

ارزیابی عملکرد بهسازی پایدار خاک‌های متورم شونده با استفاده از روش MICP

علیرضا افتخاری^۱، مسعود میرمحمدصادقی^{۲*}، احمد جلالیان^۳

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۹)

چکیده

استفاده از روش های مبتنی بر زیست فناوری در قلمرو مهندسی ژئوتکنیک به تولد دانش نوین بیوژئوتکنولوژی انجامیده است و مطالعات متعددی نیز با استفاده از این دانش نو در مسائل مختلف ژئوتکنیکی از جمله کاهش نفوذ پذیری و افزایش مقاومت برشی به‌ویژه در خاک‌های ماسه‌ای انجام شده و نتایج مطلوبی حاصل شده است. با این وجود، در زمینه ی بهبود خواص مکانیکی خاک‌های رسی، به‌ویژه کاهش تورم خاک‌های متورم شونده که یکی از انواع خاک‌های مساله دار محسوب می‌شود، با استفاده از بیوژئوتکنولوژی تحقیقات اندکی صورت پذیرفته است. علت عمده تورم خاک‌های متورم شونده وجود رس‌های مونتوریلونیتی در این نوع خاک‌ها است. استفاده از مواد افزودنی شیمیایی برای پایداری سازی خاک‌های متورم شونده نظیر آهک و سیمان، یک عمل متداول است. با این حال نگرانی‌های زیست محیطی مربوط به تولید گازهای گلخانه‌ای ناشی از تولید مواد شیمیایی و نیز اثرات مخربی که این مواد بر روی محیط زیست و خاک‌ها دارد محققان را به استفاده از جایگزین‌های تثبیت کننده پایدار دیگری ترغیب کرده است. فرایند رسوب میکروبی کلسیت (MICP) *Microbial Induced Carbonate Precipitation* تکنیکی است که می‌تواند یک راه حل بالقوده برای حل این مشکل باشد. هدف از این پژوهش بررسی میزان اثر گذاری روش (MICP) بر روی تورم پذیری خاک‌های رسی متورم شونده و نیز تأثیر آن بر روی مقاومت مکانیکی این نوع از خاک‌ها بوده است. بدین منظور با استفاده از باکتری *Sporosarcina pasteurii* و کلسیم کلراید و اوره به‌عنوان مواد مغذی بر روی یک خاک رسی با حد روانی ۵۳، آزمایشات تورم یک بعدی، آزمایش مقاومت فشاری تک محوری، آزمایش حدود اتربرگ انجام شد. به‌منظور طراحی آزمایش‌ها و نیز تحلیل آماری نتایج، روش تاگوچی مورد استفاده قرار گرفت. این روش آزمایشات را به‌طریق فاکتوریل جزئی طراحی می‌نماید و تعداد آن‌ها را بدون اثر قابل توجه در نتایج کاهش می‌دهد. به این منظور چهار فاکتور غلظت باکتری، نسبت مولارته مواد غذایی، مدت زمان تیمار کردن و رطوبت خاک با ۴ سطح تغییرات انتخاب شد. پس از انجام آزمایش‌ها و استخراج نتایج مشاهده شد که روش (MICP) در کاهش پتانسیل تورمی خاک‌های متورم شونده مؤثر واقع شده و نیز باعث افزایش قابل توجهی بر روی مقاومت فشاری محدود نشده خاک و مقاومت برشی زهکشی نشده آن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بهسازی زیستی خاک، خاک‌های متورم شونده، فرایند رسوب میکروبی کلسیت

۱. گروه مهندسی عمران، دانشکده عمران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۲. پژوهشگاه نیرو، مجتمع عالی آموزشی و پژوهشی وزارت نیرو

۳. گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: MmSadeghi@nri.ac.ir

مقدمه

عدم توجه به وجود خاک‌های مسئله دار در ساختگاه ممکن است موجب به وجود آمدن خسارت‌های سنگین در پروژه‌های عمرانی شود. لذا لازم است که این‌گونه خاک‌ها شناسایی و اصلاح گردند. از جمله این خاک‌ها، خاک‌های متورم شونده یا آماسی هستند که شدیداً تمایل به جذب آب و تورم دارند. علت عمده تورم خاک‌های متورم شونده وجود رس‌های مونت‌موریلونیتی در این نوع خاک‌ها است (۱۲). وجود یون سدیم در رس‌های مونت‌موریلونیتی، ظرفیت جذب آب را در آن‌ها بالا برده است و لذا باعث افزایش حجم در این‌گونه خاک‌ها می‌شود. از طرفی مشکل اساسی در مورد خاک‌های تورم پذیر این است که تغییر شکل آن‌ها بسیار بزرگ‌تر از تغییر شکل‌های الاستیک است و لذا نمی‌توان آن را به کمک فرضیه‌های معمول الاستیک و یا پلاستیک پیش‌بینی کرد. تغییر شکل‌های ایجاد شده در خاک‌های تورم پذیر اغلب غیریک‌نواخت و نامتعادل بوده و ممکن است موجب ایجاد خسارت‌های قابل توجه به سازه و رویه‌های مستقر بر روی آن‌ها شود. مقدار خسارتی که این پدیده برای سازه‌ها، به‌ویژه پی‌ها و سازه‌های سبک به وجود می‌آورد، از همه حوادث طبیعی مثل زمین لرزه و سیل بیشتر است. در کشورهای دارای اقلیم خشک و نیمه خشک مانند ایران که اغلب سرمایه گذاری‌های سنگینی برای احداث سازه‌های هیدرولیکی شامل انواع کانال‌ها و لوله‌های انتقال و توزیع آب و فاضلاب صورت می‌گیرد، اغلب این پدیده خسارت‌های بسیار زیادی را نیز به این سازه‌ها به‌واسطه سبکی آن‌ها وارد می‌سازد.

تثبیت شیمیایی خاک‌های تورم پذیر یکی از روش‌های از بین بردن تورم خاک‌های متورم شونده است لیکن لزوم استفاده از روش‌های دوستدار طبیعت و جایگزینی آن‌ها با روش‌های سنتی برای از بین بردن تورم خاک‌های متورم شونده از جمله اصلاح شیمیایی خاک‌های آماسی توسط سیمان و آهک، ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف از انجام این پژوهش، امکان‌سنجی به‌کارگیری تکنیک فرایند رسوب میکروبی کلسیت

(MICP) برای بهسازی پایدار خاک‌های رسی متورم شونده و کنترل تورم در آن‌ها، است.

