

تأثیر کلسیت زیستی بر برخی ویژگی‌های فیزیکی خاک‌های شنی

معصومه سرمست^۱، محمد هادی فرپور^{۱*}، مهدی سرچشمه پور^۱ و مصطفی کریمیان اقبال^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۵/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۷/۱۲)

چکیده

پرشده‌گی منافذ و اتصال ذرات یک خاک شنی توسط رسوب میکروبی کلسیت در پژوهش حاضر مورد مطالعه قرار گرفت. تأثیر دو گونه باکتری (*Sporosarcina ureae* و *Sporosarcina pasteurii*)، سه غلظت واکنش‌گر (مخلوط اوره و کلرید کلسیم در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ مولار) و شش زمان واکنش (۱۲، ۲۴، ۴۸، ۹۶، ۱۹۲ و ۲۸۸ ساعت) بر میزان هدایت هیدرولیکی اشباع و مقاومت مکانیکی، در یک خاک شنی در قالب آزمایش فاکتوریل مورد بررسی قرار گرفت. نمونه خاک از تپه‌های شنی منطقه جوپار در استان کرمان برداشت شد. مایه تلقیح باکتری‌ها و محلول‌های واکنش‌گر روزانه به ستون‌های خاک اضافه شدند. نتایج نشان داد، استفاده از گونه *S. pasteurii* نسبت به *S. ureae* موجب کاهش بیشتر هدایت هیدرولیکی نمونه‌های تیمار شده (۱۱/۵۷cm/h) نسبت به شاهد (۴۱/۶۱cm/h) گردیده است. افزایش زمان واکنش (از ۱۲ تا ۲۸۸ ساعت) و غلظت واکنش‌گرها (از ۰/۵ تا ۱/۵ مولار) به ترتیب موجب کاهش ۴۹ و ۱۶ درصدی هدایت هیدرولیکی شد. گونه *S. pasteurii* نسبت به *S. ureae* مقاومت نمونه‌های تیمار شده را تا فشار ۲/۶ مگاپاسکال افزایش داد. غلظت واکنش‌گرها و زمان واکنش باعث افزایش معنی‌دار مقاومت خاک شد (به ترتیب ۲/۱۳ و ۴/۱ مگاپاسکال). مطالعات میکرومورفولوژی نشانگر بلورهای کلسیت به صورت پل در بین ذرات خاک و پرکننده خلل و فرج بود.

واژه‌های کلیدی: *Sporosarcina ureae*، *Sporosarcina pasteurii*، سیمانی شدن زیستی، مسدود شدن زیستی، مقاومت خاک، هدایت هیدرولیکی اشباع

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

۲. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: farpoor@uk.ac.ir

مقدمه

اخیراً استفاده از میکروارگانیزم‌ها برای بهبود ویژگی‌های فیزیکی خاک در سراسر جهان مورد توجه قرار گرفته است. مسدود شدن (Bioclogging) و سیمانی شدن (Biocementation) زیستی دو مورد برجسته از کاربرد میکروارگانیزم‌ها به شمار می‌روند (۸). مسدود شدن زیستی، تولید مواد پرکننده منافذ از طریق فرآیندهای میکروبی می‌باشد، که در نتیجه آن تخلخل و هدایت هیدرولیکی خاک کاهش می‌یابد (۸). این روش برای کاهش فرسایش کانال‌های زهکشی، جلوگیری از ریزش سدهای خاکی و خاک ریزها (۸)، کاهش نفوذپذیری محیط‌های متخلخل، کاهش جریان سیال (۱۰) و ترمیم شکاف‌ها در بتن (۹) مورد استفاده قرار گرفته است. سیمانی شدن زیستی شامل تولید مواد متصل کننده ذرات خاک از طریق فرآیندهای میکروبی به صورت درجا می‌باشد که در نتیجه آن مقاومت و سختی خاک افزایش می‌یابد (۸). این روش به منظور جلوگیری از حرکت شن‌های روان، بهمن خاک، کاهش پتانسیل آماس خاک‌های رسی (۸) و ایجاد استخرهای پرورش آبزیان در خاک‌های شنی (۱۵) مورد استفاده قرار گرفته است.

