ارزیابی عوامل مؤثر در بهسازی زیستی خاک به روش تزریق باکتری در خاک‌های ماسه‌ای

مسعود میرمحمدصادقی[۱*]، علیرضا ستوده‌فر[۲]، احسان مختاری[۲]

(تاریخ دریافت:۱۳۹۴/۹/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱/۳۱)

چکیده

بهبود کیفیت و اصلاح خاک ازجمله مسائلی است که مهندسین عمران همواره با آن درگیر بوده‌اند و روش‌های گوناگونی برای انواع خاک‌ها به‌کار گرفته شده است. اهمیت موضوع تا جایی است که کشورها، هزینه‌های زیادی در سال صرف اجرای این پروژه‌ها می‌کنند. در این‌میان خاک‌های دانه‌ای، به‌دلیل خصوصیات مقاومتی همواره مشکل‌ساز بوده‌اند. بیوگروتینگ روشی جدید و سازگار با محیط زیست برای بهبود پارامترهای مقاومتی خاک است که از پیوند رشته بیوتکنولوژی و مهندسی عمران به‌وجود آمده است. در این راستا با استفاده از تزریق باکتری *Sporosarcina pasteurii* در یک مرحله و اوره و کلرید کلسیم در مرحله بعد (تزریق دوفازی) به‌عنوان مواد مغذی در ستون خاک به تثبیت خاک پرداخته و مقاومت فشاری محدود نشده نمونه‌ها بررسی شد. در این پژوهش از روش تاگوچی جهت طراحی آزمایش‌ها و تحلیل داده‌ها استفاده گردید. فعالیت باکتری باعث رسوب کربنات کلسیم در نمونه‌های خاک شد به‌طوری‌که پس از ۲۱ روز، مقاومت فشاری تک محوری خاک از مقدار ۸۵ کیلو پاسکال در نمونهٔ شاهد به ۹۳۰ کیلو پاسکال در حالت بهینه افزایش یافت.

کلمات کلیدی: بهسازی زیستی خاک، بیوگروت، رسوب میکروبی کربنات کلسیم، آزمایش مقاومت فشاری تک‌محوره

۱. دانشکده مهندسی عمران، مجتمع عالی آموزشی و پژوهشی صنعت آب و برق اصفهان

۲. دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه آزاد نجف‌آباد

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی msadeghi@ieht.ac.ir

مقدمه

بیش از ۴۰۰۰۰ پروژه بهبود خاک به‌روش صنعتی با هزینه‌ای بالغبر ۶ میلیارد دلار در سال در ایالات‌متحده آمریکا انجام می‌شود و با توجه به نیازهای روزافزون برای بهبود خاک در زیرساخت‌های جدید و پشتیبانی از زیرساخت‌های قدیمی، خاک‌های بیشتری باید تثبیت شوند (۱). یک رویکرد معمول برای رفع این نیاز، تزریق مواد ساخت دست بشر، مانند میکرو ذرات چسباننده، اپوکسی‌ها، آکریلامیدها، فنوپلاست‌ها، سیلیکات‌ها و پلی‌اورتان‌ها به فضای منافذ بین ذرات خاک برای اتصال آنها است (۲۵). اکثر این روش‌ها نیاز به انرژی قابل‌توجهی برای تولید مواد، نصب و راه‌اندازی و درنهایت اجرا پروژه دارند (۲). این روش‌ها باعث ایجاد نگرانی‌های زیست محیطی شده است و به‌طور فزاینده‌ای مورد توجه افکار عمومی قرارگرفته است. تمام مواد شیمیایی تزریقی به‌جز سیلیکات سدیم سمی و خطرناک هستند. در سال ۱۹۷۴، دوغاب آکریل آمید با پنج مورد مسمومیت آب در ژاپن همراه بود و باعث محدودیت بیشتر جهت استفاده از مواد شیمیایی تزریقی در این کشور شد. در ایالات‌متحده آمریکا نیز براساس قوانین نظارتی همهٔ مواد تزریقی به‌جز سیلیکات سدیم، سمی و خطرناک محسوب می‌شود. عواملی ازاین‌دست باعث گردیده در برخی از کشورها پیشنهاد منع استفاده از کلیهٔ مواد مصنوعی ساخت بشر برای تزریق و تثبیت مطرح گردد (۱۱).

به‌تازگی روشی جدید و بین‌رشته‌ای از پیوند بیوتکنولوژی و مهندسی عمران جهت بهسازی خاک پدید آمده است که بهسازی زیستی خاک نام‌گرفته است. یک سیستم بهسازی زیستی خاک به‌طورکلی به شبکه‌ای از واکنش‌های شیمیایی اشاره دارد که توسط فعالیت‌های بیولوژیکی مدیریت و کنترل می‌شود و محصولات جانبی تولید شده در این سیستم، پارامترهای مهندسی خاک را تغییر می‌دهد.

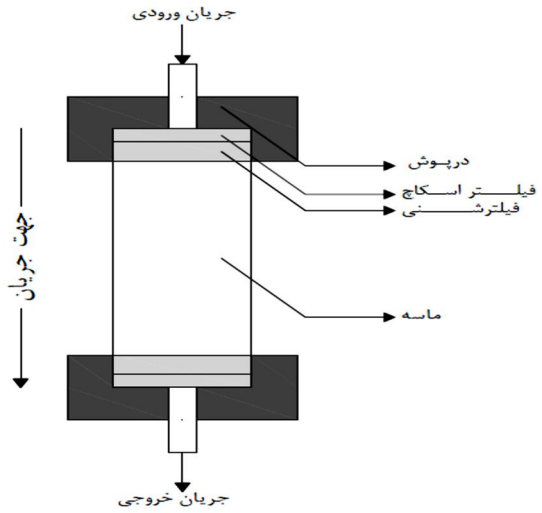
دو روش برای استفاده از باکتری‌ها جهت بهسازی خاک وجود دارد: روش اول بر پایهٔ تحریک بیولوژیکی باکتری‌ها است که با اضافه کردن مواد مغذی موردنیاز، باکتری‌های رسوب زا فعال می‌شوند. در این روش، کشت و رشد باکتری در داخل خاک صورت می‌گیرد. روش دوم بر پایهٔ افزایش باکتری‌ها است که در این روش، باکتری‌های رسوب زا به‌طور مستقیم به خاک اضافه می‌شوند. کلیهٔ مراحل کشت و رشد میکروب در این روش در آزمایشگاه و با استفاده از راکتورهای مخصوص صورت می‌گیرد (۴).