مبانی بیوژئوتکنولوژی

طرح روش‌های اصلاح شیمیایی خاک در واقع این ایده را تحقق می‌بخشد که ویژگی‌های مکانیکی توده خاک (بزرگ مقیاس) تابع خصوصیات ریزمقیاس خاک است. این جمله بدین معناست که ما می‌توانیم با تغییر ریزساختار خاک، خصوصیات مهندسی توده خاک را تغییر دهیم. یکی از روش‌های نوین تغییر ریزساختار خاک، استفاده از میکرو ارگانیسم‌ها و روش‌های بیوشیمیایی است (۱). هر موجود زنده‌ای که با چشم غیرمسلح قابل مشاهده نباشد و تنها قادر باشیم زیر میکروسکوپ آن را ببینیم، میکروارگانیسم نامیده می‌شود. میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها، آغازیان و بعضی از قارچ‌ها مانند مخمرها هستند.

در هر گرم خاک در عمق یک متر بیش از 10^9 سلول باکتری وجود دارد که با افزایش عمق شمار آن‌ها کاهش می‌یابد، به‌طور متوسط در عمق ۳۰ متری که معمولاً پایین‌ترین محدوده اکثر فعالیت‌های بهسازی مهندسی خاک به‌شمار می‌آید، شمار باکتری‌ها در حدود 10^6 سلول در هر گرم است که تعداد زیادی از آن‌ها می‌توانند در بهسازی خاک شرکت کنند و برای تقویت پارامترهای مهندسی خاک کافی هستند. در همین راستا برای استفاده از این باکتری‌ها جهت بهسازی دو روش وجود دارد (۴). روش اول که بر پایه تحریک بیولوژیکی باکتری‌ها (Bio-Stimulation) است که با اضافه کردن مواد مغذی مورد نیاز باعث فعال شدن باکتری‌های رسوب را مورد نظر می‌شود، در این روش کشت و رشد باکتری در داخل خاک صورت می‌گیرد. استفاده از این روش به‌دلیل مشکلات فراوان در تامین محیط کشت مناسب بسیار دشوار بوده به همین دلیل از این روش بیشتر برای پاکسازی خاک‌های آلوده (Bio-remediation) استفاده می‌شود و در بهسازی ویژگی‌های مهندسی چندان کاربرد ندارد. روش دوم

قرار دادند (۱۳). همچنین تأثیر به‌کارگیری روش MICP جهت کاهش ترک‌های ناشی از خشکیدگی خاک رسی متورم شونده در معرض تر و خشک شدن‌های متوالی توسط Liu و همکاران مورد بررسی قرار گرفت (۹). نتایج پژوهش Chittoori و همکاران در این زمینه بیانگر افزایش مقاومت فشاری محدود نشده و کاهش در رفتار تورمی خاک رسی متورم شونده تیمار شده با روش MICP بود (۳).

مواد و روش‌ها

خصوصیات خاک مورد بررسی

خاکی که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت، خاک رسی با حداکثر وزن مخصوص خشک Maximum Dry Unit Weight (MDUW) 1.71 gr/cm^3 و رطوبت بهینه Optimum Moisture Content (OMC) ۲۰٪ است که دارای حد خمیری (PL) ۳۱ و حد روانی (LL) ۵۳ بود. مطابق جدول ۱ زیر که طبقه بندی پتانسیل تورمی بر حسب حدود اتربرگ را نشان می‌دهد، این خاک در رده با مقدار تورم پذیری زیاد قرار می‌گیرد.

بین معیارهای ارائه شده برای ارزیابی پتانسیل یا شدت تورم‌زایی خاک‌ها که توسط محققان مختلف ارائه شده، تفاوت‌هایی وجود دارد. علت این اختلاف را باید در کاربرد معیارهای ارائه شده جستجو کرد که در این رابطه نوع و بزرگی سازه دارای نقش اصلی است. به همین علت در ارزیابی اثرات تورم خاک بر سازه باید به نوع و بزرگی سازه و نیز مقاومت ذاتی آن در مقابل تغییر شکل‌های قابل انتظار توجه کافی مبذول شود.

میکرو ارگانیسم مورد استفاده

میکروارگانیسم مورد استفاده در این پژوهش، یک باکتری با نام علمی *Sporosarcina pasteurii* است. سویه مورد استفاده این باکتری از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران به شماره PTCC 1645 (DSM33) و به صورت کشت زنده تهیه می‌شود. باکتری *Sporosarcina pasteurii* از خانواده

افزایش باکتری‌ها (Bio-Augmentation) است که در این روش باکتری‌های رسوب زا مورد نظر به‌طور مستقیم به خاک اضافه می‌شوند. در این روش کلیه مراحل کشت و رشد باکتری‌ها در آزمایشگاه و با استفاده از راکتورهای مخصوص صورت می‌گیرد. باکتری‌هایی که برای انجام تقویت و بهسازی خاک مورد استفاده قرار می‌گیرند باید خاصیت رسوب زایی داشته باشند.

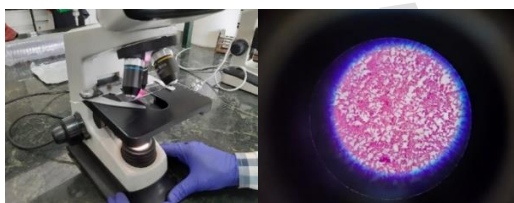
تاریخچه مختصری از بیورئوتکنولوژی

روش MICP برای اولین بار در سال ۱۹۹۵ توسط Gollapudi و همکاران (۶) برای بررسی کاهش درصد نفوذ پذیری ماسه با استفاده از باکتری *Bacillus pasteurii* به‌کار گرفته شد. Stocks Fischer و همکاران (۱۴) در سال ۱۹۹۹ میلادی مطالعات بیشتری را در زمینه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی رسوب CaCO_3 با استفاده از روش MICP و به‌کارگیری باکتری *Bacillus pasteurii* انجام دادند. بررسی کاربرد MICP در بهبود مقاومت و سختی خاک، برای اولین بار در سال ۲۰۰۲ توسط اسماعیل و همکاران (۷) مورد پژوهش قرار گرفت. مقاومت برشی و سختی خاک تحت تیمار روش MICP توسط DeJong و همکاران (۴) با استفاده از یکسری آزمایشات سه محوری تحکیم یافته زهکشی نشده، مورد ارزیابی قرار گرفت (۵). با وجود مطالعات بیشمار در مقیاس آزمایشگاهی و با توجه به اثر بخشی کلی این روش، لیکن عدم اطمینانی در کاربردی بودن این روش در مقیاس‌های بزرگ وجود داشت. Van Paassen و همکاران (۱۵) در سال ۲۰۱۰ یک آزمایش در مقیاس بزرگ و با ۱۰۰ متر مکعب نمونه ماسه انجام دادند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که به‌کارگیری روش MICP به‌طور قابل ملاحظه‌ای سختی و مقاومت خاک‌های دانه‌ای را در کاربردهایی با مقیاس بزرگ، بهبود می‌بخشد (۱۶).

