

مقایسه عملکرد بهسازی زیستی خاک‌های ماسه‌ای به روش تزریق و روش جاری شدن

حمید عابدی^۱، ماشاله خامه‌چیان*^۲، حسن رضا ساجدی^۳، رضا نیکودل^۴، کریم روش‌بخت^۵

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۲۶

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۱/۰۹

چکیده

بهسازی زیستی بعنوان یک روش بهسازی دوستدار محیط زیست معرفی شده است. رسوب میکروبی کربنات کلسیم القاشده پرکاربردترین روش در این شاخه می‌باشد. روش تزریق، تزریق سطحی یا جاری‌شدن ثقلی، غوطه‌وری و روش مخلوط چهار روش معرفی شده برای روش مذکور هستند. از بین این روش‌ها، روش تزریق و روش جاری‌شدن اهمیت و جایگاه مهمتری دارند. در این مطالعه کارایی و عملکرد این دو روش در خاک با دانسیته‌های نسبی مختلف در احجام مختلف تزریق سوسپانسیون باکتری مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی راندمان و تأثیر این روش‌ها آزمایش‌های دانسیته اپتیک، فعالیت اوره‌آزی، نفوذپذیری، مقاومت تک‌محوری و درصد کربنات کلسیم انجام شد. نتایج نشان داد در روش جاری‌شدن راندمان و کارایی باکتری در دانسیته‌های نسبی پایین نسبت به روش تزریق کاهش می‌یابد. لیکن روش جاری‌شدن به دلیل آسان‌تر بودن اجرای آن، عدم نیاز به تجهیزات خاص در اجرا، کاهش کمتر مقدار تراوایی، پراکنندگی یکنواخت‌تر سیمان حاصله، تأمین مقاومت مشابه روش تزریق در حجم تزریق برابر حجم حفرات در دانسیته نسبی‌های بالا در نهایت روش مناسب‌تر و با صرفه اقتصادی مطلوب‌تر جهت بهسازی خاک‌های ماسه‌ای می‌باشد. در دانسیته نسبی‌های پایین روش جاری شدن علیرغم اجرای ارزان آن، جهت تأمین مقاومت مشابه با روش تزریق نیاز به دفعات بیشتر تزریق در حجم تزریق دو سوم و یک سوم حجم حفرات دارد که همین مورد باعث می‌گردد بهسازی هر دو روش از لحاظ اقتصادی تفاوت آنچنانی در آزمایشگاه با هم نداشته باشند.

کلید واژه‌ها: رسوب میکروبی کربنات کلسیم القاشده، تزریق، تزریق سطحی یا جاری شدن، دانسیته نسبی، بهسازی زیستی

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

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

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

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

۵. دانش آموخته دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، گروه زمین شناسی مهندسی

* مسئول مکاتبات

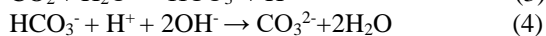
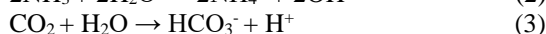
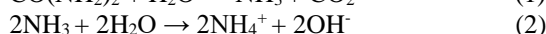
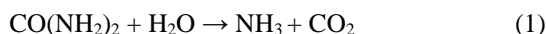
۱. مقدمه

استفاده از روش‌های زیستی جهت بهبود خواص مکانیکی خاک‌ها پدیده‌ای نسبتاً جدید است که در ژئوتکنیکی ژئوتکنیک مطرح شده است. دلیل استفاده از میکروارگانیسم‌های طبیعی در این روش‌ها نسبت به روش‌های سنتی، اضافه نشدن مواد و عوامل شیمیایی ناسازگار به محیط طبیعی می‌باشد (Ivanov and Chu 2008). این میکروارگانیسم‌ها در خاک می‌توانند محصولات بایوشیمیایی گوناگونی از جمله بیوفیلم‌ها (Biofilms)، گازهای گوناگون، بایوپلیمرها (Biopolymers)، یا کانی زیستی تولید کنند (DeJong et al. 2013; Van Paassen et al. 2010). روش‌های فعالیت این میکروارگانیسم‌ها در بهسازی شامل کلوخه‌شدن زیستی (Bioclogging)، سیمان‌شدگی زیستی (Biocementation)، چسباندن زیستی (Biobinding) و آب‌بندی زیستی (Biosealing) هستند (Van Paassen 2011). روش سیمان‌زیستی با تولید مواد پیوند دهنده‌ی ذرات خاک به وسیله‌ی فعالیت‌های میکروبی افزایش مقاومت خاک را باعث می‌شود و یکی از زیرشاخه‌های این روش پایدارسازی خاک رسوب میکروبی کربنات کلسیم القاشده (MICP: Microbial Induced Calcite Precipitation) است (Ivanov and Chu 2008). در مقایسه با مواد سنتی، تکنولوژی MICP پتانسیل بیشتری برای کاربرد و حفظ محیط زیست در حوزه ژئوتکنیکی ژئوتکنیک نشان می‌دهد و بعنوان یک گزینه مناسب توسط خیلی از دانشمندان پیشنهاد شده است (Liu et al. 2021; Safavizadeh et al. 2019; Umar et al. 2016).
MICP برای رفع مشکلات ژئوتکنیکی از جمله بهسازی زمین (Ivanov and Chu 2008; Feng and Montoya 2015; Han et al. 2016)، پایداری شیب (Zamani et al. 2018; Salifu et al. 2016)، کنترل نشت در خاک و سنگ (Choi et al. 2020)، کنترل فرسایش (Choi et al. 2020; Jiang et al. 2017; Jiang et al. 2016) and Soga 2017; Maleki et al. 2016) بازسازی مصالح ساختمانی (Achal et al. 2011b; Sarda et al. 2009; Achal et al. 2011a)، کاهش آلودگی خاک (Choi et al. 2020) و غیر

فعال ساختن فلزات سنگین (DeJong et al. 2010) بکار گرفته شده است.

مکانیسم‌های زیستی که توسط فعالیت میکروارگانیسم‌ها در بهسازی زیستی MICP قادر به تولید کربنات هستند شامل کاهش سولفات، هیدرولیز اوره، کاهش آهن، اکسیداسیون هوازای استات کلسیم و کاهش نترات می‌باشند (Ivanov and Chu 2008; DeJong et al. 2010). در میان آنها، هیدرولیز اوره جزء ساده‌ترین مکانیسم‌های MICP هستند که به راحتی و مستقیم قابل کنترل بوده و بطور گسترده استفاده می‌شود (Choi et al. 2020; Dhimi et al. 2013). لذا باکتری‌هایی که تولید آنزیم اوره‌آزی می‌کنند می‌توانند برای MICP استفاده شوند از جمله باکتری Ureolyte از خانواده Bacillaceae از این نوع هستند. *Sporosarcina Pasteurii* (همچنین بعنوان *Bacillus Pasteurii* هم شناخته می‌شود) رایج‌ترین سویه این خانواده می‌باشد که مقاومت بالایی در تغییرات محیط دارد (Kucharski et al. 2012).

در مکانیسم هیدرولیز اوره، آنزیم اوره‌آزی که بوسیله باکتری Ureolyte تولید می‌شود هیدرولیز اوره را به NH_4^+ و CO_3^{2-} کاتالیز می‌کند. تولید NH_4^+ مقدار pH را افزایش می‌دهد و میزان CO_3^{2-} در محلول با افزایش pH افزایش می‌یابد (Kucharski et al. 2012; Almajed et al. 2019). سپس یون‌های کربنات آزاد شده بوسیله یون‌های کاتیون به دام می‌افتند و در جایکه یون‌های کلسیم جمعیت غالب کاتیون‌ها باشند پدیده MICP رخ داده و سپس کربنات کلسیم رسوب می‌کند (Stocks-Fischer et al. 1999). کربنات کلسیم القا شده بوسیله باکتری تولید کننده اوره‌آزی طی واکنش‌های اصلی زیر رسوب می‌کند (Stocks-Fischer et al. 1999; Van Paassen et al. 2011).



مشخصات ژئوتکنیکی خاکی که بوسیله MICP بهبود یافته است متأثر از چندین فاکتور و شرایط محیطی از جمله نرخ

Xu et al.) و بیشترین مقاومت از این روش گزارش شده است (2021). اما دو عیب اساسی این روش، یکی غیر هموژن بودن رسوب CaCO_3 در آن و دیگری نیاز آن به تجهیزات خاص برای تزریق در صحرا می‌باشد (Ginn et al. 2001). البته برای رفع غیر هموژنی بعد از تزریق سوسپانسیون یک مایع تثبیت کننده که حاوی غلظت پایین کلسیم می‌باشد برای توزیع مجدد سلول‌های باکتری تزریق می‌گردد (Whiffin et al. 2007; Van et al. 2012; Tobler et al. 2010; Paassen et al. 2010). روش نفوذ سطحی یا جاری‌شدن، متکی به نیروی جاذبه بوده و هیچ فشار خارجی در آن دخیل نیست و مسلماً به خاطر همین، اجرای آن در آزمایشگاه و مخصوصاً صحرا مناسب‌تر است (Xu et al. 2021). سوسپانسیون باکتری و محلول سیمانی کننده روی نمونه ریخته شده و آزادانه به درون نمونه نفوذ می‌کنند (Jiang et al. 2020; Karimian et al. 2018; Gu et al. 2016). در روش غوطه‌وری، سوسپانسیون باکتری با خاک مخلوط شده و سپس نمونه ساخته شده داخل محلول سیمانی غوطه‌ور می‌گردد، در این روش مشخص گردید هنوز مشکل غیر هموژنی رسوب کربنات کلسیم وجود داشته و به خاطر حالت غوطه‌وری کاربرد صحرائی آن در واقع غیر عملی می‌باشد (Wen et al. 2019; 2020). در روش مخلوط سه اجزای خاک، سوسپانسیون باکتری و مایع سیمان کننده ابتدا با هم مخلوط شده و سپس نمونه ساخته می‌شود. در این حالت نیز، رسوب کربنات کلسیم به دلیل مخلوط شدن محدود بوده و در آن مقاومت کم نتیجه می‌شود (Wang et al. 2018; Hongxian et al. 2020; Deng et al. 2019).

روش جاری‌شدن با کمک نیروی جاذبه به نوعی که مسیر خروج مایعات در طول کل فرایند بهسازی باز باشد، بطوریکه سوسپانسیون باکتری و مایع سیمان کننده بتوانند کاملاً براساس ثقلی وارد نمونه شده و بطور آزادانه سپس از آن خارج شوند، و مقایسه آن با روش مهم و کاربردی تزریق در مطالعات پیشین تا حدی دیده شده است. در تحقیق کریمیان و همکاران (Karimian et al. 2020)، در فاصله هر بار انتقال سوسپانسیون باکتری یا مایع سیمان کننده به نمونه، شیر تخلیه بسته نگه‌داشته

جریان تزریق مغزی‌ها (Al Qabany et al., 2012; Soon et al., 2008; Fujita et al., 2014)، غلظت شیمیایی (Al Qabany et al. 2016; Sharma et al. 2013)، منبع یون کلسیم (Zhang et al. 2016; Choi et al. 2014)، دما (Cheng et al. 2016; Choi et al. 2014; al. 2014)، میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز (Cheng et al. 2016; Hammad et al. 2013)، تثبیت و پراکندگی باکتری در خاک (Harkes et al. 2010) و مشخصات خاک میزبان (Jiang et al. 2017) می‌باشد.

ذرات ماسه قبل از بهسازی با سیمان زیستی از هم جدا بوده و هیچ پیوندی میان ذرات وجود ندارد اما بعد از بهسازی سیمان زیستی، پلی بین دانه ایجاد کرده و آنها را به هم متصل می‌کند و به این جهت خصوصیات ژئوتکنیکی از جمله مقاومت آن بهبود می‌یابد (Mujah et al. 2017; Rahman et al. 2020; Lin et al. 2016; Montoya and DeJong 2015). و نفوذ پذیری آن با کمی کاهش نزدیک حالت قبل می‌ماند (Choi et al. 2020). رفتار مکانیکی نمونه‌های ماسه سیمان شده زیستی شدیداً به میزان CaCO_3 وابسته است (Choi et al. 2020; Zhao et al. 2018; Harkes et al. 2008). اگر چه برای نمونه‌های سیمان شده زیستی با میزان CaCO_3 مشابه، رفتار مکانیکی خیلی زیاد متأثر از الگوی پراکندگی سیمان CaCO_3 در اطراف دانه‌ها یا داخل حفره‌های خاک می‌باشد و این موضوع بیانگر آن است که وقتی CaCO_3 بصورت هموژن در خاک رسوب نماید رفتار مکانیکی بیشتر بهبود می‌یابد. (Feng et al. 2016; Rowshanbakht et al. 2016; and Montoya. 2016).

چهار روش اصلی بهسازی سیمان زیستی بصورت روش تزریق (Injection method)، روش نفوذ سطحی (Percolation surface method) یا روش جاری شدن (Flow-through method)، روش غوطه‌وری (FTM method) و روش مخلوط (Mixing method) معرفی شدند. در میان چهار روش، روش تزریق محبوب‌ترین روش بوده که محلول سیمانی و سوسپانسیون باکتری بصورت قائم یا افقی با استفاده از یک پمپ پرستالتیک (Peristaltic pump) به نمونه تزریق می‌شوند

شده است که خود این مسأله بهسازی ثقلی را از شرایط طبیعی خارج می‌نماید. همچنین در تحقیق اموندیرا و همکاران (Mwandira et al. 2019) بصورت ترکیبی بطوریکه فرایند انتقال مایع سیمانی با این روش بوده ولی در انتقال سوسپانسیون باکتری از روش تزریق استفاده شده است لذا شرایط جریان ثقلی طبیعی در تمامی مراحل آن برقرار نشده است و در نهایت این روش با روش غوطه‌وری مقایسه شده است. در مطالعه باغبان و همکاران (۱۳۹۵) و مدرس نیا و همکاران (۱۴۰۰) انتقال سوسپانسیون باکتری و محلول سیمانی از طریق پاشش و نفوذ ثقلی است که به دلیل بررسی روش بهسازی در مطالعات باستان شناسی و فرسایش پذیری نفوذ بسیار سطحی بوده و در عمق عملکرد بهسازی بررسی دقیق نشده است و مقایسه‌ای با روش تزریق در آن بیان نشده است.

