تحقیقات آب و خاک ایران، دورهٔ ۴۸، شمارهٔ ۴، آذر و دی ۱۳۹۶ (ص ۷۴۸-۷۳۷) DOI: 10.22059/ijswr.2017.214313.667526

بررسی مقاومت برشی خاک تثبیت یافته با روش میکروبیولوژی

حمیده غفاری[۱]، سید محمدعلی زمردیان[۲*]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش مهندسی آب دانشگاه شیراز

۲. دانشیار، عضو هیئت‌علمی دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت:۳/ ۶/ ۱۳۹۵ – تاریخ بازنگری: ۴/ ۹ /۱۳۹۵ - تاریخ تصویب: ۱۶ /۹/ ۱۳۹۵)

چکیده

تثبیت بیولوژیکی خاک روشی نوین در مقاوم‌سازی خاک در برابر فرسایش می‌باشد. در این پژوهش از باکتری تولیدکننده آنزیم اوره آز با نام علمی *Sporosarcina Pasteurii* با قابلیت رسوب‌زایی در منافذ خاک، استفاده شد. به‌منظور بررسی میزان اثرگذاری باکتری، از مقاومت برشی خاک با دستگاه برش پره‌ای، استفاده شد. تیمارهای موردبررسی شامل نوع خاک، غلظت باکتری، زمان نگهداشت، تزریق مجدد با فاصله زمانی شش روز و تأثیر شرایط محیطی بر عملکرد باکتری و میزان مقاومت برشی می‌باشد. نتایج نشانگر بهبود مقاومت برشی خاک‌ها به‌صورت معنادار نسبت به زمان است. بیشترین مقاومت برشی در ماسه کربناته و سپس ماسه سیلیسی با توزیع دانه‌بندی ریزتر به ترتیب به اندازه ۰/۶۴ و ۰/۳۹ کیلوگرم بر سانتیمترمربع حاصل شد. بهترین وضعیت تعادلی بین مواد مغذی و تعداد باکتری در این پژوهش در دانسیته نوری برابر ۱/۵ مشاهده شد. نتایج نشان داد تزریق مجدد تأثیر افزاینده‌ای در مقاومت نمونه‌ها به‌خصوص در ماسه سیلیسی به‌اندازه ۵۵٪ نسبت به یک‌بار تزریق دارد.

واژه‌های کلیدی: *Sporosarcina Pasteurii*، تثبیت بیولوژیکی، دستگاه برش پره‌ای، فرسایش خاک، مقاوم سازی خاک

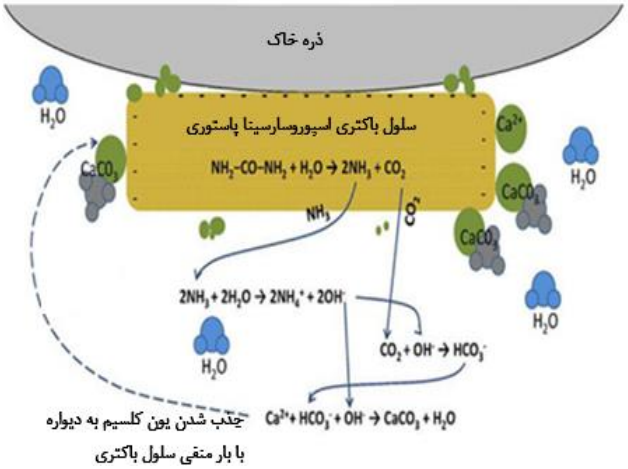
مقدمه

خاک منبعی حیاتی برای تولید غذا و سایر ضروریات زندگی بشر می‌باشد اما به‌قدری کند تولید می‌شود که به‌عنوان منبعی تجدید ناپذیر به شمار می‌آید (Troeh *et al*., 1980). به‌طورکلی، تشکیل و تحولات خاک در مدت چندین هزار سال صورت می‌گیرد (Henry, 2006). به‌گونه‌ای که در مناطق گرمسیر و معتدل حدود ۱۰۰۰-۲۰۰ سال برای تشکیل ۲/۵ سانتیمتر خاک سطحی، زمان لازم است (Pimental *et al*., 1987). فرسایش بادی یکی از عوامل اصلی تخریب خاک در مناطق خشک و نیمه‌خشک به‌حساب می‌آید و با توجه به بیابانی و نیمه بیابانی بودن حدود دوسوم از مساحت کشور، شرایط برای به حرکت درآمدن ذرات خاک تحت تأثیر نیروی باد فراهم است. با توجه به شرایط اقلیمی ایران، بخش‌های زیادی از مرکز، جنوب و شرق ایران تحت تأثیر فرسایش بادی قرار دارد و ۱۴ استان که در مناطق خشک و نیمه‌خشک واقع شده‌اند با معضل فرسایش بادی روبرو هستند (Jalalian *et al*., 1995). این نوع فرسایش هرساله سبب زوال حدود ۵۰۰ میلیون هکتار از اراضی جهان شده و بین ۵۰۰ تا ۵۰۰۰ ترا گرم گردوخاک تولید می‌کند (UNEP and ISRIC, 1990; Grini *et al*., 2003). در اثر فرسایش بادی سالیانه حدود یک هزار میلیارد ریال خسارت به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر منابع طبیعی کشور وارد می‌شود (Ahmadi *et al*., 2002). بنابراین با توجه به رشد روزافزون جمعیت و نیاز به تولید غذای بیشتر، این‌گونه فرسایش از اهمیت بسزایی برخوردار است و لزوم انجام تحقیقات بیشتر برای افزایش دانش و آگاهی موجود در راستای برنامه‌ریزی مناسب و کاهش خسارات ناشی ازاین‌گونه فرسایش و حداقل کردن هزینه‌ها را ضروری می‌سازد. روش‌های مختلفی برای تثبیت خاک و کنترل فرسایش بادی توسط محققین مختلف ارائه شده است که شامل روش‌های مکانیکی، شیمیایی، مدیریتی و بیولوژیکی می‌باشد و این در حالی است که کاربرد هرکدام از این روش‌ها دارای یک سری محدودیت‌های خاص می‌باشد. یکی از روش‌ها و تکنیک‌های نوین در کنترل فرسایش، استفاده از میکروارگانیسم‌های موجود در خاک است که اثر نامطلوبی ایجاد نمی‌کنند. این روش کاربرد وسیعی در مهندسی ژئوتکنیک دارد و شامل افزایش مقاومت و استحکام مشخصه‌های خاک از طریق فعالیت میکروبی می‌باشد. باکتری‌ها از فراوان‌ترین میکروارگانیزم‌های خاک به شمار می‌آیند به‌گونه‌ای که به‌طور متوسط در هر گرم خاک در عمق یک متر، بیش از 10^9 سلول باکتری وجود دارد که با افزایش عمق شمار آن‌ها کاهش می‌یابد. تخمین زده می‌شود که این میکروارگانیسم‌ها

* نویسنده مسئول: mzomorod@shirazu.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

