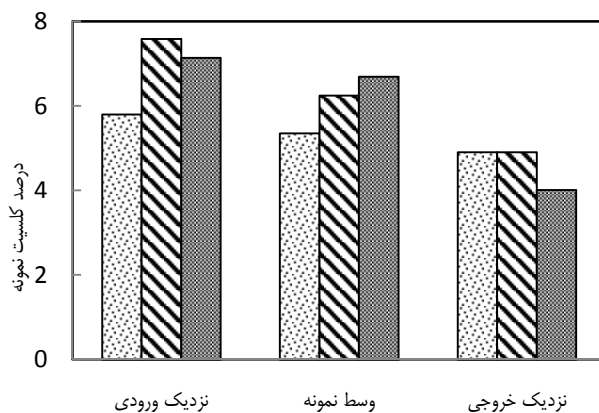


شکل ۵. ارتباط بین سرعت موج برشی و فشاری (مقادیر Vs بر اساس رابطه Castagna et al., (1993) محاسبه شده)

#### ۴-۷. آزمایش مقاومت تک محوری

آزمایش روی چهار نمونه انجام گرفت که نتایج آزمایش‌های حاکی از افزایش مقاومت نمونه‌های ماسه‌ای تا ۳۰۰ کیلوپاسکال است. مقاومت نهایی نمونه‌های مورد آزمایش قرار گرفته در جدول ۴ ارائه شده است و بعنوان نمونه، یکی از منحنی‌های تنش- تغییر شکل بدست آمده طی آزمایش مقاومت تک محوری در شکل ۶ ارائه شده است. در بین نمونه‌ها بیشترین مقاومت فشاری ۳۰۲ و کمترین آن ۲۱۲

تراکم رسوب کلسیت در نمونه‌های نزدیک‌تر به ورودی محل تزریق بیشتر بوده و با افزایش فاصله از محل تزریق، مقدار آن کمتر می‌شود. اندازه‌گیری درصد کلسیت در نمونه‌های بهسازی شده نیز مقدار کلسیت رسوب کرده در طول ستون را از حدود ۴ تا ۷ درصد نشان می‌دهد. همچنین بررسی‌های تصاویر، حاکی از تمایل بیشتر به رسوب در محل تماس ذرات با یکدیگر است. جهت شناسایی جنس مصالح رسوب کرده داخل نمونه، طیف نگاری فلورسانس اشعه ایکس (XRF=X-ray Fluorescence Spectroscopy) روی نمونه‌های آماده شده صورت گرفت. نتایج این بررسی‌ها که در شکل ۸ ارائه شده حاکی از جنس سیلیسی دانه‌ها و رسوب کربنات کلسیم است.

