Archive of SID

مجله علمی – پژوهشی
مهندسی عمران مدرس
دوره هجدهم، شماره ۱، سال ۱۳۹۷

بهبود خواص مقاومتی و نفوذپذیری ماسه‌بادی به روش بیولوژیکی

مرتضی خالقی[1*]، محمدعلی روشن‌ضمیر[2]

۱- کارشناس ارشد مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲- دانشیار دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی اصفهان

* mortezakhaleghi88@gmail.com

تاریخ دریافت: [۹۵/۱۰/۱۵] تاریخ پذیرش: [۹۶/۰۶/۲۷]

چکیده

امروزه با توجه به رشد جمعیت و لزوم توسعه ساخت و ساز در زمین‌های حاشیه‌ای و نامرغوب بکارگیری روش‌های کارآمد و اقتصادی برای اصلاح خاک از جمله مباحث مهم و مورد نیاز در مهندسی ژئوتکنیک است. در همین راستار روش‌های بهسازی زیادی در دنیا در حال اجرا است. البته هر کدام مزایا و معایب خاص خود را دارد، که یکی از عمده‌ترین معایب در برخی روش‌های موجود عدم سازگاری آنها با محیط‌زیست است. روش بهسازی بیولوژیکی روشی خلاقانه، نوین و سازگار با محیط‌زیست است که با استفاده از میکروارگانیسم‌ها و فرآیندهای بیوشیمیایی منجر به تشکیل کربنات کلسیم می‌شود. این رسوب باعث چسپیدن ذرات خاک به یکدیگر می‌شود و خواص مقاومتی و فیزیکی خاک را بهبود می‌بخشد. در این پژوهش عملکرد کشت مختلط در برابر کشت منفرد میکروارگانیسم‌ها در افزایش مقاومت تک‌محوری و کاهش نفوذپذیری بررسی شد. نتایج آزمایش‌های تک‌محوری نشان داد که مقاومت تک‌محوری خاک بهسازی شده توسط کشت منفرد و مختلط به ترتیب ۵۲۷/۷ کیلوپاسکال و ۷۷۱/۸ کیلوپاسکال است که نسبت به مقاومت خاک بهسازی‌نشده افزایش چشمگیری یافته است. نتایج آزمایش نفوذپذیری بار افتان نشان داد که نفوذپذیری خاک بهسازی‌شده نسبت به خاک بهسازی‌نشده کاهش چشمگیری داشته است. در مجموع عملکرد کشت مختلط در مقایسه با کشت منفرد مطلوب‌تر بوده و منجر به افزایش مقاومت و کاهش نفوذپذیری قابل توجهی شده است.

واژگان کلیدی: بهسازی بیولوژیکی، کشت مختلط، مقاومت تک‌محوری، نفوذپذیری

۱- مقدمه

سالانه بیش از ۴۰۰۰۰ پروژه بهسازی زمین به‌طور عمومی در دنیا انجام می‌گیرد که هزینه‌ای بالغ بر ۶ بیلیون دلار آمریکا در پی دارد. بسیاری از روش‌های بهسازی زمین که به طور عمومی استفاده می‌شود، هم شامل مصرف انرژی مکانیکی و هم شامل افزودن مواد ساخته شده به وسیله انسان به داخل خاک است که هر دو گزینه به‌طور ذاتی هزینه‌های مصرف انرژی بالایی دارد [1]. سیمانی‌شدگی مصنوعی، شبیه به آن‌چه که در هنگام استفاده از سیمان پرتلند در تزریق‌های سیمانی صورت می‌گیرد، شامل افزودن موادی با خاصیت قلیایی بالا به خاک است که باعث آلودگی خاک می‌شود [2]. بسیاری از دوغاب‌های شیمیایی نیز که به‌طور عمومی استفاده می‌شوند، سمی بوده و ممکن است آثار جدی و مهمی روی سلامت انسان و محیط‌زیست داشته باشند [3]. بنابراین وجود چنین مشکلات و ایراداتی، نیاز به ایجاد و توسعه روش‌های جدید و جایگزینی روش‌های سنتی را ایجاب می‌نماید.

www.SID.ir

Archive of SID

در اوایل دهه ۱۹۸۰ هنگام بهره‌بردای از سکوی گازی فلات قاره شمال‌غرب استرالیا مشکلی در شالوده آن بوجودآمد و مهندسان پی‌بردند که شمع‌ها به اندازه کافی به وسیله نهشته‌های محیطی مقید نشده‌است. در همین راستا پرایس[1] مطالعاتی روی ساختار و رفتار تغییر شکل نهشته‌های کربناتی در زیر سکو انجام داد و در سال ۱۹۸۷ به فرآیند تشکیل رسوب کلسیت دست یافت [4]. باکتری‌های مناسب برای فرآیند تشکیل رسوب کلسیت باید قادر به هیدرولیز کردن اوره باشد و آنها معمولاً از نوع باکتری‌های مثبت اوره‌آز هستند. در مجموع این باکتری‌ها بیشتر از گونه‌های باسیلوس[2]، اسپروسارسینا[3]، اسپولوکتوباسیلوس[4]، کلوستریدیوم[5] و گونه دسوفوتوماکلوم[6] هستند [5].

سیستم بهسازی بیولوژیکی خاک به شبکه وسیعی از واکنش‌های شیمیایی که داخل خاک رخ می‌دهند وابسته است و توسط این واکنش‌ها کنترل می‌شود. محصولات فرعی حاصل از این واکنش‌ها باعث تغییر خواص مهندسی خاک می‌گردد. شکل (۱) این شبکه را نشان می‌دهد [1].