بیش از ۱/۵ میلیارد سال عمر داشته و در بیشتر این دوران انجام فرآیند رسوب‌زایی را دنبال کرده‌اند (Dejong, 2010). روش به کار گرفته‌شده در این تحقیق، رسوب میکروبی کربنات کلسیم نام دارد که روشی کاملاً سازگار با محیط‌زیست می‌باشد و از گونه خاص باکتری اسپوردار به نام *Sporosarsina Pasteurii* که از خانواده باسیلوس‌ها و به‌صورت طبیعی در خاک زندگی می‌کند و همچنین قابلیت رسوب زایی دارد استفاده شده است. این باکتری باعث اتصال و چسبندگی در بین ذرات خاک می‌شود. درواقع در این فرآیند از میکروارگانیسم‌های تولیدکننده آنزیم اوره آز استفاده می‌شود که به‌صورت طبیعی در نهشته‌های خاکی وجود دارند. این فرآیند در طبیعت به‌صورت خودبه‌خود و با سرعت بسیار کم انجام می‌پذیرد و باعث تشکیل ماسه‌سنگ‌ها، سنگ‌های آهکی و همچنین پدیده استروماتولیت‌ها طی میلیون‌ها سال می‌شود. شکل (۱) به‌طور شماتیک چگونگی رسوب‌گذاری کربنات کلسیم را در طول یک فرآیند بیولوژیکی نشان می‌دهد که از میکروارگانیسم *Sporosarcina Pasteurii* به‌عنوان منبع تولید آنزیم اوره آز استفاده شده است. آنزیم اوره آز به‌عنوان کاتالیزگر عمل می‌کند و اوره موجود یا اضافه‌شده به محیط را تجزیه می‌کند و به آمونیوم، بی‌کربنات‌ها و یون‌های کربنات تبدیل می‌کند. در صورت وجود یون‌های کلسیم در خاک (در آزمایشگاه به‌صورت کربنات کلسیم به خاک اضافه می‌شود) با یون‌های کربنات پیوند می‌خورند و باعث رسوب کربنات کلسیم می‌شوند که در بین دانه‌های خاک سمنتاسیون ایجاد می‌کند. این فرآیند موجب افزایش PH خاک می‌شود که شرایط ایده‌آلی را برای تغذیه باکتری و رسوب کلسیت بیشتر در خاک فراهم می‌کند. هیدرولیز شیمیایی اوره در غیاب کاتالیزگر یک فرآیند بسیار کند است که آنزیم اوره آز این واکنش را 10^{14} برابر سریع‌تر می‌کند (Benini *et al*., 1999). محققین بسیاری این پدیده را موردمطالعه قرار داده‌اند و روی انواع موارد کاربرد آن ازجمله پدیده انسداد زیستی، سیمانی شدن زیستی و پاک‌سازی زیستی و غیره، مطالعات زیادی صورت گرفته است و نتایج مطلوبی نیز گزارش شده است؛ که می‌توان به کارهای Whiffin *et al*. (2006) Dejong *et al*. (2011) Chou *et al*. (2007) در افزایش مقاومت برشی خاک، Al Qabany (2011)، Martinez *et al*. (2011) Rusu *et al*. (2011) و Shahrokhi-Shahraki *et al*. (2014) در کاهش هدایت هیدرولیکی خاک، Ingaki *et al*. (2011) و Montoya *et al*. (2013) در کاهش پتانسیل روانگرایی خاک، Achal *et al*. (2009)، Achal *et al* (2010) و Ramachandran *et al*. (2001) در بهبود بتن و کارهای Bang *et al*. (2011) در افزایش مقاومت در برابر فرسایش بادی اشاره کرد. همچنین Kazemi (2013) به‌منظور بررسی پارامترهای تأثیرگذار بر تثبیت بیولوژیکی خاک‌های ریزدانه با استفاده از ریزجلبک Microalgae chlorella vulgaris، از یک دستگاه برش پره‌ای به‌منظور بررسی میزان اثرگذاری ریزجلبک در خاک استفاده کرده است. در پژوهش حاضر از سه گونه خاک ماسه‌ای با منشأ سیلیسی و کربناته و با توزیع دانه‌بندی متفاوت به‌منظور بررسی و مقایسه میزان اثرگذاری میکروارگانیسم در خاک‌ها و درنتیجه مقابله با فرسایش بادی و بیابان‌زایی استفاده شده است. از روش‌های مقابله با پدیده فرسایش خاک، افزودن نیروی مقاوم در برابر نیروی محرک باد می‌باشد. با افزایش چسبندگی بین ذرات خاک و ایجاد سنگدانه، مقاومت در برابر گسیختگی و جابجایی ذرات خاک در برابر نیروی فرسایندگی افزایش می‌یابد. در این پژوهش باکتری نامبرده با تولید چسب کربنات کلسیم در بین ذرات خاک و افزایش آستانه حرکت ذرات، مقاومت خاک را افزایش می‌دهد؛ بنابراین با اسپری کردن این‌گونه باکتری بر سطح خاک، مقاومت برشی آن موردمطالعه قرارگرفته است. در همین راستا با بررسی پارامترهای تأثیرگذار زمان نگهداشت، غلظت باکتری، نوع خاک، رطوبت، نحوه تزریق و شرایط محیطی، میزان اثربخشی میکروارگانیسم در مقاوم‌سازی سطح خاک موردمطالعه قرار گرفته است و با کمی کردن و تخمین مقاومت برشی سطح خاک تثبیت یافته با استفاده از دستگاه برش پره‌ای، پایداری آن موردمطالعه قرار گرفته است که در مطالعات پیشین به آن پرداخته نشده است.



شکل ۱. فرآیند رسوب میکروبی کلسیت با مکانیزم هیدرولیز اوره (Dejong, 2010)

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم مورداستفاده

باکتری استفاده‌شده در این پژوهش از خانواده باسیلاس و دارای نام علمی *Sporosarsina Pasteurii* می‌باشد. سویه این باکتری

Archive of SID

www.SID.ir

از مرکز کلکسیون قارچ ایران به‌صورت لیوفیلیزه شده خریداری شده است. ابتدا باید سویه باکتری در محیط آزمایشگاه فعال می‌شد. بدین منظور محیط کشت مایعی حاوی ۲۰ گرم بر لیتر عصاره مخمر و ۱۰ گرم بر لیتر آمونیوم کلراید با اضافه کردن آب مقطر تشکیل داده شد و سپس به‌منظور بهینه کردن میزان فعالیت اوره آز، با اضافه کردن پتاسیم هیدروکسید به محلول، PH آن در ۵/ ۸ تنظیم می‌شد (Stocks-Fischer *et al*., 1999). پس از استریل کردن محیط کشت در دستگاه اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، باکتری موردنظر ابتدا به حدود ۲۰ سانتیمترمکعب محیط کشت اضافه می‌شد و جهت هوادهی و رشد مطلوب به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه شیکرانکوباتور با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸/۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری می‌شد. پس از اطمینان از رشد باکتری با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر، در یخچال تا زمان استفاده نگه‌داری می‌شد. به‌منظور استفاده در خاک، باکتری رشد یافته به محیط کشت در ظروف بزرگ‌تر انتقال و رشد داده می‌شد و بلافاصله پس از رسیدن به غلظت موردنظر به سطح خاک اضافه می‌شد. با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر غلظت باکتری قرائت می‌شد. درواقع مقدار دانسیته نوری[1] (OD) که عددی بی‌بعد می‌باشد در طول موج ۵۸۰ تا ۶۰۰ نانومتر قرائت می‌شود. در این تحقیق از OD های برابر با ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ استفاده شد. به‌منظور فراهم کردن شرایط مساعد محیطی و مواد مغذی جهت رشد باکتری در خاک و عمل سمنتاسیون، از اوره به همراه کلسیم کلراید، سدیم بیکربنات، آمونیوم کلراید و نوترینت براث به‌صورت محلول استفاده شد. به این صورت که ابتدا محلول اوره با استفاده از فیلتر با قطر چشمه ۰/۲۲ میکرون استریل می‌شد (اوره در دستگاه اتوکلاو تجزیه می‌شود) و سپس با تهیه محلول بقیه مواد و استریل کردن آن‌ها در دستگاه اتوکلاو، اوره به محلول موردنظر اضافه می‌شد و تا زمان استفاده در یخچال تحت عنوان محلول سمنتاسیون نگه‌داری می‌شد. غلظت مواد ذکرشده در جدول (۱) ذکر شده است که بر اساس کارهای Whiffin *et al*. (2007) می‌باشد. قابل‌ذکر است که بر اساس رابطه Ramachandran *et al*. (2001) که در رابطه ۱ آورده شده است، تعداد سلول‌های زنده باکتری در OD های ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ به ترتیب برابر با $۸/۵۹ \times ۱۰^{۷}$، $۱/۴۹ \times ۱۰^{۸}$، $۲/۲۱ \times ۱۰^{۸}$ و ۳×۱۰^{۸} سلول در میلی‌لیتر می‌باشد.

$$Y = 8.59 \times 10^{7} \times {OD_{600}}^{1.3627} \quad \text{(رابطه ۱)}$$

Y: غلظت باکتری $\left(\frac{cells}{ml}\right)$

جدول ۱. غلظت مواد شیمیایی موجود در محلول سمنتاسیون و محیط کشت باکتری

محیط کشت باکتری	محلول سمنتاسیون	مقدار (گرم بر لیتر)
عصاره مخمر		۲۰
آمونیوم کلراید	آمونیوم کلراید	۱۰
	اوره	۲۰
	کلسیم کلراید	۴۵/۵
	نوترینت براث	۳
	سدیم بیکربنات	۲/۱۲

خاک‌های مورداستفاده

هدف اصلی این پژوهش بررسی امکان کاربرد روش رسوب میکروبی کلسیت در تثبیت ماسه‌های روان مناطق بیابانی که دارای بیشترین پتانسیل تولید ریزگرد هستند می‌باشد بنابراین از دو نوع خاک ماسه‌ای با منشأ سیلیسی و کربناته استفاده شده است و تأثیر املاح موجود در خاک بر کارایی این روش بررسی شده است. همچنین به‌منظور بررسی توزیع ذرات خاک بر کارایی این روش، از دو گونه خاک ماسه سیلیسی t60 و همچنین ماسه سیلیسی t90 استفاده شده است. مشخصات مربوط به هر سه نوع خاک در جدول (۲) آورده شده است. از موارد استفاده ماسه سیلیسی در کارخانه‌های ریخته‌گری می‌باشد که از معادن ماسه چیروک تهیه شده است. از دلایل استفاده از این نوع خاک اطمینان از نبود هرگونه مواد شیمیایی در خاک و همچنین عدم دارا بودن چسبندگی و همچنین دانه‌بندی یکنواخت آن می‌باشد که تفاوت این دو ماسه سیلیسی در دانه‌بندی و توزیع ذرات آن‌ها می‌باشد که ماسه سیلیسی t90 نسبت به ماسه سیلیسی t60 دارای توزیع دانه‌بندی ریزتری می‌باشد. ماسه کربناته استفاده‌شده مربوط به منطقه خورموج بوشهر و دارای ۶۰٪ کربنات کلسیم می‌باشد. دلیل استفاده از خاک کربناته بررسی بازدهی روش بیوسمنتاسیون در حضور کلسیم موجود در خاک و همچنین امکان استفاده از این روش در بیابان‌زدایی منطقه می‌باشد. منحنی دانه‌بندی خاک‌ها در شکل (۲) نشان داده شده است. خاک‌های رسی و چسبنده در صورت اضافه شدن رطوبت به آن‌ها بسته به نوع کانی موجود در آن‌ها پس از خشک شدن، مقاومت آن‌ها افزایش می‌یابد و در سطح خاک سله ایجاد می‌شود که می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مقابله با پدیده ریزگرد به کار برده شود؛ بنابراین در صورت استفاده از آن‌ها به دلیل دقت نسبتاً پایین دستگاه سنجش مقاومت برشی، امکان مشاهده میزان اثرگذاری باکتری وجود ندارد. از دلایل دیگر عدم استفاده ازاین‌گونه خاک، توزیع غیریکنواخت محلول در خاک به دلیل وجود چسبندگی خاک می‌باشد که باعث کاهش مقاومت خاک نسبت به خاک ماسه‌ای