Sadjadi و همکاران، مکانیسم‌های مؤثر بر بهبود خاک‌های تورمی با استفاده از زیست فناوری بر روی خاک متورم شونده‌ای که به‌صورت مصنوعی و از ترکیب ماسه سیلت دار بسیار ریز و بتونیت و کائولینیت تهیه شده بود را مورد پژوهش

جدول ۱. طبقه بندی پتانسیل تورمی بر حسب حدود اتربرگ

USBR (1956)	Seed et al (1962)	Chen (1983)	مقدار تورم پذیری
PI > 35	PI > 35	LL > 60	خیلی زیاد
25 < PI < 41	20 < PI < 35	40 < LL < 60	زیاد
15 < PI < 28	10 < PI < 20	30 < LL < 40	متوسط
0 < PI < 15	PI < 10	LL < 30	کم



شکل ۱. باکتری sporosarcina pasteurii پس از انجام آزمایش رنگ آمیزی گرم

اکسیژن و دی اکسید کربن، ازلن محتوی باکتری واقع در محیط کشت مایع را درون دستگاه انکوباتور شیکر دار قرار می دهیم. پس از ۴۸ ساعت با استفاده از دستگاه نورسنجی غلظت باکتری در طول موج ۶۰۰ نانومتر روی مقدار مشخصی که در طرح آزمایش ارائه شده بود تنظیم شد.

روش تحقیق

در این پژوهش آزمایشات تورم یک بعدی (1-D)، مقاومت فشاری محدود نشده یا تک محوری (UCS) و نیز آزمایش حدود اتربرگ برای بررسی اثربخشی روش MICP بر روی خاک رسی موردنظر با مقدار تورم پذیری زیاد مورد استفاده قرار گرفتند.

جهت طراحی آزمایش تحکیم یک بعدی به منظور سنجش میزان تورم خاک، روش تاگوچی (۱۱) به همراه نرم افزار تخصصی Minitab مورد استفاده قرار گرفت. این روش توسط دکتر تاگوچی در اواسط جنگ جهانی دوم به منظور توسعه روش های جدید در بهینه سازی فرایندهای مهندسی در کشور ژاپن ابداع شد. روش تاگوچی آزمایشات را با روش

باسیلاس و دارای اسپور در غشای بدن خود است و به طور طبیعی در خاک موجود است؛ همچنین این باکتری از نوع باکتری های اوره آز مثبت و با فعالیت اوره آزی بسیار بالا است. فعالیت متابولیک این باکتری که یک باکتری خاکزی قلیادوست نیز است، سبب مصرف اوره در درون سلول خود شده و پس از شکستن اوره، دو ترکیب آمونیاک (NH_3) و دی اکسید کربن (CO_2) تولید می کند.

فرایند رسوب میکروبی کلسیت

در این پژوهش از ۲ محیط کشت جامد نوترینت آگار و محیط کشت مایع عصاره مخمر و کلرید آمونیوم، در طول آزمایش جهت تهیه سوسپانسیون باکتری استفاده به عمل آمد. پس از آماده سازی محیط کشت جامد، باکتری ها به کمک لوپ در محیطی کاملاً استریل و زیر هود لامینار به صورت کشت خطی (streaking) روی محیط کشت جامد، قرار می گیرند. بعد از آماده سازی محیط کشت مایع، باکتری های رشد پیدا کرده در محیط کشت جامد، به محیط کشت مایع منتقل شده و نهایتاً برای فراهم کردن شرایط مناسب برای رشد میکروارگانیسم و نیز کنترل رطوبت، دما، میزان



شکل ۲. قرارگیری باکتری‌ها روی محیط کشت و تنظیم میزان غلظت باکتری

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18
	OD600	Urea/CaCl2	Curing Time(Day)	Moisture Content(%)														
1	0.5	0.5	7	16														
2	0.5	1.0	14	18														
3	0.5	1.5	21	20														
4	0.5	2.0	28	22														
5	1.0	0.5	14	20														
6	1.0	1.0	7	22														
7	1.0	1.5	28	16														
8	1.0	2.0	21	18														
9	1.5	0.5	21	22														
10	1.5	1.0	28	20														
11	1.5	1.5	7	18														
12	1.5	2.0	14	16														
13	2.0	0.5	28	18														
14	2.0	1.0	21	16														
15	2.0	1.5	14	22														
16	2.0	2.0	7	20														

شکل ۳. طراحی آزمایش به کمک روش تاگوچی

انجام شد. هدف از محاسبه درصد رطوبت بهینه، تعیین میزانی از ترکیب مواد غذایی و سوسپانسیون باکتری است که هنگام افزوده شدن به خاک، آن را با بیشترین وزن مخصوص در قالب قرار دهد. بنابر نتایج این آزمایش، میزان رطوبت بهینه برابر ۲۰٪ تعیین شد.

برای انجام آزمایش تورم یک بعدی (۲) و با توجه به طرح آزمایش روش تاگوچی، همزمان از ۴ دستگاه تحکیم کالیبره شده مطابق شکل ۵، استفاده می‌کنیم. قطر رینگ تحکیم ۶/۳۵ سانتی‌متر، ارتفاع آن ۲/۵۴ سانتی‌متر و حجم آن ۸۰/۴ سانتی‌متر مکعب بود. آزمایش مطابق با استاندارد ASTM-D4546 انجام گرفت و در طول آزمایش فقط درصد تورم اندازه‌گیری شد.

