

تعیین زمان تکمیل واکنش تحت شرایط متفاوت دمایی در بهسازی خاک‌های ماسه‌یی به روش سیمان‌تاسیون بیولوژیکی

غزاله دفتری (دانشجوی کارشناسی ارشد)

محمد آزادی* (دانشیار)

دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قزوین

خواص مکانیکی خاک‌ها اغلب انتظارهای بشر را برآورده نمی‌سازند، به همین دلیل روش‌های بهسازی متفاوتی بررسی شده است. روش رسوب میکروبی کلسیت، روشی نوظهور است؛ که با استفاده از میکروارگانیسم‌های موجود در خاک و فرایندهای شیمیایی و تولید رسوب کلسیت، سبب بهبود خواص مکانیکی خاک شده است. همچنین روشی کم‌هزینه و سازگار با محیط زیست است. اما نکته‌یی که در عمده‌ی پژوهش‌های اخیر به آن توجه نشده است، بررسی آثار پارامترهایی، مانند: شرایط دمایی، غلظت مواد و غلظت باکتری متفاوت به صورت هم‌زمان بوده است. در مطالعه‌ی حاضر از باکتری باسیلوس پاستوری در خاک ماسه‌یی استفاده شده است. نتایج نشان می‌دهند که پارامترهای مذکور تأثیر قابل توجهی در زمان تکمیل واکنش در شرایط متفاوت دارند. همچنین میزان تأثیر هر یک از آن‌ها (دما، غلظت باکتری و غلظت مواد) بررسی شده است.

واژگان کلیدی: سیمان‌تاسیون بیولوژیکی، باسیلوس پاستوری، خاک ماسه‌یی، تکمیل زمان واکنش.

۱. مقدمه

گسترش جوامع و پیشرفت تکنولوژی، نشان دهنده‌ی نیاز بیشتر به گسترش زیرساخت‌های شهری، مانند: پل‌ها، ساختمان‌ها، تونل‌ها و تثبیت خاک و دسترسی به خاک مناسب در صنعت ساخت و ساز است. برای ایجاد خواص مکانیکی مطلوب‌تر در خاک‌ها نیاز به تکنولوژی جدیدتری است، روشی جدید و سازگار که هیچ‌گونه آسیبی به محیط زیست وارد نکند. رسوب میکروسکوپی کربنات کلسیم، یک جایگزین با اهمیت بیوتکنولوژیکی بزرگ در صنعت ساخت و ساز دارد.^[۱-۳] به همین دلیل پژوهش‌های زیادی در مورد بررسی آثار انواع باکتری و تولید رسوب کربنات کلسیم جهت بهبود پارامترهای خاک انجام شده است.^[۴،۵]

روش اخیر با استفاده از علوم شیمی در کنار رشته‌ی عمران از سال ۲۰۰۴ توسط شرکت دلتارس^۱ با همکاری اساتید دانشگاه دلف^۲ در هلند با آزمایش فشاری تک‌محوری بر روی یک استوانه‌ی ۱۶ سانتی‌متری صورت گرفت.^[۷] کربنات کلسیم^۳ یا کلسیت یکی از شایع‌ترین مواد معدنی است که در فرایند رسوب میکروبی کلسیم کربنات پژوهشگران برای انتخاب یک نوع باکتری مناسب در سال ۲۰۰۴ به انجام آزمایش‌های فعالیت اوره‌ی آزی بر روی دو سویه‌ی باکتری باسیلوس پاستوری و پروتئوس ولگاریس^۴ پرداخته‌اند، تا مناسب‌ترین گزینه جهت استفاده در فرایند

* نویسنده مسئول

تاریخ: دریافت ۱۵/۹/۱۳۹۹، اصلاحیه ۱۴/۱/۱۴۰۰، پذیرش ۲۴/۲/۱۴۰۰.

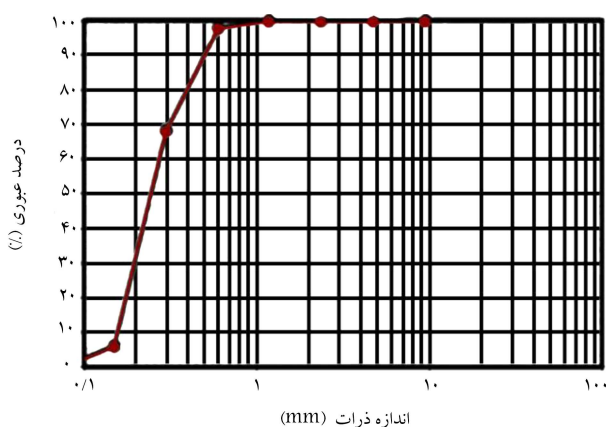
DOI: 10.24200/j30.2021.57034.2875

هیدرولیز اوره را شناسایی کنند. براساس مطالعات صورت گرفته‌ی بی در سال ۲۰۰۴،^[۸] نتیجه‌گیری شد که با توجه به صرفه‌ی اقتصادی و بیماری‌زا نبودن از باکتری باسیلوس پاستوری^۵ استفاده شود و همچنین بررسی عوامل مؤثر در رسوب کلسیت در روش اخیر نشان داد که هر چه دمای محیط بالاتر باشد (تا بیشینه‌ی ۷۰ °C)، میزان فعالیت اوره‌ی آزی آنزیم افزایش می‌یابد.^[۸]

در ادامه، در سال ۲۰۰۶، آثار روش رسوب میکروبی کلسیم کربنات با آزمایش برش مطالعه شده است. نتایج ارائه شده اثبات کرده است که سیمان‌تاسیون در نمونه‌ی ماسه‌ی سُست از طریق مهار و کنترل فرایندهای بیولوژیکی طبیعی قابل ساخت است.^[۹] ضمن آنکه شرایط میکروبیولوژیکی خاک و روش‌های تثبیت خاک از طریق بررسی محیط‌های مناسب جهت رشد باکتری و تزریق باکتری به خاک، از مهم‌ترین بررسی‌ها در سال ۲۰۱۰ بوده است که از نتایج آن به اهمیت روش میکروبیولوژیکی در تثبیت و بهبود خواص خاک اشاره دارد.^[۱۰] در خصوص رسوب میکروبی کربنات کلسیم، مطالعات دیگری صورت گرفته است که می‌توان به پژوهشی در سال ۲۰۱۲ اشاره کرد که هدف آن سنجش مقاومت نمونه‌های تیمار شده نبوده است، بلکه بررسی رسوبات تشکیل شده در اطراف دانه‌های ماسه و نوع آرایش آن‌ها و همچنین بهینه‌سازی واکنش تشکیل کلسیت بوده است.^[۱۱] در این راستا، به منظور بهبود پارامترهای مقاومت برشی طبق مطالعاتی در سال ۲۰۱۵ نشان داده شده است که عامل مهم کنترل رفتار ماسه‌ی سیمانته شده در حالت‌های پیک به

جدول ۱. مشخصات فیزیکی خاک مورد مطالعه.

نوع خاک	چگالی (Gs)	نسبت تخلخل		وزن مخصوص خشک (kN/m^3)
		بیشینه	کمینه	
ماسه (SP)	۲/۶۳	۰/۸۷	۰/۴۲	۱۵/۹

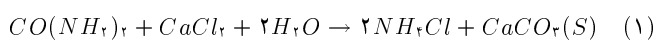


شکل ۱. منحنی دانه‌بندی خاک ماسه‌یی مطالعه شده.

حفره‌ها به حجم دانه‌های جامد تعریف می‌شود که به بیشترین نسبت تخلخل خاک (متناظر با شل‌ترین حالت)، نسبت تخلخل بیشینه و به کمترین نسبت تخلخل خاک (متناظر با سفت‌ترین حالت)، نسبت تخلخل اطلاق می‌شود. براساس استاندارد ASTM-D2487، ضریب یکنواختی (C_u) برابر ۱/۷ و ضریب دانه‌بندی (C_c) برابر ۰/۸ و رطوبت بهینه برابر ۱۲٪ بوده است. همچنین مقاومت فشاری ماسه‌ی تمیز قبل از سمنته شدن معادل ۹۴۳ کیلوپاسکال بوده است.