1. Optical Density (OD)

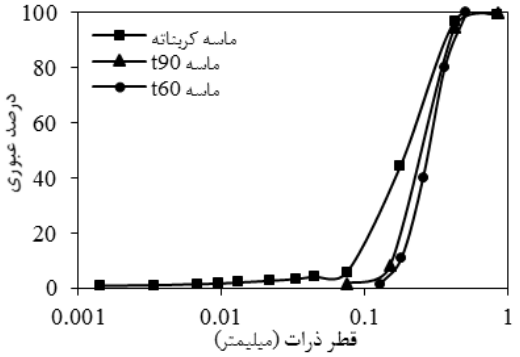
Archive of SID

www.SID.ir

می‌شود. البته در خاک رسی با پلاستیسیته پایین (CL)، Saffari *et al.* (2015)، Moravej *et al.* (2013)، Sajjadi *et al.* (2013)، مطالعاتی انجام داده‌اند و نتایج مطلوبی نیز مشاهده کرده‌اند. همچنین Bang *et al.* (2009) نشان دادند که اضافه کردن باسیلوس پاستوری به سطوح خاک با دانه‌بندی ضعیف شامل ماسه سندپلاست، لای و خاک‌های رسی، موجب کاهش پتانسیل گرد و غبار می‌شود.

جدول ۲. مشخصات خاک‌های مورداستفاده در پژوهش

پارامتر	ماسه سیلیسی T60	ماسه سیلیسی T90	ماسه کربناته
D_{50} (mm)	۰/۲۸	۰/۲۵	۰/۲
$\rho_{d_{max}}(\frac{kg}{m^3})$	۱۶۶۱	۱۶۳۲	۱۶۸۵
$\rho_{d\ min}(\frac{kg}{m^3})$	۱۴۰۱	۱۴۳۲	۱۴۶۳
G_s	۲/۶۵	۲/۶۴	۲/۶۷
C_u	۱/۷	۱/۷۵	۲/۹۶
C_c	۰/۹۸	۰/۸۱	۱/۰۱



شکل ۲. منحنی دانه‌بندی خاک‌های استفاده‌شده

تهیه نمونه‌های آزمایش

آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. برای انجام آزمایش از سینی‌هایی به ابعاد ۵۰ × ۳۰ × ۲ سانتیمتر استفاده شد و نمونه خاک پس از استریل شدن در دستگاه اتوکلاو به درون سینی‌ها انتقال داده می‌شد و سطح آن تسطیح می‌شد. سپس به‌اندازه تقریبی ۱/۵ برابر تخلخل ۳ میلی‌متر ضخامت خاک سطحی که پره دستگاه برش پره‌ای نفوذ می‌کرد به‌صورت حجمی از مخلوط محلول باکتری و محلول سمنتاسیون به‌صورت نسبت ۱ به ۱ و در OD های ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ به خاک اضافه شد. روش اضافه کردن به‌صورت پاشش و از طریق یک ظرف اسپری کننده به‌صورت یکنواخت بر سطح خاک می‌باشد. سپس نمونه‌ها در دستگاه ژرمیناتور در دمای ۲۸/۵ درجه سانتی‌گراد در دوره‌های زمانی ۳، ۷، ۱۴، ۲۰ و ۲۸ روز نگه‌داری می‌شد. جهت بررسی میزان اثرگذاری باکتری در خاک از مقاومت برشی سطح خاک استفاده شد که با استفاده از دستگاه برش پره‌ای و با ۵ تکرار اندازه‌گیری می‌شد (شکل ۳). با توجه به این‌که در این پژوهش مقاومت برشی سطح خاک به‌منظور مقابله با فرسایش بادی بررسی شده است و همچنین محلول باکتری به سطح خاک اسپری شده است بنابراین از دستگاه برش پره‌ای جیبی یا توروین و با الهام گیری از استاندارد ASTM D 46 48 استفاده شده است. این آزمایش برای خاک‌های سست تا نسبتاً سفت قابل‌استفاده است که برای این منظور از ۳ پره با دامنه مقاومت برشی مختلف استفاده می‌شود. زمانی که پره‌های بزرگ (حساس) و پره‌های کوچک (با ظرفیت بالا) به کار می‌رود از ضریب‌های ۰/۲ تا ۲/۵ استفاده می‌شود. مراحل انجام آزمایش‌ها به این صورت است که ابتدا تأثیر زمان نگهداشت بر میزان مقاومت برشی سه نمونه خاک ماسه سیلیسی t60، ماسه سیلیسی t90 و ماسه کربناته مورد بررسی قرار گرفت و تأثیر OD های ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ بر میزان مقاومت برشی دو خاک ماسه سیلیسی t60 و t90 بررسی شد و پس از به دست آوردن غلظت بهینه محلول باکتری، مقاومت برشی ماسه کربناته در غلظت بهینه محلول باکتری نسبت به زمان بررسی شد. مرحله دوم آزمایش‌ها بررسی تأثیر تزریق مجدد محلول باکتری و محلول سمنتاسیون با فاصله زمانی ۶ روز بر مقاومت برشی دو خاک ماسه سیلیسی t60 و ماسه کربناته در غلظت بهینه محلول باکتری نسبت به زمان است. مرحله سوم بررسی تأثیر اضافه کردن رطوبت به خاک بر میزان مقاومت برشی می‌باشد. همچنین اثر شرایط محیطی بر روی نمونه‌ای از خاک ماسه سیلیسی t60 بررسی شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام پذیرفت. نمونه‌ای از سله تشکیل‌شده در سطح خاک پس از انجام آزمایش، در شکل (۴) نشان داده شده است.

شکل ۳. دستگاه برش پره‌ای (توروین)

شکل ۴. سله ایجاد شده در خاک (بعد از تست)

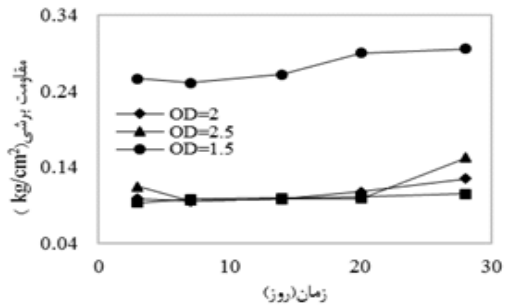
Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتایج

بررسی تأثیر زمان نگهداشت و غلظت باکتری بر مقاومت برشی ماسه سیلیسی t60 و ماسه سیلیسی t90