در مطالعه سهرابی و خداپرست (۱۳۹۷) روش نفوذ ثقلی در دو نوع خاک ماسه لای دار و ماسه رس دار و مقایسه عملکرد آنها با خاک ماسه‌ای بدون ریزدانه بررسی شده است و هیچگونه

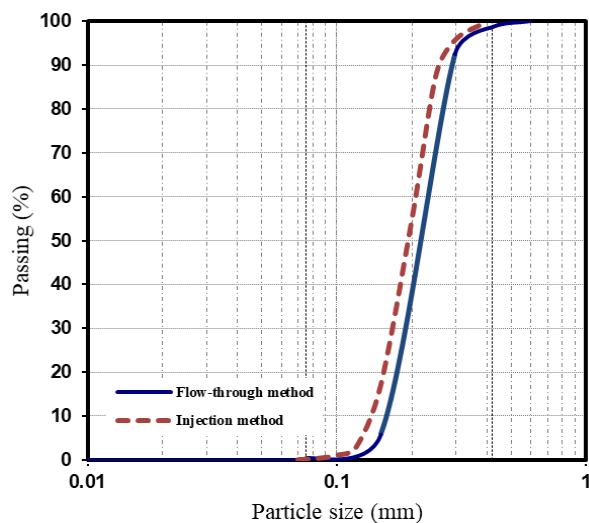
مقایسه‌ای در عملکرد روش نفوذ ثقلی با روش تزریق تحقیق نشده است. در مطالعه کرمی و همکاران (۱۴۰۱) بهسازی خاک ریزدانه رسی با سه روش جذب سطحی، تزریق و مخلوط با دو نوع باکتری فعال اوره‌آزی انجام شده است. نتایج آن نشان داد بیشترین بهبود مقاومت فشاری در روش جذب سطحی اتفاق افتاده است و بطور کلی به دلیل جایگیری مناسب رسوب بین دانه‌های خاک، به نسبت روش اختلاط و تزریق، موثرتر عمل کرده است و اختلاف چندانی بین روش تزریق و اختلاط مشاهده نشد. در این مطالعه نوع خاک رسی بوده و به خاک‌های ماسه‌ای با دانسیته‌های مختلف و احجام مختلف تزریق برای بهسازی پرداخته نشده است. در مطالعه بلوری بزاز و همکاران (۱۴۰۰) روش نفوذ ثقلی و روش فلوک شدن (اختلاط) در خاک‌های دانه‌ای انجام شده که در واقع تأثیر انواع محیط کشت بر میزان و نوع رسوبات کربنات کلسیم در این دو روش مورد مطالعه قرار گرفته است. بطور خلاصه نتایج مطالعات قبلی در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. خلاصه نتایج مطالعات قبلی

Results	The Investigated Characteristics	The improvement Method	Type soil	The Investigation of
The closure of the drain valve during solution transfer hinders complete gravity penetration	Enhancing soil strength characteristics	Surface percolation	Silica sand	Karimian et al. 2020
In the transfer of bacteria, injection is employed, while the flow-through method is utilized for transferring cementation solution	Optimizing hydraulic control for environmental pollution removal	Immersion and flow-through	Blast furace slag and mineral soil	Mwandria et al. 2019
All samples share the same density, and no comparison has been made with the injection method	Enhancing soil strength characteristics	Surface percolation	Silica sand	Cheshomi et al. 2018
Improvement is limited to the surface of the sample	Erosion control and enhancing durability	Surface percolation (spray)	Sand	باغبان و همکاران (۱۳۹۵)
Improvement is limited to the surface of the sample	Erosion control and enhancing durability	Surface percolation (Spray)	Sand	مدرس نیا و همکاران (۱۴۰۰)
The soils consist of fine grains and have not been compared with the injection method	Enhancing soil strength characteristics	Flow-through	Silty sand and clayey sand	سهرابی و خداپرست (۱۳۹۷)
The soil type is fine-grained, and samples with identical density and bacterial injection volume were utilized	Enhancing soil engineering characteristics	Surface percolation, injection and mixing	Clay	کرمی و همکاران (۱۴۰۱)
The volume of bacterial injection and density remain constant, and no comparison has been made with the injection method	The Influence of Cultivation Medium Types on Sediment Quantity and Composition	Flow-through and mixing	Granular soil	بلوری بزاز و همکاران (۱۴۰۰)

جدول ۲. خصوصیات فیزیکی ماسه مورد استفاده در بهسازی

Tests	Standard Number	Results
Maximum void ratio, e_{max}	ASTM D4254-14	0.88-0.9
Minimum void ratio, e_{min}	ASTM D4253-14	0.57-0.59
Specific gravity of solids, G_s	ASTM D854-10	2.64-2.66
Mean grain size, D_{50}		0.20-0.22
Effective grain size, D_{10}		0.13-0.16
Uniformity coefficient, C_u	ASTM D2487-11, ASTM D421-02,	1.46-1.54
Curvature coefficient, C_c	ASTM D422-02	0.83-0.96
Soil class		SP



شکل ۱. توزیع دانه‌بندی نمونه‌های ماسه در هر دو روش

۲-۲. میکروارگانیزم و محیط کشت

در بیشتر مطالعات پیشین به دلیل توانایی بالا در هیدرولیز اوره، پتانسیل نگهداری طولانی مدت، غیر سمی بودن و حساسیت کم آن به آلودگی، از باکتری اسپورسارسینا پاستوری (*Sporosarcina pasteurii*) برای افزایش راندمان بهسازی استفاده شده است (Mortazavi et al. 2021; Ng et al. 2012; Mukherjee et al. 2019). لذا اسپورسارسینا پاستوری با فعالیت اوره‌آزی مثبت بعنوان یک کاتالیست زیستی در این مطالعه استفاده شده است که از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران به شماره PTCC1645 تهیه شده است. محیط کشت و شرایط رشد باکتری مطابق منابع Harkes et al. 2010، Whiffin et al. 2007 و Sharaky et al. 2018 انتخاب و باکتری

با توجه به اینکه روش تزریق و روش جاری‌شدن، دو روش مهم و پرکاربرد در بهسازی به روش سیمان زیستی می‌باشند لذا تحقیقی که بتواند بطور کامل این دو روش را با هم و به همراه سایر پارامترها همچون دانسیته خاک و میزان بکارگیری احجام مختلف سوسپانسیون باکتری بررسی و مقایسه نماید کمتر وجود دارد. لذا در مطالعه حاضر روش جاری‌شدن ثقلی صحیح و مناسب صحرا، در طول کل فرایند بهسازی و روش تزریق جهت مقایسه بکار گرفته شدند. همچنین با توجه به اینکه در طبیعت خاک‌های ماسه‌ای با دانسیته‌های مختلفی تشکیل می‌شوند. لذا در این مطالعه علاوه بر بکارگیری مقایسه‌ای دو روش بهسازی مذکور، اثرات بکارگیری احجام مختلف سوسپانسیون باکتری در دانسیته‌های نسبی متفاوت بررسی می‌شود و با انجام آزمایش‌های دانسیته اپتیک، فعالیت اوره‌آزی، نفوذپذیری، مقاومت فشاری محصور نشده و تعیین مقدار رسوب کربنات کلسیم در ۳ سری نمونه‌های ۹ تایی دو روش تزریق و جاری شدن بررسی می‌شوند و تاثیر آنها بر پارامترهای نفوذ پذیری، مقاومتی و درصد کربنات کلسیم خاک مورد تحقیق است.

۲. مواد و روش‌ها

تمامی مواد بکارگیری شده شامل نوع میکروارگانیزم، ماسه، مایع تثبیت و مواد سیمانی کننده در هر دو روش بهسازی تزریق و جاری شدن ثقلی در این مطالعه مشابه می‌باشند. بهسازی تمامی نمونه‌ها سه مرتبه تکرار و میانگین‌گیری شدند.

۲-۱. خصوصیات خاک

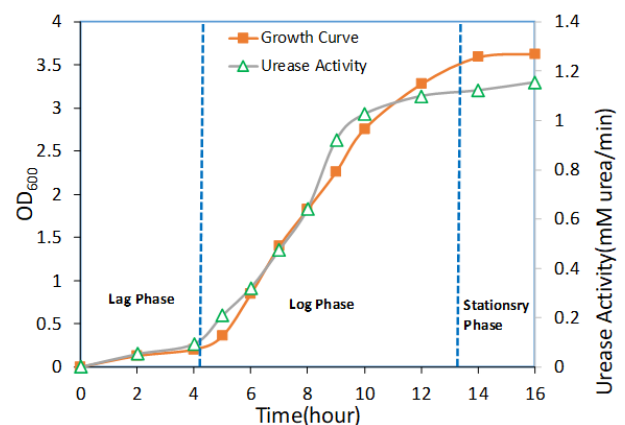
خاک مورد استفاده در این مطالعه ماسه سیلیسی بدانه-بندی شده فراوری شده از معدن فیروزکوه می‌باشد که مشخصات فیزیکی آن مطابق جدول ۲ و شکل ۱ اندازه‌گیری شده است. با توجه به اینکه ماسه دو روش بهسازی از یک معدن، ولی در دو بازه زمانی مختلف خریداری شده است اندک تفاوت در دانه‌بندی مطابق شکل ۱ وجود دارد.

کشت داده شد. این محیط کشت با ترکیب عصاره مخمر (Yeast extract) و کلرید آمونیوم به ترتیب ۲۰ و ۱۰ گرم بر لیتر و ۱۰ میکرومول در لیتر کلراید نیکل برای رشد باکتری ها استفاده شد. ابتدا عصاره مخمر، کلرید آمونیوم و کلرید نیکل به آب مقطر افزوده شده و پس از تنظیم اسیدیته آن در ۸/۵، محلول اتوکلاو شد. پس از کشت باکتری داخل آن محلول، محلول حاوی باکتری داخل انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۸۰ تا ۲۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۳۸ درجه جهت رشد باکتری‌ها قرار داده شد. برای اندازه‌گیری تراکم و جمعیت باکتری‌ها در محیط کشت مایع از معیار چگالی نوری (Optic Density) که توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود، استفاده شد. کشت برای مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت با کنترل دانسیته اپتیک انجام گرفت. در نزدیک انتهای فاز رشد باکتری، سوسپانسیون باکتری برای عملیات بهسازی برداشته شد. شکل ۲ یک نمونه از منحنی رشد باکتری تا ۱۶ ساعت را نمایش می‌دهد. میزان فعالیت اوره‌آزی نیز با تغییرات هدایت الکتریکی طی واکنش سوسپانسیون باکتری با اوره با سپری شدن زمان اندازه‌گیری شد.

۲-۴. آماده سازی ستون های نمونه برای آزمایش

با توجه به اینکه مقدار دانسیته بر روی مقاومت بهسازی تاثیرگذار می‌باشد (Van paassen 2009) و در منابع علمی مختلف نمونه‌های ماسه با دانسیته‌های نسبی ۳۰ تا ۹۰ درصد مورد بررسی قرار گرفتند (Cheng et al. 2014, Chou 2007, Ng et al. 2012, Kim et al. 2014). در این تحقیق سعی شد نمونه‌ها با دو مقدار بیشتر ۸۵ و ۷۰ درصد و یک مقدار کمتر از تراکم ۵۰٪ درصد مقدار ۴۰٪ ساخته شوند. لذا ماسه در حالت خشک با تراکم‌های نسبی ۸۵، ۷۰ و ۴۰ درصد داخل قالب‌های دو تکه استوانه‌ای به قطر ۳۶ میلی‌متر به ارتفاع ۲۲ سانتیمتر آماده گردیدند به این ترتیب که در روش تزریق، ۲۰ سانتیمتر لوله را ستون ماسه و ۱ سانتیمتر بالا و پایین نمونه را فیلتر گراولی و اسکاج و در روش جاری شدن، ۱۵ سانتیمتر از لوله مذکور را ستون ماسه و ۱/۵ سانتیمتر بالا و پایین نمونه را یک لایه فیلتر گراولی و یک لایه اسکاج تشکیل می‌دهند و ۴ سانتیمتر از

کشت داده شد. این محیط کشت با ترکیب عصاره مخمر (Yeast extract) و کلرید آمونیوم به ترتیب ۲۰ و ۱۰ گرم بر لیتر و ۱۰ میکرومول در لیتر کلراید نیکل برای رشد باکتری ها استفاده شد. ابتدا عصاره مخمر، کلرید آمونیوم و کلرید نیکل به آب مقطر افزوده شده و پس از تنظیم اسیدیته آن در ۸/۵، محلول اتوکلاو شد. پس از کشت باکتری داخل آن محلول، محلول حاوی باکتری داخل انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۸۰ تا ۲۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۳۸ درجه جهت رشد باکتری‌ها قرار داده شد. برای اندازه‌گیری تراکم و جمعیت باکتری‌ها در محیط کشت مایع از معیار چگالی نوری (Optic Density) که توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود، استفاده شد. کشت برای مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت با کنترل دانسیته اپتیک انجام گرفت. در نزدیک انتهای فاز رشد باکتری، سوسپانسیون باکتری برای عملیات بهسازی برداشته شد. شکل ۲ یک نمونه از منحنی رشد باکتری تا ۱۶ ساعت را نمایش می‌دهد. میزان فعالیت اوره‌آزی نیز با تغییرات هدایت الکتریکی طی واکنش سوسپانسیون باکتری با اوره با سپری شدن زمان اندازه‌گیری شد.

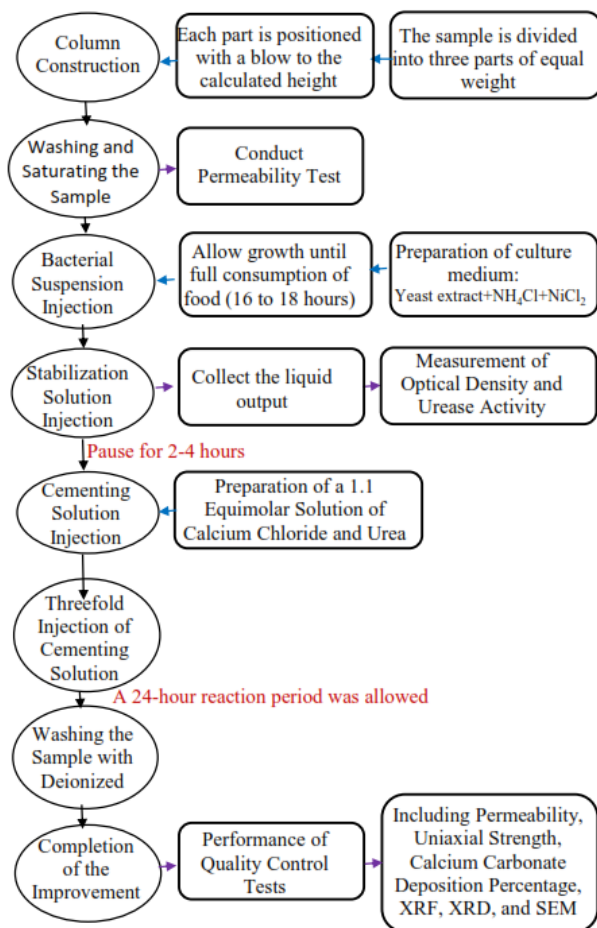


شکل ۲. یک نمونه از منحنی رشد و فعالیت اوره‌آزی باکتری

۲-۳. محلول تثبیت کننده و سیمانی کننده

مایع تثبیت به منظور چسباندن باکتری‌های فیلتر شده داخل خاک به سطح ذرات مورد استفاده قرار می‌گیرد. محلول با شوری بالا موجب تحریک فلوکولاسیون شده و در نتیجه جذب باکتری و ابقای آن در ستون ماسه را افزایش می‌دهد (Ritvo et

تثبیت کننده به اندازه حجم حفرات وارد ستون‌ها شد. سپس از مایع خروجی ستون‌ها برای آنالیز دانسیته اپتیک و هدایت الکتریکی نمونه‌برداری صورت گرفت. بعد از تزریق سوسپانسیون باکتری، حدود ۴ ساعت به نمونه‌ها فرصت تثبیت باکتری داده شد و بعد از آن اولین سری محلول سیمانی کننده به اندازه حجم حفرات وارد نمونه‌ها گردید و مرحله سیمانی شدن هر ۲۴ ساعت جمعاً سه مرتبه تکرار گردید. در نهایت نمونه‌ها با دو برابر حجم حفرات با آب مقطر شستشو داده شدند و سپس اجازه داده شد تا آب کاملاً تخلیه شود و نمونه تا زمان آزمایش در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. مراحل انجام عملیات بهسازی در شکل ۳ نمایش داده شده است. همچنین نمایی از ستاپ نمونه‌ها و انجام بهسازی به روش تزریق و جاری شدن به ترتیب در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شدند.