باکتری‌های مولد یون آمونیوم مناسب‌ترین گروه میکروارگانیزم‌ها جهت مسدود شدن و سیمانی شدن زیستی می‌باشند. این گروه از باکتری‌ها در حضور اوره و نمک‌های فلزی محلول مانند کلرید کلسیم، از طریق هیدرولیز آنزیمی اوره (افزایش pH آزاد شدن NH_4^+ ، کربنات و بی‌کربنات) کربنات‌های فلزی نامحلول (کربنات کلسیم) را در محیط ایجاد می‌کنند (۵). هنگامی که این ترکیبات تشکیل می‌شوند با پر کردن منافذ و اتصال ذرات خاک به یکدیگر، ویژگی‌های فیزیکی خاک (هدایت هیدرولیکی و مقاومت مکانیکی) را بهبود می‌بخشند. نتایج مطالعات انجام شده توسط وایفین و همکاران (۱۹) نشان داد که باکتری *Sporosarcina pasteurii* با تولید کربنات کلسیم سبب کاهش تخلخل (۹۰ درصد) می‌شود که این کاهش در حداکثر میزان کربنات کلسیم (1.05 kg/m^3) رخ می‌دهد. استابنیکو و همکاران (۱۵) اثر سیمان زیستی

حاصل از مخلوط نمک کلسیم، اوره و تعلیق باکتریایی را بر نفوذپذیری شن بررسی کرده و نشان دادند که نفوذپذیری شن در اثر تشکیل سله سطحی از 10^{-4} m/s به $1/6 \times 10^{-7} \text{ m/s}$ کاهش می‌یابد. آنها دریافتند سله تشکیل شده از نظر مقدار ضریب شکستگی (۳۵/۹ مگاپاسکال) مشابه با سنگ آهک می‌باشد. کانینگهام و همکاران (۴) نقش رسوب میکروبی کربنات کلسیم را در تغییرات هدایت هیدرولیکی، توسط باکتری *Sporosarcina pasteurii* در ستون‌های شن به ارتفاع ۶۱ و قطر ۲/۵۴ سانتی‌متر مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند معدنی شدن زیستی، تخلخل و هدایت هیدرولیکی محیط‌های متخلخل را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد، به طوری که ۶۶ درصد کاهش در هدایت هیدرولیکی در مدت زمان ۳۶ روز مشاهده شد. کاپارسکی و همکاران (۱۰) با استفاده از میکروارگانیزم‌های مولد اوره‌آز، اوره و نمک‌های محلول کلسیم، فرآیند سیمانی شدن زیستی را در مواد نفوذپذیر مورد مطالعه قرار دادند. آنها دریافتند که میکروارگانیزم‌ها با رسوب‌گذاری کلسیت درون خاک و سنگ موجب افزایش مقاومت فشاری به بیش از ۵ مگاپاسکال می‌شوند. مطالعات وایفین و همکاران (۱۹) روی استحکام خاک توسط باکتری *S. pasteurii* نیز نشان داد ستون‌های دارای کلسیت بیشتر، مقاومت بالاتری (570 kPa) نسبت به نمونه‌های شاهد (167 kPa) دارند.

مطالعات زیادی در مورد تاثیر رسوب میکروبی کربنات کلسیم بر بهبود ویژگی‌های فیزیکی مواد متخلخل انجام شده است. با توجه به مطالعات انجام شده استفاده از باکتری‌های اوره‌آزی جهت افزایش اتصال ذرات در شن‌های روان بسیار مفید است و می‌تواند به عنوان یک روش بیولوژیکی برای تثبیت شن‌های روان در نواحی بیابانی ایران که ۲۰ درصد از مساحت کل کشور را شامل می‌شوند مورد توجه قرار گیرد. بررسی منابع بیانگر کمبود مطالعه در زمینه عوامل موثر در میزان مسدود شدن و سیمانی شدن زیستی در خاک‌های شنی می‌باشد. بنابراین، پژوهش حاضر برای دستیابی به اهداف بررسی کارایی باکتری‌های *Sporosarcina pasteurii* و *Sporosarcina ureae*

دارای فعالیت اوره‌آزی می‌باشند.

محلول‌های مورد استفاده

مایه تلقیح باکتری‌های مورد نظر با استفاده از محیط‌های کشت تریپتیک سوی برات (*S. pasteurii*) و نوترینت برات (*S. ureae*) در دمای 30°C روی شیکر دورانی با 140 دور در دقیقه به مدت 24 ساعت تهیه شد. pH محیط‌های کشت با استفاده از هیدروکسید پتاسیم 1 مولار قبل از اتوکلاو روی 8 تنظیم شد و اوره 2 درصد بعد از انجام اتوکلاو به کمک فیلتر استریل به ترکیب محیط‌های کشت افزوده شد. میزان مایه تلقیح اضافه شده به هر ستون، روزانه 36 میلی‌لیتر بود. در این آزمایش به‌منظور تثبیت باکتری‌های مورد نظر در ستون‌های خاک شنی، از جریان کلرید کلسیم 50 میلی‌مولار استفاده شد. میزان جریان تثبیت کننده برای هر ستون، روزانه 143 میلی‌لیتر بود. محلول‌های $0/5$ ، 1 و $1/5$ مولار اوره و کلرید کلسیم به‌صورت جداگانه تهیه شدند و در نهایت با نسبت‌های مساوی با یکدیگر مخلوط و به‌عنوان جریان سیمانی کننده مورد استفاده قرار گرفتند. میزان جریان سیمانی کننده در هر غلظت برای هر ستون، روزانه 144 میلی‌لیتر (72 میلی‌لیتر کلسیم + 72 میلی‌لیتر اوره) بود.