۲.۲. میکرو ارگانسیم

تاکنون باکتری‌های مختلفی، از جمله هوازی و بی‌هوازی مطالعه شده‌اند که بین آن‌ها باکتری باسیلوس پاستوری که نوعی باکتری هوازی است، بهترین عملکرد را از خود نشان داده است.^[۱۰] باکتری مذکور از خانواده‌ی باسیل‌هاست که ساختار بیضوی شکل دارد و بیماری‌زا نیست و در طبیعت به وفور یافت می‌شود که با نام اسپورسارینا پاستوری^۷ نیز شناخته شده است که قابلیت اوره‌ی آزی دارد. در پژوهش حاضر، از باکتری باسیلوس پاستوری استفاده شده است، که به صورت پودر لیوفلیزه^۸ با شماره‌ی DSM۳۳۳ (DSM۱۶۴۵ PTCC) از مرکز پژوهش‌های صنعتی ایران تهیه شده است. در روش اخیر، دانه‌های خاک به کمک کلسیت حاصل از واکنش اوره و یک منبع کلسیم که عموماً کلسیم کلراید است، به یکدیگر متصل می‌شوند و چسبندگی خاک به میزان قابل توجهی افزایش پیدا خواهد کرد. آنچه که سبب افزایش مقاومت خاک در روش ذکر شده می‌شود، کلسیم کربناتی است که از واکنش میان اوره و کلسیم کلراید حاصل می‌شود. از این روال باکتری باسیلوس پاستوری جهت افزایش سرعت فرایند اخیر و در نقش یک کاتالیزور استفاده می‌شود که محصول آن کربنات و آمونیوم است.^[۱۰] مکانیزم عملکرد کلسیت در افزایش مقاومت خاک در شکل ۲ مشاهده می‌شود. واکنشی که در حضور باکتری باسیلوس پاستوری صورت می‌گیرد، به صورت رابطه‌ی ۱ است:^[۱۱]



که در آن، H_2O آب؛ $CaCl_2$ کلسیم کلراید؛ $CO(NH_2)_2$ اوره؛ $CaCO_3$ کلسیم کربنات؛ NH_4Cl آمونیوم کلراید است.

میزان سطح سیمانی شدن و محدود کردن فشار بستگی دارد.^[۱۲] در همان سال، پژوهش دیگری با هدف ارزیابی عوامل مؤثر در مقاومت برشی خاک بهسازی شده به روش بیولوژیکی با استفاده از روش تاگوچی ارائه شده است. بررسی میزان عوامل در نظر گرفته شده به وسیله‌ی تحلیل واریانس (غلظت باکتری، میزان مواد مغذی، مدت زمان گیرش خاک و نسبت حجمی سوسپانسیون به مواد غذایی) نشان داد که درصد تأثیر عوامل مذکور در مقاومت برشی خاک به ترتیب ۲۲٪، ۲۰٪، ۴۵٪ و ۱۲٪ بوده است.^[۱۳]

ارزیابی تغییر رفتار ماسه‌ها تحت سیمانی شدن بیولوژیکی عنوانی بوده است که در سال ۲۰۱۷ مطالعه شده است. طبق مطالعات اخیر، افزایش چسبندگی، تغییرات زاویه‌ی اصطکاک و سطح تنش این مفهوم را می‌رساند که رفتار مصالح از حالت انعطافی به رفتار مصالح نرم و چسبیده نزدیک شده است.^[۱۴] همچنین بررسی بهبود خواص فیزیکی و دینامیکی خاک ماسه‌یی نرم اطراف رود نیل در مصر (۲۰۱۸) نشان می‌دهد که تزریق باکتری با روش محلول تثبیت نسبت به روش بدون محلول تثبیت در شرایط مشابه مؤثرتر است.^[۱۴] در همین ارتباط مطالعه‌ی (۲۰۱۹) با رویکرد مشابه به منظور جلوگیری از فرسایش خاک‌های دانه‌یی ناپایدار انجام شده و نتایج نشان داده است که روش MICP، خاک دانه‌یی ناپایدار را تثبیت کرده است.^[۱۵]

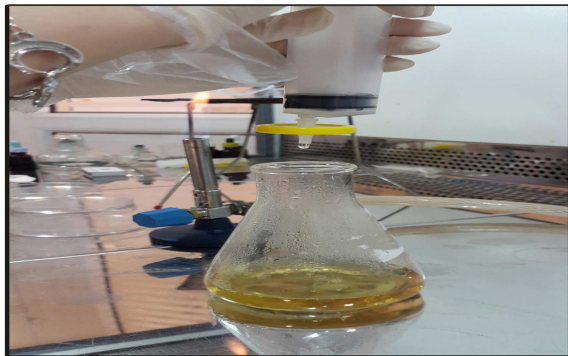
در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی در ارتباط با سیماناسیون بیولوژیکی خاک‌های ماسه‌یی تحت آزمایش‌های مختلفی صورت گرفته است. تعداد دفعات تزریق، زمان لازم برای انجام واکنش بهینه و میزان غلظت مواد و باکتری استفاده شده در مقاومت و سختی نهایی نمونه‌ی ماسه تأثیرگذار است. با توجه به نتایج مطالعه‌ی دیگری در سال ۲۰۲۰، تزریق چندمرحله‌یی محلول می‌تواند نفوذپذیری خاک را به طور مؤثری کاهش دهد. همچنین تزریق چندمرحله‌یی در غلظت‌های مختلف، تأثیر معنی‌داری در میزان مقاومت نمونه داشته است.^[۱۶]

در پژوهش حاضر سعی بر آن بوده است که علاوه بر استفاده از نتایج پژوهش‌های پیشین، نتایج مطلوب و قابل قبولی در ارتباط با تعیین زمان تکمیل واکنش تحت شرایط متفاوت دمایی و مولاریته‌ها و غلظت باکتری مختلف به دست آید. در کنار آن به بررسی پارامتر نفوذپذیری خاک سیمانته شده به عنوان پارامتر کنترل‌کننده پرداخته شده است. در سایر پژوهش‌ها، اکثراً یک پارامتر به صورت متغیر و سایر پارامترها ثابت فرض شده‌اند که مهم‌ترین نوآوری پژوهش حاضر بررسی هم‌زمان سه متغیر: دما، مولاریته‌ی مواد و غلظت باکتری بوده است؛ چه بسا یک مهندس عمران بتواند با در دست داشتن میزان مواد بهبوددهنده‌ی خاک به نتیجه‌ی مطلوبی دست یابد. در نتیجه بررسی میزان غلظت باکتری، دمای مورد آزمایش (برای مرحله‌ی اجرا در فصول مختلف سال و دماهای متفاوت) و مولاریته‌ی مواد مصرفی، اساسی‌ترین موضوع در پژوهش حاضر بوده است.