شکل ۳ مراحل انجام عملیات بهسازی

ارتفاع بالای لوله به دلیل داشتن فضای برای ریختن آزادانه سوسپانسیون باکتری و مایع سیمانی کننده در این روش خالی گذاشته شد. از هر دانسیته نسبی در هر بهسازی سه نمونه تهیه گردید که جمعاً با احتساب سه نوع دانسیته نسبی برای هر بهسازی ۹ نمونه تهیه شد و سه مرتبه این نمونه‌ها در هر روش، ساخت و آماده شدند. در واقع برای هر روش بهسازی ۲۷ نمونه بازسازی شدند.

برای رسیدن به دانسیته نسبی مشخص ابتدا وزن خشک ماسه مورد نیاز را مشخص نموده و به سه قسمت وزن مساوی تقسیم شدند. سپس هر قسمت از ماسه داخل ستون ریخته شده و با ضربه متراکم شدند تا به حجم مورد نظر برسد. در انتها تمامی ستون‌ها اتوکلاو شده و برای آزمایش آماده شدند. نصب ستون‌ها در روش تزریق به نحوی اقدام شد که تزریق از پایین ستون انجام گرفته و مایع خروجی از بالای ستون تخلیه و قابل جمع آوری باشد. نصب ستون‌ها در روش جاری‌شدن به نوعی بود که مایع ورودی درون قسمت خالی بالای نمونه در ستون ریخته شده و مایع خروجی از پایین نمونه خارج و قابل جمع آوری باشد.

۲-۵. روش انجام بهسازی

پس از نصب، ستون‌ها با آب مقطر اتوکلاو شده اشباع شدند. مایعات به داخل ستون ماسه در روش تزریق با فشار پمپ پریستالیتیک (شکل ۳) و در روش جاری‌شدن با ریختن مایع در فضای خالی بالای نمونه بصورت ثقلی (شکل ۴)، وارد ماسه شدند. ابتدا با توجه به مقدار وزن مخصوص ذرات جامد (G_s)، مقدار نسبت تخلخل حداکثر و حداقل و مقدار دانسیته نسبی مد نظر، مقدار نسبت تخلخل (e)، تخلخل (n) و دانسیته خشک خاک محاسبه گردید و سپس با داشتن حجم ستون، وزن خاک خشک و حجم حفرات محاسبه شدند. در سه نمونه ساخته شده با دانسیته یکسان سوسپانسیون باکتری به ترتیب برابر با حجم حفرات، $2/3$ حجم حفرات و $1/3$ حجم حفرات ستون، وارد نمونه‌ها گردیدند. ابتدا سوسپانسیون باکتری با دانسیته اپتیک بالای یک وارد نمونه‌ها شده و بلافاصله، مایع

مختلفی بودند نرخ تزریق همه محلول‌ها در آنها یکسان نبود. در نهایت ستون‌ها با دو برابر حجم حفرات، با آب مقطر اتوکلاو شده شسته شدند و در دمای آزمایشگاه برای آزمایشات کنترلی نگهداری شدند. لازم به ذکر است در تمامی مراحل بهسازی در روش جاری شدن ثقلی، مسیر خروجی انتهای نمونه باز بوده و مایعات بصورت ثقلی از آن خارج شدند.

۲-۷. آزمایش‌های انجام شده

از مایع خروجی جمع‌آوری شده در مرحله تزریق مایع تثبیت، برای بررسی کارایی تزریق و از نمونه‌های بهسازی شده برای کنترل عملکرد و راندمان روش بهسازی نمونه‌گیری شده و آزمایشات زیر انجام گردیدند. نمایی از آزمایشات انجام شده در حین و بعد از بهسازی زیستی در شکل ۶ نمایش داده شده است.

۲-۷-۱. دانسیته اپتیک و فعالیت آورده آزی

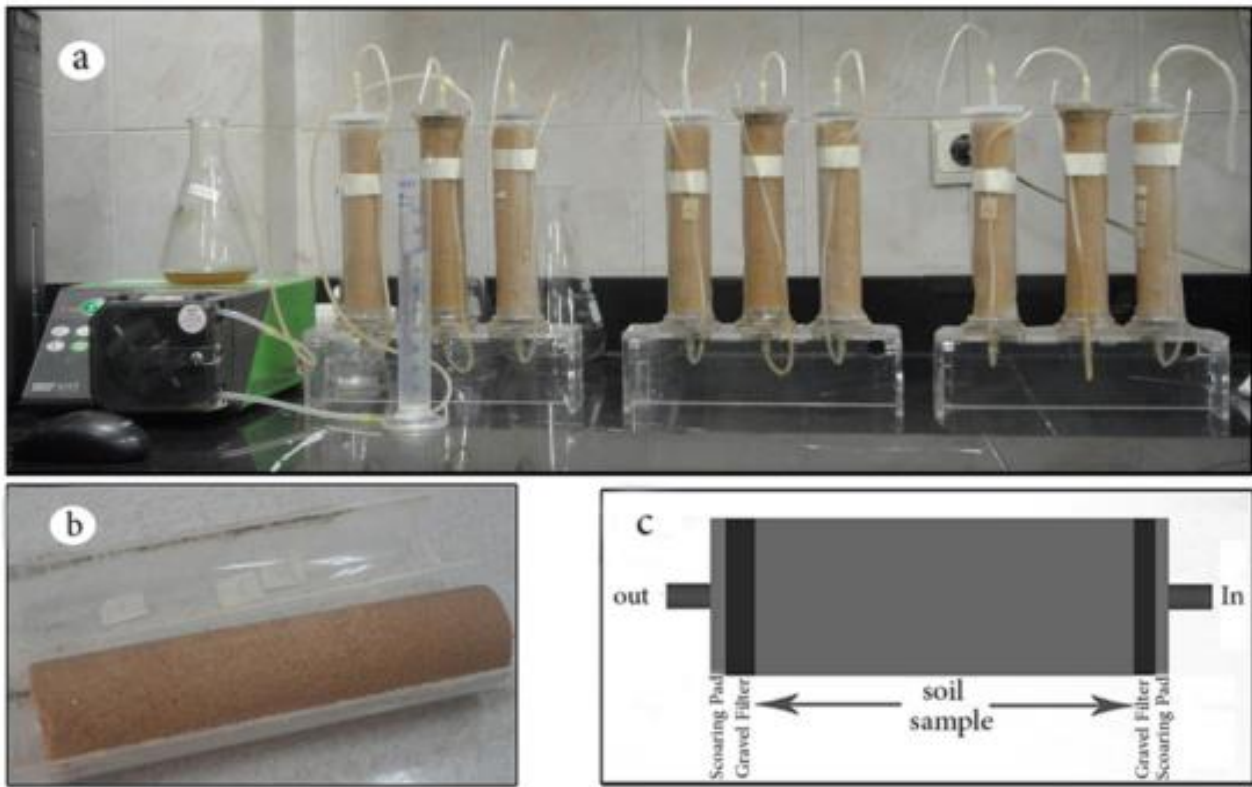
فعالیت آورده آزی و دانسیته اپتیک بلافاصله بعد از تزریق مایع تثبیت با نمونه‌گیری از مایع خروجی اندازه‌گیری شدند. دانسیته اپتیک با استفاده از یک دستگاه اسپکترومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر سنجیده شد. در نمونه‌هایی که تراکم باکتری داخل مایع بالا بود با عملیات رقیق سازی توسط نمک ۹ گرم بر لیتر استریل شده، مقادیر دانسیته اپتیک با اعمال ضریب رقت ارزیابی شد (Harkes et al. 2010). تکنیک اندازه‌گیری هدایت الکتریکی روشی است که فعالیت آورده آزی را در غیاب یون‌های کلسیم اندازه‌گیری می‌کند. واکنش آورده آزی، هیدرولیز متناسب آورده غیر یونی به محصولات یونی تحت شرایط استاندارد است که سبب افزایش هدایت الکتریکی می‌شود. تغییرات هدایت الکتریکی (میلی‌زیمنس بر دقیقه) طی ۵ دقیقه در دمای 20 ± 2 با افزودن ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری به ۹ میلی‌لیتر آورده ۱/۱ مولار سنجیده می‌شود. هدایت الکتریکی یک میلی‌زیمنس بر دقیقه معادل با فعالیت هیدرولیز ۱۱ میلی‌مولار آورده بر دقیقه می‌باشد (Harkes et al. 2010).

لازم به توضیح است که ارتباط کمی بین واکنش دهنده‌ها و فراورده‌ها در یک واکنش شیمیایی بوسیله روابط استوکیومتری بیان می‌شود. لذا برای رسیدن به رسوب حدود ۱۶۰ گرم کربنات کلسیم در مترمکعب با استفاده از محلول یک مولار، در صورت تبدیل کامل تمام واکنش‌کننده‌ها، کمی بیشتر از سه مرتبه به اندازه حجم حفرات مورد نیاز است (روشن بخت و همکاران، ۱۳۹۴). لذا در این تحقیق چهار سری تزریق با فاصله ۲۴ ساعت انجام گرفت.

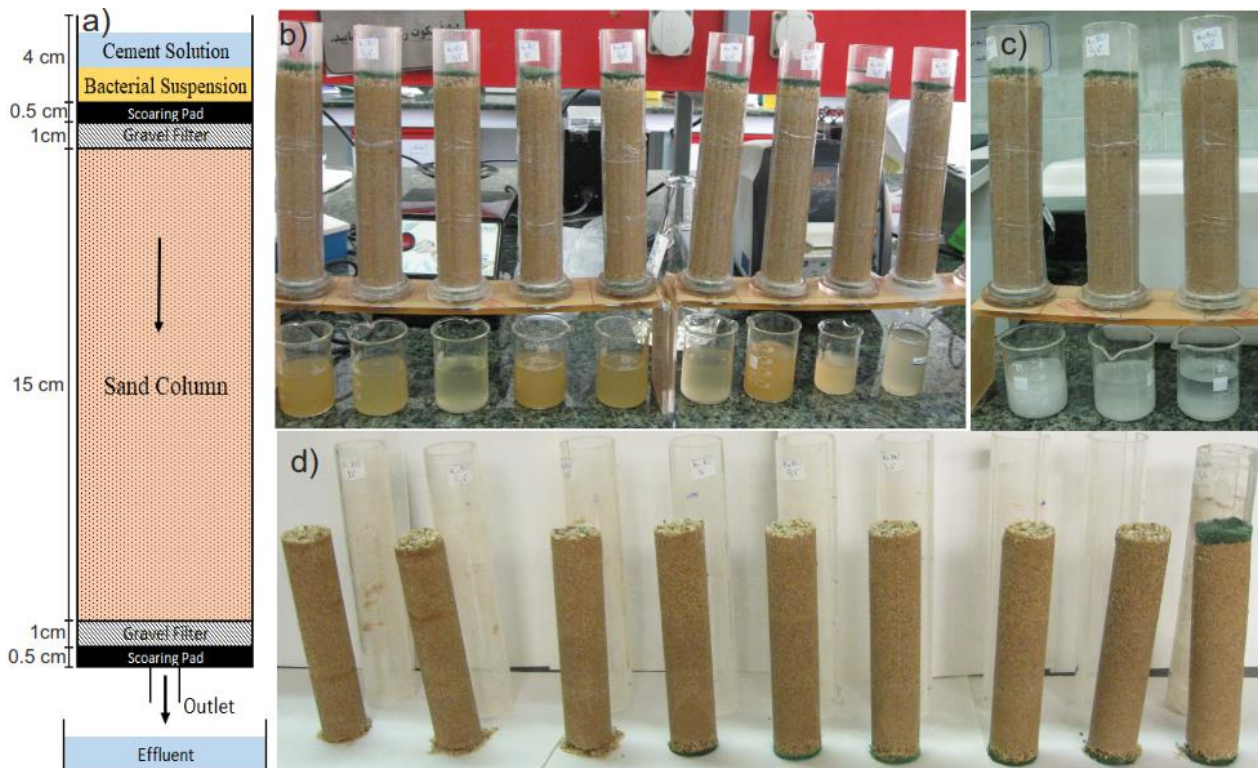
۲-۶. روش آزمایشگاهی

۲-۶-۱. بهسازی زیستی ماسه

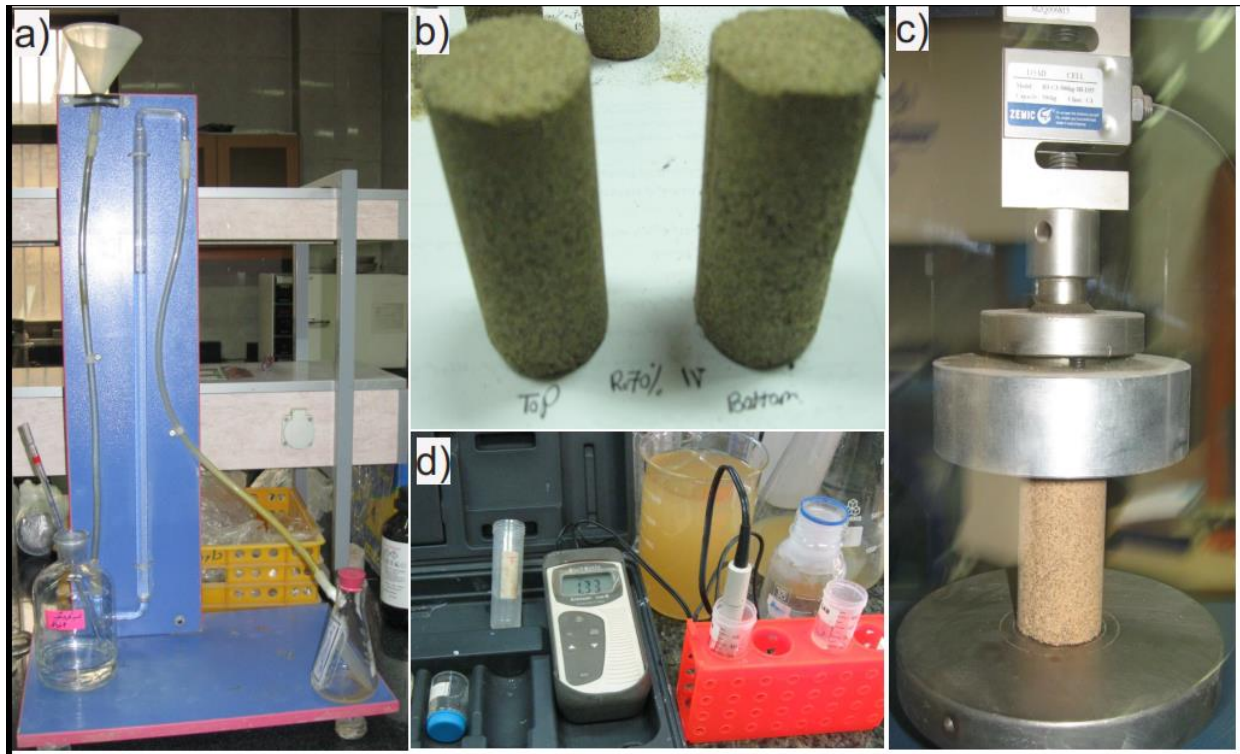
روش تزریق به عنوان پرکاربردترین و روش جاری شدن (یا تزریق سطحی) به عنوان آسانترین شیوه بهسازی و فراخور صحرا معرفی شدند (Xu et al. 2021). بنابراین در این روش اثر بکارگیری احجام مختلف سوسپانسیون باکتری در دانسیته نسبی‌های متفاوت مورد بررسی قرار گرفت. بعد از رشد دادن باکتری و رسیدن تراکم باکتری در سوسپانسیون به دانسیته اپتیک بالای یک، به مقدار یک، $2/3$ و $1/3$ برابر حجم حفرات در نمونه‌هایی که با دانسیته نسبی ۸۵، ۷۰ و ۴۰ درصد ساخته و اشباع شده بودند، سوسپانسیون باکتری مجزا بصورت تزریق و جاری شدن ثقلی وارد نمونه‌ها گردیدند. بلافاصله برابر حجم حفرات، مایع تثبیت کلرید کلسیم ۰/۰۵ مولار وارد نمونه‌ها شد با ورود مایع تثبیت، سوسپانسیون باکتری که داخل نمونه بوده شروع به خارج شدن می‌کند که این مایع خروجی جهت تعیین دانسیته اپتیک و فعالیت آورده آزی باکتری باقی مانده در داخل ستون جمع‌آوری می‌شود. ۴ ساعت بعد از تزریق مایع تثبیت، برابر حجم حفرات مایع سیمان‌کننده متشکل از یک اکی‌مولار کلرید کلسیم و آورده به نمونه‌ها تزریق گردید. مرحله نفوذ مایع سیمانی‌کننده جمعاً سه مرتبه با فاصله ۲۴ ساعت انجام گردید. در روش تزریق، سرعت تزریق برای همه محلول‌ها (سوسپانسیون باکتری، مایع تثبیت و مایع سیمانی‌کننده) در تمامی نمونه‌ها یکسان و برابر ۵ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. اما در روش جاری شدن به دلیل اینکه نمونه‌ها دارای دانسیته‌های