اعمال تیمارها و انکوباسیون

به‌منظور تیمار کردن خاک‌ها، ابتدا مایه تلقیح باکتری مورد نظر توسط قطره چکان به آرامی به ستون‌های خاک اضافه شد و سپس جریان کلرید کلسیم 50 میلی‌مولار توسط سرم از ستون‌های خاک عبور داده شد. در مرحله آخر، جریان مخلوط اوره و کلرید کلسیم در غلظت‌های $0/5$ ، 1 و $1/5$ مولار به‌صورت یکنواخت توسط سرم به سطح ستون‌های مورد نظر اضافه گردید (19). در طول دوره آزمایش تمامی جریان‌ها روزانه به آرامی و به‌صورت پیوسته به ستون‌های خاک اضافه گردیدند. بعد از تلقیح، ستون‌های خاک در مکان مناسبی از نظر دما ($2 \pm$ ، 28 درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. در فاصله‌های زمانی 12 ، 24 ، 48 ، 96 ، 192 و 288 ساعت از زمان تلقیح، نمونه‌ها از

در مسدود شدن و سیمانی شدن زیستی و بررسی روند تغییر هدایت هیدرولیکی اشباع و مقاومت مکانیکی خاک نسبت به غلظت واکنش‌گرها و زمان واکنش در ستون‌های تیمار شده با دو گونه باکتری فوق به شرح زیر صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل و فاکتورها شامل دو گونه باکتری *Sporosarcina pasteurii* و *Sporosarcina ureae*، سه غلظت $0/5$ ، 1 و $1/5$ مولار واکنش‌گر در شش زمان واکنش 12 ، 24 ، 48 ، 96 ، 192 و 288 ساعت بود که در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

نمونه خاک و ستون‌های مورد آزمایش

نمونه خاک مورد استفاده در این آزمایش از تپه‌های شنی منطقه جوپار در استان کرمان برداشت شد. نمونه خاک مورد مطالعه به ترتیب دارای 7 ، 6 و 87 درصد رس، سیلت و شن بود و از نظر بافت در کلاس شنی قرار گرفت. pH این خاک برابر با $8/38$ و هدایت الکتریکی آن $0/7$ dS/m بود. این خاک هم‌چنین دارای $8/83$ درصد کربنات کلسیم معادل و فاقد گچ بود. میزان هدایت هیدرولیکی اشباع و مقاومت مکانیکی در این خاک به ترتیب $41/61$ cm/h و $0/21$ Mpa بود. میزان 500 گرم خاک استریل شده توسط اتوکلاو درون ستون‌های پلاستیکی با ارتفاع $6/5$ و قطر داخلی $7/7$ سانتی‌متر به‌طور یکنواخت ریخته شد. قبل از انجام آزمایش تمامی ستون‌های حاوی خاک شنی توسط آب مقطر استریل مرطوب شدند.

میکروارگانیزم‌ها

باکتری‌های مورد استفاده از جنس *Sporosarcina* (PTCCi 1645) *S. pasteurii* و *S. ureae* (PTCCi 1642) بودند که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. این باکتری‌ها گرم مثبت، مولد اندوسپور، قادر به رشد در محیط‌های قلیایی و

درون انکوباتور خارج و در شرایط عدم رشد باکتری نگهداری شدند تا آزمایش‌های لازم بر روی آنها صورت پذیرد.

شاخص‌های اندازه‌گیری شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها

میزان هدایت هیدرولیکی اشباع توسط دو روش بار ثابت و بار افتان (۱) اندازه‌گیری شد. جهت تعیین میزان مقاومت مکانیکی نمونه‌های تیمار شده از دو دستگاه نفوذسنج دیجیتال و جک تونی تکنیک ۳۰۰ تنی استفاده شد (۲). جهت مطالعات میکرومورفولوژی، مقاطع نازک از ستون‌های خاک تیمار شده با گونه باکتریایی *S. pasteurii* تهیه شدند (۱۱). در نهایت مقاطع نازک تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ سنگ شناسی (Olympus-BH2)، زیر نور پلاریزه صفحه‌ای و متقاطع مورد مطالعه، تشریح و عکسبرداری قرار گرفتند. در نهایت نتایج حاصل از بررسی‌های آزمایشگاهی با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTAT-C تجزیه واریانس شدند و مقایسه میانگین تیمارها و گروه‌بندی آنها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