اگر مدت زمان تیمار خاک را ۷ روز در نظر بگیریم، مطابق با طرح آزمایش طراحی شده توسط روش تاگوچی مطابق جدول زیر ۴ نمونه از خاک رس مورد آزمایش را با غلظت باکتری، نسبت مولاریته مواد مغذی و نیز میزان رطوبت‌های متفاوت ترکیب کرده و در رینگ دستگاه تحکیم قرار می‌دهیم.

به همین ترتیب برای زمان‌های تیمار ۱۴ روز، ۲۱ روز و نیز ۲۸ روز با توجه به طرح آزمایش روش تاگوچی، نسبت به

فاکتوریل جزیی طراحی می‌نماید و تعداد آن‌ها را بدون اثر قابل توجه در نتایج کاهش می‌دهد. به این منظور ۴ فاکتور برای بررسی در نظر گرفته شد. این فاکتورها شامل غلظت باکتری (OD_{600})، نسبت مولاریته مواد غذایی ($Urea-CaCl_2$)، مدت زمان تیمار کردن خاک (Curing Time) و میزان رطوبت خاک (Moisture Content) با ۴ سطح تغییرات بودند. با نگاه به جدول تاگوچی مشاهده می‌شود که ماتریس ارتوگونال مناسب بر اساس تعداد عوامل و سطوح مورد نظر L_{16} است.

در روش تاگوچی، از متغیری به نام SN (Signal-to-noise ratio) جهت مقایسه اثر یک فاکتور در سطوح مختلف استفاده می‌شود که به صورت زیر تعریف می‌شود. در این رابطه n برابر تعداد تکرار و y برابر نتیجه حاصل از هر تکرار آزمایش است. SN پراکندگی حول یک نقطه معین را بیان می‌کند و هرچه این مقدار بیشتر باشد پراکندگی کمتر خواهد بود.

$$SN = -10 \log \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{y_i^2} \right) \quad (1)$$

آزمایش تراکم بر اساس استاندارد ASTM D698 به صورت پروکتور استاندارد با هدف یافتن درصد رطوبت بهینه خاک



شکل ۴. استفاده از ۴ دستگاه تحکیم به صورت همزمان

جدول ۲. طرح آزمایش ۷ روزه

شماره آزمایش طبق طرح تاکوچی	شماره دستگاه تحکیم	مدت زمان تیمار (روز)	غلظت باکتری OD ₆₀₀	نسبت مولاریته مواد مغذی (Urea-CaCl ₂)	میزان رطوبت خاک (%)
T ₁	۱	۷	۰/۵	۰/۵ - ۱	۱۶٪
T ₆	۲	۷	۱	۱/۵ - ۱/۵	۲۲٪
T ₁₁	۳	۷	۱/۵	۱/۵ - ۱	۱۸٪
T ₁₆	۴	۷	۲	۳ - ۱/۵	۲۰٪

مغذی (Urea-CaCl₂) برابر با ۱/۵ - ۱/۵، محلول محتوی باکتری و مواد مغذی را به خاک اضافه کرده و با حفظ رطوبت، ۲۴ ساعت بعد نمونه‌های خاک تیمار شده را درون محفظه دستگاه UCS قرار داده شد. سپس قرائت میزان نیروی وارد بر نمونه به صورت هر ۱۵ ثانیه یکبار مطابق شکل ۵، اقدام صورت گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از روش MICP بر روی حدود اتربرگ

برای سنجش میزان تأثیر باکتری و نیز مواد مغذی آن بر روی حد روانی (LL) و شاخص خمیری خاک (PI)، آزمایش حد روانی و حد خمیری با در نظر گرفتن اینکه غلظت باکتری مورد استفاده (OD₆₀₀) دو مقدار ۱ و ۱/۵ داشته باشد و نیز مولاریته مواد مغذی (Urea/CaCl₂) را ۱/۵ - ۱/۵ و ۰/۷۵ - ۱/۵ در نظر بگیریم، بر روی نمونه خاک رسی و به روش چند نقطه‌ای و با در نظر گرفتن مدت زمان ۵ روز برای تیمار خاک، انجام گرفت. با مقایسه نتایج به دست آمده برای حد روانی قبل و پس از تیمار خاک رسی، مشاهده شد که مقدار حد روانی در حالتی که

آماده‌سازی نمونه‌ها اقدام و سپس آن‌ها را در رینگ دستگاه تحکیم قرار می‌دهیم. میزان غلظت باکتری مورد استفاده، نسبت مولاریته مواد مغذی و نیز میزان رطوبت‌های متغیر مورد استفاده در آماده‌سازی نمونه‌ها برای هریک از زمان‌های تیمار در جداول زیر داده شده است.

آزمایش مقاومت فشاری محدود نشده یا (UCS) یک حالت خاصی از آزمایش سه محوری تحکیم نیافته زهکشی نشده (UU) است که در آن فشار محدود کننده‌ای بر نمونه وارد نمی‌شود و تنش محوری بر نمونه به تدریج افزایش پیدا می‌کند، تا زمانی که نمونه گسیخته شود. فشار قائم محوری نهایی که با q_u نشان داده می‌شود در واقع مقاومت تک محوری خاک است که می‌توان آنرا دو برابر مقاومت چسبندگی بدون زهکشی خاک در نظر گرفت.

برای انجام آزمایش مقاومت فشاری محدود نشده یا تک محوری، مقداری حدود ۱۸۰ گرم از خاک رس را وزن کرده و با در نظر گرفتن میزان رطوبت بهینه ۲۰٪ برای آن، آزمایش را با در نظر گرفتن غلظت باکتری (OD₆₀₀) برابر با ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ با در نظر گرفتن نسبت مولاریته مواد

جدول ۳. طرح آزمایش ۱۴ روزه

شماره آزمایش طبق طرح تاکوچی	شماره دستگاه تحکیم	مدت زمان تیمار (روز)	غلظت باکتری OD ₆₀₀	نسبت مولاریته مواد مغذی (Urea-CaCl ₂)	میزان رطوبت خاک (%)
T ₂	۱	۱۴	۰/۵	۱/۵ - ۱/۵	۱۸٪
T ₅	۲	۱۴	۱	۰/۵ - ۱	۲۰٪
T ₁₂	۳	۱۴	۱/۵	۳ - ۱/۵	۱۶٪
T ₁₅	۴	۱۴	۲	۱/۵ - ۱	۲۲٪