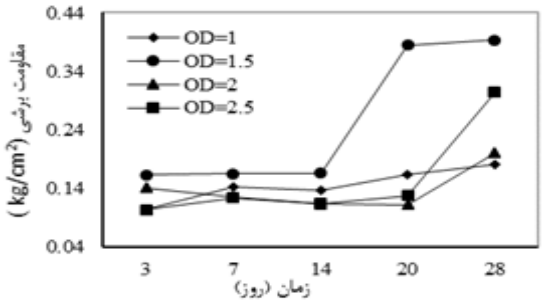
تأثیر زمان نگهداشت و غلظت محلول باکتری بر مقاومت برشی، در هر دو خاک ماسه سیلیسی t60 و ماسه سیلیسی t90 در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید و اثرات متقابل زمان و غلظت در ماسه سیلیسی t60 معنی‌دار نگردیده است که این نشان می‌دهد اثر این دو فاکتور روی مقاومت برشی خاک مستقل از یکدیگر می‌باشد و این در حالی است که در ماسه سیلیسی t90 در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردیده است (جدول ۳). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده که در شکل (۵ و ۶) نشان داده شده است با گذشت زمان از ۳ روز به ۲۸ روز، میزان مقاومت برشی افزایش پیدا کرده است که این افزایش در کلیه OD ها مشاهده شده است که نشانگر فعالیت باکتری و عمل سمنتاسیون در این دوره زمانی می‌باشد که متوقف نشده است و تا زمانی که شرایط محیطی مساعد باشد و ماده مغذی در اختیار میکروارگانیسم باشد این فعالیت ادامه پیدا کرده است به‌گونه‌ای که در خاک ماسه سیلیسی t60 مقاومت برشی پس از ۲۸ روز در OD های ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ به ترتیب به مقدار ۰/۱۰۵، ۰/۲۹۵، ۰/۱۲۴ و ۰/۱۵۲ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع رسیده است و در خاک ماسه سیلیسی t90 به ترتیب برابر ۰/۱۸۱، ۰/۳۹۳، ۰/۲ و ۰/۳ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع می‌باشد و این در حالی است که هر سه خاک تیمار شده با آب مقطر و همچنین تیمار شده با محلول سمنتاسیون، هیچ‌گونه مقاومتی نشان نداده است؛ بنابراین ماسه سیلیسی t90 نسبت به ماسه سیلیسی t60 افزایش بیشتری در مقاومت داشته است. وجود فضای کافی در خاک و تماس مناسب ذرات خاک با یکدیگر، در تثبیت خاک با استفاده از باکتری بسیار مؤثر می‌باشد(Dejong *et al.*, 2008). توزیع ذرات خاک باید به‌گونه‌ای باشد تا باکتری با اندازه ۰/۵ تا ۳ میکرومتر، به‌راحتی در خاک انتقال و حرکت پیدا کند (Mitchell and Santamarina, 2005). بهترین محدوده دانه‌بندی خاک برای رشد و فعالیت باکتری، بین ۵۰ تا ۴۰۰ میکرومتر گزارش شده است (Rebata-Landa, 2007). فضای حرکتی همچنین به باکتری این امکان را خواهد داد که بتواند در محیط خاک به‌طور یکنواخت گسترش یابد در حین اینکه در فضای بین حفره‌ای گیر افتد؛ بنابراین مقایسه بین خصوصیات دانه‌بندی خاک و اندازه باکتری یک فاکتور بسیار مهم در فرآیند رسوب میکروبی کلسیت است که در اینجا ماسه t90 که دارای دانه‌بندی ریزتری است نسبت به ماسه t60 افزایش بیشتری در مقاومت برشی نشان داده است که به دلیل ریزدانه بودن هر دو نوع خاک می‌تواند ناشی از ارتباط مناسب ذرات خاک ماسه t90 با یکدیگر و بنابراین پخشیدگی بهتر رسوب کلسیت در این‌گونه خاک نسبت به ماسه t60 باشد که تأییدکننده نتایج پیشین می‌باشد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که در هر دو خاک ماسه سیلیسی t60 و ماسه سیلیسی t90 در OD برابر با ۱/۵ بیشترین مقاومت برشی حاصل شده است؛ بنابراین غلظت بهینه باکتری در شرایط این پژوهش در OD برابر ۱/۵ به دست آمد. غلظت زیاد محلول باکتری به معنای بیشتر بودن تعداد سلول‌های باکتری در محلول می‌باشد و با افزایش تعداد سلول‌های باکتری آنزیم اوره آز بیشتری ایجاد می‌شود و بنابراین اوره موجود در محیط به مقدار بیشتری تجزیه می‌شود که منجر به رسوب بیشتر کلسیت می‌شود؛ اما درصورتی‌که شرایط محیطی و مواد مغذی محدود و ثابت باشد افزایش غلظت باکتری، رسوب بیشتر کلسیت را تضمین نمی‌کند چراکه باکتری برای انجام فعالیت متابولیک نیاز به شرایط مساعد محیطی و ماده مغذی بیشتری دارد؛ بنابراین با توجه به آنچه گفته شد بهترین وضعیت تعادلی بین مقدار مواد حاضر و تعداد باکتری در این پژوهش در OD برابر ۱/۵ به دست آمد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین در هر دو خاک ماسه سیلیسی t60 و t90 نشانگر تفاوت معنی‌دار در OD برابر ۱/۵ نسبت به بقیه OD ها و زمان ۲۸ روز نسبت به بقیه زمان‌ها می‌باشد (جدول ۴). Shahrokhi-Shahraki *et al.* (2014) با بررسی تأثیر روش زیستی رسوب میکروبی کلسیت بر مقاومت فشاری و همچنین هدایت هیدرولیکی دو نوع ماسه با دو دانه‌بندی متفاوت، افزایش ۳/۵ تا ۵ برابری مقاومت خاک و کاهش نفوذپذیری با ضریب 10^{-2} نسبت به نمونه شاهد مشاهده کردند و همچنین به این نتیجه رسیدند که این روش در خاک با دانه‌بندی ریزتر مؤثرتر بوده است و همچنین غلظت بهینه باکتری در OD برابر ۱ مشاهده کردند. همچنین Stocks-Fischer *et al.* (1999) مشاهده کردند که افزایش غلظت باکتری به بیش از 10^{-8} سلول در میلی‌لیتر، باعث کاهش نرخ رسوب کلسیت می‌شود که در پژوهش حاضر OD بهینه برابر ۱/۵ به دست آمد.



شکل ۵. تغییرات مقاومت برشی ماسه سیلیسی t60 در غلظت‌های مختلف نسبت به زمان

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۶. تغییرات مقاومت برشی ماسه سیلیسی t90 در غلظت‌های مختلف نسبت به زمان

اثر زمان نگهداشت بر مقاومت برشی ماسه کربناته در غلظت بهینه

با توجه به اینکه OD برابر با ۱/۵ به‌عنوان غلظت بهینه باکتری به دست آمد بنابراین ماسه کربناته در OD برابر ۱/۵ موردمطالعه قرارگرفته است. در OD بهینه در ماسه کربناته، تأثیر زمان بر مقاومت برشی در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردیده است (جدول ۳). در ماسه کربناته نیز طبق روال مشاهده‌شده در دو ماسه سیلیسی t60 و t90، با گذشت زمان، مقاومت برشی خاک افزایش پیدا کرده است که به‌جز در دو زمان ۷ و ۱۴ روزه، در بقیه زمان‌ها تفاوت حاصل معنی‌دار می‌باشد (جدول ۴). در مقایسه با دو گونه خاک ماسه سیلیسی، مقاومت برشی ماسه کربناته با نرخ بیشتری افزایش داشته است به‌گونه‌ای که در مدت‌زمان ۲۸ روز، مقاومت برشی آن از مقدار صفر به مقدار ۰/۶۴ کیلوگرم بر سانتیمترمربع رسیده است یعنی نسبت به شرایط مشابه، ۳۸٪ افزایش نسبت به ماسه سیلیسی t90 و ۵۴٪ افزایش نسبت به ماسه سیلیسی t60 دارد؛ بنابراین پدیده سمنتاسیون در خاک با منشأ کربناته همان‌گونه که قابل‌انتظار بود به دلیل وجود کلسیم، نسبت به خاک با منشأ سیلیسی بیشتر اتفاق افتاده است؛ بنابراین پدیده سمنتاسیون به‌عنوان یک فرآیند زیستی در کلیه خاک‌ها می‌تواند اتفاق افتد اما بسته به منشأ خاک موردبررسی، میزان آن متفاوت است. نتایج به‌دست‌آمده در شکل (۷) نشان داده شده است.

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس تأثیر غلظت و زمان بر مقاومت برشی ماسه سیلیسی t60، t90 و ماسه کربناته

ماسه سیلیسی t60			ماسه سیلیسی t90			ماسه کربناته		
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت	۳	۰/۰۶۹۱**	غلظت	۳	۰/۰۳**			
زمان	۴	۰/۰۰۱۴**	زمان	۴	۰/۰۳**	زمان	۴	۰/۰۳۵**
غلظت×زمان	۱۲	۰/۰۰۰۲n.s	غلظت×زمان	۱۲	۰/۰۰۶**			
خطا	۲۰	۰/۰۰۰۲	خطا	۲۰	۰/۰۰۰	خطا	۵	۰/۰۰۰

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد n.s عدم اختلاف معنی‌دار

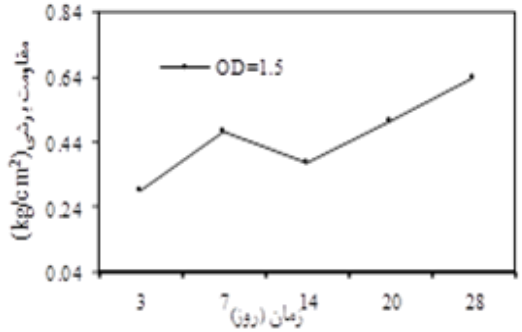
جدول ۴. نتایج مقایسه میانگین تأثیر غلظت و زمان بر مقاومت برشی ماسه سیلیسی t60، t90 و ماسه کربناته

ماسه سیلیسی t60			ماسه سیلیسی t90			ماسه کربناته	
غلظت	میانگین	زمان	میانگین	غلظت	میانگین	زمان	میانگین
۱/۵	۰/۲۷۲۰ a	۲۸	۰/۱۷ a	۱/۵	۰/۲۵۴۳ a	۲۸	۰/۲۶۹۹ a	۲۸	۰/۶۴ a
۲/۵	۰/۱۱۲۰ b	۲۰	۰/۱۵ b	۲/۵	۰/۱۵۴۲ b	۲۰	۰/۱۹۶۷ b	۲۰	۰/۵۰۶۷ b
۲	۰/۱۰۶ b	۱۴	۰/۱۴ b	۲	۰/۱۳۸۲ c	۷	۰/۱۳۸۸ c	۷	۰/۴۷۴ b
۱	۰/۱ b	۳	۰/۱۴ b	۱	۰/۱۴۴۸ bc	۱۴	۰/۱۳۱۸ c	۴	۰/۳۷۸۷ c
		۷	۰/۱۳ b			۳	۰/۱۲۷۲ c	۳	۰/۲۹ d

میانگین‌هایی که دارای یک حرف لاتین مشترک هستند فاقد تفاوت معنی‌دار به روش دانکن می‌باشند.