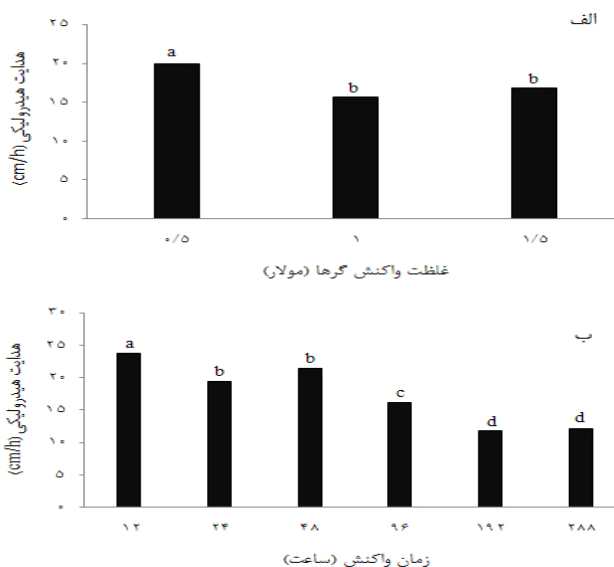
هدایت هیدرولیکی اشباع

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر فاکتورهای اصلی بر میزان هدایت هیدرولیکی خاک شنی در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها نشانگر آن بود که کاهش میزان هدایت هیدرولیکی در گونه *S. pasteurii*، سطوح غلظت ۱ و ۱/۵ مولار و بازه‌های زمانی ۱۹۲ و ۲۸۸ ساعت به‌طور معنی‌داری بیش از گونه *S. ureae*، سطح غلظت ۵/۰ مولار و بازه‌های زمانی ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت می‌باشد.

میانگین هدایت هیدرولیکی در گونه *S. pasteurii* و *S. ureae* به ترتیب ۷۲/۱۹ و ۴۳/۸۵ درصد کاهش را نسبت به نمونه خاک اصلی نشان داد. دلیل این کاهش را می‌توان به تجمع سلول‌های متراکم باکتریایی و کانی کلسیت در منافذ خاک نسبت داد، که در نتیجه آن خلل و فرج خاک مسدود شده

و هدایت هیدرولیکی کاهش یافته است (۸). واندیویور و باوی (۱۷) دریافتند که باکتری‌های هوازی سبب کاهش هدایت هیدرولیکی اشباع می‌شوند که این کاهش غالباً در نزدیکی سطح خاک که مواد مغذی وجود دارد رخ می‌دهد. میانگین هدایت هیدرولیکی در دو گونه *S. pasteurii* و *S. ureae* به ترتیب ۱۱/۵۷ و ۲۳/۳۶ سانتی‌متر بر ساعت اندازه‌گیری شد. تفاوت تاثیر این دو باکتری را می‌توان به بالا بودن فعالیت آنزیم اوره‌آز در گونه *S. pasteurii* و عدم توقف آن در حضور کلسیم، اوره و آمونیوم نسبت داد (۱۸). از این‌رو، بالا بودن فعالیت آنزیم اوره‌آز در گونه *S. pasteurii* نسبت به *S. ureae* باعث هیدرولیز بیشتر اوره در محیط، تولید بیشتر رسوب میکروبی کربنات کلسیم، مسدود شدن بیشتر منافذ و کاهش بیشتر هدایت هیدرولیکی گردیده است.

میانگین هدایت هیدرولیکی در سطوح غلظت ۱ و ۱/۵ مولار به ترتیب ۲۱/۸۱ و ۱۶ درصد نسبت به تیمار ۵/۰ مولار کاهش یافت (شکل ۱-الف). میانگین هدایت هیدرولیکی در بازه‌های زمانی ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۹۶، ۱۹۲ و ۲۸۸ ساعت به ترتیب ۴۲/۶۸، ۵۳/۲۸، ۴۸/۵۴، ۶۱/۲۳، ۷۱/۵۲ و ۷۰/۸۰ درصد کاهش را نسبت به نمونه خاک اصلی نشان می‌دهد (شکل ۱-ب). نتایج تحقیقات اکوادها و لی (۱۳) نشان داد که با افزایش غلظت اوره و کلسیم، میزان رسوب میکروبی کربنات کلسیم افزایش می‌یابد. علاوه بر این، تحقیقات نشان داده است که افزایش غلظت آنزیم اوره‌آز، میزان رسوب میکروبی کربنات کلسیم را افزایش می‌دهد (۱۲). سطح سلول‌های باکتریایی به‌عنوان مناسب‌ترین مکان‌های تشکیل و رشد بلورهای کانی می‌باشند و با تولید آنزیم اوره‌آز نقش کلیدی را در رسوب‌گذاری کربنات‌ها ایفا می‌کنند. از این‌رو، با افزایش غلظت سلول باکتری، میزان رسوب میکروبی کربنات کلسیم نیز افزایش می‌یابد (۶، ۱۳، ۱۴). وایفین (۱۸) کاربرد مجدد باکتری (آنزیم اوره‌آز) و واکنشگرها را بر روی میزان هیدرولیز اوره مورد مطالعه قرار داد. با افزایش مجدد باکتری و واکنشگرها، میزان هیدرولیز اوره در ستون شن از ۳/۶ در کاربرد اول به ۷/۸