جدول ۴. طرح آزمایش ۲۱ روزه

شماره آزمایش طبق طرح تاکوچی	شماره دستگاه تحکیم	مدت زمان تیمار (روز)	غلظت باکتری OD ₆₀₀	نسبت مولاریته مواد مغذی (Urea-CaCl ₂)	میزان رطوبت خاک (%)
T ₃	۱	۲۱	۰/۵	۱/۵ - ۱	۲۰٪
T ₈	۲	۲۱	۱	۳ - ۱/۵	۱۸٪
T ₉	۳	۲۱	۱/۵	۰/۵ - ۱	۲۲٪
T ₁₄	۴	۲۱	۲	۱/۵ - ۱/۵	۱۶٪

جدول ۵. طرح آزمایش ۲۸ روزه

شماره آزمایش طبق طرح تاکوچی	شماره دستگاه تحکیم	مدت زمان تیمار (روز)	غلظت باکتری OD ₆₀₀	نسبت مولاریته مواد مغذی (Urea-CaCl ₂)	میزان رطوبت خاک (%)
T ₄	۱	۲۸	۰/۵	۳ - ۱/۵	۲۲٪
T ₇	۲	۲۸	۱	۱/۵ - ۱	۱۶٪
T ₁₀	۳	۲۸	۱/۵	۱/۵ - ۱/۵	۲۰٪
T ₁₃	۴	۲۸	۲	۰/۵ - ۱	۱۸٪



شکل ۵. انجام آزمایش مقاومت فشاری محدود نشده بر روی نمونه خاک رس

۱/۵ و نسبت مولاریته مواد مغذی (Urea-CaCl₂) ۱/۵ - ۰/۷۵ باشد، میزان حد روانی از ۵۳٪ به ۵۷٪ و نیز حد خمیری آن از ۳۱٪ به ۳۶٪ افزایش داشته است. با بررسی نتایج حاصل از آزمایشات انجام گرفته، می‌توانیم

غلظت باکتری (OD₆₀₀) را برابر با ۱/۵ و نسبت مولاریته مواد مغذی (Urea-CaCl₂) را ۱/۵ - ۱/۵ در نظر بگیریم، از میزان ۵۳٪ اولیه به ۵۹٪ و حد خمیری آن از میزان ۳۱٪ اولیه به ۳۹٪ افزایش و در حالتی که غلظت باکتری (OD₆₀₀) را برابر با

بیشترین اثر گذاری جهت کاهش درصد تورم خاک رسی، در نسبت برابر یا $1/5 - 1/5$ مولار از مقادیر اوره و کلسیم کلراید انجام می‌شود. این نتیجه را نیز این گونه می‌توان تفسیر کرد که عملکرد فرایند رسوب کلسیت، به مقدار اوره و غلظت کلسیم کلرید بستگی دارد به نحوی که غلظت بیشتر اوره و کلرید کلسیم می‌تواند کلسیت بیشتری تولید کند. از طرفی نمی‌توان مقدار این دو ماده را در محیط بیش از اندازه زیاد کرد چرا که شرایط رشد و فعالیت باکتری نیز در این زمینه حائز اهمیت است.

با بررسی نتایج نمودارهای نشان داده شده در مورد مدت زمان تیمار خاک توسط ترکیب محلول باکتری و مواد مغذی، این نتیجه حاصل می‌شود که با گذشت زمان میزان اثرگذاری روش MICP بر روی میزان تورم خاک متورم شونده افزایش یافته و بیشترین میزان کاهش تورم خاک رسی، ۲۱ روز پس از اضافه کردن محلول باکتری و مواد مغذی انجام گرفته است. به طوری که هر چهار مقدار تورم ایجاد شده در آزمایش انجام گرفته در این زمان، زیر خط برازش داده شده قرار دارند. این نتیجه را این گونه می‌توان تفسیر کرد که افزایش مدت زمان تیمار خاک به روش MICP، باعث توزیع یکنواخت کلسیت بیشتری در توده خاک می‌شود. از طرفی توزیع یکنواخت کلسیت هنگامی قابل دسترس است که سلول‌های باکتری زمان کافی جهت انجام واکنش داشته باشند و در واقع، به دلیل دسترسی بیشتر میکروارگانیسم به مواد مغذی و انجام فعالیت متابولیک بیشتر، به تدریج و با افزایش مدت زمان تیمار خاک، از میزان تورم خاک کاسته شده و به پایین ترین حد خود در ۲۱ روز یعنی به مقدار $0/12\%$ می‌رسد. در ادامه و با گذشت بیشتر زمان، به تدریج مجدداً بر میزان درصد تورم خاک افزوده می‌شود که می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت باکتریایی بعد از زمان خاصی باشد. همچنین نتایج حاصل از شکل ۸ بیانگر این مطلب هستند که کمترین مقدار تورم ایجاد شده در خاک پس از تیمار به روش MICP، در میزان رطوبت 20% تا 22% انجام گرفته است. در میزان رطوبت 20% هر چهار مقدار به دست آمده برای درصد تورم خاک، زیر خط برازش داده شده قرار دارند.

بیان کنیم که بیشترین مقدار افزایش در حد روانی و کاهش شاخص خمیری (PI)، در حالتی که باکتری غلظت بیشتری داشته، صورت گرفته است. همچنین نسبت برابر Urea و $CaCl_2$ نیز منجر به افزایش بیشتر حد روانی و کاهش بیشتر شاخص خمیری در خاک رسی شده است. این ویژگی موجب می‌شود تا کارایی خاک در عملیات خاکی بالا رود که این امر به ویژه در کارهای راهسازی از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. افزایش مقادیر LL و PL با افزایش مقدار غلظت باکتری (OD_{600}) و نیز نسبت مولاریته مواد مغذی (Urea- $CaCl_2$)، بیانگر این مطلب است که رسوب کلسیت ناشی از روش MICP باعث می‌شود که بلورهای کلسیت تشکیل شده در فضای حفره‌ای همانند یک پل ارتباطی بین ذرات خاک، پیوندهایی ایجاد می‌کنند و لذا بدینوسیله چسبندگی یا به عبارت دیگر سیمانتاسیون بین ذره‌ای را در خاک افزایش می‌دهند.

نتایج آزمایش تورم یک بعدی

برای اندازه‌گیری میزان اثربخشی استفاده از روش MICP بر کاهش تورم خاک رس، آزمایش تورم یک بعدی بر روی نمونه‌های تیمار شده با استفاده از طرح آزمایش روش تاگوجی انجام شد. نتایج آزمایش‌ها در جداول زیر نشان داده شده است.