شکل ۴. بهسازی به روش تزریق: (a) ستون‌های ستاپ شده، (b) نمونه بعد از بهسازی و (c) نمایی از ستاپ ستون



شکل ۵. بهسازی به روش جاری شدن: (a) شماتیکی از ستاپ ستون، (b) ریختن سوسپانسیون باکتری روی ستون، (c) ریختن محلول سیمانی کننده روی ستون و (d) نمونه‌ها بعد از بهسازی



شکل ۶. آزمایشات آزمایشگاهی: (a) اندازه‌گیری محتوای کربنات کلسیم به روش کلسیمتری برنارد، (b) آماده‌سازی نمونه‌های تک محوری (c) دستگاه تک محوری و (d) اندازه‌گیری فعالیت اوره‌آزی با روش سنجش هدایت الکتریکی

نمونه با سرعت یک تا نیم میلی‌متر بر دقیقه با دستگاه تک محوری مطابق استاندارد ASTM D7012 تحت شکست قرار گرفتند.

۴-۷-۲. محتوای کربنات کلسیم

بعد از آزمایش مقاومت فشاری محصور نشده، کلسیمتری به روش برنارد برای تعیین محتوای کربنات کلسیم نمونه‌های بهسازی شده انجام شد. در این روش، سنجش مقدار دی اکسید کربن آزاد شده حاصل از واکنش نمونه با اسید کلریک رقیق ملاک عمل است. در یک سیستم بسته، تحت فشار و دمای ثابت، در غیاب هر نوع گازی، مقدار CO_3^{2-} مستقیماً وابسته به حجم افزایش یافته توسط آزاد شدن گاز CO_2 می‌باشد (Lamas et al. 2005). در واقع درصد کربنات کلسیم با استفاده از گاز آزاد شده از طریق واکنش اسید کلریک رقیق با کربنات کلسیم موجود در نمونه محاسبه می‌شود.

۲-۷-۲. نفوذ پذیری

هدایت هیدرولیکی نمونه‌ها قبل و بعد از بهسازی بوسیله قانون داریسی طبق رابطه ۶ (Perrot et al. 2015) محاسبه گردید.

$$Q = \frac{kSh}{L} \quad (6)$$

که در آن k میزان نفوذپذیری (cm/s)، Q دبی جریان (cm³/s)، L طول مسیر جریان (cm، در اینجا ارتفاع نمونه)، h ارتفاع ثابت آب، و S مساحت مقطعی که آب از آن عبور می‌کند (cm²) تعریف می‌شود. در واقع اندازه‌گیری تراوایی با هد ثابت طبق استاندارد ASTM D2434 انجام گرفته است.

۳-۷-۲. مقاومت فشاری محصور نشده

بعد از کامل شدن بهسازی زیستی، نمونه‌ها با دقت از قالب‌ها خارج شده و به مدت ۷ روز در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه آزمایشگاه نگهداری شدند. از هر ستون دو نمونه یکی از قسمت بالایی و یکی از قسمت پایینی برای آزمایش تک محوری آماده شد بطوریکه نسبت قطر به ارتفاع آنها ۲ به ۱ باشد. در نهایت

۳. نتایج و بحث

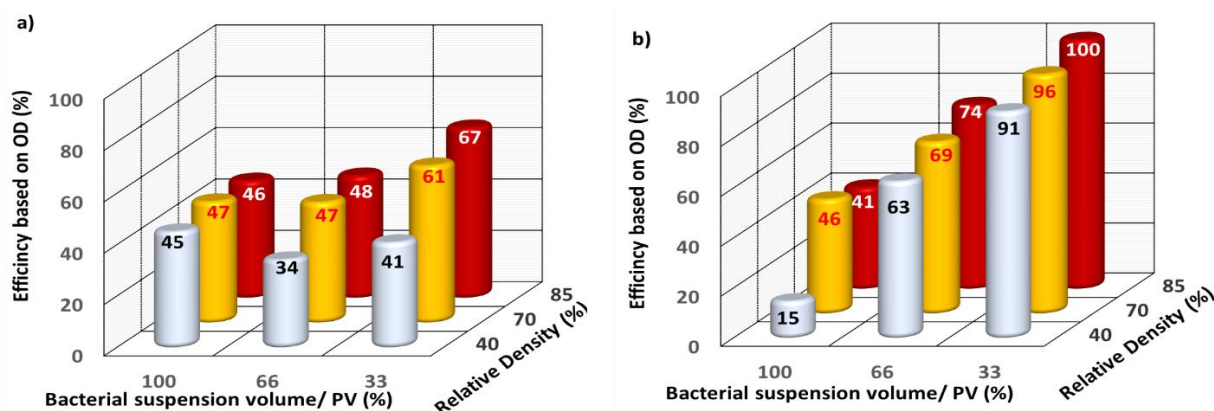
در ادامه عملکرد بهسازی دو روش تزریق و جاری شدن در ماسه با دانسیته‌های متفاوت با تزریق احجام مختلف سوسپانسیون باکتری مورد بحث قرار گرفته و تاثیر دو روش روی پارامترهای مهندسی و راندمان بهسازی بررسی می‌گردد.

۳-۱. راندمان تثبیت باکتری و باکتری باقی مانده فعالیت آنزیمی

در ستون

به منظور کسب ایده‌ای از کارایی تزریق باکتری و میزان هدر رفت باکتری‌های تزریق شده، دانسیته اپتیک سوسپانسیون باکتری ورودی با مایع خروجی، با لحاظ نمودن حجم تزریق و تخلیه، مورد مقایسه قرار گرفت. اختلاف بین دانسیته اپتیک خروجی و ورودی بر حسب درصد، بعنوان درصد باقیمانده داخل ستون معرفی می‌شود. با توجه به اینکه در درصد تزریق های مختلف، حجم تزریق ورودی و میزان تخلیه خروجی

یکسان نیست، لذا با توجه به تحقیقات هارکز و همکاران (Harkes et al. 2010) نسبت آنها در محاسبات وارد و درصد اصلاح شده برای کارایی تزریق محاسبه شده است. این بررسی برای درصدهای مختلف تزریق حفرات و دانسیته‌های متفاوت صورت گرفت. مشاهده می‌شود (شکل ۷) در بهسازی به روش تزریق و جاری شدن با افزایش درصد تزریق، در همه دانسیته‌ها کارایی تزریق باکتری کاهش یافته و با افزایش دانسیته نسبی کارایی تزریق نیز تا حدودی افزایش می‌یابد. اما در روش جاری شدن کارایی تزریق نسبت به روش تزریق کمتر می‌باشد که علت آن به این دلیل است که چون مسیر خروجی بعد از نفوذ سوسپانسیون باکتری و مایع سیمانی کننده باز می‌باشد باکتری‌ها و رسوب کربنات کلسیم تشکیل شده بیشتری، نسبت به روش تزریق از آن خارج می‌شوند در نتیجه تعداد باکتری‌های مانده کمتر از حالت روش تزریق بوده و کارایی روش را کاهش می‌دهد. کارایی هر دو روش در تزریق برابر حجم حفرات کم و بیش مشابه می‌باشد.



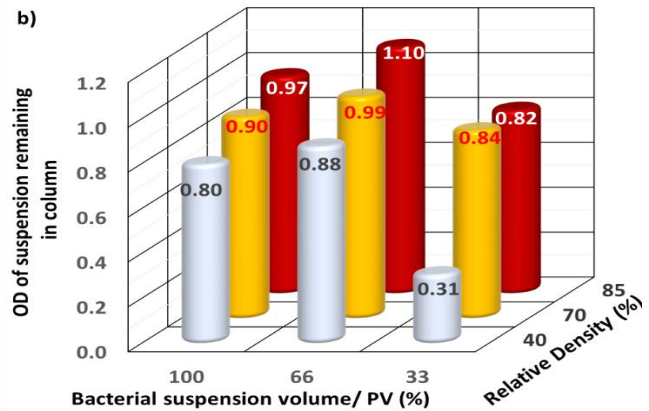
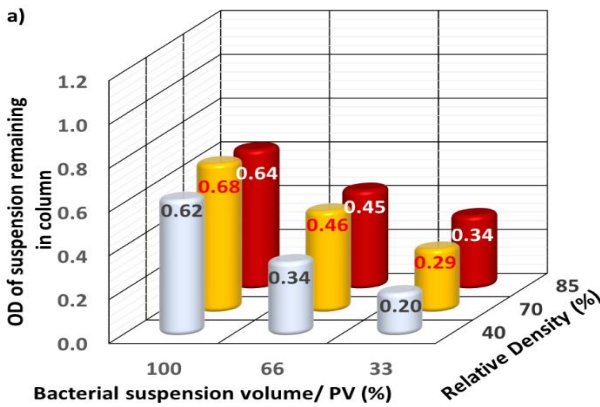
شکل ۷. تغییرات کارایی تزریق (بر اساس دانسیته اپتیک) با تغییرات توام دانسیته نسبی و درصد تزریق حفرات در (a) روش جاری-شده و (b) روش تزریق

حفرات، افزایش ملایمی در دانسیته اپتیک معادل مایع باقیمانده در ستون مشاهده می‌شود و لیکن با افزایش بیشتر درصد تزریق حفرات به صد در صد، کاهشی در دانسیته اپتیک مایع باقی مانده در ستون دیده می‌شود (شکل ۸). به نظر می‌رسد افزایش جریان سوسپانسیون باکتری، خروج آن از ستون را تسهیل می‌کند. همچنین جذب باکتری در خاک، با افزایش دانسیته نسبی

در گام بعد به منظور مقایسه مقدار مطلق باکتری جذب شده در ستون‌های مختلف، با توجه به دانسیته‌های اپتیک ورودی و خروجی، حجم تزریق و تخلیه و فرض تغییر خطی دانسیته اپتیک با رقیق سازی، دانسیته اپتیک معادل برای محلول باقی مانده در داخل ستون محاسبه شد. با افزایش درصد تزریق در همه دانسیته‌های نسبی، ابتدا از یک سوم به دو سوم حجم

باز بودن مسیر خروجی و خارج شدن تدریجی مایع باکتری با گذر زمان در روش جاری شدن می‌باشد.

افزایش می‌یابد. با مقایسه نتایج دو روش بهسازی مشاهده می‌شود که دانسیته مانده در ستون در روش تزریق بیشتر از روش جاری شدن می‌باشد که نشان از خروج باکتری‌های بیشتر به دلیل

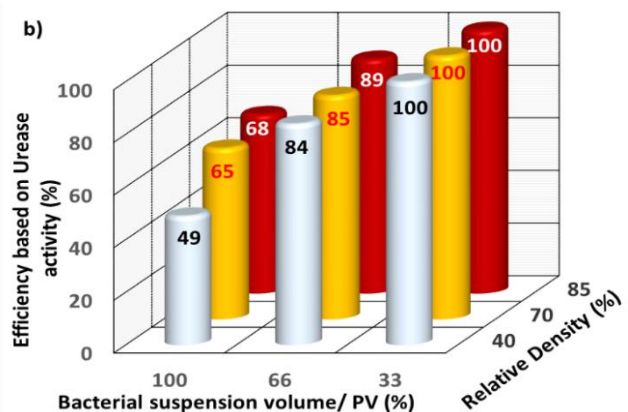
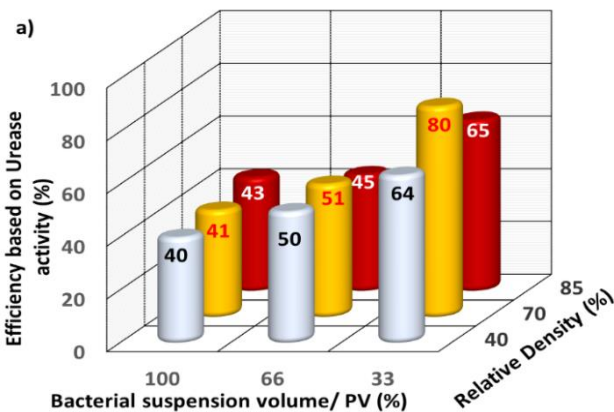


شکل ۸. تغییرات مقدار دانسیته اپتیک باقیمانده در ستون با تغییرات توام دانسیته نسبی و درصد تزریق حفرات در روش (a) جاری- شدن و (b) تزریق

در روش بهسازی تزریق در تزریق یک سوم حفرات، تقریباً همه فعالیت‌های اوره‌آز در داخل ستون باقی‌مانده است ولی در روش جاری شدن بین ۶۴ تا ۸۰ درصد فعالیت اوره‌آزی داخل ستون باقی‌مانده است. واضح است افزایش حجم مواد تزریقی در هر دو روش منجر به افزایش هدر رفت باکتری شده است. از سوی دیگر، در هر دو روش تقریباً افزایش دانسیته نسبی منجر به کاهش اندازه حفرات و گلوگاه‌های بین آنها شده و منجر به افزایش فیلتر شدن سوسپانسیون باکتری در خاک می‌شود.