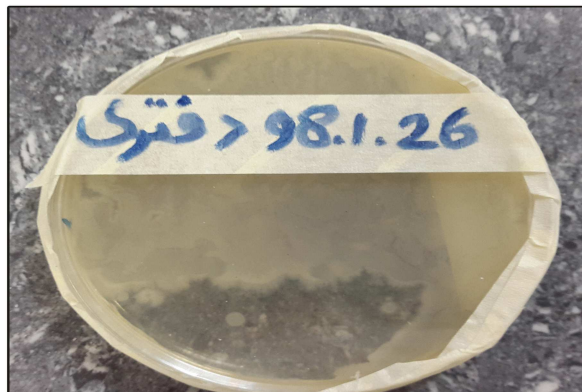
۲. معرفی مواد و مصالح مصرفی

۱.۲. خاک مطالعه شده

در پژوهش حاضر، از خاک ماسه‌یی با دانه‌بندی یکنواخت (SP) و همگن و ایزوتروپ با محدوده‌ی دانه‌بندی خاک بین ۰/۸ تا ۱ میلی‌متر براساس استاندارد ASTM-D-2487 استفاده شده است. مشخصات فیزیکی خاک مورد مطالعه مطابق جدول ۱ بوده است. در شکل ۱، منحنی دانه‌بندی خاک ماسه‌یی مطالعه شده در پژوهش حاضر مشاهده می‌شود. نسبت تخلخل به صورت نسبت حجم



شکل ۳. تزریق محلول اوره با کمک فیلتر اوره.

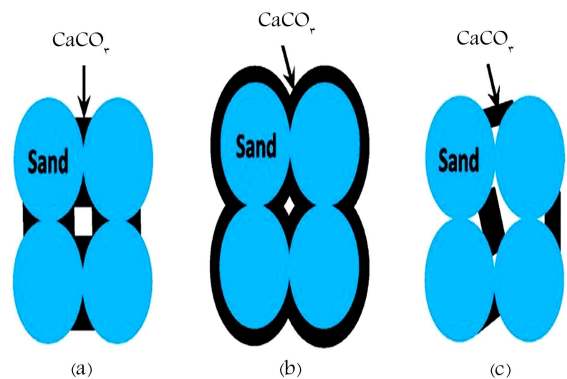


شکل ۴. محیط کشت جامد.



شکل ۵. باکتری جدا شده از محیط کشت.

کشت تزریق شده است. همچنین باید توجه داشت که باکتری‌های هواری برای رشد به اکسیژن نیاز دارند که برای تأمین آن لازم است تا ۲۰٪ از حجم ظرف خالی بماند. بهترین زمان برای جداسازی باکتری‌های بین ۲۴ تا ۴۸ ساعت است. طبق آزمایش‌های انجام شده هر چه به ۴۸ ساعت نزدیک‌تر شود، غلظت باکتری تولید شده در محیط کشت بیشتر است.^[۱۱] به منظور جداسازی باکتری از محیط کشت، از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm استفاده شده است. بعد از اتمام کار، لخته‌ی باکتری باقیمانده با کمک محلول رینگر (یک عدد قرص رینگر حل شده در ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر) رقیق شد (شکل ۵) و برای تعیین غلظت آن که پارامتر مهمی در پژوهش حاضر است، با کمک دستگاه اسپکتوفتومتر که بر روی موج ۶۰۰ nm تنظیم شده بود، اندازه‌گیری صورت گرفت.



شکل ۲. عملکرد مکانیکی کلسیت در افزایش مقاومت خاک.

در سال ۱۹۷۴، درکشور ژاپن در اثر تزریق دوغاب اکریلامید^۹ و ایجاد مسمومیت در آب‌های زیرزمینی، استفاده از دوغاب‌های اکریلامید ممنوع شد.^[۱۸] از طرف دیگر، در بهسازی با مواد متداول، به دلیل وارد کردن یک ماده‌ی خارجی به داخل خاک، علاوه بر اینکه در محیط زیست منطقه اثر سوء می‌گذارد، به دلیل ایجاد یک منطقه‌ی نفوذناپذیر در خاک باعث تغییر مسیر آب‌های زیرزمینی می‌شود که مسئله‌ی اشاره شده می‌تواند کل شرایط زیستی منطقه را دگرگون سازد. اما در روش سیمان‌تاسیون بیولوژیکی از فرایندهای موجود در خود خاک جهت بهسازی و تقویت استفاده شده است.^[۱۹] سیمان‌تاسیون بیولوژیکی می‌تواند به صورت جامد و مایع استفاده شود. در حالت مایع، دوغاب زیستی می‌تواند با ویسکوزیته‌ی بسیار کم، همانند آب جریان یابد. بنابراین در مقایسه با سیمان و مواد شیمیایی، راحت‌تر در داخل خاک انتقال می‌یابد.^[۲۰]

۳. آماده‌سازی نمونه

۱.۳. تهیه‌ی محیط کشت جامد

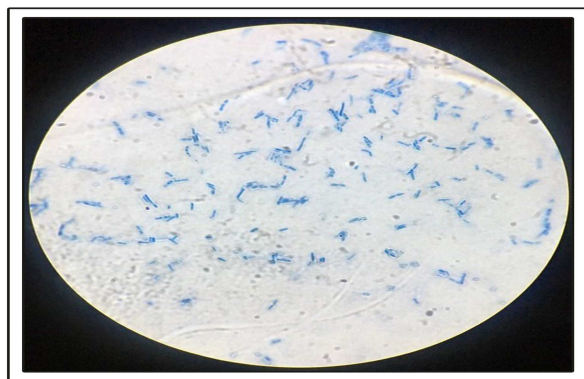
برای تهیه‌ی محیط کشت جامد، ۱/۲ گرم ناترینت آگار^{۱۰} حل شده در ۶۰ سی‌سی آب مقطر که حرارت دیده و شفاف شده بود، داخل دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت، تا کاملاً استریل شود. در ادامه، محلول ۱/۲ گرم اوره به همراه ۶ سی‌سی آب مقطر با کمک فیلتر اوره وارد محیط کشت شد (شکل ۳) و در تعدادی پلیت ریخته و اجازه داده شد تا همانند ژله شود. با کمک نوک آنس، یک لوپ از محیط کشت حاوی باکتری به صورت زیگ زاگ به پلیت منتقل شد و به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت داخل انکوباتور با دمای ۳۰°C قرار گرفت، تا باکتری‌ها در محیط کشت مذکور به رشد مطلوب برسند. سپس پلیت‌ها داخل یخچال در دمای ۴°C نگهداری شدند (شکل ۴). باکتری‌های کشت داده شده در محیط ذکر شده تا یک ماه فعال و قابل استفاده هستند.

۲.۳. تهیه‌ی محیط کشت مایع

از محیط کشت مایع جهت تهیه‌ی سوسپانسیون باکتری استفاده می‌شود. ۱۸ گرم محیط کشت ناترینت براث^{۱۱} حل شده در ۱۰۰۰ سی‌سی آب مقطر در دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ دقیقه در داخل دستگاه اتوکلاو قرار داده شد تا کاملاً استریل شود. سپس به میزان ۲٪ از محیط کشت (۲۰ گرم اوره) در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر حل شده با کمک فیلتر اوره زیر هود لامینار تحت شرایط استریل به محیط



شکل ۷. نمونه‌ی خاک سیمانته شده.



شکل ۶. تصویر باکتری پس از رنگ آمیزی زیر میکروسکوپ.



شکل ۸. نمونه‌ها در حال واکنش با هیدروکلریک اسید.

۳.۳. رنگ آمیزی و سنجش خلوص باکتری

برای اطمینان از خلوص باکتری‌ها، باید آزمایش رنگ آمیزی انجام شود. در ابتدا، مقداری از محیط کشت مایع حاوی باکتری روی لام ریخته شد تا خشک شود. سپس به مدت ۳ دقیقه، تمام سطح به کمک محلول متیلن بلو آغشته شد و در نهایت، برای بررسی فعالیت باکتری‌ها، لایمی که با آب مقطر شسته و خشک شده بود، در زیر میکروسکوپ قرار داده شد (شکل ۶).