شکل ۱. سیستم‌های بهسازی بیولوژیکی ($[-]$ = غلظت، Ω= مقاومت، V_p = سرعت موج فشاری، V_s = سرعت موج برشی) [۱]

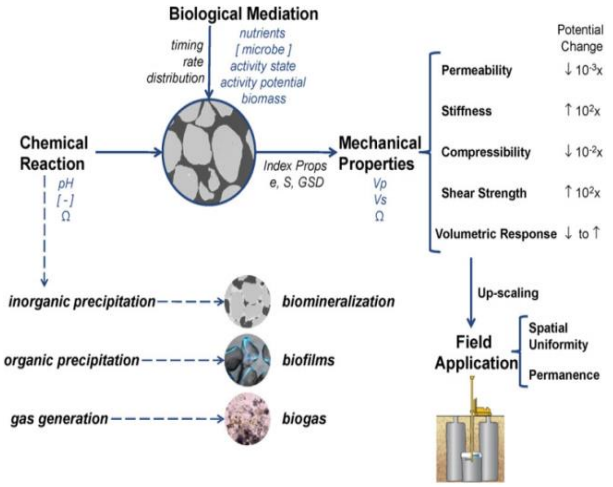

Fig. 1. Overview of bio-mediated soil improvement systems. ([−] = chemical concentration, Ω = resistivity, Vp = compression wave velocity, Vs = shear wave velocity) [1].

استفاده از میکروب‌ها برای کنترل و مدیریت واکنش‌های شیمیایی با توجه به حضور گسترده آنها در زیرسطح و اینکه از میلیون‌ها سال پیش فعال بوده‌اند جذاب است. بیش از ۱۰ سلول در هر گرم از خاک در سطوح بالایی وجود دارد که غلظت آنها با افزایش عمق کاهش می‌یابد. در عمق ۳۰ متری، غلظت باکتری‌ها تقریباً ۱۰ سلول در هر گرم خاک می‌رسد. تعداد میکروب‌هایی که می‌توانند برای بهسازی زیستی استفاده شوند هم زیاد است [6].

ارگانیسم‌های میکروبی که برای بهسازی بیولوژیکی برای استفاده خاک، تقریبا قدمتی به اندازه ۱/۵ بیلیون سال دارند و فرآیندهایی که توسط این میکروارگانیسم‌ها کنترل و مدیریت شده‌اند شامل بخش قابل توجهی از این زمان است [7].

در بهسازی بیولوژیکی خاک، شبکه واکنش شیمیایی زیستی برای کنترل زمان واکنش تنظیم می‌شود. این کار به شرطی شدنی است که مواد شیمیایی در عمق توده‌ی خاک اصلاح شوند. جمعیت میکروبی در محل معمولاً با تزریق ماده مغذی یا افزودن میکروب اضافی[7] به صورت زیستی تحریک[8] می‌شود. در هر دو حالت هدف از انجام آن، افزایش سطح فعالیت و غلظت باکتری‌ها به سطح مورد نیاز برای شروع و ادامه واکنش شیمیایی است. کنترل زمان در حالی شدنی است که میکروب‌ها و مواد شیمیایی به خاک منتقل شده و بطور گسترده در خاک توزیع شوند. فعالیت میکروبی به تدریج شرایط محیطی را تغییر می‌دهد (اغلب با افزایش PH) تا شرایط مورد نیاز برای شروع واکنش شیمیایی فراهم شود. شبکه واکنش‌های شیمیایی موجب تولید نرخ مطلوب محصول فرعی (بطور نمونه رسوب کلسیت) شده است که به نرخ فرآیندهای متابولیکی میکروبی و مواد شیمیایی در دسترس وابسته است [1].

شبیه سایر فرآیندهای کانی‌سازی زیستی، تشکیل رسوب کلسیم کربنات ($CaCO_3$) به وسیله دو سازوکار امکان‌پذیر است: کنترل بیولوژیکی و القاشدگی بیولوژیکی [8].

1 Dr. Price
2 Bacillus
3 Sporosarcina
4 Spoloactobacilus
5 Clostridium
6 Desulfotomaculum

7 Bio-augmentation
8 Bio-stimulation

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۲. شبکه واکنش‌های بیوشیمیایی و چگونگی تشکیل رسوب کلسیت [1]

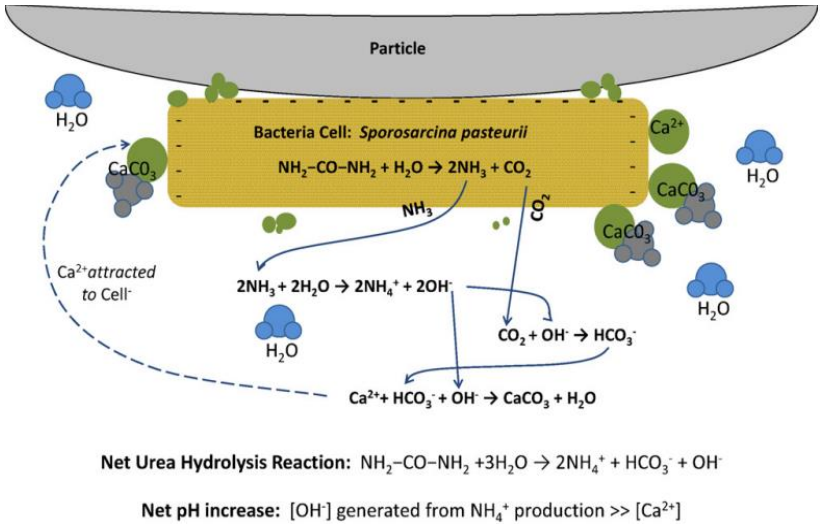

Fig. 2. Overview of bio-mediated calcite precipitation using ureolysis [1].

در روش کنترل بیولوژیکی، ارگانیسم فرآیند را کنترل می‌کند به عبارتی تشکیل و رشد ذرات معدنی تا حدود زیادی توسط ارگانیسم انجام می‌شود. ارگانیسم، مواد معدنی را به صورت مستقل از شرایط محیطی و به شکلی که منحصر به گونه خودش است تولید می‌کند. رسوبات سیلیکاتی در جلبک‌های تک سلولی و دیاتومه‌ها همچنین شکل مگنتیت در باکتری‌های مغناطیسی نمونه‌هایی از این روش است [9].