۳-۲. فعالیت آنزیمی در ستون

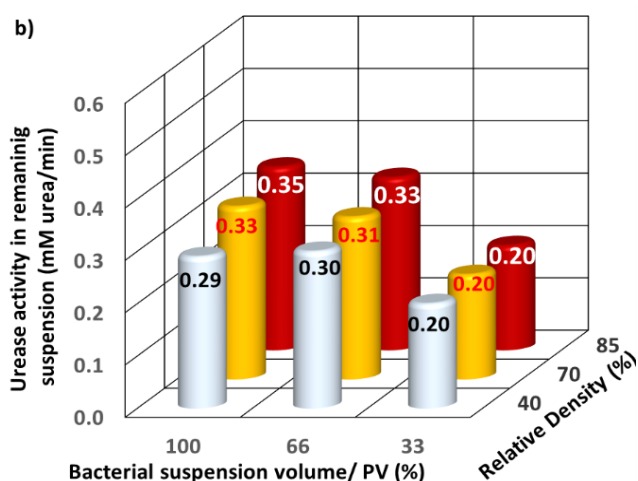
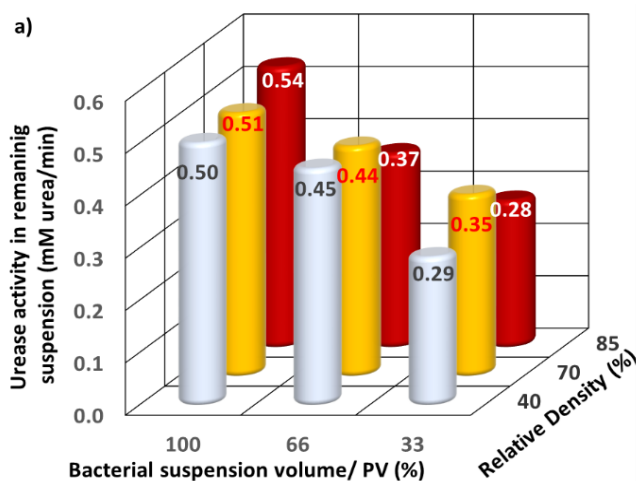
به منظور ارزیابی کارایی تزریق باکتری در درصد‌های متفاوت تزریق و همچنین دانسیته‌های نسبی متفاوت، اندازه‌گیری فعالیت اوره‌آزی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و درصد فعالیت باقی‌مانده در ستون با لحاظ نمودن حجم تزریق و تخلیه محاسبه شده است. مشاهده می‌شود (شکل ۹) که در هر دو روش بهسازی، در همه دانسیته‌های نسبی، با افزایش میزان تزریق حفرات با باکتری، کارایی تزریق کاهش یافته است.



شکل ۹. تغییرات کارایی تزریق (بر اساس فعالیت اوره‌آز) با تغییرات توام دانسیته نسبی و درصد تزریق حفرات در روش (a) جاری- شدن و (b) تزریق

افزایش تدریجی فعالیت جذب شده داخل ستون با افزایش دانسیته نسبی بطور کامل برقرار نیست. بطور کلی فعالیت اوره‌آزی داخل ستون‌های روش جاری‌شدن دارای مقادیر بیشتری از روش تزریق می‌باشد. در نهایت در هر دو روش کمترین فعالیت اوره‌آزی به تزریق یک سوم حجم حفرات و بیشترین فعالیت نیز مربوط به تزریق حجم کامل حفرات در دانسیته نسبی ۸۵ درصد است.

جهت بررسی میزان فعالیت اوره‌آزی باقیمانده در داخل ستون، با لحاظ نمودن حجم تزریق و تخلیه، مقدار فعالیت اوره-آز سوسپانسیون باکتری باقیمانده داخل ستون مشخص گردید. مشاهده شد (شکل ۱۰) که میزان فعالیت باقیمانده داخل ستون با افزایش میزان تزریق حفرات نمونه افزایش می‌یابد. در روش بهسازی تزریق، افزایش تدریجی فعالیت جذب شده داخل ستون با افزایش دانسیته نسبی خاک، در همه درصدهای تزریق حجم حفرات مشاهده گردید. اما در روش بهسازی جاری‌شدن

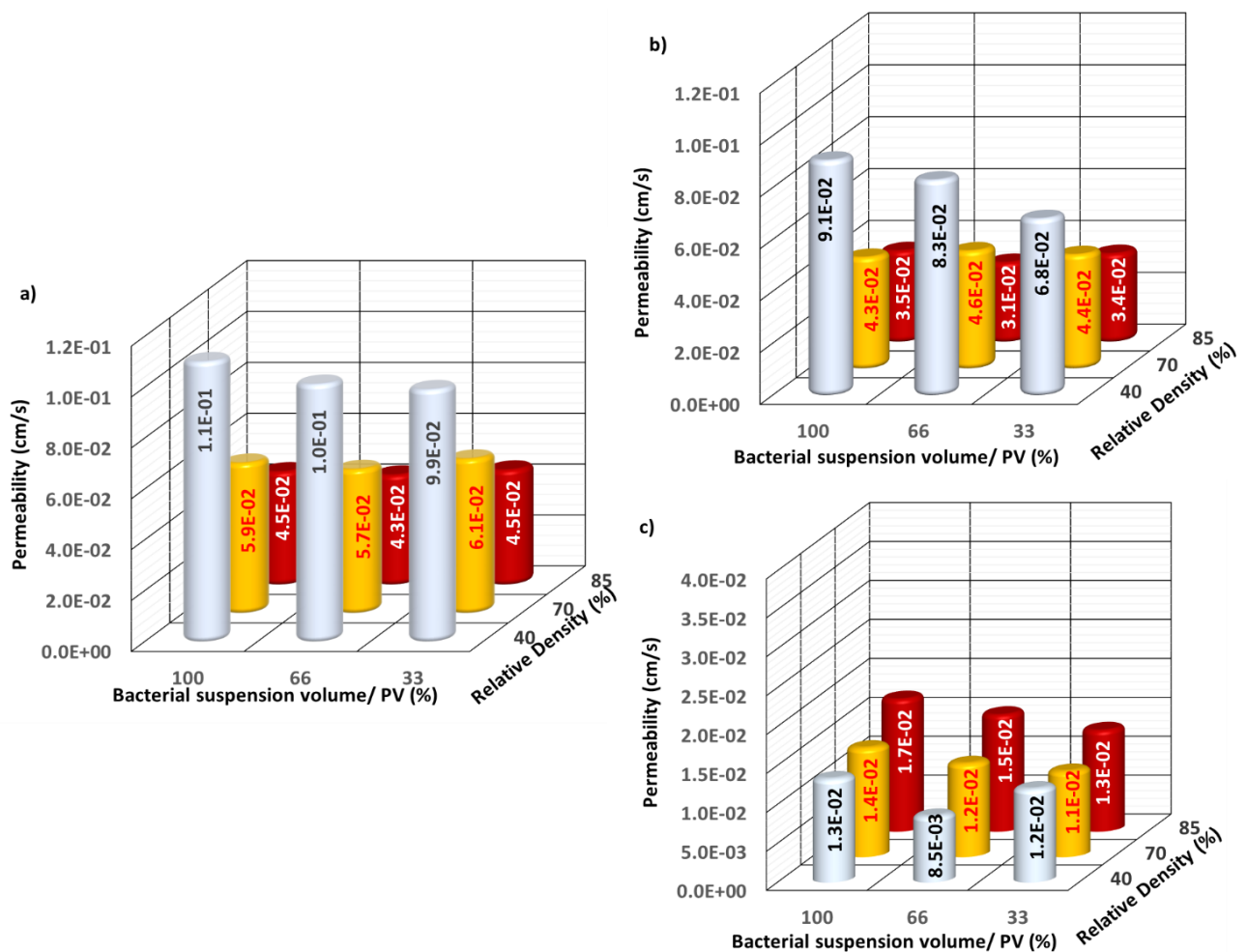


شکل ۱۰. تغییرات مقدار فعالیت اوره‌آز باقیمانده در ستون با تغییرات توام دانسیته نسبی و درصد تزریق حفرات در روش (a) جاری-شدن و (b) تزریق

تجمعات محلی باکتری در نزدیکی محل تزریق نیز شده و به این ترتیب با افزایش احتمال کلاگینگ، موجب کاهش بیشتر نفوذپذیری شود. نتایج نشان داد که روش تزریق مقدار نفوذپذیری را بیشتر از روش جاری‌شدن کاهش می‌دهد این می‌تواند به این دلیل باشد که رسوب در روش جاری‌شدن بیشتر در محل تماس دانه‌ها اتفاق می‌افتد و خیلی کمتر نقش پرکننده‌ی حفرات را دارد. بطور کلی میانگین درصد کاهش نفوذپذیری نسبت به مقدار قبل از بهسازی برای روش تزریق و جاری‌شدن به ترتیب ۷۵ و ۲۵ درصد می‌باشد.

۳-۳. تراوایی

تراوایی نمونه‌ها قبل و بعد از انجام عملیات بهسازی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بطور کلی یک روند عمومی کاهش تراوایی با افزایش دانسیته نسبی خاک و همچنین نسبت تزریق نمونه‌ها با سوسپانسیون باکتری مشاهده می‌شود (شکل ۱۱). افزایش دانسیته نسبی منجر به کاهش اندازه حفرات و گلوگاه‌های بین آنها می‌شود که احتمال وقوع کلاگینگ (Clogging) را تشدید می‌کند. از سوی دیگر، افزایش درصد تزریق حفرات با سوسپانسیون باکتری می‌تواند منجر به افزایش



شکل ۱۱. تغییرات نفوذپذیری با تغییرات دانسیته نسبی و درصد تزریق حفرات با سوسپانسیون باکتری (a) قبل از بهسازی، (b)

روش جاری شدن و (c) روش تزریق

بدلیل پراکندگی یکنواخت تر کربنات کلسیم رسوب کرده در بخش های دورتر از نقطه تزریق (علیرغم محتوای کربنات کلسیم کمتر) باشد. به نظر می رسد کربنات کلسیم به محض تزریق مواد سیمانی کننده تشکیل می شود و لیکن بخشی از این کربنات کلسیم همراه با جریان مایع سیمانی کننده منتقل شده و در نقاطی دورتر نسبت به نقطه تشکیل رسوب می کنند یا در روش جاری شدن از انتهای نمونه خارج می شود. این امر می تواند منجر به گسترش یکنواخت تر کربنات کلسیم در این محدوده های دور از نقطه تزریق شود. در واقع بالای نمونه در روش تزریق دور از محل تزریق و پایین نمونه در روش جاری شدن محدوده دور از نقطه تزریق هستند لذا در این

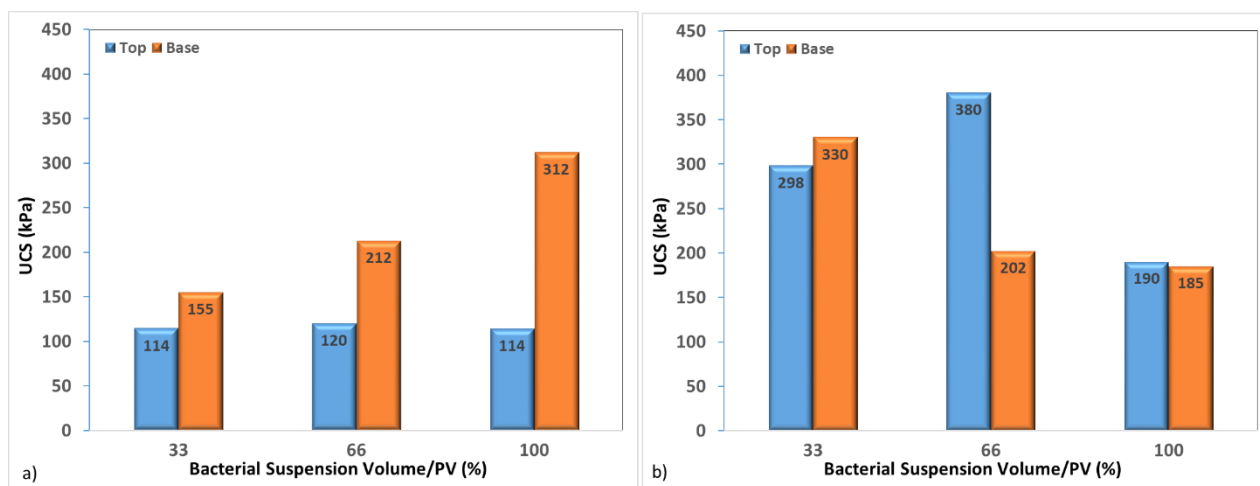
۴-۳. بررسی نتایج مقاومت تک محوری

جهت بررسی اثر دانسیته نسبی خاک و میزان تزریق حفرات با سوسپانسیون باکتری روی مقاومت تک محوری در ستون ها، از هرستون دو نمونه، یکی از نیمه بالایی (در روش تزریق انتهای نمونه و در روش جاری شدن نزدیک نقطه تزریق) و یکی دیگر از نیمه پایینی (در روش تزریق نزدیک نقطه تزریق و در روش جاری شدن انتهای نمونه) جهت انجام آزمایش مقاومت تک محوری تهیه شد. اولین نکته اختلاف مقاومت نمونه های بالا و پایین ستون در هر دو روش است. به نحوی که در روش تزریق برخلاف درصد کربنات کلسیم، مقاومت نمونه های بدست آمده از بالای ستون بیشتر از نمونه های پایین ستون است (شکل ۱۲ و ۱۳). این امر می تواند

پایینی (دور از نقطه تزریق) است. در این روش مقاومت نمونه‌های بالایی با تغییر در حجم تزریق حفرات با سوسپانسیون باکتری تغییرات چندانی ندارند، این موضوع نشان می‌دهد که اولاً مقداری از رسوب کربنات کلسیمی که در قسمت فوقانی تشکیل می‌شود با جریان ثقیلی به نقاط پایین‌تر یا به خارج نمونه هدایت می‌شود و ثانیاً با ادامه داشتن خروج مایع، ابتدا بخش فوقانی نمونه خالی از مایع سیمانی کننده می‌شود و در ادامه فعالیت تولید سیمان شدت کمتری در قسمت فوقانی پیدا می‌کند. بطور کلی اختلاف مقاومت قسمت فوقانی و تحتانی در روش تزریق به مانند روش جاری‌شدن بارز نمی‌باشد.

محدوده‌ها در هر دو روش مقاومت تک محوری بیشتر از محدوده نزدیک تزریق می‌باشد.