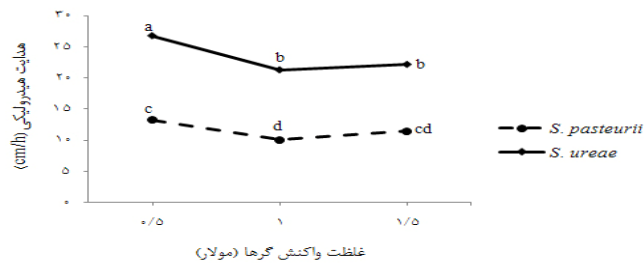
شکل ۱. نمودار تأثیر غلظت واکنشگرها (الف) و زمان واکنش (ب) بر هدایت هیدرولیکی اشباع

کلسیم توسط یافته‌های کانینگهام و همکاران (۴) نیز تایید می‌شود. هم‌چنین با توجه به مقایسه میانگین‌ها مشاهده می‌شود که در گونه *S. pasteurii*، بین دو سطح غلظت ۰/۵ و ۱/۵ مولار در مدت زمان ۱۲ روز هیچ تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (شکل ۲). این بدین دلیل است که افزایش غلظت واکنشگرها (غلظت اوره، کلسیم یا مخلوط اوره و کلسیم) بیش از سطح معین تأثیر معنی‌داری در مسدود شدن محیط‌های متخلخل از خود نشان نمی‌دهد (۱۲).

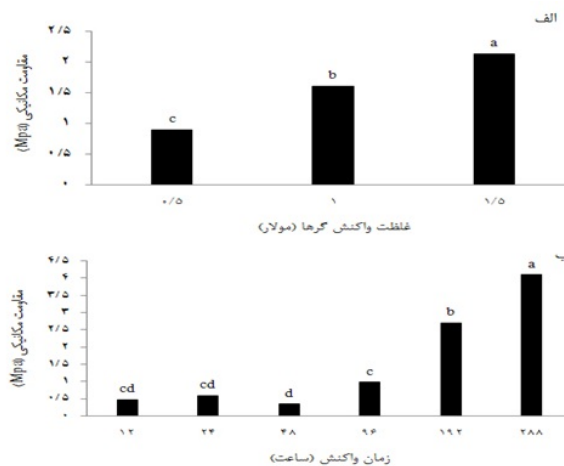
مقاومت مکانیکی

تأثیر گونه‌های باکتری، سطوح غلظت، بازه‌های زمانی و اثرات متقابل آنها بر میزان مقاومت خاک در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. تیمار خاک شنی با گونه باکتریایی *S. pasteurii* باعث افزایش معنی‌دار میانگین مقاومت نمونه‌ها شد. این مقدار در باکتری‌های *S. pasteurii* و *S. ureae* به ترتیب ۲/۶۰ و ۰/۴۸ مگاپاسکال بود. بانگ و همکاران (۳) گزارش کردند ترمیم میکروبی شکاف‌های موجود در بتن توسط مخلوطی از شن و میکروارگانیزم موجب افزایش مقاومت فشاری نمونه‌های تیمار شده می‌گردد. میانگین مقاومت خاک در همه تیمارها با افزایش

میلی‌مول در دقیقه در کاربرد دوم رسید و ۲ برابر شد. وی گزارش نمود که سطح بالای فعالیت اوره‌آز جریان دوم نشان دهنده فعال بودن فعالیت اوره‌آز باکتری‌های جریان اول در ستون شن می‌باشد. علاوه بر این، نماتی و وودرو (۱۲) گزارش نمودند افزایش در غلظت واکنشگرها و تزریق مجدد آن‌ها در فواصل زمانی ۲۴ ساعته، باعث کاهش معنی‌دار نفوذپذیری مواد متخلخل می‌شود. بنابراین با افزایش غلظت واکنشگرها و افزودن روزانه مایه تلقیح و جریان سیمانی کننده به ستون‌های خاک، میزان رسوب میکروبی کربنات کلسیم افزایش و در نتیجه آن هدایت هیدرولیکی خاک کاهش می‌یابد. مسدود شدن میکروبی شن توسط کلسیت انتخابی بوده و کارایی آن به تخلخل محیط، تعداد سلول‌های موجود و حجم کل مواد غذایی افزوده شده بستگی دارد (۱۴). با وجود معنی‌دار نشدن اثر متقابل باکتری در غلظت، مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد نشان می‌دهد که، در هر دو گونه باکتری با افزایش سطح غلظت واکنشگرها از ۰/۵ به ۱ مولار، میزان هدایت هیدرولیکی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، اما بین دو غلظت ۱ و ۱/۵ مولار هیچ تفاوت معنی‌داری از نظر آماری وجود ندارد (شکل ۲). کاهش هدایت هیدرولیکی در نتیجه افزایش غلظت