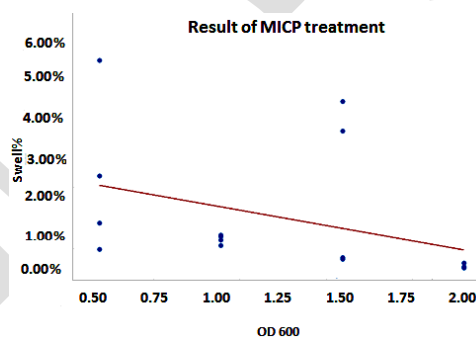
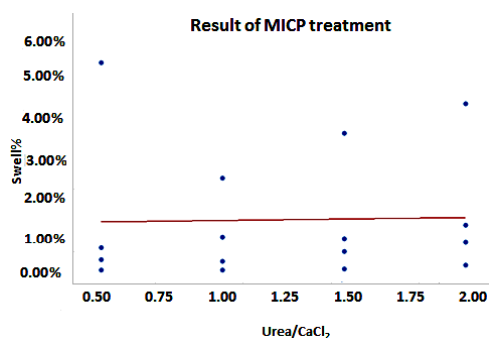
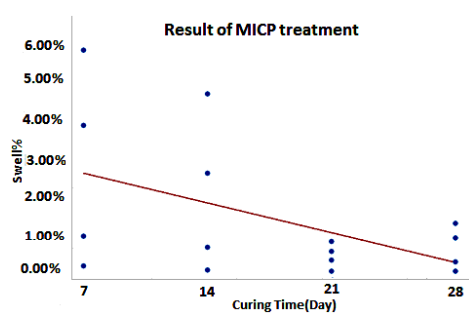
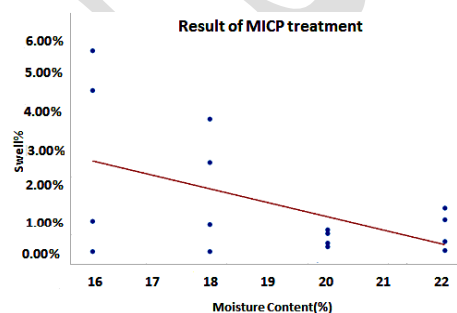
با بررسی نمودار آماری نمودار پراکندگی نشان داده شده در شکل‌های ۶ و ۷ موارد زیر را می‌توان به دست آورد:

برای فاکتور میزان غلظت باکتری (OD_{600})، کمترین میزان از تورم‌های قائم در مقدار OD برابر با ۲ صورت گرفته است. در نتیجه می‌توانیم بیان کنیم، کاهش میزان تورم ارتباط مستقیمی با میزان غلظت باکتری دارد به نحوی که افزایش غلظت باکتری منجر به کاهش میزان تورم بر حسب درصد می‌شود. این نتیجه را می‌توان به این نحو تفسیر کرد که باکتری بیشتر در محیط، باعث افزایش تجزیه اوره در محیط خواهد شد و در نتیجه شرایط مناسب‌تری را برای تولید کربنات و نهایتاً تشکیل کلسیت ایجاد خواهد کرد. همچنین برای فاکتور نسبت مولاریته مواد مغذی (Urea/ $CaCl_2$)، با توجه به نمودار داده شده در بالا،

جدول ۶. نتایج آزمایش تورم یک بعدی

شماره آزمایش	میزان تورم قائم خاک %	شماره آزمایش	میزان تورم قائم خاک %
T ₁	۵/۳۹ %	T ₂	۲/۴۶ %
T ₆	۰/۹۶ %	T ₅	۰/۷ %
T ₁₁	۳/۶ %	T ₁₂	۴/۳۵ %
T ₁₆	۰/۲۵ %	T ₁₅	۰/۱۵ %

شماره آزمایش	میزان تورم قائم خاک %	شماره آزمایش	میزان تورم قائم خاک %
T ₃	۰/۵۹ %	T ₄	۱/۲۶ %
T ₈	۰/۸۴ %	T ₇	۰/۹۲ %
T ₉	۰/۳۹ %	T ₁₀	۰/۳۴ %
T ₁₄	۰/۱۲ %	T ₁₃	۰/۱۳ %

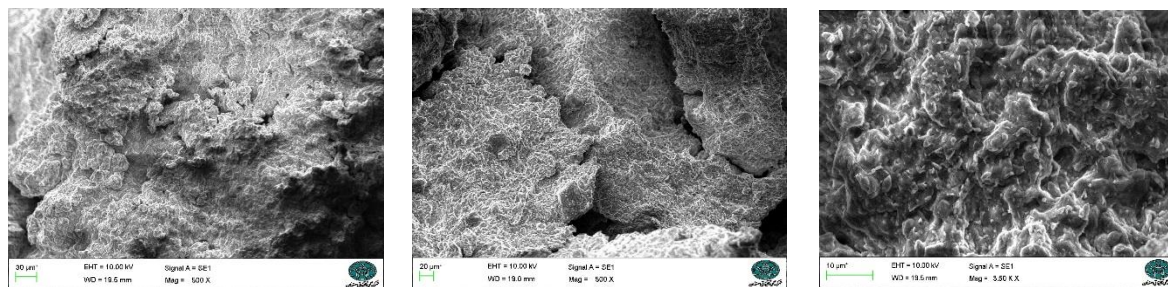
شکل ۶. میزان تأثیر مقدار غلظت باکتری (OD₆₀₀) و نسبت مولاریته مواد مغذی (Urea/CaCl₂) به کمک روش MICP بر روی درصد تورم

شکل ۷. میزان تأثیر مقدار مدت زمان تیمار خاک و میزان تأثیر مقدار رطوبت خاک به کمک روش MICP بر روی درصد تورم

نتایج مقاومت برشی تک محوری

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش در حالت طبیعی، میزان مقاومت فشاری محدود نشده (q_u) نمونه خاک رس قبل از تیمار برابر با ۲/۴۷ کیلونیوتن بر مترمربع حداکثر مقاومت

این میزان رطوبت بر اساس آزمایش تراکم اولیه صورت گرفته بر روی نمونه خاک رسی، در واقع همان میزان رطوبت بهینه یا (OMC) است. به صورت کلی رطوبت بیشتر خاک، محیط مناسب‌تری را برای رشد و فعالیت باکتری فراهم می‌کند.