بررسی تأثیر تزریق مجدد محلول باکتری و سمنتاسیون بر مقاومت برشی خاک

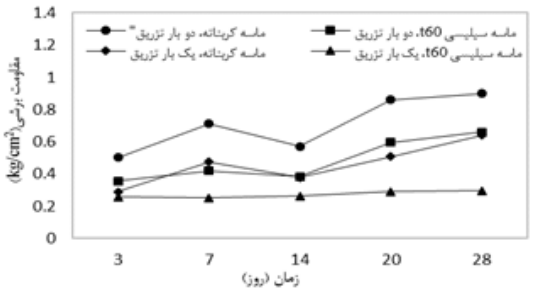
در این حالت محلول باکتری و سمنتاسیون در OD بهینه و در دو مرحله با فاصله زمانی ۶ روز از تزریق اول به دو خاک ماسه سیلیسی t60 و ماسه کربناته اضافه شده است. تأثیر زمان بر مقاومت برشی در هر دو گونه خاک در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردیده است (جدول ۵). مقایسه میانگین در هر دو خاک ماسه کربناته و سیلیسی t60 نشان داد که با گذشت زمان مقاومت برشی افزایش پیدا کرده است که در ماسه کربناته در کلیه



شکل ۷. تغییرات مقاومت برشی ماسه کربناته در غلظت بهینه نسبت به زمان

Archive of SID
www.SID.ir

زمان‌ها تفاوت معنی‌دار می‌باشد اما در ماسه t60 در زمان ۱۴ روزه تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری نسبت به دو زمان ۳ و ۷ روزه وجود ندارد که می‌تواند ناشی از خطاهای موجود در آزمایش باشد (جدول ۶). همان‌گونه که در شکل (۸) نشان داده شده است تزریق مجدد باکتری باعث افزایش مقاومت برشی در هر دو خاک ماسه سیلیسی t60 و ماسه کربناته نسبت به حالت یک‌بار تزریق شده است به‌گونه‌ای که در ماسه کربناته باعث افزایش ۲۹٪ در مقاومت برشی در مدت زمان ۲۸ روز شده است که این در ماسه سیلیسی t60، ۵۵٪ افزایش نسبت به حالت یک‌بار تزریق در ۲۸ روز نشان داده است. Amin (2014) با بررسی تأثیر روش زیستی رسوب میکروبی کلسیت در فرسایش‌پذیری خاک ماسه‌ای با دستگاه تابع فرسایش، به این نتیجه رسید که تزریق مجدد محلول باکتری و سمنتاسیون در فاصله زمانی ۶ روز از تزریق اول باعث عملکرد بهتر تزریق باکتری در کاهش فرسایش‌پذیری ماسه می‌شود؛ بنابراین نحوه توزیع و تزریق باکتری به خاک از فاکتورهای مهم در فرایند رسوب میکروبی کلسیت است که دومرحله‌ای بودن تزریق محلول باکتری و سمنتاسیون درصورتی‌که با فاصله زمانی بهینه‌ای به خاک اضافه شود باعث افزایش بازدهی تثبیت بیولوژیکی خاک می‌شود که در این پژوهش نیز مشاهده شد. همچنین همان‌گونه که ذکر شد میزان افزایش مقاومت با تزریق مجدد نسبت به یک‌بار تزریق در خاک ماسه سیلیسی t60 نسبت به خاک با منشأ کربناته بیشتر به دست آمده است که به این دلیل می‌باشد که باکتری برای انجام فعالیت متابولیک خود نیاز به آزادی حرکت و دسترسی به مواد غذایی دارد (Stocks-Fischer *et al.*, 1999). در ماسه کربناته در تزریق اول، به دلیل تشکیل رسوب بیشتر کلسیت در فضای خالی بین ذرات، بنابراین با تزریق مجدد، باکتری آزادانه حرکت نمی‌کند بنابراین میزان افزایش مقاومت نسبت به ماسه سیلیسی کمتر است (۲۹٪) اما میزان مقاومت نهایی در ماسه کربناته بیشتر به دست آمده است؛ بنابراین تزریق مجدد باکتری و محلول سمنتاسیون با فاصله زمانی ۶ روز، تأثیر بیشتری در افزایش مقاومت ماسه سیلیسی نسبت به ماسه کربناته دارد.



شکل۸. مقایسه مقاومت برشی ماسه سیلیسی t60 و ماسه کربناته در حالت تزریق مجدد

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس تأثیر زمان بر مقاومت برشی ماسه کربناته و t60 در حالت دو بار تزریق

ماسه کربناته			ماسه t60		
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
زمان	۴	۰/۰۶۱**	زمان	۴	۰/۰۳۷**
خطا	۵	۰/۰۰۰	خطا	۵	۰/۰۰۰

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

جدول ۶. نتایج مقایسه میانگین تأثیر زمان بر مقاومت برشی ماسه سیلیسی t60 و ماسه کربناته در حالت دو بار تزریق

ماسه کربناته		ماسه t60	
زمان	میانگین	زمان	میانگین
۲۸	۰/۹[a]	۲۸	۰/۶۶[a]
۲۰	۰/۸۶۱[b]	۲۰	۰/۵۹۵[b]
۷	۰/۷۱۲[c]	۷	۰/۴۱۹[c]
۱۴	۰/۵۷[d]	۱۴	۰/۳۸۴[dc]
۳	۰/۵۰۳۳[e]	۳	۰/۳۵۴۵[d]

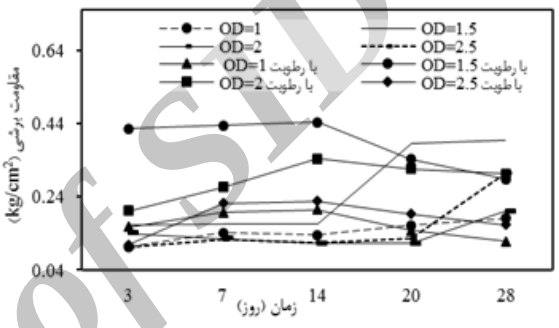
میانگین‌هایی که دارای یک حرف لاتین مشترک هستند فاقد تفاوت معنی‌دار به روش دانکن می‌باشند

بررسی تأثیر اضافه کردن رطوبت بر مقاومت برشی خاک

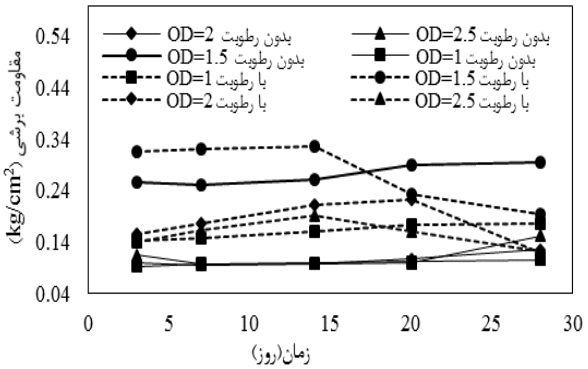
برای بررسی تأثیر رطوبت اضافه بر میزان فعالیت باکتری، آزمایش‌هایی بدین منظور در خاک ماسه سیلیسی t60 و t90 انجام گرفت و به میزان نصف رطوبت اولیه در محلول باکتری و سمنتاسیون، به خاک رطوبت اضافه شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تأثیر زمان نگهداشت و غلظت بر مقاومت برشی در حالت اضافه شدن رطوبت به خاک، در هر دو خاک ماسه سیلیسی t60 و ماسه سیلیسی t90 در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد و همچنین اثرات متقابل زمان و غلظت در هر دو خاک در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردیده است (جدول ۷). نتایج نشانگر افزایش بیشتر فعالیت باکتری و مقاومت برشی در حالت اضافه شدن رطوبت در هر دو گونه خاک نسبت به شرایطی که رطوبت به خاک اضافه نشده است می‌باشد که در شکل (۹ و ۱۰) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشخص است در مدت‌زمان ۱۴ روز پس از اضافه شدن رطوبت، مقاومت خاک روند افزایشی دارد که به دلیل دسترسی بیشتر میکروارگانیسم به مواد مغذی و انجام فعالیت متابولیک بیشتر می‌باشد؛ اما پس از ۱۴ روز مقاومت خاک به‌شدت کاهش پیدا کرده است که به دلیل شسته شدن املاح و مواد غذایی و باکتری به اعماق پایین‌تر خاک می‌باشد که باعث ایجاد پدیده سمنتاسیون در اعماق پایین‌تر خاک و کف ظرف می‌شود. مقایسه میانگین در ماسه t90 نشان می‌دهد که در زمان‌های موجود و در OD های استفاده شده، تفاوت آماری موجود در

Archive of SID
www.SID.ir

میزان مقاومت، معنی‌دار می‌باشد و بیشترین مقاومت ایجادشده در OD برابر ۱/۵ به دست آمده است که از لحاظ آماری دارای تفاوت معنی‌دار نسبت به بقیه OD ها می‌باشد. در ماسه t60 نیز در OD برابر ۱/۵، تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد و همچنین بین زمان ۱۴ روز و کلیه زمان‌های آزمایش تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌شود که این در بقیه زمان‌ها مشاهده نشده است (جدول ۸). با مقایسه دو خاک ماسه سیلیسی t60 و ماسه سیلیسی t90 در حالت اضافه شدن رطوبت، ماسه t90 که دارای دانه‌بندی ریزتری می‌باشد افزایش مقاومت بیشتری داشته است؛ بنابراین وجود رطوبت در خاک باعث فعالیت بیشتر باکتری و افزایش رسوب کلسیت می‌شود.