۴.۳. ساخت نمونه

در پژوهش حاضر، نمونه‌ها به صورت دو فازی ساخته شده‌اند که در فاز اول محلول سوسپانسیون باکتری و در فاز دوم، محلول حاوی کلسیم کلراید به خاک تزریق شده‌اند.^[۱۱] همچنین خاک مورد مطالعه در ابتدا به صورت غیراشباع بوده است. در مجموع ۶۰ عدد نمونه جهت آزمایش ساخته شده است که شامل ۵۴ نمونه جهت آزمایش اسیدشویی، ۳ نمونه جهت آزمایش نفوذپذیری و ۳ نمونه جهت آزمایش اسکن الکترونی ساخته شده است. محلول سیمانناسیون را می‌توان به صورت ثقلی، به کمک پمپ پرستالتیک و یا با استفاده از شیر تخلیه در پایین قالب تزریق کرد. نمونه‌های نفوذپذیری در ۴ مرحله‌ی تزریق انجام شده‌اند، بدین صورت که در ابتدا مقدار ۲۵۰ سی‌سی محلول باکتری به داخل قالب حاوی ۸۵۶ گرم ماسه اضافه شد و نمونه به مدت ۱ ساعت در حالت اشباع قرار گرفت. سپس به میزان ۲۵۰ سی‌سی محلول تثبیت (با توجه به مولار نمونه‌ی کلسیم کلراید حل شده در آب مقطر) به نمونه تزریق شد و باز به حالت اشباع باقی ماند. بعد از گذشت ۶ ساعت، ۲۵۰ سی‌سی محلول سیمانناسیون و با گذشت ۱۲ ساعت، ۲۵۰ سی‌سی دیگر از آن به نمونه تزریق شد و هم‌همی روند اخیر، بعد از گذشت ۱۲ ساعت دوباره تکرار شد. کمیته‌ی زمان فرآوری موردنیاز برای دستیابی به مقاومت بیشینه، ۲۸ روز تعیین شده است.^[۱۷] در مرحله‌ی آخر، نمونه تا ۳۰ روز در حالت اشباع باقی ماند. سپس داخل آون قرار گرفت تا نمونه‌ها خشک و آماده‌ی آزمایش شوند (شکل ۷). واکنش تشکیل کلسیت در نمونه‌ها در غلظت‌های متعارف واکنش‌دهنده‌ها در مدت زمانی کمتر از ۲۴ ساعت به پایان رسید، اما مشاهده‌های صورت گرفته گویای آن هستند که علی‌رغم پایان یافتن واکنش در ساعت‌های اولیه پس از تزریق، مقاومت نمونه‌ها طی زمان افزایش می‌یابد.^[۲۱]

آوردن زمان بهینه‌ی واکنش به صورت دو فازی، ولی در یک مرحله تزریق، از ۵ ساعت تا ۲۷ ساعت بررسی شدند. با توجه به ابعاد و تعداد نمونه‌ها در مرحله‌ی اول، ۲۵ سی‌سی سوسپانسیون باکتری به خاک تزریق شد و پس از ۱ ساعت محلول تثبیت و پس از ۶ ساعت اشباع ماندن در این حالت، محلول سیمانناسیون به خاک تزریق شد و پس از گذشت زمان‌های موردنظر، نمونه‌ها جهت پایان دادن به واکنش با آب مقطر شسته شدند و به مدت ۵ الی ۷ روز داخل آون قرار گرفتند تا خشک شوند. وزن نمونه‌ها اندازه‌گیری شد، سپس نمونه‌ها با اسید ۵/۰ مولار هیدروکلریک اسید^{۱۲} و نیز مجدداً با آب مقطر برای جلوگیری از واکنش اضافی با اسید شست و شو داده شدند. در اثر واکنش نمونه با هیدروکلریک اسید، گاز کربن دی‌اکسید^{۱۳} نمونه خارج (شکل ۸) و پس از خشک شدن، وزن ثانویه قرائت شده است.

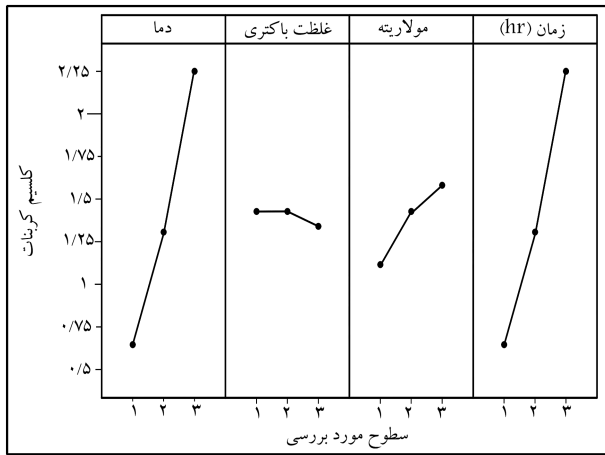
۴. ارزیابی نتایج

در نوشتار حاضر با بررسی اثر رسوب‌های میکروبی کلسیم کربنات و تغییرات در دما، غلظت مواد و غلظت باکتری در نمونه‌ها، این نتایج به دست آمده است. همچنین پس از دستیابی به ۵۴ نمونه و به دست آوردن درصد خطا بین هر دو نمونه‌ی آزمایش، که همگی خطای کمتر از ۰.۸٪ داشته‌اند، برای سهولت کار مقادیر میانگین در نظر گرفته شده است.

۱.۴. ارزیابی آزمایش نفوذپذیری

آزمایش ضریب نفوذپذیری با بار آبی ثابت، یک آزمایش مناسب برای تخمین و تعیین ضریب نفوذپذیری خاک‌های دانه‌ی بی است، که به راحتی قابل آزمایش در آزمایشگاه

۲۷ نمونه در حالت‌های مختلف با ۴ متغیر و ۲ بار تکرار جهت صحت‌سنجی کار (در مجموع ۵۴ نمونه) با ابعاد مشخص (۶۰ mm × ۲۶ mm) جهت آزمایش اندازه‌گیری تکمیل زمان واکنش با میزان حدود ۵۸/۷ گرم خاک ماسه‌ی بی برای به دست



شکل ۱۰. نمودار تحلیل نتایج با استفاده از الگوریتم تاگوچی.

جدول ۳. سطوح مورد بررسی طبق نمودار تحلیل تاگوچی.

سطوح بررسی شده	دما °C	غلظت باکتری (OD)	مولاریته (mol/L)	زمان (hr)
۱	۱۰	۰/۸ - ۱/۲	۰/۳	۱۵، ۱۰، ۵
۲	۲۵	۲ - ۱/۲	۰/۵	۲۵، ۱۴، ۷
۳	۴۵	۴ - ۲	۱	۲۷، ۲۲، ۱۷

به همین دلیل برای دستیابی به بهترین حالت طراحی آزمایش با توجه به زیاد بودن متغیرها از الگوریتم تاگوچی استفاده شده است. نمونه‌ها طبق طرح الگوریتم تاگوچی در نرم‌افزار مینی‌تب آزمایش شدند و نتایج آزمایش‌ها برای تحلیل اولیه در مرحله‌ی دوم دوباره به نرم‌افزار معرفی شدند، تا بیشترین میزان تأثیر را نمایش دهند. تحلیل نتایج تاگوچی (شکل ۱۰ و جدول ۳) نشان داد که در بین ۴ متغیر، بیشترین تأثیر را مستقیماً دما و زمان داشته‌اند. بدین صورت که با افزایش دما و زمان، مقدار کربنات کلسیم بیشتری در نمونه‌ها تشکیل می‌شود. همچنین نتایج حاکی از آن است که در نمونه‌ها حتی در ساعت‌های اولیه هم کلسیم کربنات تشکیل شده است، اما برای نتیجه‌ی بهتر تکمیل واکنش، زمان بیشتری برای نمونه‌ها با غلظت بالاتر نیازمند است. تأثیر مولاریته نسبت به زمان و دما کمتر بوده است، ولی بیان می‌کند که با افزایش غلظت اوره و کلراید کلسیم، کلسیم کربنات بیشتری در نمونه‌ها تشکیل شده است. تغییرات جزئی غلظت باکتری (OD) (حدود ۵٪) را می‌توان خطای آزمایشگاهی محسوب کرد. در نتیجه در ادامه‌ی روند از تغییرات OD صرف‌نظر شده است.