فعالیت‌های بیولوژیکی ابزاری را برای کنترل و مدیریت زمان‌بندی، سرعت و توزیع فضایی شبکه واکنش‌های شیمیایی فراهم می‌آورند که باعث تولید محصولات جانبی مؤثر در بهبود خاک می‌شود. استفاده از میکروب‌ها برای کنترل و مدیریت فرآیندهای شیمیایی با توجه به حضور فراگیر آنها در زیر سطوح و هزاران سالی که فعال بوده‌اند، جلب‌توجه می‌کند. بیش از 10^9 سلول در هر گرم خاک در عمق یک متری از سطح زمین موجود است و تراکم آنها عموماً با افزایش عمق کاهش می‌یابد. در عمق ۳۰ متری که پایین‌ترین عمق برای اکثر کاربردهای مهندسی است تراکم میکروب‌ها در حدود 10^6 سلول در هر گرم خاک است. تعداد میکروب‌هایی که می‌توان برای بهسازی زیستی خاک استفاده کرد بسیار زیاد است اگرچه به‌طور مجزا اندازهٔ آنها بسیار کوچک است (۲۴) .

بیوگروت یک روش بهسازی خاک بر اساس رسوب میکروبی کربنات کلسیم است. نوعی از باکتری که قادر به تبدیل اوره به یون کربنات و یون آمونیوم هست در خاک تزریق می‌شود، سپس یک محلول حاوی اوره و کلرید کلسیم تزریق می‌شود که موجب تولید کربنات می‌شود. کربنات تولیدشده در ترکیب با کلسیم رسوب می‌کند. فرمول زیر، واکنشی که در خاک انجام می‌شود را نشان می‌دهد:

$$CO(NH_2)_2 + CaCl_2 + 2H_2O \rightarrow 2NH_4Cl + CaCO_3\ (s) \quad [1]$$

از مزایای بیوگروت نسبت به تزریق مواد شیمیایی این است که بیوگروت سمی نیست درحالی‌که بسیاری از مواد شیمیایی، به‌خصوص آنهایی که بر اساس آکریلامیدها و پلی‌اورتان‌ها تهیه می‌شوند، سمی هستند و برای محیط زیست مضر می‌باشند. از مزایای دیگر بیوگروت نسبت به تزریق مواد شیمیایی این است



شکل ۱. نمایی از ستون ۱۶ سانتی‌متری تزریق‌شده

که هزینه مواد مصرفی پایین‌تر است. هزینهٔ ارزیابی‌شده برای مواد اولیه در تزریق مواد شیمیایی در آمریکا در محدوده ۲ دلار تا ۷۲ دلار در هر مترمکعب خاک است. تزریق مواد شیمیایی، به‌خصوص آنهایی که بر اساس آکریلامیدها و پلی‌اورتان‌ها هستند، بسیار گران است درحالی‌که هزینهٔ مواد مصرفی برای روش بیوگروت می‌تواند در محدودهٔ ۰/۵ دلار تا ۰/۹ دلار در هر مترمکعب خاک باشد (۱۰) .

استفاده از بیوگروتینگ از سال ۲۰۰۴ با آزمایش روی یک استوانه به ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر آغاز شد. در شکل (۱) روش تزریق نشان داده شده است (۲۲). ویفین و همکارانش به بررسی پارامترهای مختلف خاک پس از بهسازی زیستی در یک ستون ۵ متری خاک ازجمله مقاومت، نفوذپذیری و ... پرداختند(۲۳). ایوانو و چو در سال ۲۰۰۸ به بررسی راه‌کارهای اجرایی برای استفاده از این روش پرداختند (۱۰). در سال ۲۰۱۰ ون پسن و همکارانش به بررسی اثر قدرت یونی برای جلوگیری از شسته شدن و درنتیجه خروج باکتری‌ها از خاک حین تزریق پرداختند (۹). در سال ۲۰۱۰ ون پسن و همکارانش به افزایش مقیاس این روش پرداختند و خاکی به حجم یک مترمکعب و در ادامه خاکی به حجم ۱۰۰ مترمکعب را تثبیت کردند (۲۱). در سال ۲۰۱۱ دی یانگ و همکارانش به بررسی اثر شرایط محیطی بر روند رسوب بیولوژیکی کربنات کلسیم پرداختند (۵). در سال ۲۰۱۵ گورباز و همکارانش رسوب بیولوژیکی کربنات کلسیم تحت شرایط استریل و غیراستریل بررسی را کردند (۸).

مدرس‌نیا برای نخستین بار در ایران مطالعه موردی را با هدف ارزیابی رسوب بیولوژیکی کربنات کلسیم بر ماسه‌های روان و پارامترهای مقاومتی خاک‌های ماسه‌ای انجام داد. در این پژوهش روش اختلاطی استفاده شد (۱۳).