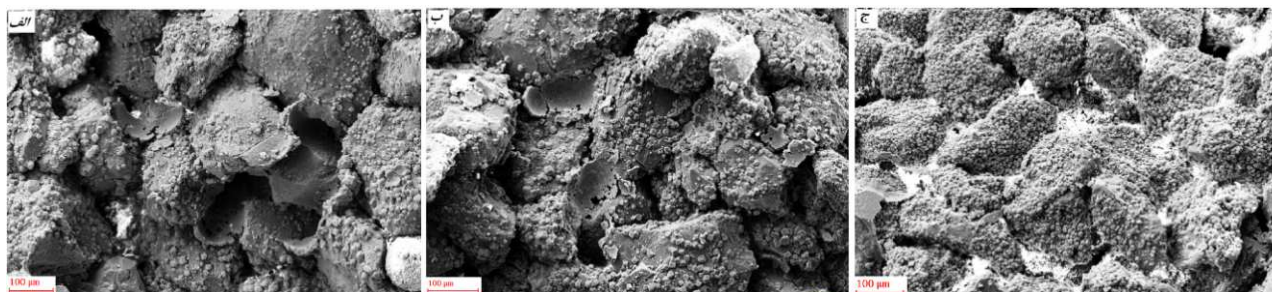


شکل ۷. درصد کلسیت اندازه‌گیری شده در نمونه های

بهسازی شده

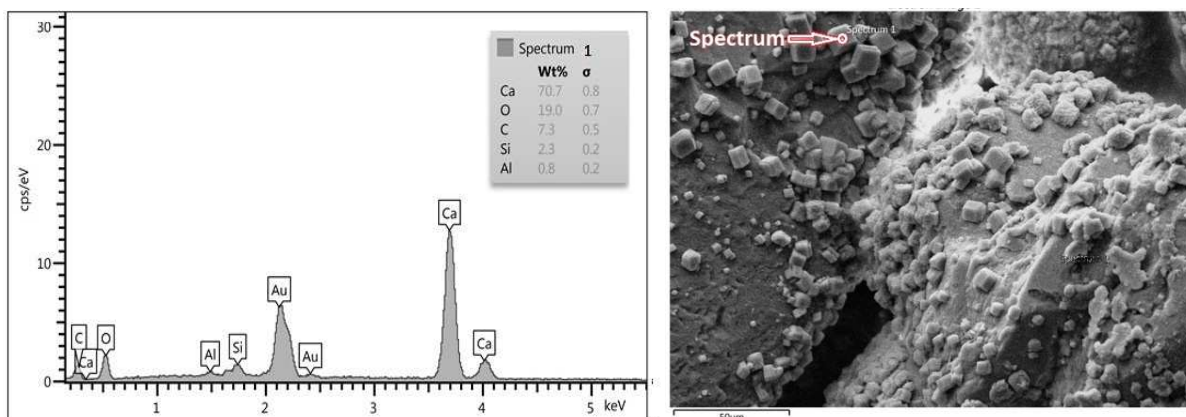
۴-۸. تصاویر میکروسکوپ الکترونی

نمونه‌ها از ابتدا، انتها و بخش میانی ستون‌ها گرفته شدند. شکل ۷ تصاویر رسوب کلسیت در نمونه‌ها را نشان می‌دهد.



شکل ۸. تصاویر میکروسکوپ الکترونی از ماسه بهسازی شده. الف) نمونه از نزدیک خروجی

ب) نمونه از وسط و ج) نمونه از نزدیک ورودی ستون



شکل ۹. الف) تصویر میکروسکوپ الکترونی از تجمع بیشتر کلسیت در محل تماس دانه‌ها، ب) نتیجه آنالیز XRF

**۵. نتیجه‌گیری**

۷ درصد متغیر است. بهسازی زیستی در نمونه‌های آزمایشگاهی نفوذپذیری را کاهش داده و مقاومت نمونه‌ها را بهبود بخشیده است. نتایج آزمایش اندازه‌گیری سرعت موج برشی و مقاومت تک‌محوری، افزایش در مقاومت نمونه‌ها را نشان می‌دهد. نتایج بررسی میکروسکوپ الکترونی اگرچه رسوب کلسیت در کل طول نمونه را نشان می‌دهد ولیکن حاکی از تراکم رسوب کلسیت در نمونه‌های نزدیکتر به ورودی محل تزریق بیشتر بوده و همچنین تمایل بیشتر به رسوب در محل تماس ذرات با یکدیگر مشخص است.

رسوب زیستی کلسیت (MICP) روش نسبتاً سازگار با محیط زیست و مناسب برای بهسازی خاک است. فاکتورهای مختلفی شامل مغذی‌ها، نوع باکتری، انطباق هندسی باکتری، تراکم سلول باکتری، دما، غلظت واکنش‌کننده‌ها، pH و روش تزریق برای پیشرفت موفقیت‌آمیز بهسازی موثر می‌باشند. تزریق مرحله‌ای باکتری، تثبیت‌کننده و مواد سیمانی‌کننده، موجب گسترش سیمانی شدن (cementation) در طول نمونه شده است. درصد کلسیت رسوب کرده در طول نمونه از ۴ تا

**منابع**

- ASTM D 2166, 2006. Standard Test Method for Unconfined Compressive Strength of Cohesive Soil, Annual book of ASTM standards, West Conshohocken.
- ASTM D421-87, 2007. Standard Practice for Dry Preparation of Soil Samples for Particle-Size Analysis and Determination of Soil Constants, Annual book of ASTM standards. West Conshohocken.
- ASTM D422-63, 2007. Standard Test Method for Particle-Size Analysis of Soils, Annual book of ASTM standards, West Conshohocken.
- ASTM D4253-00, 2006. Standard Test Methods for Maximum Index Density and Unit Weight of Soils Using a Vibratory Table, Annual book of ASTM standards, West Conshohocken.
- ASTM D4254-00, 2006. Standard Test Methods for Minimum Index Density and Unit Weight of Soils and Calculation of Relative Density, Annual book of ASTM standards, West Conshohocken.
- ASTM D854-10, 2007. Standard Test Methods for Specific Gravity of Soil Solids by Water Pycnometer, Annual book of ASTM standards, West Conshohocken.
- A. Qabany, A., Mortensen, B., Martinez, B., Soga, K., DeJong, J., 2011. Microbial Carbonate Precipitation Correlation of S-Wave Velocity with Calcite Precipitation. *Proceedings of Geo-Frontiers*, pp. 3993-4001.
- Achal, V., Pan, X., Özyurt, N., 2011. Improved strength and durability of fly ash-amended concrete by microbial calcite precipitation. *Ecological Engineering*, 37: 554-559.
- Alvarado, D., 2009. Bio-mediated soil improvement: cementation of unsaturated sand samples. Ph D thesis, Arizona State University.
- Barkouki, T., Martinez, B., Mortensen, B., Weathers, T., De Jong, J., Ginn, T., Spycher, N., Smith, R., Fujita, Y., 2010. Forward and Inverse Bio-Geochemical Modeling of Microbially Induced Calcite Precipitation in Half-Meter Column Experiments. *Transport in Porous Media*. 90: 23-39.
- Castagna, J.P., Batzle, M.L., Kan, T.K., 1993. Rock physics—the link between rock properties and AVO response. In *Offset-Dependent Reflectivity—Theory and Practice of AVO Analysis*, Society of Exploration Geophysicists, pp. 124–157.
- Castanier, S., Métayer-Levrel, G. Le., Perthuisot, J.-P., 1999. Carbonates precipitation and limestone genesis the microbiogeologist point of view. *Sedimentary Geology*, 126: 9-23.
- De Muynck, W., Debrouwer, D., De Belie, N., Verstraete, W., 2008. Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials. *Cement and Concrete Research*, 38: 1005-1014.
- De Muynck, W., Verbeken, K., De Belie, N., Verstraete, W., 2010. Influence of urea and calcium dosage on the effectiveness of bacterially induced carbonate precipitation on limestone. *Ecological Engineering*, 36: 99-111.
- DeJong, JT, Mortensen, B.M., Martinez, B.C., Nelson, D.C., 2010. Biomediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36: 197-210.