شکل ۸. نتایج حاصل از تصویربرداری به کمک میکروسکوپ الکترونی

محدود نشده، مقاومت برشی حداکثر (T_f) و نیز مقاومت برشی زهکشی نشده (C_u) پس از افزودن محلول باکتری به همراه مواد مغذی اوره و کلسیم کلرید به خاک رسی، افزایش قابل توجهی داشته است.

با توجه به نتایج به دست آمده و افزایش مقدار مقاومت برشی و مقاومت فشاری محصور نشده نمونه خاک رسی بعد از تیمار به کمک روش MICP، می‌توانیم بیان کنیم با توجه به اساس کار دستگاه مقاومت برشی تک محوری، در حالتی که هیچ‌گونه بار جانبی به خاک وارد نمی‌شود، چسبندگی به عنوان مقاومت برشی در خاک در نظر گرفته می‌شود. و با توجه به اینکه وجود باکتری و مواد مغذی اوره و کلرید کلسیم در خاک باعث افزایش میزان چسبندگی خاک می‌شود، لذا مقدار مقاومت برشی نمونه خاک رسی بعد از تیمار به میزان قابل توجهی افزایش پیدا می‌کند. از طرفی در مقاومت برشی زهکشی نشده، بارگذاری به سرعت انجام شده و فرصتی برای فرار آب از داخل نمونه خاک وجود ندارد. لذا فشار آب حفره‌ای، مقداری بیش از صفر است. بخشی از نیروی اعمال شده توسط آب و بخشی دیگر توسط اسکلت خاک تحمل می‌شود. باکتری *Sporosarcina pasteurii* از نوع باکتری‌های اوره آز مثبت و با فعالیت اوره‌آزی بسیار بالا است و به عنوان کاتالیزگر عمل میکند و اوره موجود یا اضافه شده به محیط را تجزیه می‌کند و به آمونیوم، بی‌کربنات‌ها و یون‌های کربنات تبدیل می‌کند و به علت وجود یون‌های کلسیم در خاک، با یون‌های کربنات پیوند می‌خورند و باعث رسوب کربنات کلسیم می‌شوند که در بین دانه‌های خاک سمناسیون ایجاد می‌کند و همین فرایند باعث

برشی (T_f) و همچنین مقاومت برشی زهکشی نشده (C_u) در این آزمایش برابر با ۱/۲۳۵ کیلونیوتن بر مترمربع است. برای بررسی تأثیر استفاده از روش MICP بر روی مقاومت برشی زهکشی نشده نمونه رسی، باکتری با غلظت (OD_{600}) ۱/۵ را با مواد مغذی ($Urea/CaCl_2$) با مولاریته (۱/۵ - ۱/۵) و نسبت برابر در شرایط رطوبت بهینه، به نمونه خاک رسی افزوده و پس از ۷۲ ساعت (با حفظ رطوبت) نمونه را در غلاف استاندارد دستگاه قرار داده و مراحل آزمایش را مجدداً تکرار کردیم. پس از انجام آزمایش، مقدار مقاومت فشاری محدود نشده نمونه q_u برابر با ۵/۹۰ کیلونیوتن بر متر مربع و در نتیجه مقدار مقاومت برشی حداکثر (T_f) و نیز مقاومت برشی زهکشی نشده (C_u) در این آزمایش برابر با ۲/۹۵ کیلونیوتن بر مترمربع حاصل شد.

برای بررسی تأثیر میزان افزایش غلظت باکتری بر روی مقاومت برشی زهکشی نشده خاک رسی، در آزمایش بعدی مقدار غلظت باکتری (OD_{600}) برابر با ۲ در نظر گرفته شد. با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش، برای خاک رسی تیمار شده به کمک روش MICP و در حالتی که غلظت باکتری مورد استفاده برابر با ۲ و نسبت مولاریته مواد مغذی برابر باشد، مقدار مقاومت فشاری محدود نشده نمونه q_u برابر با ۷/۰۵ کیلونیوتن بر متر مربع حاصل می‌شود و در نتیجه مقدار مقاومت برشی حداکثر (T_f) و نیز مقاومت برشی زهکشی نشده (C_u) در این آزمایش برابر با ۳/۵۳ کیلونیوتن بر مترمربع است. با بررسی نتایج حاصل از آزمایش مقاومت برشی تک محوری انجام گرفته بر روی نمونه خاک رسی قبل و بعد از تیمار آن با استفاده از روش MICP، مشاهده می‌شود مقدار مقاومت فشاری

بالا تر رفتن مقاومت برشی و مقاومت فشاری محدود نشده نمونه می‌شود.

تصویربرداری به کمک میکروسکوپ الکترونی (SEM)

Scanning Electron Microscopy

به منظور بررسی دقیق تر تأثیرات ناشی از تیمار به کمک روش MICP بر روی خاک رسی متورم شونده مورد آزمایش، نمونه خاک قبل و بعد از تیمار با غلظت باکتری‌های (OD_{600}) ۱ و ۱/۵ و با نسبت مولاریته مواد مغذی ($Urea/CaCl_2$) برابر با ۱/۵ - ۱/۵، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی در شهرک علمی و تحقیقاتی اصفهان، تصویربرداری شد. همانطور که در شکل زیر مشخص است، بلورهای کلسیت پس از تیمار به روش MICP بر روی دانه‌های خاک تشکیل شده و فضای حفره‌ای بین دانه‌ای را پر کرده است که این فرایند در ادامه باعث افزایش چسبندگی بین دانه‌های خاک شده و منجر به بهبود خصوصیات مکانیکی توده خاک می‌شود.

نتیجه گیری

با جمع بندی کلیه نتایج به دست آمده از روند تحقیقاتی صورت گرفته بر روی میزان اثرگذاری روش MICP بر روی کاهش تورم خاک رسی متورم شونده می‌توان موارد زیر را به صورت کلی بیان کرد:

- بر اساس نتایج آزمایش تورم یک بعدی انجام گرفته بر روی خاک رسی متورم شونده قبل و بعد از تیمار به روش بیوزیستی و به بیان دیگر بیوسیماناسیون MICP که در بخش ۶-۲ بیان شد، این روش راهکاری مؤثر در جهت کاهش میزان تورم خاک‌های رسی متورم شونده محسوب می‌شود به نحوی که، در صورت رسیدن رطوبت به خاک پس از تیمار با این روش، درصد تورم کمتری در خاک نسبت به حالت قبل از آن، قابل مشاهده است.