مواد و روش‌ها

خاک مورد استفاده

خاک مورداستفاده در این پژوهش، یک نمونه ماسه با دانه‌بندی یکنواخت به رنگ قهوه‌ای روشن هست. از ویژگی بارز این نوع خاک، داشتن درصد بالای سیلیس و همچنین سیلتی بودن و عدم چسبندگی در بین دانه‌های خاک می‌باشد. این ماسه از معدن چیروک واقع در شهرستان طبس تهیه شده است. با توجه به ماهیت سنگ سیلیس معدن چیروک، دانه‌های ماسه کاملاً کروی شکل بوده و بدون شکستگی و لبه‌های تیز هستند. با توجه به این‌که خاک‌های با دانه‌بندی یکنواخت به‌علت خالی بودن فضای بین دانه‌ها تخلخل بالائی دارند مشکلاتی چون

شکل ۲. نمودار دانه‌بندی خاک مورد استفاده

جدول ۱. محاسبهٔ ضرایب خمیدگی و یکنواختی

D_{10}	D_{30}	D_{60}	C_U	C_C
۰/۱۳	۰/۳	۰/۳۵	۲/۶۹	۱/۹۸

جدول ۲. مشخصات محیط‌های کشت

محیط کشت	مقادیر مورد استفاده (گرم در لیتر)
محیط کشت پپتون و کلرید آمونیوم	Peptone (۲۰ gr/L), NH_4Cl (۱۰ gr/L)

نفوذپذیری زیاد، وزن مخصوص پایین و پتانسیل نشست زیادی دارند. از اینرو این خاک، به‌عنوان خاکی که نیاز به تقویت دارد انتخاب شده است.

آزمایش دانه‌بندی طبق استاندارد ASTM D۴۲۲ انجام گرفت که در شکل (۲) نمودار دانه‌بندی نشان داده شده است. طبق استاندارد ASTM D۲۴۸۷ و اطلاعات موجود در جدول (۱)، خاک موردنظر در طبقه‌بندی یونیفاید، ماسه بد دانه‌بندی شده یا SP می‌باشد.

میکروارگانیسم مورداستفاده

میکروارگانیسم مورد استفاده در این پژوهش دارای نام علمی *Sporosarcina pasteurii* بوده که یک باکتری خاکزی آلکالوفیل یا قلیادوست با فعالیت اوره آزی بسیار بالاست و با شماره PTCC ۱۶۴۲ DSM(۳۳) در بانک قارچ و باکتری ایران، به‌صورت لیوفیلیزه (پودری) عرضه می‌شود و لازم است جهت اجرای پژوهش فعال شود. مطابق دستورالعمل ارائه‌شده روی جعبه، پودر در محیط آبگوشت مغذی کشت داده شد. سپس باکتری فعال شده به محیط کشت TSA (محیط کشت جامد) منتقل شد و در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس در یخچال آزمایشگاه قرار داده شد.

محیط کشت مورد استفاده

یک نوع محیط کشت برای رشد باکتری در این پژوهش مورداستفاده قرار گرفت که در جدول (۲) خصوصیات آنها ارائه‌شده است.

روش تحقیق

برای رشد باکتری دو مرحله کار اجرا شد:

الف) رشد در فاز جامد

ب) رشد در فاز مایع.

برای رشد در فاز جامد از محیط TSA استفاده شد. در مرحلهٔ بعد باید باکتری از فاز جامد به فاز مایع منتقل می‌شد تا باکتری آمادهٔ تزریق شود. به این منظور باکتری در شرایط کشت بسته و در محیط پپتون رشد داده شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ باکتری‌ها متراکم شدند و بیومس حاصل در محلول ۹ گرم بر لیتر کلرید کلسیم ریخته شد و با استفاده از دستگاه نورسنجی غلظت باکتری در طول موج ۶۰۰ نانومتر روی مقدار مشخص در طرح آزمایش تنظیم گردید. پس از این مرحله، باکتری‌ها داخل بشری ریخته شدند و در بشر با پنبه و فویل محکم بسته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد تا در مرحله آخر، باکتری‌ها داخل خاک تزریق شوند.

برای آماده‌سازی نمونه‌های خاک برای تزریق، ابتدا بایستی قالب نمونه‌ها ساخته شود. به این منظور از لوله‌ای از جنس PVC با قطر ۴ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۴ سانتی‌متر استفاده می‌شود که از کنار با اره به دونیم تقسیم می‌گردد تا پس از اتمام مرحله تزریق نمونه خاک به‌صورت استوانه‌ای جهت آزمایش مقاومت فشاری تک‌محوری خارج گردد. همچنین فومی با ضخامت ۳ سانتی‌متر و نیز اسکاچ مورد نیاز است که فوم را با قطر ۴/۵ سانتی‌متر و اسکاچ را با قطر ۴ سانتی‌متر به‌صورت دایره‌ای برش می‌دهیم. فوم و اسکاچ را انتهای لوله قرار داده، لوله را با ۳ بست فلزی محکم می‌نماییم. در ادامه یک تلق پلاستیکی داخل لوله قرار می‌دهیم تا از چسبیدن لایه خارجی خاک به بدنه داخلی قالب جلوگیری شود، سپس مقدار ۲۱۰ گرم خاک را درحالی‌که قالب پیوسته تکان داده می‌شود در ۳ مرحله داخل آن می‌ریزیم. پس از پرکردن قالب، در آن مانند انتهای قالب به‌وسیله فوم و اسکاچ مسدود می‌شود. در انتها، با چسب آکواریوم تمام درزهای موجود در بدنه و دو انتهای قالب کاملاً پوشیده می‌گردد. سپس آب مقطر، محلول اوره و کلرید کلسیم با مولاریتهٔ مشخص (برحسب طرح آزمایش) و سوسپانسیون باکتری با غلظت مشخص (برحسب طرح آزمایش) به نمونه‌ها تزریق شد. بعد از تزریق، نمونه‌ها جهت واکنش داخل قالب رها شدند، سپس از قالب خارج شدند و طبق تعداد روز مشخص در طرح آزمایش، تحت آزمایش مقاومت فشاری محدود نشده قرار گرفتند. آزمایش تک محوری براساس استاندارد ASTM D۲۱۶۶ باعنوان مقاومت فشاری محدودشدهٔ خاک‌ها صورت گرفته است. این آزمایش به‌روش کنترل کرنش اجرا شد. لازم به‌ذکر است که قبل از آزمایش مقاومت فشاری، دو انتهای نمونه تا حد امکان صاف گردید.