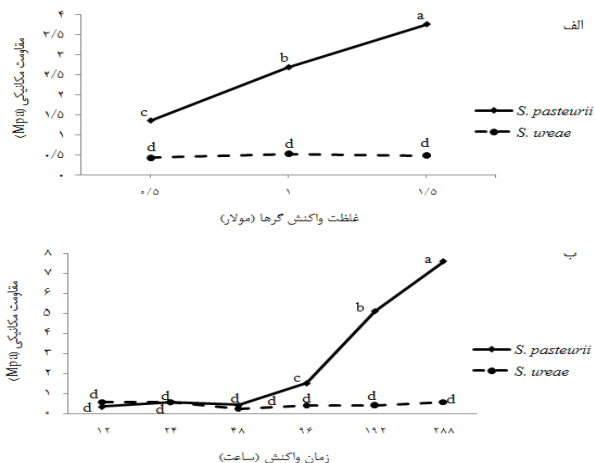
شکل ۲. نمودار تأثیر گونه باکتری و غلظت واکنشگرها بر هدایت هیدرولیکی اشباع



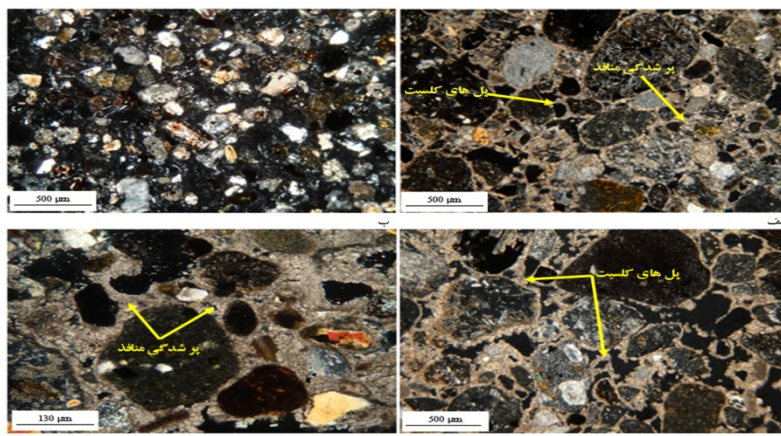
شکل ۳. نمودار تأثیر غلظت واکنشگرها (الف) و زمان واکنش (ب) بر مقاومت مکانیکی

باکتری در طول زمان، باعث افزایش سیمانی شدن و مقاومت فشاری در ستون‌های شن می‌شود. در ادامه گوش و همکاران (۶) با اندازه‌گیری میزان مقاومت فشاری بتن‌های تیمار شده با یک محیط کشت غنی از باکتری‌های گرمادوست بی‌هوازی در فواصل زمانی ۷، ۱۴ و ۲۸ روز، مشاهده کردند که با گذشت زمان میزان مقاومت فشاری نمونه‌ها افزایش می‌یابد. با بررسی اثرات متقابل بین گونه باکتری با غلظت واکنشگرها و زمان واکنش مشاهده می‌شود در گونه *S. pasteurii* با افزایش غلظت و گذشت زمان، میزان مقاومت خاک به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. در این گونه باکتری، میزان مقاومت خاک در غلظت ۱/۵ مولار و بازه زمانی ۲۸۸ ساعت به ترتیب ۱۶/۹ و ۳۵/۱۹ برابر نسبت به نمونه خاک اصلی افزایش یافت (شکل ۴). گونه *S. pasteurii* یک باکتری معمول خاکریزی است که قادر به رسوب‌گذاری پیوسته کلسیت در محیط می‌باشد (۱۶). وایفین