شکل ۹. تأثیر اضافه شدن رطوبت بر مقاومت برشی ماسه t90



شکل ۱۰. تأثیر اضافه شدن رطوبت بر مقاومت برشی ماسه t60

جدول ۷. نتایج تجزیه واریانس تأثیر غلظت و زمان بر مقاومت برشی ماسه سیلیسی t90 و t60 در حالت اضافه شدن رطوبت

ماسه سیلیسی t90			ماسه سیلیسی t60		
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت	۳	۰/۱۰۶**	غلظت	۳	۰/۰۳۸**
زمان	۴	۰/۰۱۱**	زمان	۴	۰/۰۰۶**
غلظت×زمان	۱۲	۰/۰۰۴**	غلظت×زمان	۱۲	۰/۰۰۲**
خطا	۲۰	۰/۰۰۰	خطا	۲۰	۰/۰۰۰

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

جدول ۸. نتایج مقایسه میانگین تأثیر غلظت و زمان بر مقاومت برشی ماسه سیلیسی t90 و t60 در حالت اضافه شدن رطوبت

ماسه سیلیسی t90			ماسه سیلیسی t60		
غلظت	میانگین	زمان	غلظت	میانگین	زمان	میانگین
۱/۵	۰/۳۸۷۱^{a}	۱۴	۱/۵	۰/۳۰۵^{a}	۱۴	۰/۲۲۳۳^{a}
۲	۰/۲۸۶۵^{b}	۷	۲	۰/۲۸۰۳^{b}	۲۰	۰/۲۰۶۵^{ab}
۲/۵	۰/۱۸۲۸^{c}	۲۰	۱	۰/۲۴۹۸^{c}	۷	۰/۲۰۲۵^{ab}
۱	۰/۱۶۵۱^{d}	۳	۲/۵	۰/۲۲۳۵^{d}	۳	۰/۱۸۸۵^{b}
–	–	۲۸	–	۰/۲۱۸۵^{d}	۲۸	۰/۱۵۲۷^{c}

میانگین‌هایی که دارای یک حرف لاتین مشترک هستند فاقد تفاوت معنی‌دار به روش دانکن می‌باشند

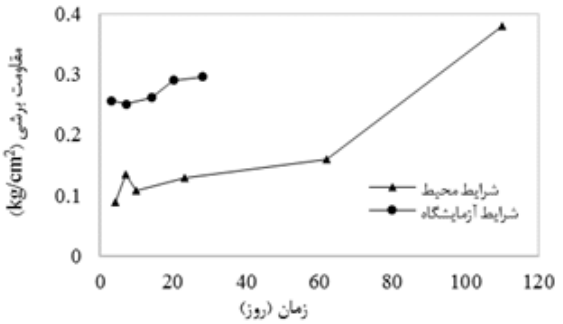
بررسی تأثیر شرایط محیطی بر فعالیت باکتری

برای بررسی میزان فعالیت باکتری و عمل سمنتاسیون در شرایط واقعی بیرون از آزمایشگاه، محلول باکتری و سمنتاسیون در OD بهینه برابر ۱/۵، روی خاک ماسه سیلیسی t60 استریل نشده اسپری شد و در محیط بیرون آزمایشگاه و در سایه، تحت شرایط دما و رطوبت متغیر، با شروع زمان نگهداشت در آذرماه، به مدت ۱۱۰ روز نگهداری شد. تحلیل آماری نشان می‌دهد که تأثیر زمان بر مقاومت برشی در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۹). همان‌گونه که در شکل (۱۱) نشان داده شده است در فصل سرد سال به علت پایین بودن دما، مقاومت برشی با نرخ نسبتاً پایینی در حال افزایش است اما با مساعد شدن دما، مقاومت خاک با نرخ بیشتری افزایش پیدا کرده است که در مقایسه با مقاومت برشی ۲۸ روزه در شرایط آزمایشگاهی میزان کمتری به دست آمده است. تشکیل قطرات شبنم در این شرایط نقطه مثبتی در جهت فعالیت بیشتر باکتری به جهت تأمین رطوبت می‌باشد؛ بنابراین نتایج نشانگر عملکرد خوب پدیده بیوسمنتاسیون در شرایط واقعی است به‌گونه‌ای که پس از ۱۱۰ روز مقاومت خاک به ۰/۳۸ کیلوگرم بر سانتیمترمربع رسیده است. مقایسه میانگین نشان می‌دهد که میزان مقاومت حاصل پس از مدت‌زمان ۱۱۰ روز، نسبت به بقیه زمان‌ها از لحاظ آماری دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد اما در غالب زمان‌ها تفاوت معنی‌دار مشاهده نمی‌شود که می‌تواند ناشی از خطاهای موجود

Archive of SID

www.SID.ir

در آزمایش و نوسانات دمایی در این دوره زمانی باشد که در جدول (۹) مشاهده می‌شود. لازم به ذکر است که نمونه خاک‌ها در تونل باد با محدودیت ماکزیمم سرعت باد ۱۰ متر بر ثانیه موردمطالعه قرار گرفت که سرعت آستانه فرسایش نمونه شاهد بدون باکتری، ۳/۵ متر بر ثانیه به دست آمد و نمونه‌های تثبیت یافته با باکتری در سرعت ماکزیمم تونل باد استفاده‌شده دچار فرسایش نشدند. درصورتی‌که سرعت باد در بیابان از مقدار ۸ متر بر ثانیه بیشتر شود بسته به زبری سطح، رطوبت، پوشش گیاهی، بافت خاک و غیره، فرسایش صورت می‌گیرد و منجر به تولید گرد و غبار می‌شود (Xuan *et al*., 2004). بنابراین با توجه به اینکه سرعت معیار باد، ۸ متر بر ثانیه ذکر شده است، بنابراین تثبیت بیولوژیکی خاک از طریق فرآیند رسوب میکروبی کلسیت با استفاده از باکتری، گزینه‌ای مناسب در جهت مقابله با بیابان-زدایی و حرکت شن‌های روان پیشنهاد می‌شود و می‌تواند جایگزینی مناسب برای انواع مالچ‌ها و دیگر روش‌های تثبیت باشد که از لحاظ زیست‌محیطی، اجرایی و اقتصادی دارای یک سری محدودیت‌ها و مشکلات می‌باشند. بررسی میزان فرسایش‌پذیری خاک تثبیت یافته با این‌گونه روش بیوسمنتاسیون در مقاومت‌های مختلف در تونل باد با سرعت بیشتر و ارتباط بین میزان مقاومت و فرسایش‌پذیری توصیه می‌شود. همچنین مطالعات میدانی جهت شناخت و بررسی بیشتر این روش و شبیه‌سازی دمای بیابان که ماکزیمم ۶۰ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است (Laity, 2008) در میزان فعالیت باکتری و مقاومت خاک، توصیه می‌شود.