- DeJong, J.T., Fritzes, M.B., Nüsslein, K., 2006. Microbially Induced Cementation to Control Sand Response to Undrained Shear. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 132: 1381-1392.
- Gurbuz, A., Sari, Y.D., Yuksekdog, Z.N., Cinar, B., 2011. Cementation in a matrix of loose sandy soil using biological treatment method. *African Journal of Biotechnology*, 10: 7432-7440.
- Hammes, F., Boon, N., de Villiers, J., Verstraete, W., Siciliano, S.D., 2003. Strain-specific ureolytic microbial calcium carbonate precipitation. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 4901-9.
- Harkes, M.P., van Paassen, L.A., Booster, J.L., Whiffin, V.S., van Loosdrecht, M.C.M., 2010. Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation for ground reinforcement. *Ecological Engineering*, 36: 112-117.
- Holtz, R.D., Kovacs, W.D., 1981. *An Introduction to Geotechnical Engineering*. Prentice-Hall, Inc, Englewood Cliffs, New Jersey, 733.
- Ivanov, V., Chu, J., 2008. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ," *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 7: 139-153.
- Li, W., Liu, L.P., Zhou, P.P., Cao, L., Yu, L.J., Jiang, S.Y., 2011. Calcite precipitation induced by bacteria and bacterially produced carbonic anhydrase. *Current Science*, 00: pp. 502-508.
- Okwadha, G.D., Li, J., 2010. Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere*, 81: 1143-8.
- Martinez, B.C., Barkouki, T.H., DeJong, J.D., Ginn, T.R., 2011. Upscaling of Microbial Induced Calcite Precipitation in 0.5m Columns Experimental and Modeling Results. *Proceedings of Geo-Frontiers*, pp. 4049- 4059.
- Mitchell, J.K., Santamarina, J.C., 2005. Biological Considerations in Geotechnical Engineering," *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 131: 1222-1233.
- Mobley, H.L., Island, M.D., Hausinger, R.P., 1995. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological Reviews*. 59: 451-80.
- Nemati, M., Voordouw, G., 2003. Modification of porous media permeability, using calcium carbonate produced enzymatically in situ. *Enzyme and Microbial Technology*, 33: 635-642.
- Nemati, M., Greene, E.A., Voordouw, G., 2005. Permeability profile modification using bacterially formed calcium carbonate: comparison with enzymic option. *Process Biochemistry*, 40: 925-933.
- Ritvo, G., Dassa, O., Kochba, M., 2003. Salinity and pH effect on the colloidal properties of suspended particles in super intensive aquaculture systems. *Aquac.* 218: 379-386.
- Roger Arun D' Aquino Henriques, 2011. *Estudio Relativo al Hormigón Bacteriano: Fabricación y Potenciales Campos de Aplicación*. Tesis de Master, Universitat Politècnica de Catalunya.
- Ruyt, M.V.d., Zon, W.V.d., 2009. Biological in situ reinforcement of sand in near-shore areas. *Proceedings of the Institution of Civil Engineers: Geotechnical Engineering*., vol. 162, pp. 81-83.
- Sarda, D., Choonia, H., Sarode, D., Lele, S., 2009. Biocalcification by *Bacillus pasteurii* urease: a novel application. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36: 1111-1115.
- Shirakawa, M.A., Kaminishikawahara, K., Moacyr, J.V., Kahn, H., Futai, M., 2011. Sand bioconsolidation through the precipitation of calcium carbonate by two ureolytic bacteria. *Materials Letters*, 65: 1730-1733.
- Stocks-Fischer, S., Galinat, J.K., Bang, S.S., 1999. Microbiological precipitation of CaCO<sub>3</sub>. *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 1563-1571.
- Torkzaban, S., Tazehkand, S.S., Walker, S.L., Bradford, S.A., 2008. Transport and fate of bacteria in porous media: Coupled effects of chemical conditions and pore space geometry. *Water Resources Research*, 44: p. W04403.
- Whiffin, V.S., van Paassen, L.A., Harkes, M.P., 2007. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiology Journal*, 25(5): 417-423