غلظت واکنشگرها و زمان واکنش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری‌که میانگین مقاومت خاک در سطوح غلظت ۱ و ۱/۵ مولار به ترتیب ۰/۷۸ و ۱/۳۶ برابر نسبت به سطح ۰/۵ مولار افزایش یافت (شکل ۳-الف). نتایج تحقیقات هامز و همکاران (۷) نشان داد با افزایش غلظت اوره (واکنشگر) و بالا رفتن سطح pH محیط میزان کلسیم محلول کاهش می‌یابد و بلورهای کربنات کلسیم در محیط ته‌نشین می‌شوند. این بلورها با افزایش اتصال ذرات خاک به یکدیگر موجب افزایش مقاومت خاک می‌گردند. بازه‌های زمانی ۱۹۲ و ۲۸۸ ساعت با میانگین ۲/۷ و ۴/۱ مگاپاسکال، دارای حداکثر مقاومت می‌باشند و با سایر بازه‌های زمانی تفاوت معنی‌داری دارند (شکل ۳-ب). افزایش مقاومت خاک با افزایش غلظت سلول‌های باکتریایی توسط یافته‌های راماکریشنان و همکاران (۱۴) تایید می‌شود. وایفین (۱۸) نشان داد تزریق مجدد واکنشگرها و



شکل ۴. نمودار تأثیر گونه باکتری در غلظت واکنش‌گرها (الف) و زمان واکنش (ب) بر مقاومت مکانیکی



شکل ۵. الف: فرآیندهای مسدود شدن و سیمانی شدن زیستی در نمونه‌های تیمار شده با باکتری *S. pasteurii* (نور XPL)، ب: تصویر مقطع نازک نمونه خاک اصلی، پ: پل‌های کلسیت در بین ذرات خاک (فرآیند سیمانی شدن زیستی، نور XPL)، ت: پرشدگی (فرآیند مسدود شدن زیستی) و سیمانی شدن منافذ توسط کانی کلسیت (نور XPL).

مطالعات میکرومورفولوژیکی

رسوب میکروبی کربنات کلسیم در ستون‌های تیمار شده با باکتری *S. pasteurii* توسط میکروسکوپ پتروگرافی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی مقاطع نازک، رسوب بلورهای کلسیت در بین ذرات خاک را نشان داد که مؤید فرآیندهای مسدود شدن (پرشدگی منافذ توسط کانی کلسیت) و سیمانی شدن (پل‌های کلسیت در بین ذرات خاک) زیستی می‌باشد (شکل ۵-الف). با توجه به شکل ۵-ب مشاهده می‌شود که نمونه خاک اصلی (شاهد) فاقد کانی کلسیت بوده و ذرات

(۱۸) گزارش کرد فعالیت اوره‌آزی باکتری *S. pasteurii* در غلظت ۱/۵ مولار اوره نسبت به غلظت ۰/۰۱ مولار، ۳ برابر افزایش می‌یابد. او هم‌چنین نشان داد که تزریق ۲ مرحله‌ای آنزیم اوره‌آز با فعالیت ۴/۴ در مقایسه با فعالیت ۱۷/۸ میلی‌مول اوره در دقیقه، میزان مقاومت شن را ۶ برابر افزایش می‌دهد. با توجه به شکل ۴، میانگین مقاومت خاک شنی تیمار شده با باکتری *S. ureae* با افزایش سطح غلظت و گذشت زمان هیچ تفاوت معنی‌داری را از نظر آماری نشان نمی‌دهد که احتمالاً می‌تواند ناشی از فعالیت کم این باکتری در محیط باشد.

مقایسه دو گونه باکتری نشان داد که کاربرد گونه *S. pasteurii* تاثیر بیشتری بر میزان پارامترهای اندازه‌گیری شده برجای گذاشته و موجب کاهش هدایت هیدرولیکی و افزایش مقاومت در مقایسه با نمونه خاک اصلی شد. کاهش هدایت هیدرولیکی در سطوح غلظت ۱ و ۱/۵ مولار و بازه‌های زمانی ۱۹۲ و ۲۸۸ ساعت به‌طور معنی‌داری بیش از سطح غلظت ۰/۵ مولار و بازه‌های زمانی ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت بود. میانگین مقاومت خاک در گونه *S. pasteurii* با افزایش غلظت واکنشگرها و زمان واکنش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، این در حالی است که در گونه *S. ureae* هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با گذشت زمان و افزایش غلظت واکنشگرها، میزان مقاومت خاک در ستون‌های تیمار شده افزایش یافت. رسوب میکروبی کربنات کلسیم با استفاده از میکروسکوپ پتروگرافی در مقاطع نازک گونه *S. pasteurii* مشاهده شد. این رسوب با پر کردن منافذ و اتصال ذرات خاک به یکدیگر موجب کاهش هدایت هیدرولیکی و افزایش مقاومت خاک شد.