با این حال کلسیم کربنات تولید شده به وسیله باکتری بیشتر به صورت "القا شدگی" است که به صورت گسترده‌ای به شرایط محیطی وابسته است و به هیچ ساختار گونه‌ای و سازوکار مولکولی منحصر به فردی وابسته نیست [10]. شبکه واکنش بیو–شیمیایی در حضور اوره و کلریدکلسیم در خاک رخ می‌دهد و باعث افزایش خاصیت قلیایی خاک می‌شود که در طی آن رسوب کربنات‌کلسیم تشکیل شده و باعث چسبیدن ذرات خاک به یکدیگر می‌شود [11]. این فرآیند در شکل (۲) نشان داده شده است. همچنین مواد مغذی منابع تامین انرژی باکتری می‌باشند و لذا فراهم شدن ماده مغذی برای فرآیند رسوب کلسیت امری حیاتی است. ماده مغذی برای باکتری در طول کشت و مرحله بهسازی خاک مورد نیاز است. مواد مغذی مورد نیاز بطور کلی شامل عناصری مانند از N, P, K, Mg, Ca, Fe است [12]. کمبود مواد آلی در خاک برای رشد باکتری یک محدودیت است پس تزریق ماده مغذی در طول فرآیند به داخل نمونه‌های خاکی ضروریست [13].

فیشر و همکاران[1] (۱۹۹۹) نشان دادند که فعالیت اوره‌آزی از PH های ٦ تا ٨ سرعت بیشتری پیدا می‌کند و با افزایش PH از این سرعت کاسته می‌شود. با این حال آنها نشان دادند که سطح PH قابل قبول برای هیدرولیز اوره تا ۹ می‌تواند مناسب باشد. PH محیط واکنش در طول فرآیند رسوب بیولوژیکی کلسیت (MICP)[2] به تدریج افزایش می‌یابد. فیشر و همکاران آمونیوم تولیدشده توسط فرآیند هیدرولیز اوره را عامل افزایش PH محیط واکنش گزارش کردند [14].

دی‌جانگ و همکاران[3] (۲۰۰٦) روشی را برای بکارگیری فرآیندهای بیولوژیکی برای دستیابی به رسوب کلسیت در یک نوع ماسه سست و غیرچسپنده با استفاده از باکتری اسپروسارسینا پاستوری[4] و در یک محیط رشد مایع که شامل اوره و کلسیم‌کلراید بود بکار بردند. آنها با استفاده از سرعت موج برشی نشان دادند که بهسازی بیولوژیکی باعث افزایش مدول برشی نمونه‌ها می‌شود [15].

1 Stocks-Fischer et al.
2 Microbially Induced Carbonate Precipitation
3 De Jong et al.
4 Sporosarcina Pasteurii

www.SID.ir

Archive of SID

شاهرخی و همکاران با استفاده از باکتری *B. pasteurii*، بهسازی بیولوژیکی را روی دو نوع ماسه که در دسته ماسه بد دانه‌بندی شده[1] قرار داشتند، بررسی کردند. آنها پس از کشت باکتری در محیط کشت مایع و تنظیم PH آن روی ۷ به صورت یک مرحله‌ای، محلول‌های باکتری و سیمانی را به خاک تزریق کردند و پس از یک دوره ۲۱ روزه نمونه‌ها را مورد آزمایش قرار دادند. آنها با تغییر در غلظت محلول سیمانی و محلول باکتری، مقاومت تک‌محوری و نفوذپذیری ستون‌های ماسه‌ای را بررسی کردند. همچنین آنها با تصویر برداری الکترونی، توزیع رسوب کلسیت را ارزیابی کردند. آنها گزارش نمودند که افزایش غلظت باکتری همواره باعث بهبود خواص مقاومتی ماسه‌ها نمی‌شود ولی با افزایش غلظت محلول سیمانتسیون مقاومت تک‌محوری افزایش می‌یابد [16]. این مقاله دستاوردهای بکارگیری کشت مختلط به عنوان یک راهکار نوین در بهسازی بیولوژیکی خاک را ارائه می‌نماید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- خاک

در این پژوهش از خاک ماسه‌ای کویر کرمان استفاده شده‌است که ویژگیها و منحنی دانه‌بندی آن به ترتیب در جدول (۱) و شکل (۳) نشان داده شده‌است.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی خاک ماسه‌ای

D_{10} (mm)	0.18
D_{30} (mm)	0.21
D_{60} (mm)	0.27
Coefficient of uniformity	1.50
Coefficient of curvature	0.92
Optimum moisture (%)	16
AASHTO classification system	A-3
Unified classification system	SP
Specific gravity (Gs)	2.70
Max. specific weight (gr/cm^3)	1.74
Max. void ratio	0.78
Min. void ratio	0.60

Table 1. Some physical properties of sandy soil

1 SP

شکل ۳. منحنی دانه‌بندی خاک

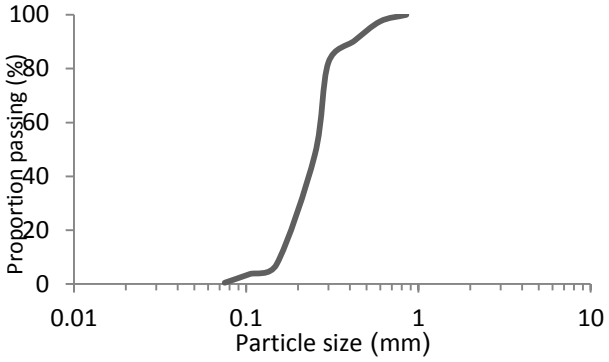

Fig. 3. Grading curves for test sands

۲-۲- میکروارگانیسم‌ها

در این پژوهش از دو سویه‌ی باکتریای استفاده شده‌است که سویه‌ی اسپوروسارسینا اوره[2] (PTCC 1642) توانایی هیدرولیز اوره را دارد، این سویه از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری صنعتی ایران تهیه شده است. سویه‌ی دوم نیز با نام باسیلوس سابتیلیس[3] (ATCC 6633) که خاصیت اوره‌آزی ندارد و برای استفاده در کشت مختلط و بررسی کارآیی آن در نرخ هیدرولیز اوره استفاده شد. این سویه نیز از پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه شده است.