۱.۲.۴. بررسی اثر تغییرات دما در میزان بازدهی کلسیم کربنات در غلظت ثابت

مطابق نمودارهای اخیر، افزایش دما باعث بالارفتن سرعت تشکیل کلسیم کربنات و بازدهی بیشتر در طول زمان واکنش در نمونه‌ها با غلظت یکسان می‌شود. در شکل ۱۱، در ۵ ساعت اول آزمایش با توجه به سه دمای متفاوت آزمایش، نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهند که هر چه دمای نمونه بیشتر شود، میزان رسوبات کلسیم کربنات تشکیل شده بیشتر است و در نتیجه، واکنش در زمان کمتری به بازدهی بالاتر دست می‌یابد. در شکل ۱۱، با دمای ثابت ۱۰°C، درصد بازدهی کلسیم کربنات در ۱۵ ساعته برابر ۱/۸۶٪ و در ۵ ساعته برابر ۰/۶۰٪ است که نسبت دو مقدار مذکور به هم برابر ۱/۴۴٪ بوده است. همین نسبت برای دمای ۲۵°C برابر ۱/۲۶٪ و برای دمای ۴۵°C، ۱/۱۸٪ افزایش را نشان داده است که بیانگر آن است که نمونه در



شکل ۹. انجام آزمایش نفوذپذیری.

جدول ۲. ضریب نفوذپذیری ماسه‌ی سیمانته شده و سیمانته نشده.

شماره‌ی نمونه	مولاریته (mol/L)	ضریب نفوذپذیری (Cm/s)
ماسه‌ی تمیز	-	۰/۰۸
۱	۰/۳	۰/۰۷۴
۲	۰/۵	۰/۰۶۵
۳	۱	۰/۰۵۲

است. نمونه‌های نفوذپذیری با قالب لوله‌ی PVC با قطر ۷ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۴ سانتی‌متر با توجه به ابعاد سل دستگاه نفوذپذیری در سه حالت با غلظت مواد مختلف (۰/۳، ۰/۵ و ۱ مولار) با غلظت باکتری ثابت در بازه‌ی ۰/۸ تا ۱/۲ با یک نمونه‌ی ماسه‌ی سیمانته نشده جهت نمونه‌ی شاهد مقایسه و آزمایش شدند (شکل ۹). نفوذپذیری با هد (بار) ثابت با استفاده از رابطه‌ی ۲ محاسبه شد:

$$k = \frac{Q \cdot L}{A \cdot \Delta h}, Q = \frac{V}{t} \quad (2)$$

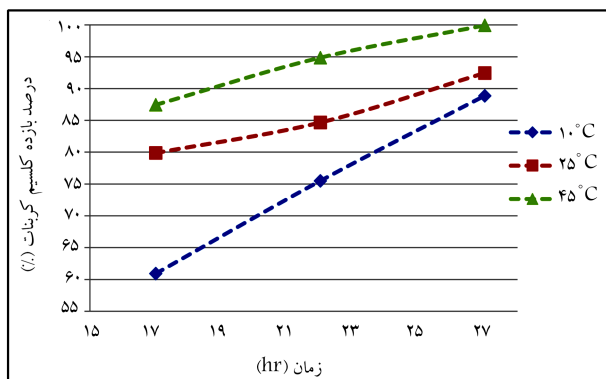
نتایج به‌دست آمده نشان داد که نمونه‌های سیمانته شده، نفوذپذیری کمتری دارند و همچنین نتایج حاکی از آن است که افزایش غلظت مواد در نفوذپذیری تأثیرگذار بوده است. با افزایش غلظت مواد، نمونه‌ها نفوذپذیری کمتری دارند. طبق جدول ۲، نمونه‌ی ماسه‌ی تمیز نسبت به نمونه‌ی ۰/۳ مولار ۷/۵٪، نسبت به نمونه‌ی ۰/۵ مولار ۱۸/۷٪ و برای نمونه‌ی ۱ مولار ۳۵٪ کاهش نفوذپذیری مشاهده شده است.

۲.۴. تکمیل زمان واکنش

در پژوهش حاضر از سه غلظت مختلف مواد ۰/۳، ۰/۵ و ۱ مولار در ۳ غلظت باکتری متفاوت با غلظت‌هایی با بازه‌های ۰/۸ تا ۱/۲، ۱/۲ تا ۲ و ۲ تا ۴ و در سه دمای ۱۰°C، ۲۵°C و ۴۵°C، برای ساخت نمونه‌ها استفاده شده است. اختلاف بین دو وزن اولیه و ثانویه، میزان رسوبات کلسیم کربنات را نشان می‌دهد. مقدار مذکور با مقدار تئوری که از معادلات استوکیومتری به‌دست می‌آید (رابطه‌ی ۱)، میزان بازده واکنش‌ها را نشان می‌دهد و مقایسه صورت می‌گیرد. به دلیل تکرار نمونه‌ها، مقدار میانگین هر دو نمونه‌ی مشابه برای میزان بازده در نظر گرفته شد. طراحی آزمایش‌ها، یکی از مهم‌ترین مباحثی است که امروزه در صنایع مختلف به‌ویژه فعالیت‌های آزمایشگاهی مطرح می‌شود. در واقع طراحی آماری جهت آزمایش‌های تجربی یک اصل اساسی در انجام مطالعات آزمایشگاهی و صنعتی محسوب می‌شود. طراحی‌های آماری باعث دستیابی به نتایج مطمئن‌تر، صرفه‌جویی در زمان و کاهش قابل ملاحظه در تعداد آزمایش‌ها و نیز منجر به بهینه‌سازی فرایند می‌شود؛

جدول ۴. درصد بازدهی کلسیم کربنات در زمان‌های مختلف واکنش نسبت به زمان اولیه انجام آزمایش.

دما	بازده (درصد)	
	۲۵hr Vhr	۱۴hr Vhr
۱۰°C	۱/۶۵	۱/۵۱
۲۵°C	۱/۳۲	۱/۲۷
۴۵°C	۱/۱۶	۱/۱۱



شکل ۱۳. نمودار درصد بازده کلسیم کربنات بر حسب زمان انجام واکنش برای نمونه‌ی ۱ مولار.

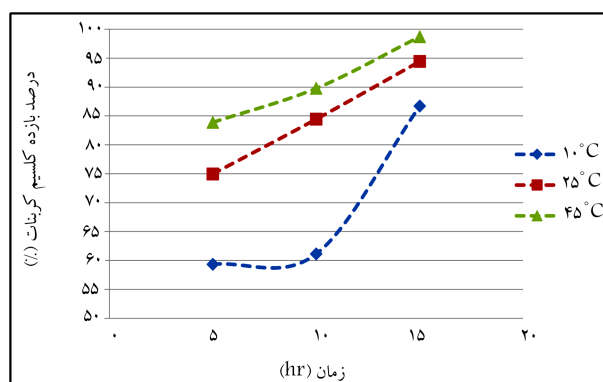
کربنات در نمونه با غلظت بالاتر مشاهده می‌شود. همچنین نسبت‌های بازدهی کلسیم کربنات در دماهای مختلف و میزان افزایش هرکدام طی زمان مشخص در جدول ۴ ارائه شده است.