برای اجرای این پژوهش از روش تاگوچی جهت طراحی آزمایش به‌همراه دو نرم‌افزار تخصصی در این زمینه به‌نام‌های QualiTech و MiniTab بهره برده شد. این روش توسط دکتر تاگوچی در اوایل جنگ جهانی دوم به‌منظور توسعهٔ روش‌های جدید در بهینه‌سازی فرآیند آزمایش‌های مهندسی در کشور ژاپن ابداع شد. به‌این‌منظور ۴ فاکتور غلظت باکتری، نسبت مولاریته مواد مغذی، مدت‌زمان تیمار کردن و نرخ تزریق با ۳ سطح تغییرات روی یک نوع خاک موردبررسی قرار گرفت. با نگاه به جدول تاگوچی مشاهده می‌شود که ماتریس ارتوگونال مناسب براساس تعداد عوامل و سطح موردنظر L۹ است (۱۷). آزمایش‌ها با ۳ تکرار و درمجموع ۲۷ آزمایش صورت گرفت. در جدول (۳) فاکتورها و سطوح در نظر گرفته‌شده در روش تاگوچی نشان داده شده است.

نتایج

به‌منظور افزایش دقت پژوهش، آزمایش‌ها ۳ تکرار اجرا شدند که میانگین حاصل از نتایج آزمایش‌ها به‌همراه خطای استاندارد میانگین در شکل (۳) نشان داده‌شده است.

در جدول (۴) حالات طراحی آزمایش تاگوچی با ۴ فاکتور و ۳ سطح ارائه‌شده است.

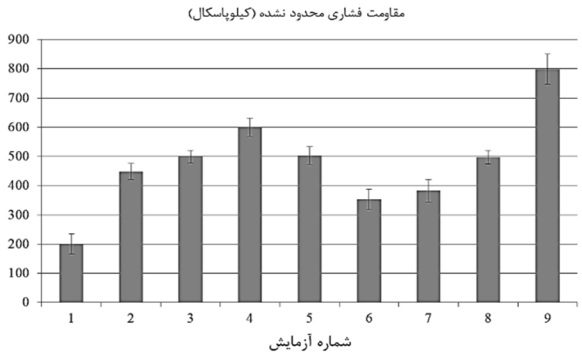
بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزارهای مذکور، میزان تأثیر هریک از فاکتورها در این آزمایش تعیین گردید. لازم به‌ذکر است که قبل از اجرای آنالیز واریانس، مقاومت نمونه شاهد یعنی ۸۵ کیلو پاسکال از

جدول ۳. فاکتورها و سطوح در نظر گرفته‌شده در روش تاگوچی

فاکتورها	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳
۶۰۰OD	۱/۵	۲/۵	۴
$(M)_2$Urea/CaCl	۱/۵–۰/۷۵	۱/۵–۱/۵	۳–۱/۵
Curing Time(day)	۱۴	۲۱	۲۸
Flow Rate(ml/min)	۶۰	ml/min۳۰	ml/min۲۰

جدول (۴). حالات آزمایش‌های طراحی‌شده در روش تاگوچی

شماره آزمایش	فاکتورها			
	۶۰۰OD	$(M)_2$Urea/CaCl	Curing Time(Day)	Flow Rate(ml/min)
۱	۱/۵	۱/۵–۰/۷۵	۱۴	۶۰
۲	۱/۵	۱/۵–۱/۵	۲۱	۳۰
۳	۱/۵	۳–۱/۵	۲۸	۲۰
۴	۲/۵	۱/۵–۰/۷۵	۲۱	۲۰
۵	۲/۵	۱/۵–۱/۵	۲۸	۶۰
۶	۲/۵	۳–۱/۵	۱۴	۳۰
۷	۴	۱/۵–۰/۷۵	۲۸	۳۰
۸	۴	۱/۵–۱/۵	۱۴	۲۰
۹	۴	۳–۱/۵	۲۱	۶۰



شکل ۳. میانگین حاصل از نتایج آزمایش‌ها به‌همراه خطای استاندارد میانگین

تمام نتایج کاسته شد. نتایج آنالیز واریانس در جدول (۵) نشان داده‌شده است.

در روش تاگوچی، از متغیری به‌نام SN جهت مقایسه اثر یک فاکتور در سطوح مختلف استفاده می‌شود که به‌صورت زیر تعریف می‌گردد. SN پراکندگی حول یک نقطهٔ معین را بیان می‌کند و هر چه این مقدار بیشتر باشد پراکندگی کمتر خواهد بود.

جدول ۵. مقادیر پارامترهای مختلف به‌دست آمده از آنالیز واریانس (ANOVA)

Factors	DOF	Sums Of Squares	Variance	F-Ratio	Pure Sum	Perecent
۶۰۰OD	۲	۲۰/۴۷۰	۱۰/۲۳۵	۰/۰	۲۰/۴۷۰	۲۲/۰۱۰
۲CaCl/Urea	۲	۱۸/۵۸۰	۹/۲۹۰	۰/۰	۱۸/۵۸۰	۱۹/۹۷۸
Curing Time	۲	۴۲/۷۴۹	۲۱/۳۷۴	۰/۰	۴۲/۷۴۹	۴۵/۹۶۵
Flow Rate	۲	۱۱/۱۹۹	۵/۵۹۹	۰/۰	۱۱/۱۹۹	۱۲/۰۴۱
Other/Error	۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰			۰/۰۰۰
Total:	۸	۹۳/۰۰۴				۱۰۰/۰۰۰٪

جدول ۶. مقادیر SN

شماره آزمایش	SN	شماره آزمایش	SN
۱	۴۵/۷۸۳	۶	۵۰/۸۷۱
۲	۵۲/۹۹۳	۷	۵۱/۵۶۵
۳	۵۳/۹۵۷	۸	۵۳/۹۱۴
۴	۵۵/۵۳۸	۹	۵۸/۱۴
۵	۵۴/۰۰۴		