۲-۳- فعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها

برای فعالسازی گونه‌ی *B. Subtilis* که در فریزر ۸۰℃- نگهداری می‌شد، پس از خروج از فریزر در زیر هود ذوب شده و با شیکر خوب همزده شد آنگاه محتویات لوله پلاستیکی به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت ال بی (LB) مایع استریل، انتقال یافت. برای فعالسازی گونه‌های باسیلوس پاستوری و اسپروسارسینا اوره که از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری ایران به صورت لیوفیلیزه[4] تهیه شد، ابتدا پس از شکستن آمپول لیوفیلیزه به وسیله پیپت پاستور استریل ۰/۳ تا ۰/٤ میلی‌لیتر از محلول استریل (محیط کشت مایع یا نرمال سالین) را به ماده خشک درون آمپول اضافه شد و به خوبی مخلوط شد. سپس کل سوسپانسیون تهیه شده را روی یک لوله بزرگ حاوی ۲۰

2 S. urea
3 B. subtilis
4 Liyofilize

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌لیتر محیط کشت ال بی (LB) مایع منتقل شد. در ادامه محیط کشت تلقیح‌شده و پلیت کنترل را در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد برای باسیلوس سابتیلیس و باسیلوس پاستوری و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای اسپروسارسینا اوره به مدت ۲٤ ساعت انکوبه‌گذاری[1] شد.

گستره میکروبی از محتویات کشت فعال شده هر باکتری روی سطح لام تهیه شد و ریخت‌شناسی باکتری‌ها به دقت بررسی شدند. پس از بررسی‌های اولیه، برای تولید کلونی‌های ایزوله مقداری از باکتری‌های مذکور روی محیط کشت ال بی (LB) مایع کشت داده شدند. پلیت‌های مربوط به باکتری‌های مذکور دوباره به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۲۸ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تا ظهور کامل کلونی‌ها گرمخانه‌گذاری شدند. پس از ظهور کلونی‌ها از آنها لام تهیه شد و بعد از رنگ‌آمیزی در زیر میکروسکوپ مشاهده شدند تا از عدم آلودگی آنها اطمینان حاصل شود.

۲-۴- تهیه محلول باکتریایی

برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی استفاده شده برای انجام آزمایش‌ها، ابتدا باید محیط کشت مایع تهیه شده هاروست[2] شود (جداسازی باکتری‌ها از محیط کشت). برای هاروست نمودن محیط کشت به این صورت عمل شد که در هر نوبت مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت حاوی سلول‌های باکتریایی داخل ٤ عدد فالکون ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شده و به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ٤۵۰۰ دور بر دقیقه برای جداسازی توده باکتری از محیط کشت، سانتریفیوژ شد. پس از این مرحله، محلول زلال رویی در هر لوله که خالی از باکتری می‌باشد، دور ریخته شده و توده جامد باکتری باقیمانده در ته لوله، دو مرتبه به وسیله بافر سدیم‌فسفات ۰/۱ مولار شستشو داده می‌شود تا مواد متابولیکی حاصل از متابولیسم باکتریایی از بین بروند. سپس توده باکتری شسته‌شده به داخل محلول نوترینت براث–اوره ریخته می‌شود و محلول حاصل، سوسپانسیون باکتری نامیده می‌شود. اجزای محلول باکتری تهیه‌شده در جدول (۲) خلاصه شده‌اند.

از این محلول برای بالا بردن غلظت باکتری موجود در نمونه‌های خاکی تا غلظت مورد نظر استفاده می‌شود. غلظت باکتری برای افزایش هیدرولیز اوره و در نتیجه تولید رسوب کربنات کلسیم از فاکتورهای اساسی فرآیند بهسازی بیولوژیکی به شمار می‌رود.

جدول ۲. اجزا محلول باکتری

Material	**Amount** (per liter of distilled water)
Nutrient Broth	3g
Urea	20g
Ammonium chloride (NH_4Cl)	10g
Sodium bicarbonate ($NaHCO_3$)	2.12g
PH	5.8

Table 2. Bacterial solution components

غلظت باکتری‌ها در سوسپانسیون باکتری توسط واحدی به نام چگالی نوری[3] بیان می‌شود که بیانگر میزان جذب نور در طول موج ٦۰۰ نانومتر است و برای تعیین چگالی نوری از دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده می‌شود. بنابراین برای دسترسی به غلظت مورد نظر، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر، میزان جذب نور (OD_{600}) سوسپانسیون مورد نظر در طول موج ٦۰۰ نانومتر قرائت می‌گردد. برای این کار مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون مورد نظر داخل ویال مخصوص دستگاه ریخته و ویال مورد نظر داخل دستگاه قرار داده می‌شود. میزان جذب نور در این حالت بیانگر غلظت تقریبی باکتری‌ها در سوسپانسیون است. از محلول نوترینت براث–اوره به عنوان محلول شاهد و نیز برای رقیق کردن سوسپانسیون باکتریایی استفاده می‌شود. در این پژوهش بنا بر کارهای صورت گرفته قبلی، مقدار چگالی نوری باکتریایی ثابت و برابر ۱/۱ در نظر

1 Incubation
2 Harvest
3 Optical Density

www.SID.ir

Archive of SID

گرفته شد. مقدار چگالی نوری انتخاب شده براساس رابطه (۱) معادل ۱۰ باکتری در هر میلی‌لیتر محلول است [17].

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

۲-۵- تهیه محلول سیمانتاسیون

اوره یا کاربامید یک ترکیب آلی با فرمول شیمیایی $CO(NH_2)_2$ است که برای نخستین بار در سال ۱۷۷۳ میلادی به وسیله شیمیدان فرانسوی به نام هیلاری رول[1] کشف شد. این ترکیب دارای دو گروه آمین ($-NH_2$) باقیمانده است که به یک گروه کربونیل ($-CO-$) که گروهی عملکردی است، اتصال می‌یابد. این ماده در صنایع کشاورزی کاربرد فراوانی دارد [18].

کلرید کلسیم ($CaCl_2$) در فرایند رسوب‌دهی میکروبی کربنات کلسیم برای تامین یون‌های کلسیم مورد نیاز برای انجام واکنش استفاده می‌شود. کلرید کلسیم یک ترکیب شیمیایی متشکل از کلر و کلسیم است. این ماده در آب بسیار محلول است. کلرید کلسیم را می‌توان از سنگ آهک[2] (کلسیت) تهیه کرد [18]. در این پژوهش غلظت مناسب اوره و کلرید کلسیم به ترتیب ۲ و ۱ ارزیابی شد که پس از انحلال در آب مقطر به حجم مورد نظر رسانده شد.