خاک در آن به‌صورت منفصل قرار دارند. نتایج حاصل از بررسی مقاطع نازک نشان می‌دهد که کانی غالب موجود در نمونه‌های تیمار شده کلسیت است که به‌صورت پل، ذرات خاک را به یکدیگر متصل کرده و از این طریق مقاومت و سختی خاک را افزایش می‌دهد (شکل ۵- پ). علاوه بر این، در بررسی با میکروسکوپ پتروگرافی معلوم شد که کانی کلسیت علاوه بر ایجاد پل در بین ذرات خاک، با مسدود کردن منافذ موجود در خاک شنی طی فرایند پرشدگی و سیمانی شدن زیستی، باعث کاهش تخلخل در نمونه‌های تیمار شده و در نتیجه کاهش هدایت هیدرولیکی می‌شود (شکل ۵- ت).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش تاثیر فاکتورهای گونه باکتری، غلظت واکنشگرها و زمان واکنش بر میزان مسدود شدن و سیمانی شدن زیستی از طریق اندازه‌گیری هدایت هیدرولیکی اشیاع و مقاومت مکانیکی در یک خاک شنی مورد بررسی قرار گرفت.

منابع مورد استفاده

۱. بای‌بوردی، م. ۱۳۶۰. اصول مهندسی زهکشی و بهسازی خاک. انتشارات دانشگاه تهران.
۲. هزلتون، پ و ب. مورفی. ۱۳۸۹. تفسیر نتایج آزمون خاک (این همه اعداد و ارقام چه معنی دارند؟). ترجمه نیشابوری، م. و ع. ریحانی‌تبار. انتشارات دانشگاه تبریز.
3. Bang, S. S., J. K. Galinat and V. Ramakrishnan. 2001. Calcite precipitation induced by polyurethane-immobilized *Bacillus pasteurii*. Enzyme and Microb. Technol. 28: 404-409.
4. Cunningham, A. B., R. Gerlach, L. Spangler, A. C. Mitchell, S. Parks and A. Phillips. 2011. Reducing the risk of well bore leakage of CO₂ using engineered biomineralization barriers. Energy Procedia 4: 5178-5185.
5. De Muynck, W., N. De Belie and W. Verstraete. 2010. Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review. Ecol. Eng. 36: 118-136.
6. Ghosh, P., S. Mandal, S. Pal, G. Bandyopadhyaya and B. D. Chattopadhyay. 2006. Development of bioconcrete material using an enrichment culture of novel thermophilic anaerobic bacteria. Ind. J. Experim. Biol. 44: 336-339.
7. Hammes, F., A. Seka, S. de Knijf and W. Verstraete. 2003. A novel approach to calcium removal from calcium-rich industrial wastewater. Water Res. 37: 699-704.
8. 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 Biotechnol. 7: 139-153.
9. Jonkers, H. M., A. Thijssen, G. Muyzer, O. Copuroglu and E. Schlangen. 2010. Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. Ecol. Eng. 36: 230-235.
10. Kucharski, E. S., W. Winchester, W. A. Leeming, R. Cord-Ruwisch, C. Muir, W. A. Banjup, V. S. Whiffin, S. Al-Thawadi and J. Mutlaq. 2005. Microbial biocementation, Patent Application. WO/2006/066326; International Application No. PCT/AU2005/001927.
11. Murphy, C. P. 1986. Thin Section Preparation of Soils and Sediments. AB Academic Pub., Berkhamsted, Herts, UK.
12. Nemat, M. and G. Voordouw. 2003. Modification of Porous media permeability, using calcium carbonate

- produced enzymatically in situ. *Enzyme and Microbial Technology*. 33: 635-642.
13. Okwadha, G. D. O. and J. Li. 2010. Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere* 81: 1143-1148.
 14. Ramakrishnan, V., K. P. Ramesh and S. S. Bang. 2001. Bacterial concrete. *Proc. of SPIE-Int. Society of Optical Eng.* 4234: 168-176.
 15. Stabnikov, V., M. Naeimi, V. Ivanov and J. Chu. 2011. Formation of water-impermeable crust on sand surface using biocement. *Cement and Concrete Res.* 41: 143- 1149.
 16. Stocks-Fischer, S., J. K. Galinat and S. S. Bang. 1999. Microbiological precipitation of CaCO₃. *Soil Biol. and Biochem.* 31: 1563-1571.
 17. Vandevivere, P. and P. Baveye. 1992. Saturated hydraulic conductivity reduction caused by aerobic bacteria in sand columns. *Soil Sci. Soc. of Am. J.* 56: 1-13.
 18. Whiffin, V. S. 2004. Microbial CaCO₃ Precipitation for the production of Biocement. PhD. Thesis, School of Biological Sciences & Biotechnology, Murdoch University, Western Australia.
 19. Whiffin, V. S., L. A. Van Passen and M. P. Harkes. 2007. Microbial Carbonate Precipitation as a Soil Improvement Technique. *Geomicrobiol. J.* 24: 1-7.