جدول ۷. مقادیر SN برای هر فاکتور در هر سطح در روش تاگوچی

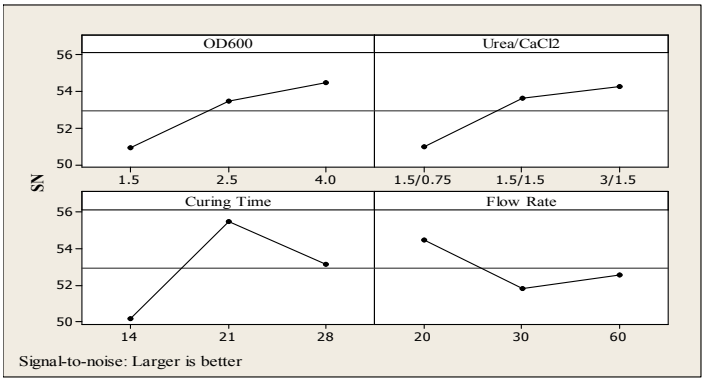
فاکتورها	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳
۶۰۰OD	۵۰/۹۱۱	۵۳/۴۷۱	۵۴/۴۹۷
۲Urea/CaCl	۵۰/۹۶۲	۵۳/۶۳۷	۵۴/۲۸۰
Curing Time	۵۰/۱۸۹	۵۵/۵۱۴	۵۳/۱۷۵
Flow Rate	۵۲/۶۰۰	۵۱/۸۰۹	۵۴/۴۷۰

$$SN = -۱۰\log(\frac{۱}{n}\sum_{i=۱}^{n}\frac{۱}{y_i^۲}) \quad [۲]$$

SN نتایج حاصل در جدول (۶) ارائه‌شده است.

با استفاده از مقادیر به‌دست آمده در جدول (۶)، مقدار SN برای هر فاکتور در هر سطح تعیین می‌گردد که نتایج حاصل در جدول (۷) ارائه شده است.

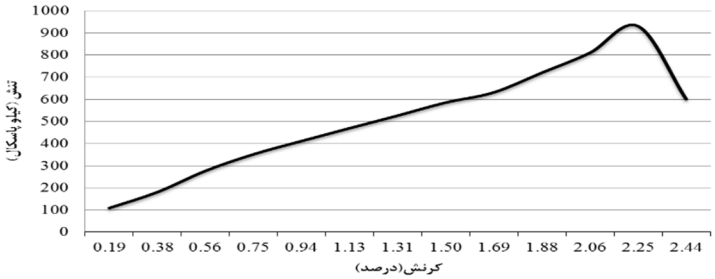
در شکل (۴) نمودارهای تأثیر فاکتورها بر مبنای سطوح تعریفی و SN نشان داده شده است. همان‌طور که در فاکتور OD۶۰۰ مشاهده می‌شود، سطح ۳ یعنی غلظت باکتری برابر ۴، بیشترین تأثیر و سطح ۱ یعنی غلظت باکتری برابر ۰/۷۵، کمترین تأثیر را در مقدار مقاومت محدود نشدهٔ خاک دارد. در فاکتور $Urea/CaCl_۲$، سطح ۳ یعنی نسبت مواد غذایی ۳ مولار برای



شکل ۴. نمودارهای تأثیر فاکتورها بر مبنای سطوح تعریفی و SN

جدول ۸. حالتی که بیشترین مقاومت خاک حاصل می‌شود

Factors	Level Desc.	Level	Contribution
۶۰۰OD	۴	۳	۱/۵۳۷
$_{۲}$CaCl/Urea	۳-۱/۵	۳	۱/۳۲۰
Curing Time	۲۱	۲	۲/۵۵۴
Flow Rate	۲۰	۳	۱/۵۱۰



شکل ۵. نمودار تنش- کرنش به‌دست آمده از حالت بهینه

اوره و ۱/۵ مولار برای کلرید کلسیم، بیشترین تأثیر و سطح ۱ یعنی نسبت مواد غذایی ۱/۵ مولار برای اوره و ۰/۷۵ مولار برای کلرید کلسیم، کمترین تأثیر را در مقدار مقاومت محدود نشدهٔ خاک دارد. در فاکتور Curing Time، سطح ۲ یعنی مدت زمان تیمار ۲۱ روز، بیشترین تأثیر و سطح ۱ یعنی مدت زمان تیمار ۱۴ روز، کمترین تأثیر را در مقدار مقاومت محدود نشدهٔ خاک دارد. در فاکتور Flow Rate، نرخ تزریق ۲۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، بیشترین تأثیر و نرخ تزریق ۳۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، کمترین تأثیر را در مقدار مقاومت محدودنشدهٔ خاک دارد.

براین‌اساس حالت بهینهٔ فاکتورها در آزمایش که منجر به بیشترین مقاومت خاک می‌شود، محاسبه گردید. نتایج حاصل در جدول (۸) نشان داده‌شده است.

بر اساس آزمایش صورت گرفته به‌صورت تک محوره، نمودار تنش- کرنش به‌دست آمده از حالت بهینه در قالب شکل (۵) ارائه‌شده است. در نقطه اوج، مقدار مقاومت به ۹۳۰ کیلو پاسکال رسید.

بحث

اگر در روش رسوب بیولوژیکی کربنات کلسیم باکتری‌ها به‌صورت فعال (در سطح بالا)، آنزیم اوره آز را به‌صورت دائمی

داخل سلول بسازند یا این‌که بتوان این آنزیم را به‌طور مؤثری در سلول القا کرد بسیار مطلوب خواهد بود. همچنین میکروارگانیسم‌هایی که در این روش استفاده می‌شوند می‌بایست تحمل محیطی با غلظت بالای اوره و کلسیم را داشته باشند. آن دسته از میکروب‌هایی که فعالیت اوره آزی آنها با یون‌های آمونیوم محدود نمی‌شود برای محیط‌های غنی از اوره مناسب هستند. به‌علاوه، با توجه به مسائل زیست‌محیطی، سویه‌های باکتری مورد استفاده نباید پاتوژن باشند (۶، ۲۱). باکتری *Sporosarcina pasteurii* که در این پژوهش مورداستفاده قرار گرفت قابلیت برآوردن الزامات مذکور را دارد.