شکل ۱۱. مقایسه مقاومت برشی ماسه سیلیسی تثبیت یافته در شرایط آزمایشگاه و شرایط محیطی

بررسی و مقایسه روش‌های موجود در تثبیت خاک

روش‌های بهسازی خاک بسته به نوع پروژه متفاوت می‌باشند. روش‌های مرسوم و سنتی که برای تثبیت سطح خاک استفاده می‌شود شامل اضافه کردن گچ، آهک، سیمان، مواد شیمیایی، بسماند شهری، باقی‌مانده محصولات زراعی و صنایع غذایی، آب، نمک، مالچ‌های نفتی و زغال‌سنگ، انواع پلیمرهای نفتی و زیست‌تخریب‌پذیر و غیره می‌باشد. این روش‌ها توسط محققین زیادی مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. خطرات آلودگی محیط‌زیست، هزینه زیاد، عمر کم و پتانسیل آتش‌سوزی، استفاده از این روش‌ها را به چالش کشیده است. سالانه بیش از ۴۰۰۰۰ پروژه بهسازی خاک در دنیا انجام می‌گیرد که هزینه تمامی این پروژه‌ها بالغ بر ۶ میلیارد دلار در سال می‌باشد و بیشتر آن‌ها با استفاده از انرژی مکانیکی مثل تراکم، اضافه نمودن مصالحی مثل ژئوسنتتیک‌ها و یا سیمان به خاک می‌باشد که هزینه‌های زیادی را به همراه دارند (Dejong *et al*. 2010). آهک و سیمان از پرکاربردترین مصالح در سمنتاسیون خاک‌ها و به فراوانی یافت می‌شوند و به‌طور نسبی نیز هزینه کمی دارند (Bergado *et al*. 1996). در بهسازی با استفاده از سیمان مواد با آلکالاین زیاد را به خاک اضافه می‌کنند که کل ساختار خاک را از بین می‌برد و نفوذپذیری خاک را تقریباً به صفر می‌رساند بنابراین در عمق خاک باعث تغییر در جهت حرکت آب‌های زیرزمینی می‌شوند. تمامی ملات‌های شیمیایی که به‌منظور سمنتاسیون به کار برده می‌شوند به‌جز سیلیکات سدیم سمی هستند و اثرات مخربی روی سلامتی انسان‌ها می-گذارند (Karol, 2003)؛ بنابراین با گسترش شهرها به نواحی خارج شهری و کاهش مناطق مناسب برای ساخت ساختمان‌ها نیاز بیشتری به بهسازی به چشم می‌خورد (Dejong *et al*. 2010). تاکنون مطالعه همه جانبه‌ای در زمینه سمنتاسیون خاک از طریق رسوب میکروبی کلسیت در مقیاس بزرگ در ایران صورت نگرفته است؛ بنابراین این سؤال مطرح می‌باشد که آیا این موضوع از لحاظ اجرایی و اقتصادی بهینه می‌باشد یا خیر؟ Ivanov and Chu (2008) هزینه ملات‌های شیمیایی را بین ۲ تا ۷۲ دلار و هزینه ملات‌های بیولوژیکی را بین ۰/۵ تا ۹ دلار در هر مترمکعب خاک گزارش داده‌اند (جدول ۱۰ و ۱۱). بنابراین پیش‌بینی می‌شود که استفاده از این روش به‌منظور تثبیت سطح خاک در مقایسه با تثبیت عمق خاک، به‌مراتب هزینه خیلی کمتری را به دنبال داشته باشد. البته تثبیت خاک با استفاده از رسوب میکروبی کلسیت در مقیاس بزرگ در چندین کشور انجام شده و نتایج خوبی نیز گزارش شده است. از جمله، تثبیت خط لوله گاز در هلند در سال ۲۰۱۰، کاهش جریان آب زیرزمینی آلوده در سازند دولوستونی با درزه‌های فراوان در انتاریوی جنوبی در کانادا، به‌منظور ارزیابی توانایی هم‌رسوبی فلزات سنگین (استرونتیوم-۹۰) با کربنات کلسیم و با راهبرد تحریک زیستی رسوب میکروبی کلسیت در آزمایشگاه ملی ایداهو در آمریکا و به دنبال آن در کلرادو آمریکا (Van

Archive of SID
www.SID.ir

Paassen, 2011)، همچنین در هلند و اتریش به‌منظور انسداد زیستی و کاهش تراوش آب از سازه نگه‌دارنده آب (Blauw *et al*. 2010) از رسوب میکروبی کلسیت استفاده شده است. از مزایای این روش نسبت به دیگر روش‌ها این است که سازگار با محیط‌زیست می‌باشد و در طبیعت به‌صورت خودبه‌خود انجام می‌پذیرد ولی سرعت انجام این فرآیند با اضافه کردن محلول باکتری و سمنتاسیون به خاک افزوده می‌شود، به دلیل ویسکوزیته پایین به‌راحتی در منافذ خاک نفوذ می‌کند و نیاز به فشار تزریق ندارد، بهبود پارامترهای مقاومتی خاک بدون اینکه خاک را ناتراوا کند و همچنین دارای هزینه کمتری نسبت به روش‌های دیگر می‌باشد (Whiffin, 2004).

جدول ۹. نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین تأثیر زمان بر مقاومت برشی ماسه سیلیسی t60 در شرایط محیطی

تجزیه واریانس				مقایسه میانگین	
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	زمان (روز)	میانگین	
زمان	۵	۰/۰۲۳**	۱۱۰	۰/۳۷۹[a]	
خطا	۶	۰/۰۰۰	۶۲	۰/۱۵۹۲[b]	
			۷	۰/۱۳۵۴[bc]	
			۱۴	۰/۱۲۸۴[bc]	
			۱۰	۰/۱۰۸۳[cd]	
			۴	۰/۰۸۸[d]	

جدول ۱۰. هزینه ملات‌های شیمیایی (Ivanov and Chu, 2008)

مواد شیمیایی	قیمت ($/kg)	مقدار ماده افزودنی موردنیاز (kg/m^3)	ارزش مواد افزودنی ($/m^3$)
Lignosulphites - Lignosulphonates	0.1-0.3	20-60	2-18
Sodium silicate formulations	0.6-1.8	10-40	6-72
Phenoplasts	0.5-1.5	5-10	2.5-15
Acrylates	1.0-3.0	5-10	5-30
Acrylamides	1.0-3.0	5-10	5-30
Polyurethanes	5.0-10.0	1-5	5-50

جدول ۱۱. هزینه ملات‌های بیولوژیکی (Ivanov and Chu, 2008)

نوع ماده افزودنی	قیمت ($/kg)	مقدار ماده افزودنی موردنیاز (kg/m^3)	ارزش ماده افزودنی ($/m^3$)
Molasses+microorganisms	0.1-0.2	5-20	0.5-4.0
Homogenized food-processing wastes+ microorganisms	0.05-0.1	10-20	0.5-2.0
Iron one +organic wastes + microorganisms	0.1-0.2	10-20	1.0-4.0
Organic wastes (agricultural, horticultural, food-processing wastes)	0.05-0.1	10-20	0.5-2.0
Calcium chloride + urea + microorganisms	0.2-0.3	20-30	4.0-9.0

نتیجه‌گیری کلی

۱- کاربرد بیوسمنتاسیون باعث افزایش وابسته به زمان در مقاومت برشی در هر سه نمونه خاک ماسه سیلیسی t60، ماسه سیلیسی t90 و ماسه کربناته نسبت به نمونه شاهد شده است که بیشترین تأثیر غلظت محلول باکتری بر مقاومت برشی در OD=1.5به دست آمد که درواقع بهترین وضعیت تعادلی بین مقدار مواد حاضر و تعداد باکتری در این پژوهش می‌باشد.

۲- نوع و املاح موجود در خاک و همچنین توزیع دانه‌بندی خاک تأثیر قابل‌توجهی در فرایند رسوب میکروبی کلسیت دارد به‌گونه‌ای که ماسه با منشأ کربناته نسبت به دو گونه دیگر خاک که از نوع سیلیسی بوده است میزان افزایش بیشتری در مقاومت برشی نشان داد و همچنین در ماسه سیلیسی با توزیع دانه‌بندی ریزتر مقادیر مقاومت برشی بیشتری به دست آمد که به‌صورت کمی در حالت یک‌بار تزریق، میزان افزایش مقاومت برشی در بازه زمانی ۲۸ روز و غلظت بهینه، در ماسه کربناته حدود ۳۸٪ افزایش نسبت به ماسه سیلیسی t90 و ۵۴٪ افزایش نسبت به ماسه سیلیسی t60 داشته است.

۳- در حالت دو بار تزریق با فاصله زمانی ۶ روز مقاومت افزایش بیشتری نسبت به حالت تک تزریق، داشته است به‌گونه‌ای که در OD بهینه در مدت‌زمان ۲۸ روز، در ماسه سیلیسی t60 مقاومت به‌اندازه ۵۵ درصد نسبت به حالت تک تزریق افزایش داشته است که این افزایش در ماسه کربناته ۳۰ درصد بوده است که مقاومت نهایی در ماسه کربناته بیشتر (۰/۹کیلوگرم بر سانتیمترمربع) به دست آمد.

۴- در حالت یک‌بار تزریق و همچنین تزریق مجدد، در مدت‌زمان بیشتر از ۲۰ روزنرخ افزایش مقاومت در هر سه نوع خاک کاهش پیدا کرده است که می‌تواند به دلیل نداشتن آزادی حرکت توسط میکروارگانیسم به جهت تشکیل کریستال‌های کلسیت و در دسترس نبودن مواد مغذی جهت فعالیت باشد؛ بنابراین مدت‌زمان بهینه ۲۰ روز پیشنهاد می‌شود.

۵- با اضافه شدن رطوبت، مقادیر مقاومت برشی افزایش می‌یابد که به دلیل در دسترس قرار گرفتن مواد مغذی توسط باکتری و انجام فعالیت بیشتر می‌باشد؛ اما در مدت‌زمان بیشتر از ۱۴ روز از اضافه کردن رطوبت مقاومت در برابر برش به میزان قابل‌توجهی کاهش می‌یابد که می‌تواند به دلیل شسته شدن املاح و مواد غذایی و باکتری به اعماق پایین‌تر خاک باشد.