۲-۶- آماده‌سازی نمونه‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها بدین ترتیب است که با توجه به حجم قالب مقدار ۲۸۲ گرم خاک خشک با ۶۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری و ۱۰ میلی‌لیتر محلول سیمانتسیون به خوبی مخلوط شد و در قالب‌هایی به قطر ۴۷ میلی‌متر و طول ۱۰۰ میلی‌متر (نسبت طول به قطر ۲/۱) ریخته شد. پس از آب‌بندی قالب‌ها توسط واشر اورینگ، ۶۰ میلی‌لیتر محلول سیمانتسیون با سرعت تقریبی ۹۰ میلی‌لیتر در ساعت به نمونه‌ها تزریق شد و پس از ۱۲ ساعت ۶۰ میلی‌لیتر محلول سیمانتسیون دیگر نیز تزریق شد. نمونه خاک تهیه‌شده در این حالت دارای وزن مخصوص خشک $1/63\ gr/cm^3$ و تراکم نسبی ۶۷٪ است. در شکل (۴) شماتیک چگونگی تزریق نشان داده شده است. پس از پایان تزریق محلول سیمانتسیون، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در شرایط اشباع نگهداری می‌شوند و پس از آن نمونه‌ها از سیستم تزریق جدا شده و به مدت ۷ روز در محیط با دمای ۳ ± ۲۵ نگهداری می‌شوند. پس از پایان دوره عمل‌آوری، نمونه‌های عمل‌آوری شده مورد نیاز برای آزمایش تک‌محوری به وسیله جک مخصوص از درون قالب‌ها بیرون آورده می‌شوند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه در اون قرار داده شدند تا علاوه بر توقف فرآیند رسوب کلسیت، نمونه‌ها قوام کافی را برای آزمایش تک‌محوری بدست آورند.

شکل ٤. چگونگی تزریق نمونه‌ها

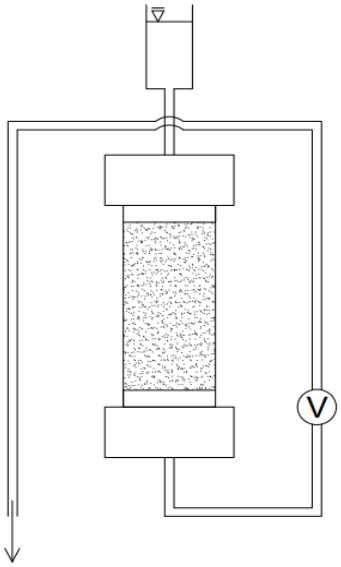

Fig. 4. Injection procedure of Sample

۳- بحث و تحلیل نتایج

۳-۱- مقاومت تک‌محوری

برای انجام آزمایش تک‌محوری، سطوح انتهایی نمونه‌های تزریق‌شده پس از طی دوره عمل‌آوری و پیش از قرار دادن زیر دستگاه بارگذاری، با سمباده نرم ساییده شدند تا سطحی صاف و بدون برجستگی ایجاد شود. شکل (۵) نمونه‌های آماده شده برای آزمایش تک‌محوری را نشان می‌دهد. پس از آماده سازی، هر یک از نمونه‌ها در دستگاه تک‌محوری قرار داده شد و با اعمال بارگذاری در نرخ جابه‌جایی $1\ mm/min$ مقاومت فشاری غیرمحصور ارزیابی شد. از آنجا که انجام آزمایش

1 Hilaire Rouelle
2 Limestone

www.SID.ir

Archive of SID

تک‌محوری روی نمونه ماسه‌ای میسر نیست، پس مقاومت خاک در شرایط سه‌محوری با فشار محصورکننده پائین مبنای مقایسه‌ی نتایج قرار گرفت. همچنین برای مقایسه با حالت ماسه بهسازی‌نشده، آزمایش سه‌محوری روی نمونه ماسه بهسازی‌نشده با فشار محصورکننده ۵۰ کیلوپاسکال انجام شده‌است. نمودار ارائه شده در شکل (٦) تغییرات تنش محوری وارد شده به نمونه را در برابر کرنش محوری برای دو محیط کشت *S. urea*، *S. urea+B. subtilis* و نیز ماسه بهسازی‌نشده را نشان می‌دهد.

شکل ۵. نمونه‌های آماده شده برای آزمون تک‌محوری

Fig. 5. Prepared samples for unconfined pressure test

شکل ٦. نمودار تنش انحرافی–کرنش برای نمونه‌های بهسازی‌شده و بهسازی‌نشده

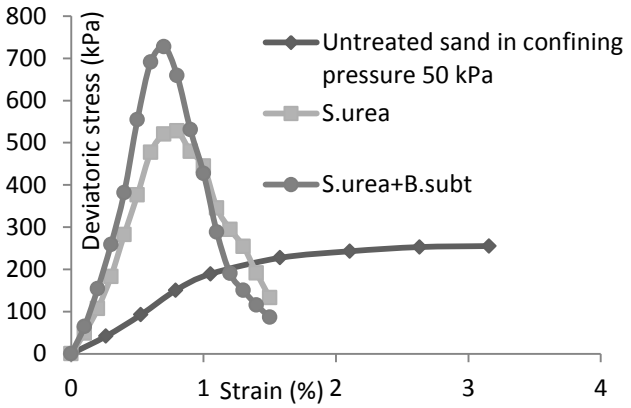

Fig. 6. Deviatoric stress–strain responses of untreated sand and MICP-treated sands

با توجه به شکل (٦)، بیشینه مقاومت تک‌محوری مربوط به کشت مختلط *S. urea+B. subtilis* برابر با ۷۷۱/۸ کیلوپاسکال و برای کشت منفرد *S. urea* برابر با ۵۲۷/۷ کیلوپاسکال بدست آمده‌است. همان‌گونه که از بیشینه مقاومت‌های تک‌محوری پیداست هر دو کشت مختلط و منفرد باعث افزایش مقاومت تک‌محوری خاک ماسه‌ای می‌شود. مقاومت کشت مختلط نسبت به کشت منفرد بیشتر است و این بدین معناست که باکتری *B. subtilis* نقش محرک در فرآیند هیدرولیز اوره ایفا می‌کند و باعث می‌شود که تولید رسوب کلسیت با نرخ بیشتری رخ دهد. رسوب کلسیت تولیدشده در بین ذرات خاک، آنها را به یکدیگر می‌چسباند و باعث می‌شود تا مقاومت تک‌محوری افزایش یابد. همچنین هیچ تنش پسماندی در نمونه‌های بهسازی‌شده مشاهده نمی‌شود که این امر می‌تواند به دلیل ترد بودن نمونه‌ها باشد. شکل (۷) لحظه شکست نمونه‌هایی را که با *S. urea* و *S. urea+B. subtilis* بهسازی شده‌اند را نشان می‌دهد. همانطور که از شکل (۷) مشاهده می‌شود نمونه‌ها در راستای ضعیف‌ترین صفحه که به صورت قطری می‌باشد گسیخته می‌شوند.