چالش ذاتی انتخاب خاک برای اجرای رسوب بیولوژیکی کربنات کلسیم با اندازهٔ میکروب‌ها مرتبط است (سلول باکتری مورداستفاده دارای قطر یک میکرون است). سلول‌های باکتری می‌بایست از بین منافذ خاک عبور کنند در نتیجه ذرات خاک نباید آنقدر کوچک باشند که عبور سلول‌ها با مشکل مواجه شود و نباید آنقدر بزرگ باشند که از تشکیل همگن کلسیت در خاک جلوگیری کنند (۱۴). با توجه به محدودیت‌های مذکور، یک خاک SP برای استفاده در این پژوهش انتخاب گردید.

پژوهش حاضر، پارامترهای مختلف تأثیرگذار روی روش رسوب بیولوژیکی کربنات کلسیم را مورد بررسی قرار داده است و مقادیر بهینهٔ هر پارامتر را با روش تاگوچی تعیین کرده است. در این روش به‌شدت توصیه شده است که وقتی تکرار در نتایج وجود دارد از آنالیز SN استفاده شود اگرچه می‌توان از آنالیز میانگین نیز استفاده کرد. نسبت SN می‌تواند معیاری برای مقایسهٔ هر نوع عملکردی در هر تعداد باشد. فارغ از اینکه کدام‌یک از روش‌های کنترل کیفیت برای آنالیز نتایج استفاده شود، هرچه نسبت SN بیشتر باشد مطلوب‌تر است (۱۶).

با توجه به نمودارهای اثر اصلی، می‌بایست تأثیر مثبت افزایش غلظت باکتری و نسبت مولاریته مواد مغذی روی نتایج مقاومت فشاری محدود نشده مورد توجه قرار گیرد. وقتی تعداد سلول‌های باکتری در محیط خاک کم شود احتمال واکنش بین مواد شرکت‌کننده به‌تبع آن کاهش می‌یابد (۵). نکته‌ای که در این میان جلب توجه می‌کند نزدیکی درصد توزیع این دو پارامتر در تحلیل واریانسی است که به این معنی است که تعداد سلول‌های باکتری متناسب با مقدار مادهٔ ورودی برای واکنش است. فیشر و همکاران در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که نرخ تولید آمونیوم و درنتیجه رسوب کلسیت با تعداد سلول‌های باکتری و آنزیم خارج سلولی متناسب است (۱۹)؛ به‌عبارت‌دیگر، افزایش نسبت مولاریته مواد مغذی منجر به افزایش pH حول سلول‌های باکتری می‌شود زیرا تعداد مولکول‌های اوره افزایش می‌یابد درنتیجه یک لایهٔ ضخیم کلسیت حول ذرهٔ خاک تشکیل می‌شود. از طرف دیگر، کاهش مقدار اوره و کلسیم باعث کاهش رسوب کلسیت و در نتیجه کاهش مقدار مقاومت فشاری محدود نشدهٔ خاک می‌شود. سومانی و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که شرط لازم برای افزایش اندازهٔ متوسط کریستال‌های تشکیل شده، افزایش یون کربنات است که به این معنی است که وجود مقدار مناسب اوره برای تجزیه می‌تواند تمایل به رسوب بیشتر بر روی کریستال‌های موجود را افزایش دهد (۱۸).

افزایش مدت زمان تیمار به مواد شرکت کننده در واکنش زمان کافی جهت واکنش را می‌دهد که منجر به توزیع یکنواخت کلسیت در ستون خاک می‌شود. وقتی سلول‌های باکتری در طول ستون حاضر باشند و زمان متوسط واکنش مواد به‌اندازه کافی باشد، توزیع یکنواخت کلسیت قابل‌دسترس است (۹). نسبت SN به‌دست آمده بعد از ۲۱ روز افزایش نیافته است که به این صورت می‌تواند تفسیر شود که افزایش مقاومت خاک تثبیت شده بعد از یک دورهٔ زمانی مشخص افزایش نمی‌یابد که می‌تواند به نوعی شبیه رفتار سیمان پرتلند معمولی باشد. این رفتار می‌تواند به کاهش فعالیت باکتریایی بعد از یک مدت زمان مشخص نسبت داده شود. ربتا در سال ۲۰۰۷ نشان داد که رسوب کلسیت به‌علت کاهش فعالیت باکتریایی بعد از یک دورهٔ زمانی بین ۱۶ تا ۳۲ روز کاهش می‌یابد (۱۵). ون پسن در سال ۲۰۰۹ بیان کرد که فعالیت باکتریایی پس از ۲۰ روز به ۵ میلی مول اوره در ساعت کاهش می‌یابد که ممکن است به‌علت

به دام افتادن سلول‌های باکتری داخل رسوبات کلسیت باشد (۲۰).

چندین پژوهش نشان داده‌اند که کاهش نرخ تزریق باعث افزایش نرخ واکنش و یکنواختی کلسیت رسوبی که منجر به افزایش مقاومت فشاری محدود نشده می‌شود. البته توضیحی منطقی برای کاهش نسبت SN به‌دست آمده بین نرخ تزریق ۶۰ و ۳۰ میلی‌لیتر در دقیقه وجود ندارد مگر این‌که ممکن است به‌علت خطای آزمایشگاهی یا دقت دستگاه‌های مورد استفاده این موضوع رخ داده باشد. از آنجایی‌که بیشترین مقاومت در نرخ تزریق ۲۰ میلی‌لیتر در دقیقه به‌دست آمده است و از طرف دیگر، درصد توزیع این پارامتر در تحلیل واریانسی در بین دیگر پارامترها کمترین است، این نتیجه توجیه پذیر است. باید توجه شود که وجود چندین پارامتر در یک آزمایش ممکن است روی رفتار دیگر پارامترهای موجود در آزمایش به‌علت برهم‌کنش پارامترها تأثیرگذار باشد مثل تأثیر روی روند اثرات یک فاکتور(۱۶). لازم به‌ذکر است که در چندین پژوهش از نرخ تزریق کمتر از پژوهش حاضر استفاده‌شده است اما نزدیک‌ترین نرخ تزریق توسط مارتینز و همکاران در سال ۲۰۱۳ استفاده شده است (۱۲).