- مطابق با نتایج آزمایش حدود اتربرگ انجام گرفته بر روی نمونه خاک متورم شونده بهسازی شده به طریق MICP که در

بخش ۶-۱ به آن اشاره شد، به کارگیری این روش باعث افزایش حد خمیری و حد روانی و کاهش شاخص خمیری خاک می‌شود. این ویژگی موجب می‌شود تا کارایی خاک در عملیات خاکی بالا رود که این امر به ویژه در کارهای راهسازی از اهمیت قابل توجهی برخوردار است.

- به واسطه بلورهای کلسیت تشکیل شده در طول فرایند ناشی از آنزیم‌های اوره آز تولید شده توسط باکتری، همانند یک پل ارتباطی بین ذرات خاک، پیوندهایی ایجاد می‌کنند و لذا بدینوسیله چسبندگی و به عبارت دیگر سیمانتاسیون بین ذره‌ای را در خاک رسی متورم شونده، افزایش می‌دهند.

- نتایج حاصل از آزمایش مقاومت برشی تک محوری بر روی نمونه خاک تیمار شده به کمک روش MICP در این پژوهش مطابق با نتایج آزمایشات صورت گرفته توسط Chittorri و همکاران بیانگر این موضوع بود که استفاده از روش MICP بر روی خاک رسی، باعث افزایش قابل توجهی در مقاومت فشاری محدود نشده خاک و نیز مقاومت برشی زهکشی نشده آن می‌شود.

- این روش می‌تواند با خنثی کردن بار الکتریکی منفی سطح ذرات رس که عامل اصلی جذب رطوبت و افزایش حجم خاک است و نیز کلسیم تولید شده طی فرایند تیمار، جایگزین کاتیون‌های تک ظرفیتی اطراف ذرات رس شده و پتانسیل تورمی آن را کاهش دهد.

- نتایج به دست آمده از این پژوهش همانند نتایج تحقیقات Sadjadi و همکاران نشان داد که استفاده از باکتری با غلظت بیشتر، برابر بودن نسبت مولاریته مواد مغذی اوره و کلرید کلسیم، به کارگیری رطوبت بهینه برای خاک و نیز افزایش مدت زمان تیمار خاک به کمک روش MICP، بیشترین بازدهی را در جهت کاهش میزان تورم خاک به همراه خواهد داشت.

- نتایج حاصل از تصویربرداری به کمک میکروسکوپ الکترونی بیانگر این موضوع است که بلورهای کلسیت پس از تیمار به روش MICP بر روی دانه‌های خاک تشکیل شده و فضای حفره‌ای بین دانه‌ای را پر می‌کند.

با توجه به اینکه مواد به کار رفته جهت تیمار خاک، اثرات مخرب زیست محیطی به همراه ندارند، لذا استفاده از این روش جهت بهسازی پایدار خاک‌های متورم شونده نسبت به سایر روش‌های بهسازی خاک با استفاده از مواد شیمیایی و یا پلیمری، توصیه می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Al Qabany, A., Soga, K. & Santamarina, C. 2012. Factors affecting efficiency of microbially induced calcite precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 138(8): 992-1001.
2. ASTM D 4546. 1996. Standard Test Methods for One-Dimensional Swell or Settlement Potential of Cohesive Soils. American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, Pennsylvania, USA. DOI: 10.1520/D4546-96.
3. Chittoori, B., Rahman, T., Burbank, M. & Moghal. 2019. Evaluating shallow mixing protocols as application methods for microbial induced calcite precipitation targeting expansive soil treatment. In *Geo-Congress* 143–151.
4. De Jong, J. T. 2010, "Bio-mediate soil improvement", *Ecological Engineering* (36), pp197-210.
5. De Jong, J.T., Martinez, B.C., Mortensen, B.M., Nelson, D.C. 2009, "Up scaling of bio-mediated soil improvement." 17th International Conference on Soil Mechanics and Geotechnical Engineering, pp2300-2303.
6. Gollapudi, U.; Knutson, C.; Bang, S.; Islam, M. 1995. A new method for controlling leaching through permeable channels. 695–705.
7. Ismail, M.; Joer, H.; Randolph, M.; Meritt, A. 2002. Cementation of porous materials using calcite. *Geotechnique* 9: 313–324.
8. Ivanov, V & Chu, J. 2008. 'Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ', *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, vol. 7, no. 2, 2008/06/01, pp. 139-153.
9. Liu, B. et al. 2020. Bio-remediation of desiccation cracking in clayey soils through microbially induced calcite precipitation (MICP), *Engineering Geology*, volume 264.
10. Martinez, B.C., Barkouki, T.H., DeJung, J.T., and Ginn, T.R. 2011. Upscaling of Microbial Induced Calcite Precipitation in 0.5m Columns: Experimental and Modeling Results. *ASCE Geo-Institute Annual Conference: Geo-Frontiers 2011*. Dallas, Texas, 2011, pp. 4049-4059.
11. Mirmohammad Sadeghi, M. 2016. Evaluation of factors affecting the shear strength of the biologically treated sandy soil using Taguchi method. *Modares Civil Engineering Journal* 16(3): 191-202.
12. Nelson, J. D., & Miller, D. J. 1992. "Expansive soils: problems and practice in foundation and pavement engineering." New York: John Wiley and Sons.
13. Sadjadi, M.; Nikooee, E.; Habibagahi, G. 2014, Biological treatment of swelling soils using microbial calcite precipitation. In *Unsaturated Soils: Research & Applications*, CRC Press: Boca Raton, FL, USA, Volume 1 and 2, pp. 917–922.
14. Stocks-Fischer. 1999. "Microbiological precipitation of CaCO_3 ", *Soil Biology and Biochemistry* (31), pp1563-1571.
15. Van Paassen, L.A., Ghose, R., Van der Linden, T.J.M., Van der Star, W.R.L., Van Loosdrecht, M.C.M., 2010 "Quantifying bio-mediated ground improvement by ureolysis: a large scale biogrout experiment", *ASCE Journal for Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 136(12), pp1721-1728.
16. van Paassen, Leon A., 2009 "Ground improvement by microbially induced carbonate precipitation", Ph.D. thesis, Delft University of Technology.
17. Whiffin, V.S., van Paassen, L.A., and Harkes, M.P. 2007. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Journal of Geomicrobiology*, 24(5), 417-423.