شکل ۷. شکست نمونه S. urea (راست) – شکست نمونه *S. urea+B. subtilis* (چپ)

Fig. 7. Fracture of S. urea sample (right) and fracture of *s. urea+B. subtilis* sample (left)

شکل (۸) میزان افزایش مقاومت تک‌محوری نمونه‌های بهسازی‌شده را نسبت به نمونه ماسه‌ای نشان می‌دهد. با توجه به شکل مقاومت تک‌محوری در حالت کشت مختلط ۳ برابر حالت بهسازی‌نشده است و این در حالیست که مقاومت تک‌محوری در حالت کشت منفرد ۲ برابر بیشینه تنش انحرافی ماسه در فشار محصورکننده ۵۰Kpa است.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۸. نمودار میزان افزایش مقاومت تک‌محوری نمونه‌های بهسازی‌شده نسبت به بیشینه تنش انحرافی ماسه در فشار محصورکننده ۵۰ کیلوپاسکال در آزمایش سه‌محوری

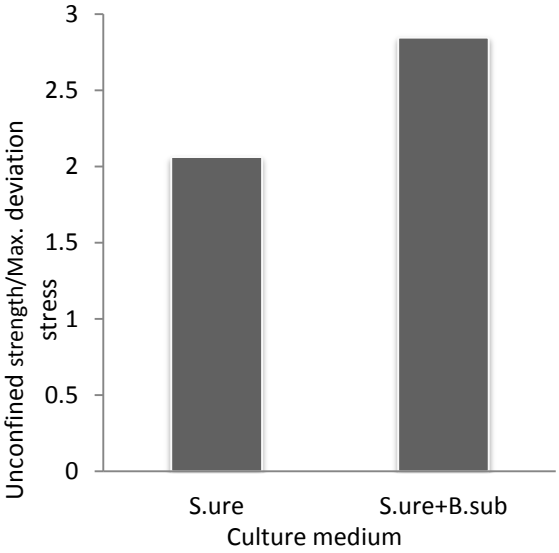

Fig. 8. The increment magnitude of the unconfined strength of the treated samples relative to the maximum deviation stress of the untreated sand at the 50kPa confining pressure in the triaxial test

شکل ۹. مدول الاستیسیته مربوط به خاک ماسه‌ای و بهسازی‌شده

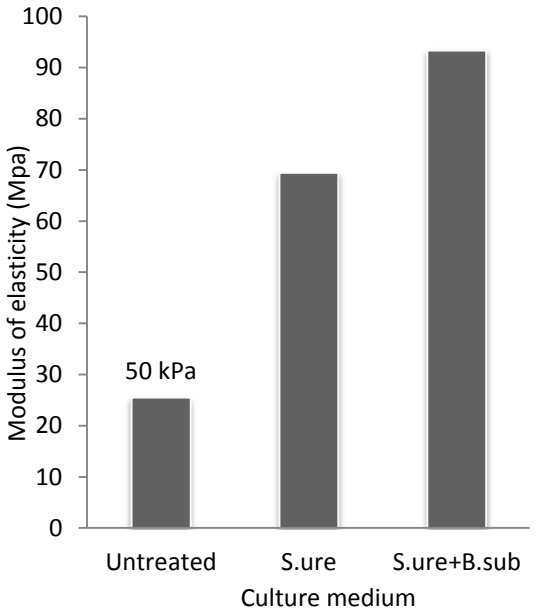

Fig. 9. Elasticity modulus of sandy soil and treated sands

برای بررسی تأثیر فرآیندهای بیولوژیکی بر تغییرات سختی یا مدول الاستیسیته خاک تثبیت‌شده، از مدول الاستیسیته سکانتی (E_s) استفاده شد. با توجه به تنوع انتخاب مدول سکانتی، این مقدار به صورت شیب خطی درنظرگرفته شد که در منحنی تنش- کرنش مصالح، مبدأ مختصات را به نقطه‌ای بر روی منحنی معادل با نصف مقاومت حداکثر هر یک از مصالح متصل نماید. شکل (۹) مدول الاستیسیته متناظر با خاک ماسه‌ای و خاک بهسازی‌شده توسط کشت مختلط و منفرد را نشان می‌دهد.

۳-۲- ضریب نفوذپذیری

برای بررسی اثر رسوب بیولوژیکی روی نفوذپذیری خاک ماسه‌بادی از آزمایش بار آبی افتان استفاده شد. برای این منظور نمونه‌های استوانه‌ای به قطر ٤٧ و ارتفاع ۱۰۰ میلی‌متر از خاک ماسه‌ای و خاک ماسه‌ای بهسازی‌شده توسط دو محیط کشت منفرد و مختلط که در آزمایش تک‌محوری نیز استفاده شده‌بود، مورد آزمایش قرار گرفتند. جدول (۳) نفوذپذیری خاک بهسازی‌نشده و جداول (٤ و ٥) نیز به ترتیب نفوذپذیری خاک بهسازی‌شده توسط دو محیط کشت *S. urea* و *S. urea+B. subtilis* را نشان می‌دهد.

با توجه به جداول پیش‌گفته، بهسازی بیولوژیکی توسط *S. urea* و *S. urea+B. subtilis* باعث کاهش نفوذپذیری خاک ماسه‌ای می‌شود و در حالت کشت مختلط عملکرد بهتری نسبت به کشت منفرد حاصل شده‌است. عملکرد بهتر کشت مختلط به دلیل رسوب بیشتر آن است زیرا باکتری *B. subtilis* موجود در کشت مختلط نرخ هیدرولیز اوره و در نتیجه رسوب کربنات کلسیم را افزایش می‌دهد.