شکل ۱۳، نمونه‌های ۱ مولار ثابت با شرایط دمایی متفاوت را نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده همانند دو سری نمونه‌ی دیگر حاکی از آن است که دما تأثیر به‌سزایی در روند تشکیل کلسیم کربنات و زمان تکمیل واکنش دارد. در مجموع سه نمودار اخیر بیشترین میزان درصد بازدهی کلسیم کربنات به نمونه با غلظت ۱ مولار و دمای ۴۵°C و در زمان ۲۷ ساعته به میزان ۹۹/۹۲ تعلق گرفته است که نشان‌دهنده‌ی آثار چشم‌گیر هم‌زمان غلظت، زمان و دمای بالا در نمونه است. نمونه‌ها با غلظت بالاتر و دمای بیشتر با سرعت بیشتری به میزان بیشینه‌ی خود می‌رسند. اگر شرایط جوی با دمای پایین رخ دهد، باید برای نتیجه‌ی مطلوب‌تر، زمان بیشتری برای انجام واکنش و در آخر مقاومت بهتر اتخاذ شود.

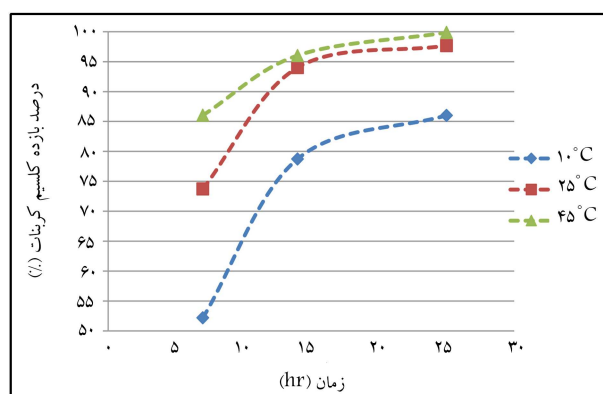
۲.۲.۴. بررسی اثر تغییرات غلظت مواد در میزان بازدهی کلسیم کربنات در دمای ثابت

در مرحله‌ی بعدی به تحلیل نمودارها با دمای ثابت و غلظت‌های مختلف مواد در ساعت‌های متفاوت برای بررسی اثر تغییرات غلظت در روند آزمایش پرداخته شده است (شکل‌های ۱۴ الی ۱۶). دلیل اصلی متفاوت بودن زمان برای نمونه‌ها، غلظت متفاوت مواد است که در پژوهش حاضر برای غلظت‌های بالاتر، زمان‌های بیشتری برای بررسی زمان تکمیل واکنش و بررسی آثار غلظت در نظر گرفته شده است. شکل ۱۴، نمایانگر نمودار نمونه‌ها با دمای ثابت ۱۰°C در غلظت‌های مختلف مواد در زمان‌های انجام آزمایش است. طبق نتایج تغییرات افزایش کلسیت در نمونه‌ی ۳/۰ مولار برابر ۲۷/۲۰، نمونه‌ی ۵/۰ مولار ۳۲/۴۲، دو نمونه‌ی ۱ مولار برابر ۸۹/۶۹ بوده است و نشان می‌دهد که نمونه‌ی ۱ مولار در کمترین زمان بیشترین تغییرات را دارد.

شکل ۱۵، نمونه‌ها با دمای ثابت ۲۵°C در غلظت‌های مختلف را نشان



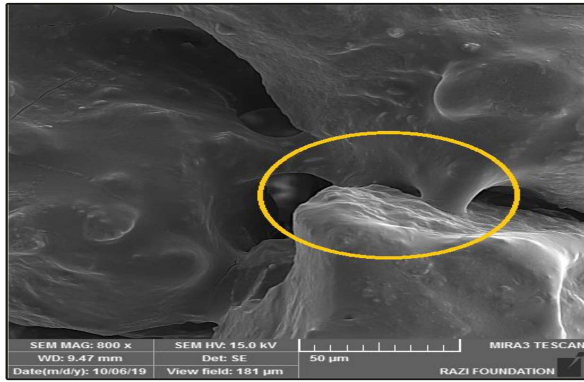
شکل ۱۱. نمودار درصد بازده کلسیم کربنات بر حسب زمان انجام واکنش برای نمونه‌ی ۳/۰ مولار.



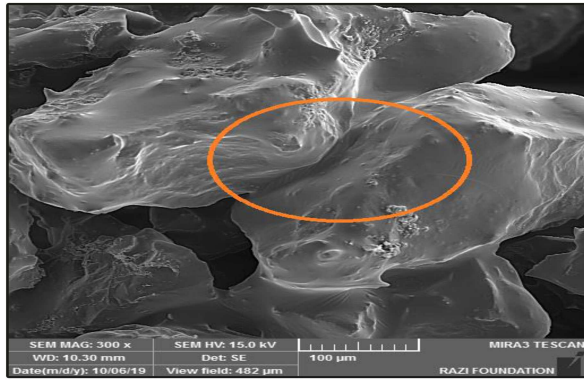
شکل ۱۲. نمودار درصد بازده کلسیم کربنات بر حسب زمان انجام واکنش برای نمونه‌ی ۵/۰ مولار.

دمای ۱۰°C به زمان بیشتری برای رسیدن به میزان مطلوب کلسیم کربنات نیازمند است و نمونه با دمای ۴۵°C، با زمان کمتر و مقدار بیشتر به میزان بیشینه‌ی خود می‌رسد. همچنین نمودار مذکور نشان می‌دهد که تفاوت سرعت واکنش در دمای پایین نسبت به دماهای بالاتر بیشتر است، ولی با افزایش زمان تفاوت آن‌ها به تدریج کاهش می‌یابد، یعنی نمونه‌ها با دمای پایین‌تر، برای تکمیل واکنش خود به زمان بیشتری نیازمند هستند. زمانی که دما از ۱۰°C به دمای بالاتر می‌رود، واکنش‌ها بهتر و منظم‌تر اتفاق می‌افتند و انحنای نمودار برای دمای ۱۰°C، خطای آزمایشگاهی نیست، بلکه نشان می‌دهد با توجه به غلظت مواد، دمای ۱۰°C به زمان بیشتری برای رسیدن به بازدهی مطلوب احتیاج دارد. در شکل ۱۲ نیز برای دمای ۱۰°C، این موضوع تکرار شده است.

شکل ۱۲، نمایانگر تمامی نمونه‌ها با غلظت ثابت ۵/۰ مولار است. نتایج به دست آمده گویای آن است که در نمونه‌های ۵/۰ مولار هم میزان درصد بازدهی کلسیم کربنات در تمامی نمونه‌ها با بازه‌های زمانی مختلف با افزایش دما و زمان افزایش پیدا کرده است. همچنین نمونه‌های ۴۵°C و ۲۵°C در زمان‌های بالاتر رفتاری مشابه از خود نشان داده‌اند و اختلاف بسیار کمی با هم دارند. با گذشت زمان، نتایج نشان می‌دهند که هر سه دما به میزان بیشینه‌ی خود نزدیک می‌شوند؛ ولی همچنان سرعت تکمیل واکنش در نمونه با دمای ۱۰°C، نسبت به دو دمای دیگر کمتر است. بیشترین اختلاف در ساعت اولیه بین نمونه‌های ۱۰°C و ۴۵°C و کمترین اختلاف در ساعت‌های پایانی بین نمونه‌های ۲۵°C و ۴۵°C بوده است. در مقایسه‌ی نمونه‌ی ۵/۰ مولار نسبت به نمونه‌ی ۳/۰ مولار، افزایش میزان کلسیم



شکل ۱۷. آزمایش اسکن الکترونی برای نمونه ۱/۳ مولار.

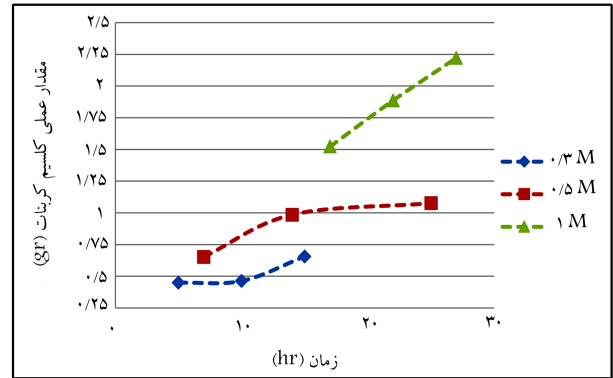


شکل ۱۸. آزمایش اسکن الکترونی برای نمونه ۱/۵ مولار.