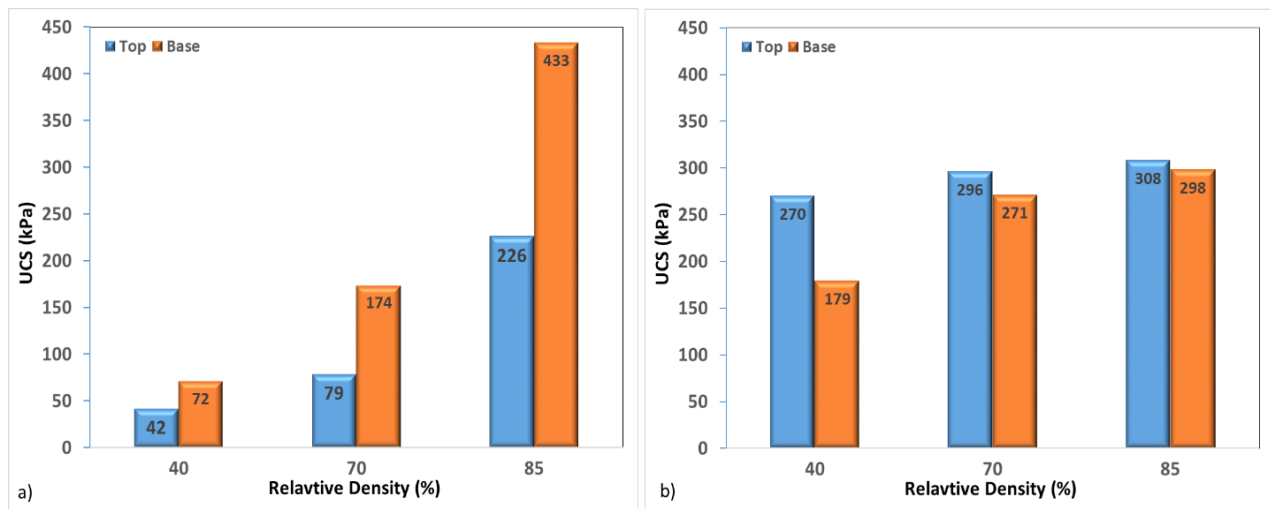
با افزایش در حجم تزریق حفرات نمونه با سوسپانسیون باکتری، مقاومت نمونه‌ها در روش تزریق کاهش و در روش جاری‌شدن افزایش می‌یابد (شکل ۱۲). در روش تزریق مقاومت نمونه‌هایی که یک سوم حجم حفرات آنها تزریق شده، بیشتر از سایر نمونه‌هاست و همچنین برخلاف روند عمومی، مقاومت نمونه‌های پایینی ستون در این حالت اندکی بیشتر از نمونه‌های بالایی است. در روش جاری‌شدن مقاومت نمونه‌های پایینی با افزایش تزریق سوسپانسیون باکتری، بطور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از نمونه‌های بالایی می‌باشد که ناشی از پراکندگی یکنواخت‌تر کربنات کلسیم در قسمت‌های



شکل ۱۲ اثر درصد تزریق حفرات نمونه با سوسپانسیون باکتری روی مقاومت تک محوری (a) روش جاری‌شدن و (b) روش تزریق

کاهش دانسیته و افزایش نفوذپذیری، خارج‌شدن سوسپانسیون باکتری و مایع سیمانی‌کننده نسبت به نمونه‌های با دانسیته بیشتر سریعتر اتفاق می‌افتد. در واقع در روش جاری‌شدن برای رسیدن به مقاومت برابر با روش تزریق در دانسیته نسبی‌های کمتر، به تعداد تزریق‌های سوسپانسیون باکتری و مایع سیمانی‌کننده بیشتری نیاز می‌باشد.

در شکل ۱۳ مشاهده می‌شود با افزایش دانسیته نسبی، مقاومت نمونه‌ها نیز افزایش می‌یابند. این روند در روش جاری‌شدن بصورت قابل ملاحظه‌ای نسبت به روش تزریق افزایش نشان می‌دهد. مقاومت نمونه‌ها با دانسیته نسبی ۷۰ و ۴۰ درصد در روش جاری‌شدن نسبت به روش تزریق بطور قابل توجه‌ای کاهش می‌یابد که مساله می‌تواند حاکی از آن باشد که به دلیل

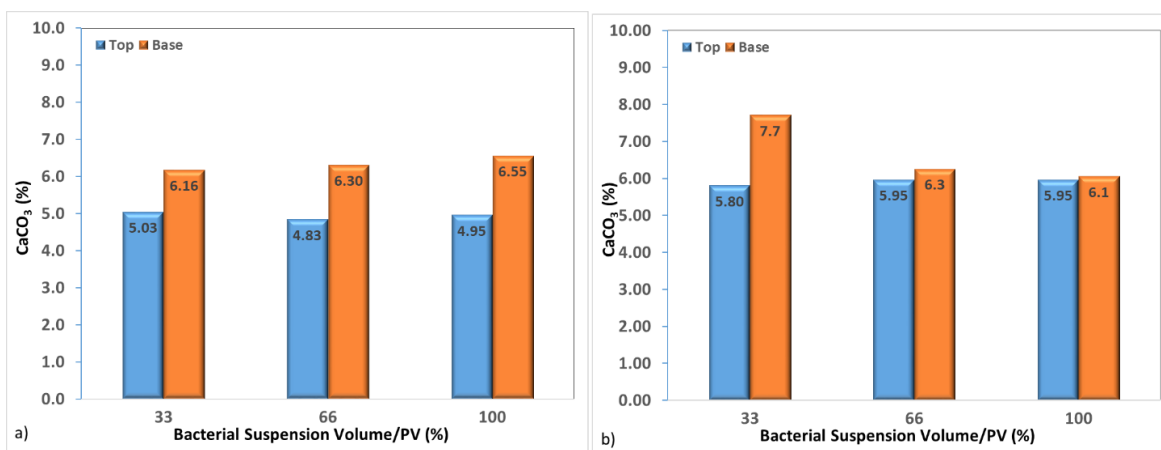


شکل ۱۳. اثر دانسیته نسبی روی مقاومت تک محوری (a) روش جاری شدن و (b) روش تزریق

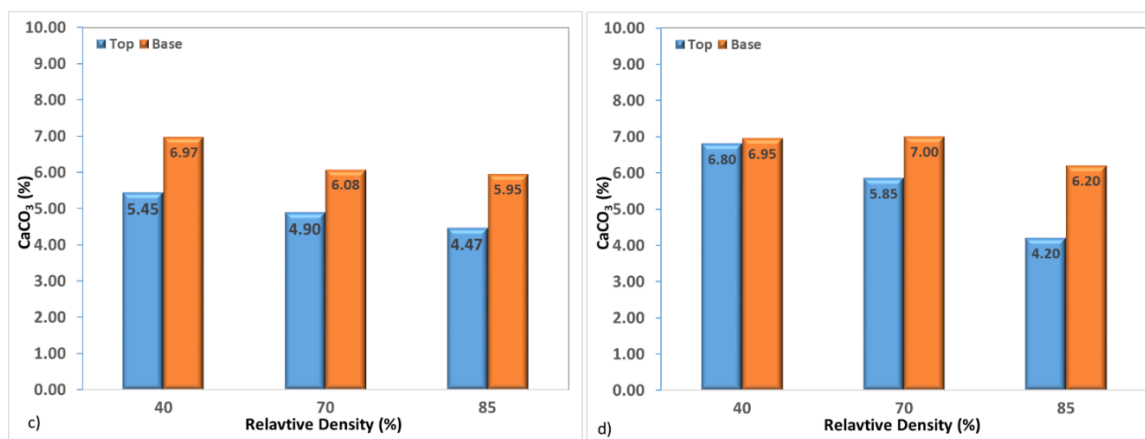
همانطور که در شکل ۱۴ مشخص است در همه دانسیته‌های نسبی و نسبت‌های تزریق حفرات با سوسپانسیون باکتری، نمونه‌های پایین نسبت به نمونه بالای ستون محتوای کربنات کلسیم بیشتری نشان می‌دهند. این امر می‌تواند در روش تزریق به دلیل تمرکز بیشتر کربنات کلسیم در پایین نمونه به دلیل نزدیکی به محل تزریق و در روش جاری شدن به علت انتقال سیمان کربنات کلسیم ایجاد شده در قسمت بالای نمونه بصورت ثقلی به قسمت‌های پایین نمونه و همچنین خالی شدن زود هنگام مایع سیمانی کننده در قسمت بالایی نمونه باشد. همچنین با افزایش درصد تزریق سوسپانسیون باکتری، کاهش ملایمی در محتوای کربنات کلسیم نمونه‌ها در روش تزریق و عکس آن در روش جاری شدن مشاهده می‌شود. در هر دو روش تغییرات محتوای کربنات کلسیم در قسمت بالای نمونه برای احجام مختلف تزریق سوسپانسیون باکتری دیده نمی‌شود. بطور کلی نتایج بررسی تغییرات دانسیته نسبی در برابر محتوای کربنات کلسیم حاکی از کاهش محتوای کربنات کلسیم نمونه‌ها با افزایش دانسیته بود (شکل ۱۵). بعبارتی برای رسیدن به یک مقاومت خاص، در نمونه‌های با دانسیته نسبی بیشتر، درصد کربنات کلسیم پایین‌تری مورد نیاز است.

۳-۵. درصد کربنات کلسیم

این پارامتر بعد از انجام آزمایش تک محوری تعیین گردید. به این ترتیب که کل نمونه خارج شده از آزمایش تک محوری را خرد کرده و سپس آن را بطور کامل و یکنواخت مخلوط گردید و بعد نمونه‌ای معرف برای انجام کلسیمتری انتخاب شد. این مشخصه بطور مجزا برای نمونه‌های نیمه بالایی و نیمه پایینی تمامی ستون‌ها انجام گرفت. بطور کلی محتوای کربنات کلسیم در نمونه‌های روش تزریق از حدود ۴/۵ تا ۸ درصد و در نمونه‌های روش جاری شدن از حدود ۴ تا ۷/۵ درصد تغییر می‌کند. میانگین کربنات کلسیم در نمونه‌های تزریق مقداری بیشتر از نمونه‌های روش جاری شدن می‌باشد. بطور کلی اگر چه با افزایش درصد کربنات کلسیم، افزایشی در مقاومت فشاری تک محوری مشاهده می‌شود، ولیکن مقدار رگرسیون خطی (R^2) محاسبه شده برابر ۰/۰۵ تا ۰/۲۱ است که پراکندگی زیاد داده‌ها را نشان می‌دهد. این پراکندگی می‌تواند به دلیل پراکندگی متفاوت کربنات کلسیم در نمونه‌هایی با درصد کربنات کلسیم مشابه باشد. بعبارتی دیگر علاوه بر دانسیته نسبی و محتوای کربنات کلسیم نمونه‌ها، میزان یکنواختی در پراکندگی کربنات کلسیم درون نمونه نیز اثر قابل ملاحظه‌ای روی مقاومت تک محوری نمونه‌ها دارد.



شکل ۱۴. اثر حجم سوسپانسیون باکتری تزریق شده روی محتوای کربنات کلسیم رسوب شده نمونه‌ها در روش (a) جاری شدن و (b) تزریق



شکل ۱۵. اثر دانسیته نسبی روی محتوای کربنات کلسیم رسوب شده در روش جاری شدن و (b) روش تزریق

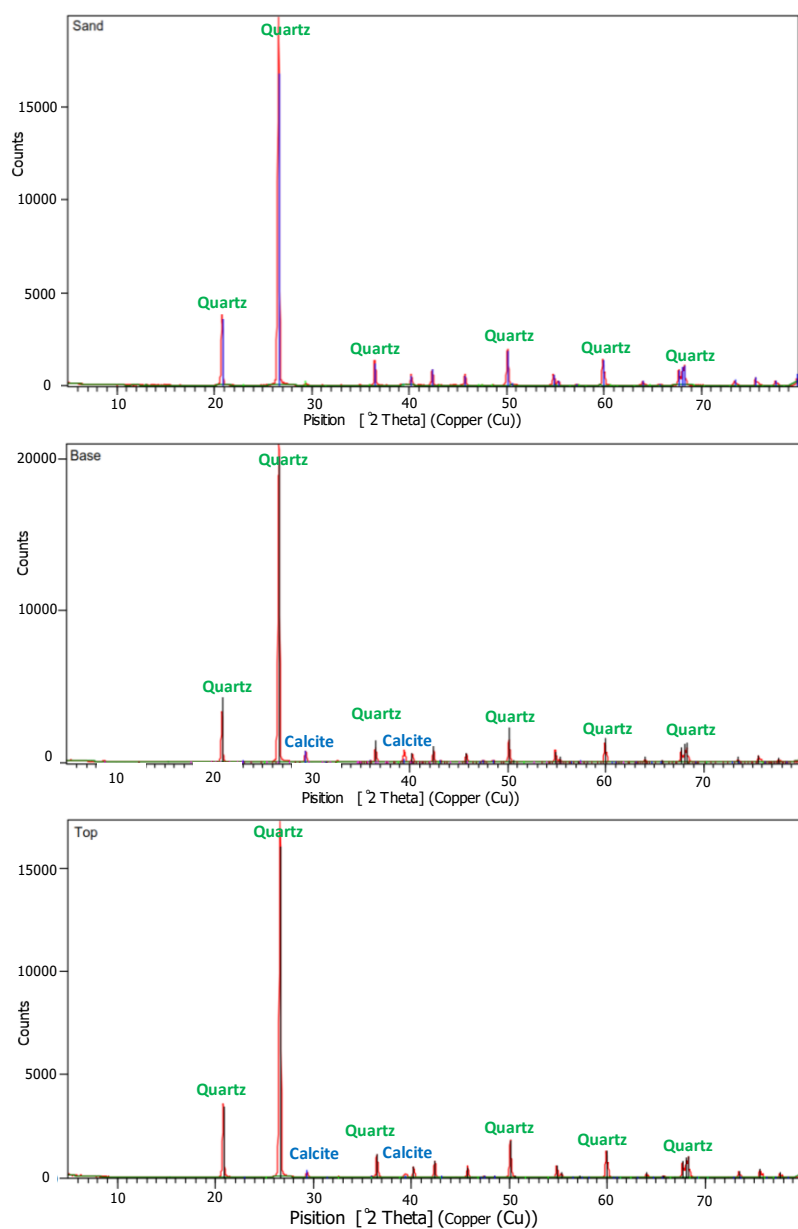
سیلیسی نیز از نمونه خشک شده آن در دمای ۱۰۵ درجه، نمونه معرف انتخاب و سپس بصورت پودر شده برای آنالیز استفاده گردید. نتایج XRD و XRF نشان داد که رسوب کربنات کلسیم از نوع کلسیت بوده و مقدار آن در قسمت پایین نمونه بیشتر از بالای آن رسوب کرده است. در واقع مقدار درصد اکسید کلسیم و بخشی از مقدارافت وزنی طی اشتعال (Loss of ignition) در جدول ۴ نشان دهنده مقدار کربنات کلسیم است که در قسمت پایینی نمونه بیشتر از قسمت بالای آن می‌باشد.