۶- جامع‌ترین نتیجه‌گیری که از این پژوهش می‌توان گرفت این است که تثبیت بیولوژیکی خاک می‌تواند به‌عنوان روشی مناسب در جهت کاهش فرسایش بادی و کنترل ریزگرد به کار گرفته شود و با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته توسط محققین که

Archive of SID

www.SID.ir

در متن مقاله به آن اشاره شده است از لحاظ اجرایی و همچنین اقتصادی دارای محدودیت نمی‌باشد. البته مطالعات گسترده و همه‌جانبه در مقیاس بزرگ‌تر به‌منظور شناخت و بررسی چالش‌های پیش رو در اجرا توصیه می‌شود.

REFERENCES

Achal, V., Mukherjee, A., Basu, P. C., and Reddy, M. S. (2009). Lactose mother liquor as an alternative nutrient source for microbial concrete production by Sporosarcina Pasteurii. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36, 433-438.

Achal, V., Mukherjee, A., and Reddy, M. S. (2010). Microbial concrete: A way to enhance the durability of building structures. *Journal of Materials in Civil Engineering (ASCE)*, 1943-5533.

Ahmadi, H., Ekhtessasi, M.R., Feiznia, S., and Ghanei Bafghi, M.J. (2002). Control Methods of Wind Erosion for Railroads Protection (Case Study: Bafgh Region). *Iranian Journal of Natural Resources*, 55(3), 327-342. (In Farsi)

Al Qabany, A. (2011). *Microbial Carbonate Precipitation in Soils*. Ph. D, Dissertation, University of Cambridge, UK.

Amin, M. (2014). *Effect of biogrouting in reduction erosion rate of sand*. MS Thesis, Shiraz University, Shiraz, Iran. (In Farsi)

Bang, S.S., Leibrock, C., Smith, B., Pinkelman, R.J., Frutiger, S., Nehl, L.M., Comes, B.L., Coleman, D., and Bang, S. (2009). Geotechnical values of microbial calcite in dust suppression. *Proc. of NSF Engineering Research and Innovation Conference* (CD-ROM), Honolulu, HI.

Bang, S., Min, S.H., and Bang, S.S. (2011). Application of Microbiologically Induced Soil Stabilization Technique for Dust Suppression. *International Journal of Geo-Engineering*, 3(2), 27-37.

Benini, S., Rypniewski, W.R., Wilson, K.S., Miletti, S., Ciurli, S., and Mangani, S. (1999). A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from Bacillus pasteurii: why urea hydrolysis costs two nickels. *Journal of Structure*, 7(2), 205–216.

Bergado, D.T., Long, P. V., Balasubramaniam, A.S. (1996). Compressibility and flow parameters form PVD improved soft Bangkok clay. *Geotech. Eng'g. Journal*, 27(1), 1-20.

Blauw, A. N., Los, F.J., Huisman, J., Peperzak, L. (2010). Nuisance foam events and Phaeocystis globosa blooms in Dutch coastal waters analyzed with fuzzy logic. Journal of Marine Systems, 83 (2010) 115–126.

Chou, C.W., Seagren, E.A., Aydilek, A.H., and Lai, M. (2011). Biocalcification of Sand through Urelysis. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering (ASCE)*, 127(12), 1179-1189.

DeJong, J. T., Fritzges, M. B., and Nüsslein, K. (2006). Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 132(11), 1381-1392.

DeJong, J.T., Mortensen, B.M., Martinez, B.C., and Nelson, D.C. (2008). Bio-mediated soil improvement. *Journal of Ecological Engineering*, 197-210.

DeJong, J.T. (2010). Bio-mediate soil improvement. *Journal of Ecological Engineering*, (36), 197-210.

Grini, A. G., Myhre Zender, C. S., Sundet, J. K., and Isaksen, I. S. A. (2003). Model simulations of dust source and transport in the global troposphere: Effects of soil erodibility and wind speed variability. *Institute Report.* No. 124, Norway, University of Oslo, Department of Geosciences.

Henry, D.F. (2006) *Fundamentals of Soil Science*. (8th ed). New York: Wiley.

Ingaki, Y., Tsukamoto, M., Mori, H., Nakajiman, S., Sasaki, T., and Kawasaki, S. (2011). A Centrifugal Model Test of Microbial Carbonate Precipitation as Liquefaction Countermeasure. *Jiban Kogaku Janaru* (*Journal of Japanese Geotechnical*), 6(2), 157-167.

Ivanov, V., Chu, J. (2008). Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol*, 7, 139–153.

Jalalian, A., Ghahsareh, A.M., and Karimzadeh, H.R. (1995). Soil erosion estimates for some watersheds in Iran. *land degradation and desertification newsletter of the International Task Force on Land Degradation, NRCS*.

Karol, R.H. (2003) *Chemical grouting and soil stabilization*. 3rd edn. M. Dekker, New York.

Kazemi, M.M. (2013). Investigating the parameters affecting the biological fixation using microalgae Microalgae chlorella vulgaris in Fine-grained soil. MS Thesis, Shiraz University, Shiraz, Iran. (In Farsi)

Laity, J. (2008) *Deserts and desert environments*. (1th ed). Willey-Blackwell.

Martinez, B.C., Barkouki, T.H., DeJung, J.T., and Ginn, T.R. (2011). Upscaling of Microbial Induced Calcite Precipitation in 0.5m Columns: Experimental and Modeling Results. *ASCE Geo-Institute Annual Conference: Geo-Frontiers 2011*. Dallas, Texas, 2011, pp. 4049-4059.

Mitchell, J.K., and Santamarina, J.C. (2005). Biological considerations in geotechnical engineering. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 131(10), 1222–1233.

Montoya, B. M., DeJong, J. T., and Boulanger, R. W. (2013). Dynamic response of liquefiable sand improved by microbial-induced calcite

Archive of SID

www.SID.ir

precipitation. *Journal of Geotechnique*, 63(4), 302-312.

Moravej, S., Habib Agahi, Gh., Niazi, A. (2013). Stabilization of Divergent soil using Bacillus Asfarykvs. *The first national conference of Iranian Geotechnical Engineering*, School of Engineering, University of Ardabil, Iran. (In Farsi)

Pimental, D., Allen, J., Beers, A., Guinand, L., Linder, R., Mc- Laughlin, P., Meer, B., Musonda, D., Perdue, D., Poisson, S., Siebert, S., Stoner, K., Salazar, R., and Hawkins, A. (1987). World agriculture and soil erosion. *School of Biological Sciences*, 37, 277-282.

Ramachandran, S.K., Ramakrishnan, V., and Bang, S.S. (2001). Remediation of concrete using micro-organisms. *Journal of ACI Materials*, 98(1), 3-9.

Rebata-Landa, V. (2007). *Microbial Activity in Sediments: Effects on Soil Behavior*. Ph .D. dissertation, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, USA.

Rusu, C., Cheng, X., and Li, M. (2011). Biological Clogging in Tangshan Sand Columns under Salt Water Intrusion by Sporosarcina Pasteurii. *Journal of Advanced Material Research*, 250-253, 2040-2046.

Saffari, R., Habib Agahi, Gh., Nekoei, E., Niazi, A. (2015). Effect of biological stabilized soil in soil - water retention curve.*10th International Congress of Civil Engineering*, Tabriz, Tabriz University, Department of Civil Engineering, Iran. (In Farsi)

Sajjadi, M., Habib Agahi, Gh., Niazi, A., Nekoei, E. (2013). Sowelling controll of expansive soil through the microbial calcite deposition. *National Conference of applied Civil Engineering with Modern achievements*, Kavir Sazeh Company, Karaj, Iran. (In Farsi)

Shahrokhi-Shahraki, R., Zomorodian, S.M.A., Niazi, A., and O'Kelly, B.C. (2014). Improving sand with microbial-induced carbonate precipitation. *Journal of Proceedings of the Institution of Civil Engineers, Ground Improvement*, 168(3), 217-230.

Stocks-Fischer, S., Galinat, J.K., and Bang, S.S. (1999). Microbiological precipitation of CaCO3. *Journal of Soil Biology and Biochemistry*, 31(11), 1563-1571.

Troeh, F.R., Hobbs, J.A., and Donahue, R.L. (1980). *Soil and Water Conservation for Productivity and Environmental protection*. Prentice - Hall, Englewood Cliffs, NJ.

United Nations Environment Program (UNEP) and International Soil Research Information Center (ISRIC). (1990). *World map of the status of human induced soil degradation.*

Van Paassen, L. A. (2011). Bio-mediated ground improvement: from laboratory experiment to pilot applications. *Proc*. GeoFrontiers: Advances in Geotechnical Engineering, Dallas, TX, ASCE Geotechnical Special Publication, 211, 4099– 4108.

Whiffin, V.S. (2004). Microbial CaCO3 precipitation for the production of biocement. *School of biological sciences and biotechnology*, Murdoch University, Western Australia.

Whiffin, V.S., van Paassen, L.A., and Harkes, M.P. (2007). Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Journal of Geomicrobiology*, 24(5), 417-423.

Xuan, J., Sokolik, I., Hao, J., and Guo, F. (2004). Identification and characterization of source of atmospheric mineral dust in East Asia. *Journal of Atmospheric Enviromental*, 38(36), 6239-6252.

Archive of SID

www.SID.ir