جدول ۳. نفوذپذیری خاک بهسازی‌نشده

K(cm/s)	k (cm/s)	h (cm)	t (s)
		122	4
	7.3×10^{-3}		
		95	8
	6.9×10^{-3}		
7.4×10^{-3}		75	12
	8.5×10^{-3}		
		56	16
	7.1×10^{-3}		
		44	20

Table 3. Permeability of untreated sand

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٤. نفوذپذیری خاک بهسازی‌شده توسط *S. urea*

K(cm/s)	k (cm/s)	h (cm)	t (s)
		136	4
	3.7×10^{-3}		
		120	8
	3.6×10^{-3}		
3.6×10^{-3}		106	12
	3.8×10^{-3}		
		93	16
	3.3×10^{-3}		
		83	20

Table 4. Permeability of treated sand with S. urea

جدول ٥. نفوذپذیری خاک بهسازی‌شده توسط *S. urea+B. subtilis*

K(cm/s)	k (cm/s)	h (cm)	t (s)
		133	4
	3.2×10^{-3}		
		119	8
	2.8×10^{-3}		
3×10^{-3}		108	12
	2.8×10^{-3}		
		98	16
	3.1×10^{-3}		
		88	20

Table 5. Permeability of treated sand with *S. urea+B. subtilis*

۳-۳- تصویربرداری الکترونی (SEM)

تصویربرداری الکترونی روشی است که می‌توان با استفاده از آن چسبندگی و چگونگی اتصال دانه‌ها را در مقیاس‌های مختلف و با وضوح مناسبی مشاهده و ارزیابی کرد. همچنین این روش تصویربرداری چگونگی پر شدن منافذ و مناطق تمرکز رسوب را نیز با بزرگ‌نمایی قابل قبولی نشان می‌دهد. در شکل (۱۰) شماره (۱) چگونگی اتصال دانه‌های خاک توسط رسوب کربنات کلسیم در حالت کشت مختلط و شماره (۲) چگونگی تشکیل رسوب کربنات کلسیم را روی سطح دانه‌ها نمایش می‌دهد. همچنین شکل (۱۱) تصویر ماسه بهسازی‌نشده را نشان می‌دهد که فاقد هرگونه چسبندگی بین دانه‌ها می‌باشد. رسوب کربنات کلسیم نشان داده شده با پُر کردن منافذ خالی بین ذرات باعث افزایش مقاومت و کاهش نفوذپذیری می‌شود.

شکل ۱۰. تصویر ۵۰۰ میکرومتری نمونه *S. ure+B. sub*

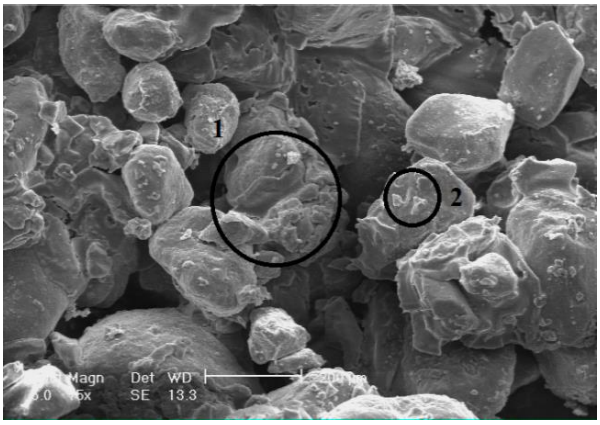

Fig. 10. SEM image (500µm) of treated sand with *S. ure+B. sub*

شکل ۱۱. تصویر ۲۰۰ میکرومتری نمونه بهسازی نشده

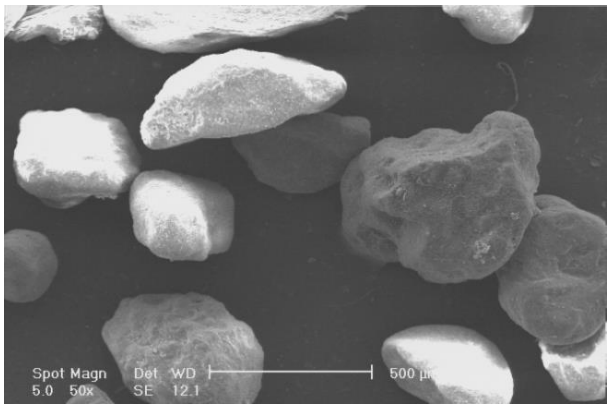

Fig. 11. SEM image (200µm) of untreated sand

٤- نتیجه‌گیری

در این پژوهش بهسازی بیولوژیکی توسط کشت منفرد و مختلط ارزیابی شد و براساس آزمایش‌های انجام‌شده می‌توان نتایج زیر را به عنوان دستاورد این پژوهش بیان کرد:

۱- مقاومت تک‌محوری خاک بهسازی‌شده به وسیله کشت منفرد و مختلط به ترتیب ۳ و ۲ برابر بیشینه تنش انحرافی ماسه بهسازی‌نشده در فشار محصورکننده ۵۰Kpa است.

۲- مقاومت تک‌محوری نمونه بهسازی‌شده به وسیله کشت

www.SID.ir

Archive of SID

مختلط نسبت به کشت منفرد ۳۸٪ افزایش یافته است.

۳- مدول الاستیسیته نمونه بهسازی‌شده به وسیله کشت منفرد و مختلط به ترتیب ۲/۷ و ۳/٦ برابر مدول الاستیسیته نمونه بهسازی‌نشده است.

٤- مدول الاستیسیته نمونه بهسازی‌شده به وسیله کشت مختلط نسبت به کشت منفرد ۳٤٪ افزایش یافته است.

۵- ضریب نفوذپذیری خاک بهسازی‌شده توسط کشت مختلط و منفرد به ترتیب ٦۰٪ و ۵۰/۵٪ کاهش یافته‌است. این مقدار تراوایی برای مکان‌هایی که نیاز به مقاومت بالا و اندکی نفوذپذیری نیاز دارد بسیار مهم است.

٦- ضریب نفوذپذیری خاک بهسازی‌شده به وسیله کشت مختلط نسبت به منفرد ۱۷٪ کاهش یافته‌است.