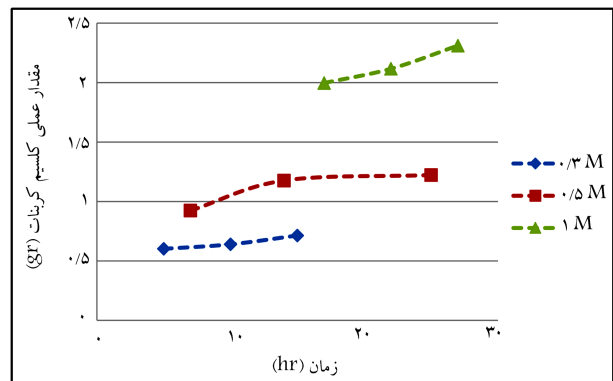
در نمونه‌ها از ۹۴/۱۰٪ برای نمونه ۱/۳ مولار تا ۳۱/۲ برای نمونه ۱ مولار متغیر بوده است. در مجموع، مقایسه‌ی سه نمودار مذکور مشخص می‌شود که کمترین میزان تغییرات با بیشترین میزان کلسیت تشکیل شده در نمونه‌ها برای دمای ۴۵°C بوده است. همچنین در تمامی نمودارهای بخش حاضر، افزایش میزان تغییرات کلسیت دو برابری هر نمونه با غلظت مشخص با نمونه با غلظت بالاتر قابل رؤیت است.

۳.۴. ارزیابی آزمایش اسکن الکترونی^{۱۴}

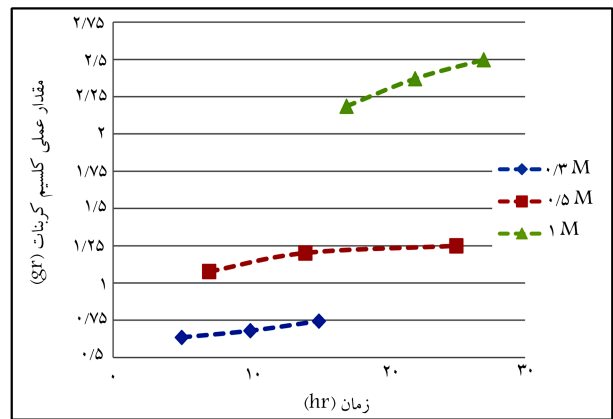
میکروسکوپ الکترونی، از ابزارهای مطالعه در نانوفناوری است که می‌توان به شیوه‌ی بمباران الکترونی، تصاویری از اجسام به کوچکی ۱۰ نانومتر تهیه کرد. اسکن الکترونی، اطلاعاتی مانند خصوصیات سطوح نمونه، شکل، اندازه، و نحوه‌ی قرارگیری ذرات در سطح جسم و طول پیوند و ترکیب اجزاء نمونه را نشان می‌دهد. در پژوهش حاضر، برای نحوه‌ی قرارگیری رسوبات کلسیم در بین دانه‌های خاک، نمونه‌هایی در مرکز بنیاد تحقیقات کاربردی رازی برای آزمایش اسکن الکترونی آزمایش شدند (شکل‌های ۱۷ الی ۱۹). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش اخیر، به‌نظر می‌رسد که واکنش‌های بیولوژیکی در داخل خاک باعث ایجاد رسوبات در بین ذرات خاک می‌شود و پل‌هایی بین دانه‌های خاک ایجاد می‌کند که باعث افزایش مقاومت خاک می‌شوند. رسوبات کلسیت باعث می‌شوند که فضای خالی بین دانه‌ها پر و سپس خاک سخت و پایدار شود، همچنین خصوصیات خاک مورد مطالعه بهبود یابد. به‌نظر می‌رسد که در نمونه‌های ۱ مولار، پیوند محکم و قوی‌تری بین ذرات خاک ایجاد شده است که نتیجه‌ی رسوبات کلسیم کربنات است (طبق نتایج اعلام شده توسط مؤسسه). در نمونه ۱/۳ مولار نیز رسوبات کلسیم کربنات مشاهده شد، ولی پیوند ضعیف‌تری نسبت به دو نمونه دیگر داشت. همچنین از شکل‌ها و



شکل ۱۴. نمودار مقدار عملی کلسیم کربنات برحسب زمان انجام واکنش در دمای ۱۰°C.



شکل ۱۵. نمودار مقدار عملی کلسیم کربنات برحسب زمان انجام واکنش در دمای ۲۵°C.



شکل ۱۶. نمودار مقدار عملی کلسیم کربنات برحسب زمان انجام واکنش در دمای ۴۵°C.

می‌دهد. نتایج نشان داد که تغییرات افزایش کلسیت همانند نمونه در دمای ۱۰°C با افزایش غلظت افزایش نشان داده است، ولی تغییرات افزایش ذکر شده‌ی کلسیت نسبت به دمای پایین‌تر خود تقریباً نصف شده بود، بدین معنی که نمونه‌ها با دمای بالاتر تغییرات کمتری در روند تشکیل کلسیت خود داشته‌اند. این مقادیر برای نمونه ۱/۳ مولار برابر ۱۱/۶۸، نمونه ۱/۵ مولار برابر ۲۹/۸۴ و برای نمونه ۱ مولار برابر ۳۱/۴۲ بوده است.

شکل ۱۶، نیز بیانگر نمونه‌ها با دمای ثابت ۴۵°C است. تغییرات افزایش کلسیت

۲. با توجه به نتایج حاصل و مشاهده‌ی آثار دما در روند آزمایش، نتیجه‌گیری می‌شود که با افزایش دما مقدار رسوبات کلسیم کربنات بیشتر شده است و در دماهای بالاتر (۴۵°C) نمونه‌ها با سرعت بالاتری واکنش خود را تکمیل کرده‌اند که این امر موجب تأثیر در مقاومت خاک و بهسازی بهتر خاک می‌شود.

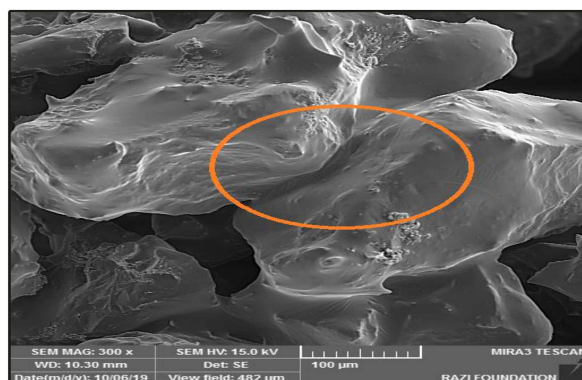
۳. غلظت اوره و کلسیم کلراید تأثیر زیادی در نتیجه‌ی کار داشته است. نمونه‌ها با مولار بالاتر (۱ مولار)، با سرعت و مقدار بیشتری رسوبات کلسیم کربنات را تولید کرده‌اند. بیشترین میزان بازده در نمونه‌ی ۳/۰ مولار برابر ۹۸/۷، در نمونه‌ی ۵/۰ مولار برابر ۹۹/۸۶٪ و در نمونه‌ی ۱ مولار برابر ۹۹/۹۲ بوده است.

۴. طبق نتایج کلسیم کربنات، در همان ساعت‌های ابتدایی، ساخت نمونه‌ها تشکیل شده است. با توجه به غلظت مواد استفاده شده، زمان‌های مختلفی در نظر گرفته شد که نشان داد نمونه‌ها با غلظت بالاتر به زمان بیشتری برای تکمیل واکنش خود نیاز دارند، تا به مقدار ثابتی برسند.