۳-۶. آزمایش XRD و XRF

نتایج آزمایش XRD و XRF مربوط به ماسه قبل و بعد از بهسازی در شکل ۱۶ نمایش داده شده است. پس از شکست نمونه در آزمایش تک محوری، قطعه کوچکی از بخش بالایی و پایینی نمونه بهسازی شده انتخاب و در دمای ۱۰۵ درجه خشک گردید و سپس توسط دستگاه پودر سنگ، نمونه منتخب پودر شده و در داخل پلاستیک بسته بندی و برای آزمایش XRD و XRF مورد استفاده قرار گرفت. در مورد ماسه تمیز

جدول ۴ نتایج آنالیز XRF

MgO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	SiO ₂	L.O.I	description
0.132	0.605	0.619	0.752	97.078	0.46	Silica sand before improvement
0.061	0.653	1.131	4.844	87.686	3.96	The lower part of the improved sand
0.078	0.677	1.333	2.152	92.731	2.09	The upper part of the improved sand

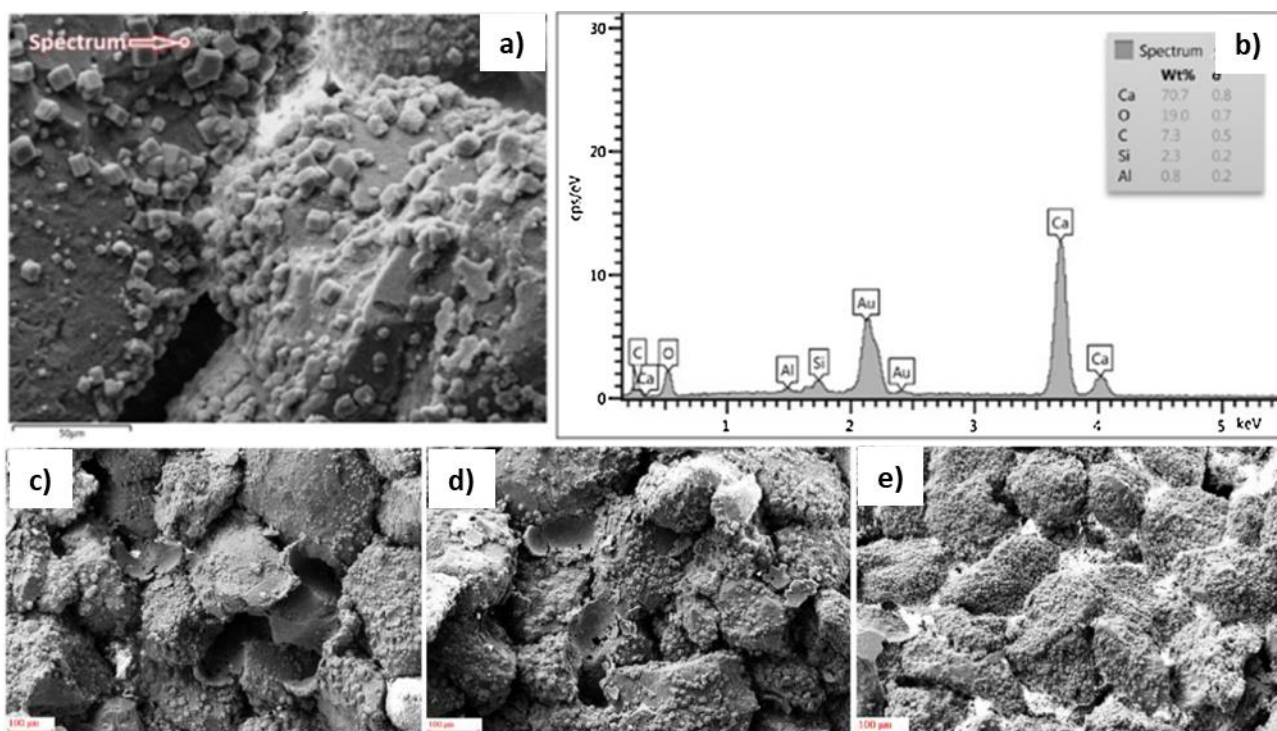


شکل ۱۶. نتایج آنالیز XRD در (a) ماسه طبیعی سیلیسی، (b) قسمت پایین نمونه و (c) قسمت بالای نمونه

۳-۴. تصاویر میکروسکوپ الکترونی

تصاویر میکروسکوپ الکترونی، وجود رسوب روی دانه‌های ماسه، پس از عملیات بهسازی را نشان می‌دهد. شکل بلوری رومبوندری به خوبی در تصویر شکل ۱۶ مشخص شده است. همچنین آنالیز XRF ترکیب کربنات کلسیمی برای سیمان رسوب کرده نشان داد. در بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی (شکل ۱۷)، تمایل کربنات کلسیم برای رسوب کردن در نزدیکی گلوگاه‌های مرتبط کننده حفرات مشخص است.

تغییرات زیادی در مقدار کربنات کلسیم رسوب کرده در حفرات خاک، در نقاط مختلف یک نمونه مشخص و از نمونه‌ای به نمونه دیگر مشاهده شد. معمولاً نمونه‌های مربوط به پایین ستون تراکم کربنات کلسیم بالاتری نسبت به نمونه‌های بالای همان ستون در هر دو روش بهسازی نشان می‌دهند. این امر با اندازه‌گیری‌های درصد کربنات کلسیم نمونه‌ها نیز همخوانی دارد.



شکل ۱۶ (a) تمایل کربنات کلسیم برای رسوب کردن در نزدیکی گلوگاه‌های مرتبط کننده حفرات، (b) نتایج آنالیز XRF در سیمان رسوب شده، وضعیت رسوب کربنات کلسیم در حفرات در محدوده بالای ستون (نزدیک به نقطه خروج) (c)، در وسط ستون (d) و (e) پایین ستون (نزدیک به نقطه تزریق)

۴. نتیجه گیری

نسبی تأثیر چندانی در کارایی نشان نداد. کارایی هر دو روش در تزریق برابر حجم حفرات، کم و مشابه و در تزریق حجم یک سوم حفرات با توجه به فعالیت اوته‌آزی کارایی روش تزریق بیشتر از روش جاری‌شدن می‌باشد. در واقع افزایش بیشتر حجم تزریق باعث هدر رفت باکتری شده است. همچنین تعداد باکتری جذب شده در ستون‌های هر دو روش با افزایش دانسیته تقریباً افزایش می‌یابد.

۲. نفوذپذیری در هر دو روش روند کاهشی دارد ولی شدت کاهش نفوذپذیری در روش تزریق بیشتر از روش جاری‌شدن می‌باشد. بطور کلی میانگین کاهش نفوذپذیری برای روش تزریق و جاری‌شدن به ترتیب ۷۵ و ۲۵ درصد نفوذپذیری قبل از بهسازی می‌باشد

۳. با افزایش دانسیته نسبی مقاومت فشاری تک محوری علی‌رغم کاهش محتوای کربنات کلسیم، در هر دو روش افزایش می‌یابد و شدت این افزایش در روش جاری‌شدن بیشتر از روش

رسوب میکروبی القا شده کربنات کلسیم (MICP) یک روش مناسب برای بهسازی قابل سازگار با محیط زیست می‌باشد. روش تزریق و روش جاری‌شدن دو روش مهم و پرکاربرد در بهسازی MICP می‌باشد. در تحقیقات قبلی این دو روش برای خاک‌ها با دانسیته یکسان، غالباً احجام تزریق یکسان و نفوذ آنها در جاری‌شدن بیشتر سطحی و بطور کامل ثقلی نبوده است. لذا در این تحقیق روش تزریق و روش جاری‌شدن کاملاً ثقلی، در خاک با دانسیته‌های متفاوت و احجام مختلف تزریق سوسپانسیون باکتری مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت که نتایج زیر حاصل گردید:

۱. بررسی کارایی تزریق (معیاری برای سنجش هدر رفت باکتری از ستون) به کمک دانسیته اپتیک و فعالیت اوته‌آز نشان می‌دهد که در هر دو روش بهسازی افزایش حجم سوسپانسیون تزریق منجر به کاهش کارایی تزریق می‌گردد و تغییرات دانسیته

۷. روش تزریق در حجم تزریق یک سوم حفرات نتایج مناسب تری نسبت به حجم تزریق های بیشتر نشان داد اما در روش جاری شدن در حجم تزریق برابر حجم حفرات مناسب ترین نتیجه حاصل گردید. این به این دلیل است که در روش جاری شدن وقتی حجم تزریق زیاد می باشد سوسپانسیون باکتری می تواند تا حدودی از تمامی گلوگاه ها عبور نماید و اثر مفیدتری داشته باشد ولی در احجام کمتر گلوگاه های ترجیحی هدایت کننده اصلی سوسپانسیون باکتری بوده و گلوگاه های پراکنده اثر کم رنگتری در بهسازی دارند.

با توجه یکسان بودن نوع و میزان مواد مصرفی، غلظت ها و احجام سوسپانسیون باکتری بکارگرفته مشابه در هر دو روش، روش جاری شدن علیرقم کاهش راندمان باکتری در دانسیته های نسبی پایین و داشتن کارایی کمتر نسبت به روش تزریق به دلیل آسان تر بودن و عدم نیاز به تجهیزات خاص در اجرا، کاهش کمتر مقدار تراوایی، پراکندگی یکنواخت تر سیمان حاصله و تأمین مقاومت مشابه با روش تزریق در حجم تزریق برابر حجم حفرات در دانسیته نسبی های بالا، نیاز به دفعات بیشتر تزریق در حجم تزریق دو سوم و یک سوم حجم حفرات در دانسیته نسبی های پایین جهت تأمین مقاومت مشابه با روش تزریق، این روش در نهایت روش مناسب تر و با صرفه اقتصادی مطلوب تر برای بهسازی خاک های ماسه ای در آزمایشگاه می باشد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر بخشی از دستاوردهای رساله دکتری نویسنده ردیف اول و نویسنده ردیف پنجم است. نگارندگان این مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از کارکنان بخش آزمایشگاه زمین شناسی مهندسی و بیوشیمی دانشگاه تربیت مدرس ابراز می دارند.

تزریق می باشد. در واقع راندمان بهسازی در روش جاری شدن در دانسیته های کم، پایین تر از روش تزریق ولی در دانسیته های بالا برعکس می باشد. لذا در دانسیته های پایین برای رسیدن به مقاومت مشابه روش تزریق، باید دفعات تزریق را در روش جاری شدن افزایش داد. همچنین با افزایش در حجم تزریق حفرات نمونه با سوسپانسیون باکتری، مقاومت نمونه ها در روش تزریق تقریباً کاهش و در روش جاری شدن افزایش قابل ملاحظه ای می یابد. در روش تزریق مقاومت نمونه هایی که یک سوم حجم حفرات آنها تزریق شده، تقریباً بیشتر از سایر نمونه هاست. در روش جاری شدن مقاومت نمونه های پایینی با افزایش تزریق سوسپانسیون باکتری، بطور قابل ملاحظه ای بیشتر از نمونه های بالایی می باشد که ناشی از پراکندگی یکنواخت تر کربنات کلسیم در قسمت های پایینی (دور از نقطه تزریق) است. ۴. میانگین درصد کربنات کلسیم ایجاد شده در روش تزریق بیشتر از روش جاری شدن می باشد. در همه دانسیته های نسبی و نسبت های تزریق حفرات با سوسپانسیون باکتری، نمونه های پایین ستون نسبت به نمونه بالای ستون محتوای کربنات کلسیم بیشتری نشان می دهند. پراکندگی رسوب کربنات کلسیم در هر دو روش مشاهده گردیدند لذا پراکندگی روش جاری شدن نسبتاً بیشتر می باشد. همچنین مقدار رسوب کربنات کلسیم در نزدیک ورودی نمونه ها بیشتر از خروجی در هر دو روش می باشد اما مقاومت تک محوری نمونه های دور از ورودی بیشتر از نزدیک ورودی می باشد که می تواند در نتیجه گسترش یکنواخت تر رسوب کربنات کلسیم باشد که این یکنواختی در روش جاری شدن بیشتر از روش تزریق می باشد.

۵. بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی تمایل بیشتر به رسوب در محل تماس دانه ها از نوع کربنات کلسیم را نشان داد که تمرکز آنها در نزدیک خروجی بیشتر می باشد.

۶. نتایج XRD و XRF نشان داد نوع رسوب کربنات کلسیم از نوع کلسیت می باشد و مقدار کلسیت در قسمت پایینی روش جاری شدن بیشتر از قسمت بالایی نمونه است.

منابع

- باغبانان ع.، رضائی فر ف.، هاشم‌الحسینی ح. و رازانی م. (۱۳۹۵). امکان سنجی استفاده از دوغاب زیستی برای تثبیت ماسه‌های روان در مناطق کویری با رویکرد حفاظت از بقایای باستان‌شناسی، پژوهش باستان‌سنجی، سال دوم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۵، ۲۷-۱۷.
- بلوری بزاز م.، بلوری بزاز ج. و کرابی س.م. (۱۴۰۰). مقایسه‌ی تأثیر نوع محیط کشت باکتری *Sporosarcina Pasteurii* بر میزان و نوع رسوبات کربنات کلسیم در جهت بهسازی خاک‌های دانه‌ای، نشریه مهندسی عمران امیرکبیر، دوره ۵۳، شماره ۷، صفحات ۳۰۲۹ تا ۳۰۵۰. DOI: 10.22060/ceej.2020.17631.6630
- روشن بخت ک.، خامه‌چیان م.، حسن ساجدی ر. و نیکودل م.ر. (۱۳۹۴). بهسازی خاک‌های ماسه‌ای با رسوب زیستی کربنات کلسیم و فاکتورهای مؤثر بر آن، مجله انجمن زمین‌شناسی مهندسی ایران، بهار و تابستان ۱۳۹۴، جلد هشتم، شماره ۱ و ۲، صفحه ۱ تا ۱۲.
- سهرابی ن. و حق پرست م. (۱۳۹۷). بررسی تأثیر نوع ریزدانه بر بهسازی بیلوژیکی خاک ماسه‌ای، نشریه زمین‌شناسی، جلد دوازدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۷.
- کریمی س.، خزائی ج.، شریفی پور م. و روح‌الله شریفی ر. (۱۴۰۱). بهسازی و تثبیت خاک‌های نرم و سست ریزدانه به روش رسوب‌زایی زیستی کربنات کلسیم (مطالعه موردی: خاک ریزدانه دانشکده کشاورزی کرمانشاه)، نشریه مهندسی عمران امیرکبیر، دوره ۵۴، شماره ۹، صفحات ۳۲۱۷ تا ۳۲۴۲. DOI: 10.22060/ceej.2022.18917.6997
- مدرس نیا ا.ر.، میر محمد صادقی م. و جلالیان ا. (۱۴۰۰). بررسی تأثیر بهسازی میکروبی در کاهش فرسایش پذیری بادی خاک‌های منطقه بیابانی سگزی اصفهان، نشریه علوم آب و خاک، سال بیست و پنجم، شماره چهارم، زمستان ۱۴۰۰.
- Achal V., Mukherjee A., and Reddy M.S. (2011a). Microbial concrete: way to enhance the durability of building structures, *Journal of Materials in Civil Engineering* 23 (6) 730–734. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0000159](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0000159).
- Achal V., Pan X., and Özyurt N. (2011b). Improved strength and durability of fly ash-amended concrete by microbial calcite precipitation. *Ecol. Eng.* 37 554–559. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2010.11.009>.
- Almajed A., Tirkolaei H. K., Kavazanjian E., and Hamdan N. (2019). Enzyme induced biocemented sand with high strength at low carbonate content, *Scientific Reports*, vol. 9, p. 1135. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38361-1>.
- Al Qabany A., Soga K., and Santamarina C. (2012). Factors affecting efficiency of microbially induced calcite precipitation, *J. Geotech. Geoenviron. Eng.* 138 (8) 992–1001. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.00006](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.00006).
- Al Qabany A., and Soga K. (2013). Effect of chemical improvement used in MICP on engineering properties of cemented soils, *Géotechnique* 63(4) 331. <https://doi.org/10.1680/geot.SIP13.P.022>.
- ASTM D2166M-16.(2016). Standard Test Method for Unconfined Compressive Strength of Cohesive Soil, Annual book of ASTM Standards, West Conshohocken.
- Cheng L., Shahin M.A., and Mujah D. (2016). Influence of Key Environmental Conditions on Microbially Induced Cementation for Soil Stabilization, *J. Geotech. Geoenviron. Eng.* 04016083. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0001586](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0001586).
- Cheng L., Shahin M. A., Cord-Ruwisch R., Addis M., Hartanto T., Elms C.(2014). Soil stabilisation by microbial induced calcium carbonate precipitation: investigation of some important physical and environmental aspects. In: 7th International Congress on Environmental Geotechnics, Australia.
- Cheshomi A., Mansouri S., Amoozegar M.A., (2018). Improving the Shear Strength of Quartz Sand using the Microbial Method, *Geomicrobiology Journal*, DOI: 10.1080/01490451.2018.1462868
- Choi S.G., Chang I., Lee M., Lee J.H., Han J.T., and Kwon T.H. (2020). Review on geotechnical engineering properties of sands treated by microbially induced calcium carbonate precipitation (MICP) and biopolymers, *Journal of Construction and Building Materials*, 246 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.118415>.
- Choi S. G., Wu S., and Chu J. (2016). Biocementation for Sand Using an Eggshell as Calcium Source, *J. Geotech. Geoenviron. Eng.* 06016010. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0001534](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0001534).
- Chou, Chiung-Wen. (2007). Bioimprovement of geotechnical properties of sandy soils. Master of Civil Engineering thesis, University of Maryland.
- DeJong J.T., Fritzes 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. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-0241\(2006\)132:11\(1381\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-0241(2006)132:11(1381)).
- DeJong J.T., Mortensen B.M., Martinez B. C., and Nelson D.C. (2010). Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36: 197-210. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.029>.
- DeJong, J. T., Soga, K., Kavazanjian, E., Burns, S., Van Paassen, L. A., Al Qabany, A., Aydilek, A., Bang, S. S., Burbank, M., Caslake, L. F., Chen, C. Y., Cheng, X., Chu, J., Ciurli, S., Esnault-Filet, A., Fauriel, S., Hamdan, N., Hata, T., Inagaki, Y., ... Weaver, T. (2013). Biogeochemical processes and geotechnical applications: Progress, opportunities and challenges. *Geotechnique*, 63(4), 287–301. <https://doi.org/10.1680/geot.SIP13.P.017>