٦- مراجع References

[1] Dejong J. T., Mortensen B. M., Martinez B. C. & Nelson D.C. 2010 Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, **36**(2), 197-210.

[2] Ozdogan A. 2010 A study on the triaxial shear behavior and microstructure of biologically treated sand specimens. MSc thesis, University of Delaware, USA**.**

[3] Karol R. H. 2003 Chemical grouting and soil stabilization. *Marcel Dekker*, New York**.**

[4] Palmén A. 2012 Stabilization of frictional soil throughinjection using CIPS. MSc thesis, KTH Royal Institute of Technology, Sweden**.**

[5] Kucharski E.S., Cord-ruwisch R., Whiffin V. & Al-thawadi S. M. 2008 Microbial Biocementation. Patent number: US20080245272 A1. United States Patent.

[6] Whitman W.B., Coleman D.C. & Wiebe W. J. 1968, Prokaryotes: the unseen majority. *Nat. Acad. Sci*, **95** (12), 6578-6583**.**

[7] Madigan M.T. & Martinko J. M. 2003, Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall, NJ, USA.

[8] Lowenstan H. A. & Weiner S. 1998 On Biomineralization. Oxford University Press, New York**.**

[9] Muynck W. D., Belie N. D. & Verstraete W. 2010 Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review. *Ecological Engineering*, **36** (2), 118-136**.**

[10] Rivadeneyra M.A., Delgado R., del Moral A., Ferrer M. R. & Ramos-Cormenzana A. 1994 Precipitation of calcium carbonate by Vibrio spp. from an inland saltern. *FEMS Microbiology Ecology*, **13** (3), 197-204**.**

[11] Okyay T. O. & Rodrigues D.F. 2014 Optimized carbonate micro-particle production by Sporosarcina pasteurii using response surface methodology. *Ecological Engineering*, **62**, 168-174**.**

[12] Mitchell J. K. & Santamarina J.C. 2005 Biological Considerations in Geotechnical Engineering. *Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* , **131** (10), 1222-1233**.**

[13] Nj W.S., Lee M. L. & Hii S. L. 2012 An Overview of the Factors Affecting Microbial-Induced Calcite Precipitation and its Potential Application in Soil Improvement. *Engineering and Technology*, **62**, 723-729**.**

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

[15] DeJong J. T., Fritzges M. & Nüsslein K. 2006 Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear. *Journal of geotechnical and geoenvironmental engineering*, **132** (11), 1381-1392.

[16] Shahrokhi-Shahraki R., Zomorodian M.A., Niazi A. & O'Kelly B. C. 2014, Improving sand with microbial-induced carbonate precipitation. *ICE*, **168** (3), 217-230**.**

[17] Ramachandran S.K., Ramakrishnan V. & Bang S.S. 2014 Remediation of concrete using micro-organisms. *ACI Materials Journal* , **98** (1), 3-9**.**

[18] Aghayari I. 2013 Investigation of biogrout's properties at a laboratory scale. MSc thesis, Isfahan University of Technology, IRI. (in persian)

www.SID.ir

Archive of SID

Improving strength and physical properties of sand by biological method

M. Khaleghi [1*], M. A. Rowshanzamir [2]

1- M.Sc. of Geotechnical Engineering, Civil Engineering Department - Isfahan University of Technology (IUT)
2- Associate Professor, Civil Engineering Department - Isfahan University of Technology (IUT)

*** mortezakhaleghi88@gmail.com**

Abstract:
Due to population growth and land scarcity, especially in big industrial cities, many ground improvement projects are required annually for new developments. Moreover appropriate ground improvement techniques are also required to encounter dust storms and desert expansion which are common environmental problems in many countries. Thus looking for more efficient and comprehensive methods in the field of soil improvement seems to be an essential necessity. Although a lot of improvement techniques are in use around the world, they have their own advantages and disadvantages. Chemical, physical, mechanical, biological and electrical techniques may be named as the common methods of soil improvement. Some of the methods, particularly those using cement and other toxic chemical grout, may cause environmental problems which limit their usage. The biological stabilization seems to be a promising technique to control the expansion of dune sand deserts and in turn encountering the problem of dust storms. This paper reports the likely potentials of application of biological treatment on dune sand samples taken from Kerman deserts. As an environmental friendly method, biological improvement presents an innovative, novel technique in which microorganisms present in the natural soil are employed to initiate biochemical processes leading to deposition of calcium carbonate. This procedure bonds soil particles to each other and improves soil physical and strength properties. Microbial-induced calcite precipitation (MICP) is an innovative technique that harnesses bacterial activities to modify geotechnical properties of soils. In microbial-induced carbonate precipitation method, urea is hydrolyzed by bacteria and calcium carbonate precipitate is formed by a network of biochemical reactions. The bacteria acts as a biochemical reaction network controller and so power supply of bacteria is very important. Nutrients needed by the bacteria are $CO_2, N, P, K, Mg, Ca, Fe$ generally. In this research study a hybrid microorganism was prepared in the laboratory and injected into cylindrical sand samples of 100mm length and 47mm diameter. In this context, mixed culture performance was compared with that of single culture bacteria in terms of the treatment efficiency regarding strength enhancement of dune sand samples. *Sporosarcina urea* bacteria was used as single culture and *Sporosarcina urea+Bacillus subtilis* were used as hybrid culture. Cementation solution by dissolving 1 mole of urea and 2 moles calcium chloride per liter of distilled water were prepared. Unconfined compression test results as an indicator of the strength properties showed that the microbial-induced carbonate precipitation method increases the unconfied strength of samples. Unconfied strength of the improved samples by single and mixed culture were obtained 527.7 kPa and 771.8 kPa, respectively, that these amount is 16.6 and 23 times of unconfied strength of sandy samples. Falling head test results as an indicator of the physical properties showed that the microbial-induced carbonate precipitation method decreases the permeability factor of samples. Permeability factor of the improved samples by single and mixed culture compared to sandy samples has decreased 50.5% and 60%, respectively. increasing unconfied strength and decreasing permeability factor of improved samples by mixed culture to single culture is for this reason that *Bacillus subtilis* increases urea hydrolysis rate and the rate of precipitation of calcite. Finally precipitated calcium carbonate has been shown by SEM.

Keywords: mixed culture, Unconfined Strength, Microbial-induced carbonate precipitation.

www.SID.ir