۵. نتایج نشان داد که نمونه‌ها با دمای ثابت ۱۰°C، نیاز به زمان بیشتری برای تکمیل واکنش و مقدار بهینه‌ی کلسیت تشکیل شده در نمونه‌ها دارند. همچنین نمونه‌ها با دمای ثابت با افزایش غلظت مواد به زمان بیشتری برای تکمیل واکنش خود نیازمند هستند.

۶. براساس نتایج حاصل شده، نمونه‌های سیمانته شده نفوذپذیری کمتری نسبت به نمونه‌ی سیمانته نشده دارند. نفوذپذیری نمونه‌ی ماسه‌ی تمیز نسبت به نمونه‌ی سیمانته شده بین (۷٪ نمونه با غلظت ۳/۰ مولار) تا ۳۵٪ (نمونه با غلظت ۱ مولار) کاهش نفوذپذیری مشاهده شده است.

۷. پیوند بین ذرات که با کمک رسوبات کلسیم کربنات در روش اخیر به وجود آمده است، در نتایج قابل رؤیت است. رسوبات کلسیم کربنات موجب پُر شدن فضای خالی بین ذرات می‌شوند که به خودی خود باعث افزایش مقاومت و سختی خاک و در نهایت پایداری خاک می‌شود. نتایج نشان می‌دهند که در نمونه‌ها با مولار بالاتر، پیوند بین ذرات و همچنین طول پیوند بیشتری ایجاد شده است.



شکل ۱۹. آزمایش اسکن الکترونی برای نمونه‌ی ۱ مولار.

شواهد پیدا است که طول پیوند در نمونه‌ی ۱ مولار بیشتر از دو نمونه‌ی دیگر بوده و پیوند کاملاً تشکیل شده است.

۵. نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر به بررسی زمان تکمیل واکنش تحت شرایط متفاوت دمایی، غلظت مواد و غلظت باکتری مختلف در سیمانته‌ی بیولوژیکی خاک‌های ماسه‌یی با دانه‌بندی یکنواخت، همچنین بررسی نفوذپذیری خاک ماسه‌ی سیمانته شده و سیمانته نشده و نحوه‌ی اتصال و پیوند بین ذرات در روش اشاره شده پرداخته شده و این نتایج به دست آمده است:

۱. تغییرات غلظت باکتری در روند واکنش نمونه‌ها و شکل‌گیری رسوبات کلسیم کربنات و زمان انجام واکنش تأثیر به‌سزایی نداشته است. تغییرات غلظت باکتری در بیشترین تغییرات خود حدود ۵٪ تفاوت داشته است که می‌توان جهت صرفه‌ی اقتصادی و افزایش سرعت عمل کار از باکتری با غلظت بازه‌ی پایین در انجام آزمایش‌ها استفاده کرد.

پانویس‌ها

1. Deltares
2. Delf
3. CaCO_۳
4. Proteus Vulgaris
5. Bacillus Pasteurii
6. microbially induced calcite precipitation (MICP)
7. Sporosaricna Pasteurii
8. Lyophilized
9. Acrylamide
10. Nutrient agar
11. Nutrient Broth
12. Hcl
13. CO_۲(g)
14. SEM

منابع (References)

1. Modarresnia, A.R., Mohammadsadeghi, M., Abtahi, M. and et al. "A review microbiological material injection method (Bio-Grout) to strengthen the resistance parameters of loose soils", *1st National Conference on Civil Engineering and Development, Ziba Kenar (in Persian)* (2011).
2. Modarresnia, A.R., Mohammadsadeghi, M., Abtahi, M. and et al. "A review microbiological material injection method (Bio-Grout) to strengthen the resistance parameters of loose soils", *1st National Conference on Civil Engineering and Development, Ziba Kenar (in Persian)* (2011).
3. Chang, L. and Shahin, M.A.A. "Microbially induced calcite precipitation for stabilization", *Ecological Wisdom*

- Inspired Restoration Engineering, pp. 47-68 (2019).
4. Canakci, H., Sidik, W. and Halickilic, I. "Effect of bacterial calcium carbonate precipitation on compressibility and shear strength of organic soil", *Soils and Foundations*, **55**(5), pp. 1211-1222 (2015).
 5. Azadi, M. and Pouri, S. "Effect of biological cementation sandy soil behavior", *SJCE*, **33**(2), pp. 71-77 (in Persian) (2017).
 6. Royne, A. and PHua, Y. "Bio-cementation through controlled dissolution and recrystallization of calcium carbonate", *Construction and Building Materials*, **167**, pp. 657-668 (2018).
 7. Whiffin, V.S. "Biochemical methods for soil improvement", YELGIP Workshop, pp. 1-32 (2006).
 8. Whiffin, V.S. "Microbial CaCO₃ precipitation for the production of Biocement", Ph.D. thesis, School of Biological Sciences & Biotechnology, Murdoch University (2004).
 9. DeJong, J.T., Fritzes, M.B. and Nusslein, K. "Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear", *Journal of Geotechnical and Geo Environmental Engineering*, **132**(11), pp. 1381-1392 (2006).
 10. DeJong, J.T., Mortensen, B.M., Martinez, B.C. and et al. "Bio-mediate soil improvement", *Ecological Engineering*, **36**(2), pp. 197-210 (2010).
 11. Al Qabany, A., Kenichi, S. and Santamarina, C. "Factors affecting efficiency of microbially induced calcite precipitation", *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, **138**(8), pp. 992-1001 (2012).
 12. Feng, K. and Montoya, B.M. "Drained shear strength of MICP sand at varying cementation levels", *ASCE*, pp. 2242-2251 (2015).
 13. Mokhtari, E., Mir mohammad sadeghi, M., Sotodefar, A. and et al. "Evaluation of factors affecting the shear strength of biologically improved soil using Taguchi method", *Modares Civil Engineering Journal*, **16**(3), pp. 191-202 (in Persian) (2015).
 14. Sharaky, A.M., Mohamed, N.S., Elmashad, M.E. and et al. "Aplication of microbial biocementation to improve the PHysic mechanical of sandy soil", *Construction and Building Materials*, **190**, pp. 861-869 (2018).
 15. Haouzi, F.Z., Esnault, A. and Coucelles, B. "Performance studies of microbial induced calcite precipitation to prevent the erosion of internally unstable granular soils", Springer International Publishing AG, part of Springer Nature, pp. 37-49 (2019).
 16. Kakelar, M.M., Yavari, M., Yousefi, M.R. and et al. "The influential factors in the effectiveness of microbial induced carbonate precipitation (MICP) for soil consolidation", *Journal of Human Environment and Health Promotion*, **6**(1), pp. 40-46 (2020).
 17. Van Paassen, L.A., Harkes, M.P., Van Zwieten, G.A. and et al. "Scale up of BioGrout a biological ground reinforcement method", *Proceedings of 17th International Conference on Soil Mechanics and Geotechnical Engineering (ICSMGE)* (2009).
 18. Karol, R.H. "Chemical grouting and soil stabilization", New Brunswick, New Jersey (2003).
 19. Mc Connaughey, T.A. and Whelan, J.F. "Calcification generates protons for nutrient and bicarbonate uptake", *Earth-Science Reviews*, **42**(1-2), pp. 95-117 (1997).
 20. Behzadi Por, H., Pakbaz, M.S and Ghezlbash, GH. "Investigation of the effect of biological process on shear strength of sandy soils by direct shear test", *2th National Conference on Soil Mechanics and Pi Engineering University of Qom* (in Persian) (2017).
 21. Kahani, M. "The effect of calcium carbonate in sandy soils on increasing soil strength", Khajeh Nasir University of Technology (2012).