- Deng X., Yuan Z., Li Y., Liu H., Feng J., and de Wit B. (2020). Experimental study on the mechanical properties of microbial mixed backfill, *Construction and Building Materials* 265 120643. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2022.01.010>.
- Dhami N. K., Reddy M. S., and Mukherjee A. (2013). "Biomining of calcium carbonates and their engineered applications: a review," *Frontiers in Microbiology*, vol. 4, p. 314. 10.3389/fmicb.2013.00314.
- Feng K., and Montoya B.M. (2015). drained shear strength of MICP sand at varying cementation levels, in: *IFCEE*, (2015) 2242–2251. <https://doi.org/10.1061/9780784479087.208>.
- Feng K., and Montoya B. (2016). Influence of confinement and cementation level on the behavior of microbial-induced calcite precipitated sands under monotonic drained loading, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 142 (1) 04015057. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0001379](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0001379).
- Ferris F.G., Phoenix V., Fujita Y., and Smith R.W. (2004). Kinetics of calcite precipitation induced by ureolytic bacteria at 10 to 20°C in artificial groundwater, *Geochim. Cosmochim. Acta* 68 (8) 1701–1710. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(03\)00503-9](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(03)00503-9).
- Fujita, Y., Taylor J. L., Gresham T. L. T., Delwiche M. E., Colwell F. S., Mcling T. L., Petzke L. M., and Smith R. W. (2008). Stimulation of microbial urea hydrolysis in groundwater to enhance calcium carbonate precipitation. *Environ. Sci. Technol.* 42 (8), 3025–3032. <https://doi.org/10.1021/es702643g>.
- Ginn T., Murphy E., Chilakapati A., and Seeboonruang U. (2001). Stochastic-convective transport with nonlinear reaction and mixing: application to intermediate-scale experiments in aerobic biodegradation in saturated porous media, *Journal of Contaminant Hydrology* 48 (1–2) 121–149. [https://doi.org/10.1016/S0169-7722\(00\)00168-6](https://doi.org/10.1016/S0169-7722(00)00168-6).
- Gu J., Suleiman M.T., Bastola H., Brown D.G., and N. Zouari. (2018). Improvement of sand using microbial-induced carbonate precipitation (MICP) for wind erosion application, in: *IFCEE*, 2018, pp. 155–164, <https://doi.org/10.1061/9780784481592.016>.
- Hammad I., Talkhan F., and Zoheir A. (2013) Urease activity and induction of calcium carbonate precipitation by *Sporosarcina pasteurii* NCIMB 8841, *Journal of Applied Sciences Research* 9 (3) 1525–1533.
- Han Z., Cheng X., and Ma Q. (2016). An experimental study on the dynamic response for MICP strengthening liquefiable sands, *Earthquake Engineering and Engineering Vibration* 15 (4) 673–679. <https://doi.org/10.1007/s11803-016-0357-6>.
- Harkes M.P., van Paassen L.A., Booster J.L., Whiffin V.S., and van Loosdrecht M.C.M. (2010). Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation for ground reinforcement. *Ecol. Eng.* 36, 112–117. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.01.004>.
- Harkes M., Booster J., van Paassen L., van Loosdrecht M.C., and Whiffin V. (2008). Microbial induced carbonate precipitation as ground improvement method—bacterial fixation and empirical correlation CaCO_3 vs strength, in: 1st International Conference on Bio-Geo-Civil Engineering, Delft, The Netherlands, 37-44.
- Hongxian G., Dongrun L., Ruinan M., and Xiaohui C. (2019). Oedometer test of calcareous sands solidified using the MICP mixing method, *Journal of Tsinghua University (Science and Technology)* 59 (8) 593–600. <https://doi.org/10.16511/j.cnki.qhdxxb.2019.21.018>.
- Ivanov, V., and Chu, J. (2008). Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7 (2), 139–153. <https://doi.org/10.1007/s11157-007-9126-3>.
- Jiang N-J., Soga K., and Kuo M. (2017). Microbially induced carbonate precipitation for seepage-induced internal erosion control in sand-clay mixtures, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 143 (3). <https://doi.org/10.17863/CAM.24>.
- Jiang N. J., and Soga K. (2017). the applicability of microbially induced calcite precipitation (MICP) for internal erosion control in gravel-sand mixtures, *Géotechnique* 67 (1) 42–55. <https://doi.org/10.1680/ jgeot.15.P.182>.
- Karimian A., Hassanlourad M., & Karimi Gh. R. (2020). Insight into the Properties of Surface Percolated Biocemented Sand, *Geomicrobiology Journal*, 2021, VOL. 38, NO.2, 138-149. <https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1818147>
- Kim D., Park K., Kim D. (2014). Effects of Ground Conditions on Microbial Cementation in Soils. *Materials*, 7: 143-156. <https://doi.org/10.3390/ma7010143>
- Kucharski E.S., Cord-Ruwisch R., Whiffin V., and Al-thawadi S.M. (2012). Microbial biocementation, US Patent 8,182,604 B2.
- Lamas F., Irigaray C., Oteo C. Chacon J., (2005). Selection of the most appropriate method to determine the carbonate content for engineering purposes with particular regard to marls, *Engineering Geology*, Volume 81, Issue 1, September 2005, Pages 32-41
- Lin H., Suleiman M.T., and Brown D.G., Kavazanjian Jr E. (2016). Mechanical behavior of sands treated by microbially induced carbonate precipitation, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 142 (2) 04015066. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0001383](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0001383).

- Liu J., Li G., and Li X. (2021). Geotechnical Engineering Properties of Soils Solidified by Microbially Induced CaCO₃ Precipitation (MICP), Review Article, *Advances in Civil Engineering*, Volume 2021, 1-21. <https://doi.org/10.1155/2021/6683930>.
- Maleki M., Ebrahimi S., Asadzadeh F., and Tabrizi M.E. (2016). Performance of microbial-induced carbonate precipitation on wind erosion control of sandy soil, *International Journal of Environmental Science and Technology* 13 (3) 937–944. <https://doi.org/10.1007/s13762-015-0921-z>.
- Montoya B., and DeJong J. (2015). Stress-strain behavior of sands cemented by microbially induced calcite precipitation, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 141 (6) 04015019. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0001302](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0001302).
- Mujah D., Shahin M.A., and Cheng L. (2017). State-of-the-art review of biocementation by microbially induced calcite precipitation (MICP) for soil stabilization, *Geomicrobiology Journal* 34 (6) 524–537 <https://doi.org/10.1080/01490451.2016.1225866>.
- Mortazavi H., Kariminia B. T., Shahbodagh B., Rowshanzamir M. A., and Khoshghalb A. (2021). Application of biocementation to enhance shear strength parameters of the soil-steel interface, *Journal of Construction and Building Materials*, 294 123470. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.123470>.
- Mwandira W., Nakashima K., Kawasaki S., Sato T., Igarashi T., Chirwa M., Ito M., Banda K., Nyambe I., Nakayama S., Nakata H., and Ishizuka M. (2019). Solidification of sand by Pb(II)-tolerant bacteria for capping mine waste to control metallic dust: Case of the abandoned Kabwe Mine, Zambia. *Chemosphere* 228 17-25. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.107>.
- Nemati, M., Greene, E.A., Voordouw, G. (2005). Permeability profile modification using bacterially formed calcium carbonate: comparison with enzymic option”, *Process Biochemistry*, vol. 40: 925-933. [10.1016/J.PROCBIO.2004.02.019](https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2004.02.019).
- Ng, 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. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 62: 723-729. doi.org/10.5281/zenodo.1084674
- Perrot A., Rangeard D., Picandet V., and Serhal S. (2015). Effect of coarse particle volume fraction on the hydraulic conductivity of fresh cement-based material, *Materials and Structures*, 48 (7) 2291–2297. <https://doi.org/10.1617/s11527-014-0311-x>.
- Rahman M.M., Hora R.N., Ahenkorah I., Beecham S., Karim M.R., and Iqbal A. (2020). State-of-the-Art Review of Microbial-Induced Calcite Precipitation and Its Sustainability in Engineering Applications, *Sustainability* 2020, 12, 6281 <https://doi.org/10.1080/01490451.2016.1225866>.
- Ritvo, G., Dassa, O., Kochba, M. (2003). "Salinity and pH effect on the colloidal properties of suspended particles in super intensive aquaculture systems" *Aquac.* vol.218: 379-386. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00652-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00652-X)
- Rowshanbakht K., Khamsehchiyan M., Sajedi R.H., and Nikudel M.R. (2016). Effect of injected bacterial suspension volume and relative density on carbonate precipitation resulting from microbial improvement. *Ecological Engineering* 89 49-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.010>.
- Safavizadeh S., Montoya B.M., and Gabr M.A.(2019). Microbial induced calcium carbonate precipitation in coal ash, *Geotechnique*, vol. 69, no. 8, 727–740. <https://doi.org/10.1680/jgeot.18.P.062>.
- Salifu E., MacLachlan E., Iyer K.R., Knapp C.W., and Tarantino A. (2016). Application of microbially induced calcite precipitation in erosion mitigation and stabilization of sandy soil foreshore slopes: a preliminary investigation, *Engineering Geology* 201 96–105. <https://doi.org/10.1016/j.enggeo.2015.12.027>.
- Sarda, D., Choonia, H., Sarode, D., and Lele, S. (2009). Biocalcification by *Bacillus Pasteurii* urease: a novel application. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36, 1111–1115. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0581-4>.
- Sharaky A. M., Mohamed N. S., Elmashad m., Shredah N.M. (2018). Application of microbial biocementation to improve the physico-mechanical properties of sandy soil, *Construction and Building Materials* 190 (2018) 861–869. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.09.159>
- Sharma A., and Ramakrishnan R. (2016). Study on the effect of microbial induced calcite precipitates on the strength of fine grained soils, *Perspect. Sci.* 8 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.pisc.2016.03.017>.
- Soon N.W., Lee L.M., Khun T.C., and Ling H.S. (2014). Factors affecting improvement in engineering properties of residual soil through microbial-induced calcite precipitation, *J. Geotech. Geoenviron. Eng.* 140 (5) 04014006. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.00010](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.00010).
- Stocks-Fischer S., Galinat J.K., and Bang S.S. (1999). Microbiological precipitation of CaCO₃, *Soil Biology and Biochemistry* 31 (11) 1563–1571. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00082-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00082-6).
- Tobler D.J., Maclachlan E., and Phoenix V.R. (2012). Microbially mediated plugging of porous media and the impact of different injection strategies, *Ecological Engineering* 42 270–278. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.02.027>.
- 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: 1–12. <https://doi.org/10.1029/2007WR006541>
- Tsukamoto M., Inagaki T., Sasaki Y. Oda K. (2013). Influence of relative

- density on microbial carbonate precipitation and mechanical properties of sand. Proceedings of the 18th International Conference on Soil Mechanics and Geotechnical Engineering, Paris.
- Umar M., Kassim K. A., and Ping Chiet K. T. (2016). Biological process of soil improvement in civil engineering: a review, *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering*, vol. 8, no. 5, 767–774. <https://doi.org/10.1016/j.jrmge.2016.02.004>.
- Van Paassen, L.A. (2009). "Biogrout: Ground Improvement by Microbially Induced Carbonate Precipitation". PhD Delft: Delft University of Technology.
- van Paassen, L. A., C.M. Daza, C.M., Staal M., Sorokin D.Y., Van der Zon W., and van Loosdrecht C.M. (2010), Potential soil reinforcement by biological denitrification, *Ecological Engineering* 36 (2) 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.03.026>.
- van Paassen L.A. (2011), Bio-mediated ground improvement: from laboratory experiment to pilot applications. The Geo-Frontiers 2011 Conference: Advances in Geotechnical Engineering, Dallas, TX, ASCE Geotechnical Special Publication 211, 4099-4108. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0002490](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0002490).
- Wang X., Tao J., Bao R., Tran T., and Tucker-Kulesza S. (2018). Surficial soil stabilization against water-induced erosion using polymer-modified microbially induced carbonate precipitation, *Journal of Materials in Civil Engineering* 30 (10) 04018267. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0002490](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0002490).
- Wen K., Li Y., Liu S., Bu C., and Li L. (2019). Development of an improved immersing method to enhance microbial induced calcite precipitation treated sandy soil through multiple improvements in low cementation media concentration, *Geotechnical and Geological Engineering* 37 (2) 1015–1027. <https://doi.org/10.1007/s10706-018-0669-6>.
- Whiffin V.S., van Paassen L.A., and Harkes M.P. (2007). Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiol. J.* 24 (5), 417–423. <https://doi.org/10.1080/01490450701436505>.
- Xu x., Guo H., Li M., and Deng X. (2021). Bio-cementation improvement via CaCO₃ cementation pattern and crystal polymorph: A review, *Construction and Building Material J.* 297 (2021) 123478. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.123478>
- Zamani A., Liu Q., and Montoya B.M. (2018). the effect of microbial induced carbonate precipitation on the stability of mine tailings, *IFCEE 2018* 291–300. <https://doi.org/10.1061/9780784481615.024>.
- Zhang Y., Guo H., and Cheng X. (2014). Influences of calcium sources on microbially induced carbonate precipitation in porous media, *Mater. Res. Innovat.* 18 (sup2). S2-79-S2-84. <https://doi.org/10.1179/1432891714Z.000000000384>.
- Zhao Y., Fan C., Liu P., Fang H., Huang Z. (2018). Effect of activated carbon on microbial-induced calcium carbonate precipitation of sand, *Environmental Earth Sciences* 77 (17) 615. <https://doi.org/10.1007/s12665-018-7797-4>.
- Zhiguang h., Xiaohui Ch., Qiang Ma., An experimental study on dynamic response for MICP strengthening liquefiable sands, *Earthq Eng & Eng Vib* (2016) 15: 673-679. doi:10.1007/s11803-016-0357-6