مقاومت نمونه‌های خاک می‌تواند به یکنواختی رسوب کلسیت در طول ستون خاک نسبت داده شود زیرا در مورد رسوب غیریکنواخت، نمونهٔ خاک تحت بارگذاری در نقطه‌ای می‌شکند که کلسیت کمتری در آنجا وجود دارد البته به شرطی که خاک کاملاً غیرچسبنده باشد. نشان داده شده است که الگوی تزریق مقطع (غیرپیوسته) می‌تواند منجر به رسوب یکنواخت کلسیت شود و از تجمع کریستال‌های کلسیت در یک نقطه و گرفتگی ستون تزریق در نزدیکی نقطهٔ تزریق جلوگیری کند (۱۲).

آزمون مقاومت فشاری محدوده نشده یک آزمون مقاومت برشی مشهور است. آزمون مقاومت فشاری محدوده نشده دارای این مزیت است که سطح شکست تمایل دارد در ضعیف‌ترین بخش از خاک چسبنده توسعه یابد (۳). در روش تزریق نفوذی که سدیم سیلیکات به داخل تزریق می‌شود به مقاومت فشاری محدوده نشده بین ۰/۳۴۵ تا ۲۷۰۰ کیلو پاسکال می‌توان دست یافت هرچند نمی‌توان مقاومتی بیش از ۶۹۰ کیلو پاسکال را در محل پروژه در طول زمان برای آن متصور بود. درروش تزریق جت مخلوط خاک و مادهٔ تزریقی می‌تواند به مقاومت فشاری محدوده نشده ۱۷۰ کیلو پاسکال بعد از ۲۱ روز دست یابد. درروش اختلاطی رسیدن به مقاومت فشاری محدوده نشده بین ۶۹۰ تا ۳۴۵۰ کیلو پاسکال دور از دسترس نیست (۷).

نتیجه‌گیری

استفاده از روش تاگوچی در طراحی آزمایش‌ها، صرفه‌جویی در وقت و هزینه را در پی داشته است. با تعداد ۴ فاکتور و ۳ سطح و ۳ تکرار برای هر آزمایش، درروش فاکتوریل کامل درمجموع می‌بایست ۳×۳^{۴} معادل ۲۴۳ آزمایش اجرا می‌شد که در روش تاگوچی معادل ۲۷ آزمایش است. امکان پیش‌بینی نتایج در روش تاگوچی، این امکان را می‌دهد که با اجرای ۲۷ آزمایش، نتایج مربوط به ۲۴۳ آزمایش مرتبط با روش فاکتوریل کامل را با دقت بالایی تخمین زد. مدت زمان تیمار کردن خاک تأثیر به سزایی در نتایج مقاومت فشاری محدود نشدهٔ خاک دارد، به‌طوری‌که در تحلیل واریانسی میزان تأثیر این فاکتور نسبت به فاکتورهای دیگر ۴۶٪ برآورد شده است.

غلظت باکتری پس از فاکتور مدت‌زمان تیمار کردن خاک، مهم‌ترین فاکتور تأثیرگذار بر نتایج مقاومت فشاری محدود نشدهٔ خاک می‌باشد. در تحلیل واریانسی میزان تأثیر این فاکتور نسبت به فاکتورهای دیگر ۲۲٪ برآورد شده است. نسبت مولاریته مواد مغذی پس از فاکتور غلظت باکتری، تأثیرگذارترین فاکتور در نتایج مقاومت فشاری محدودنشدهٔ خاک می‌باشد، به‌طوری‌که در تحلیل واریانسی میزان تأثیر این فاکتور نسبت فاکتورهای دیگر ۲۰٪ برآورد شده است. نرخ تزریق پس از فاکتور نسبت مولاریته مواد مغذی، آخرین فاکتور تأثیرگذار بر نتایج مقاومت فشاری محدودنشدهٔ خاک می‌باشد. در تحلیل واریانسی میزان تأثیر این فاکتور نسبت به فاکتورهای دیگر ۱۲٪ برآورد شده

است. مدت‌زمان بهینهٔ تیمار در این پژوهش ۲۱ روز به‌دست آمد. غلظت باکتری بهینه در این پژوهش مقدار ۴ به‌دست آمد. نسبت مواد مغذی بهینه در این پژوهش برای اوره، ۳ مولار و برای کلرید کلسیم، ۱/۵ مولار به‌دست آمد. نرخ تزریق بهینه در این پژوهش ۲۰ سی‌سی در دقیقه به‌دست آمد. با ثابت بودن سایر فاکتورها، با افزایش غلظت باکتری، مقاومت فشاری محدود نشدهٔ خاک افزایش می‌یابد. با ثابت بودن سایر فاکتورها، با افزایش نسبت مولاریته مواد مغذی، مقاومت فشاری محدود نشدهٔ خاک افزایش می‌یابد. با ثابت بودن سایر فاکتورها، با کاهش نرخ تزریق، مقاومت فشاری محدودنشدهٔ خاک افزایش می‌یابد. با ثابت بودن سایر فاکتورها، با افزایش مدت زمان تیمار کردن خاک تا ۲۱ روز، مقاومت فشاری محدود نشدهٔ خاک افزایش می‌یابد.

منابع مورد استفاده

1. ASCE. 2006. Report card for America's infrastructure. Downloaded from: www.asce.org/reportcard: 195 pp.
2. Cho, G-C., J. Dodds and J. C. Santamarina. 2006. Particle shape effects on packing density, stiffness, and strength: natural and crushed sands. J. Geotech. Geoenviron Eng. 132: 591-602.
3. Day, R. W. 2010. Foundation engineering handbook: design and construction with the 2009 international building code, 2nd edn. McGraw-Hill, NY.
4. DeJong, J. T., B. M. Mortensen, B. C. Martinez and D. C. Nelson. 2010. Bio-mediated soil improvement. Ecol. Eng. 36: 197-210.
5. DeJong, J. T., K. Soga, S. A. Banwart, W. R. Whalley, T. R. Ginn, D. C. Nelson, B. M. Mortensen, B. C. Martinez and T. Barkouki. 2011. Soil engineering in vivo: harnessing natural biogeochemical systems for sustainable, multi-functional engineering solutions. J. Roy. Soc. Inter. / the Roy. Soc. 8: 1-15.
6. Follmer, C., R. Real-Guerra, G. E. Wasserman, D. Olivera-Severo and C. R. Carlini. 2004. Jackbean, soybean and *Bacillus pasteurii* ureases. Eur. J. Biochem. 271: 1357-1363.
7. Gunaratne, M. 2006. The foundation engineering handbook. CRC/Taylor & Francis, Boca Raton, FL.
8. Gurbuz, A., Y. D. Sari and Z. N. Yuksekdag. 2015. Bacteria Induced Cementation in Sandy Soils. Geomic. J. 32: 853-859.
9. Harkes, M. P., L. A. Van Paassen, J. L. Booster, V. S. Whiffin and M. van Loosdrecht. 2010. Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation for ground reinforcement. Ecol. Eng. 36: 112-117.
10. Ivanov, V. and J. Chu. 2008. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. Rev. in Environ. Sci. and Bio/Tec. 7: 139-153.
11. Karol, R. H. 2003. Chemical grouting and soil stabilization, 3rd edn. M. Dekker, NY.
12. Martinez, B., J. T. DeJong, T. Ginn, B. Montoya, T. Barkouki, C. Hunt, B. Tanyu and D. Major. 2013. Experimental optimization of microbial-Induced carbonate precipitation for soil improvement. J. Geotech. Geoenviron Eng. 139: 587-598.
13. Mirmohammad Sadeghi, M., A. R. Modarresnia and F. Shafiei .2014. Parameters effects evaluation of microbial strengthening of sandy soils in mixing experiments using taguchi methodology. Geomic. J. 32: 453-465.
14. Mitchell, J. K. and J. C. Santamarina. 2005. Biological considerations in geotechnical engineering. J. Geotech. Geoenviron Eng. 131: 1222-1233.
15. Rebata-Landa, V. 2007. Microbial activity in sediments: effects on soil behavior. Phd Thesis, School of Civil and Environmental Engineering, Georgia Tech Institute of Technology.
16. Roy, R. K. 2001. Design of experiments using the taguchi approach: 16 steps to product and process improvement. Wiley, NY.
17. Roy, R. K. 2010. A primer on the taguchi method, 2nd edn. Society of Manufacturing Engineers, Dearborn, MI
18. Somani, R. S., K. S. Patel, A. R. Mehta and R. V. Jasra. 2006. Examination of the polymorphs and particle size of calcium carbonate precipitated using still effluent (i.e., $CaCl_2$ + NaCl solution) of soda ash manufacturing process. Ind. Eng. Chem. Res. 45: 5223-5230.

19. Stocks-Fischer, S., J. K. Galinat, S. S. Bang. 1999. Microbiological precipitation of $CaCO_3$. Soil. Biol. Biochem. 31: 1563-1571.
20. Van Paassen, LA. 2009. Biogrout, ground improvement by microbial induced carbonate precipitation. PhD Thesis, Faculty of Applied Sciences, Department of Biotechnology, Delft University of Technology.
21. Van Paassen, L. A., R. Ghose, T. J. van der Linden, W. R. van der Star and M. C. van Loosdrecht. 2010. Quantifying biomediated ground improvement by ureolysis: large-scale biogrout experiment. J. Geotech. Geoenviron. Eng. 136: 1721-1728.
22. Whiffin, V. S. 2004. Microbial $CaCO_3$ precipitation for the production of biocement. PhD Thesis, School of Biological Sciences and Biotechnology. Murdoch University.
23. Whiffin, V. S., L. A. van Paassen and M.P. Harkes. 2007. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. Geomic. J. 24: 417-423.
24. Whitman, W. B., D. C. Coleman and W. J. Wiebe. 1998. Prokaryotes: the unseen majority. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95 :6578-6583.
25. Xanthakos, P. P., L. W. Abramson and D. A. Bruce. 1994. Ground control and improvement. J. Wiley, NY.

Evaluation of Bio-grouting Method in Strengthening Sandy Soil

M. Mir Mohammad Sadeghi[1*], A. R. Sotoudehfar[2] and E. Mokhtari[2]

(Received: Dec 6-2015 ; Accepted : April 19-2016)

Abstract

Improvement of soils is among the major concerns in civil engineering, therefore a variety of approaches have been employed for different soil types. The annual budget of implementing the projects of this kind in countries clearly implies the importance of the subject. The loose granular soils and sediments have always imposed challenges due to their low strength and bearing capacity. Bio-mediated soil improvement has recently been introduced as a novel link of biotechnology (biotech) and civil engineering for improving the problematic soils, i.e. utilizing some bacteria to precipitate calcite on the soil particles. Bio-grouting is a branch of Bio-mediated soil improvement which is a method based on microbial calcium carbonate precipitation. In this regard, the soil samples were stabilized by injecting the bacterium Sporosarcina pasteurii in the first phase of the process and Urea and Calcium Chloride in the second phase of the process (two-phase injection) as the nutrients into the sandy soil columns and subjected to unconfined compressive strength test. In this research, Taguchi method was utilized for design of experience (DOE). Based on results obtained, the activity of the bacteria caused the precipitation of calcium carbonate in soil samples so that after 21 days, the unconfined compressive strength of the soil increased from 85 kPa in the control sample to 930 kPa at optimum condition.

Keywords: Bio-mediated soil improvement, Bio-grouting, Microbial calcium carbonate precipitation, Unconfined compressive strength test

1. Dept. of Civil Eng., Isfahan Higher Education and Research Institute (IHEARI), Isfahan, Iran.
2. Dept. of Civil Eng., Najafabad Branch, Islamic Azad Univ., Najafabad, Isfahan. Iran.
*: Corresponding Author, Email: msadeghi@ieht.ac.ir