

مروری بر مطالعات انجام شده در زمینه فرایند MICP و بهسازی زیستی خاک

سپیده آقاعلی زاده^{۱*}، فرزین کلانتری^۱، فائزه قناتی^۲، مصطفی کاهانی^۳

^{۱*} دانشجوی دکتری ژئوتکنیک، دانشکده عمران، دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی

^۱ استادیار، دانشکده عمران، دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی

^۲ استاد، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس

^۳ دکتری ژئوتکنیک، دانشکده عمران، دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی

چکیده

کانی سازی زیستی یک فرایند طبیعی می باشد که توسط موجودات زنده صورت می پذیرد. ترسیب کلسیم القاشدهی میکروبی (MICP) فرایندی می باشد که در آن کانی کلسیم کربنات به سرعت تولید شده و کربنات نقش مقاوم ساز و اتصال دهنده ذراتی همانند خاک را ایفا می کند. در فرایند MICP آنزیم اوره آز نقش اساسی در هیدرولیز اوره دارد که توسط طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها تولید می گردد. فرایند ترسیب کلسیم کربنات القاشدهی میکروبی یک فرایند محیط زیست دوستانه می باشد که می تواند به منظورهای مختلفی از جمله پاک سازی زیستی محیط از آلاینده ها، پایدارسازی خاک، بهبود پساب ها، بهبود مقاومت بتن، کنترل فرسایش، کنترل روانگرایی و... به کار برده شود. در این مقاله سعی شده به صورت مفصل مطالعات صورت گرفته در مورد فرایند رسوب کلسیم کربنات القا شده توسط میکروبی (MICP) و عوامل تأثیرگذار بر آن، بهبود خواص مکانیکی خاک توسط این فرایند و مزایا و معایب استفاده از این روش به منظور بهسازی خاک گردآوری و بحث گردد.

واژه های کلیدی: ترسیب کلسیم کربنات القاشدهی میکروبی (MICP)، بهسازی خاک، باکتری های تولیدکننده آنزیم، اوره آز

۱- مقدمه

طی سالیان گذشته روش‌های مختلفی برای بهبود ساختار خاک‌های ضعیف ارائه گردیده است، از جمله روش‌های اصلاح رایج برای بهبود وضعیت خاک شامل جایگزینی خاک با خاک مقاوم، پایدار کردن شیمیایی به‌وسیله‌ی گروت، استفاده از روش‌های مقاوم‌سازی مکانیکی (متراکم کردن خاک)، تحکیم خاک به‌وسیله‌ی زهکشی و استفاده از ژئوسنتیک‌ها و فولاد برای مقاوم‌سازی خاک می‌باشد (۱). از بین روش‌های مذکور استفاده از گروت برای مقاوم‌سازی خاک مرسوم‌تر می‌باشد؛ اما باید توجه داشت که استفاده از گروت سبب ایجاد مشکلات شدید محیط‌زیستی و از بین رفتن اکوسیستم می‌گردد و به همین دلیل استفاده از این روش مقاوم‌سازی مضر تلقی می‌گردد (۲). با توجه به مشکلات زیست محیطی حاصل از روش‌های مذکور و هزینه بر بودن آنها نیاز جدی به جایگزینی فناوری جدید مقاوم‌سازی خاک داریم که محیط‌زیست دوستانه باشد و بتواند در سطح وسیعی جوابگوی نیاز به بهبود خاک باشد.

به تازگی روشی جهت پایدارسازی خاک با عنوان ترسیب کربنات القا شده توسط میکروبی‌ها (MICP) با استفاده از مفهوم کانی‌سازی زیستی، برای جایگزینی با روش‌های دیگر بهبود خاک پیشنهاد گردیده است که حافظ محیط‌زیست می‌باشد. این تکنیک در مهندسی ژئوتکنیک روشی نسبتاً جدید می‌باشد. در فرایند MICP در حقیقت از مسیرهای متابولیک، باکتری تولیدکننده آنزیم اوره آز برای ترسیب کلسیم کربنات در محیط خاک استفاده می‌شود و موجب سخت شدن و افزایش مقاومت خاک می‌شود (۳). این در حالی است که نفوذ پذیری کافی که مطلوب عملکردهای مهندسی ژئوتکنیکی می‌باشد، حفظ می‌گردد.

فرایند MICP یک فناوری موثر و دوست‌دار محیط‌زیست می‌باشد و می‌تواند به‌منظورهای مختلفی از جمله سیمانته کردن زیستی خاک به کار برده شود. استفاده از میکروارگانیسم‌ها به‌منظور تسریع کننده عمل سیمان‌تاسیون زیستی اولین بار توسط وایفن (۴) و میشل و سانتامارینا (۵) پیشنهاد گردید.

در مطالعه حاضر سعی بر گردآوری تاریخچه‌ی تحقیقات صورت گرفته و دست‌آوردها در زمینه‌ی بهبود وضعیت خاک با استفاده از سیمان‌تاسیون زیستی از طریق MICP صورت گرفته است.

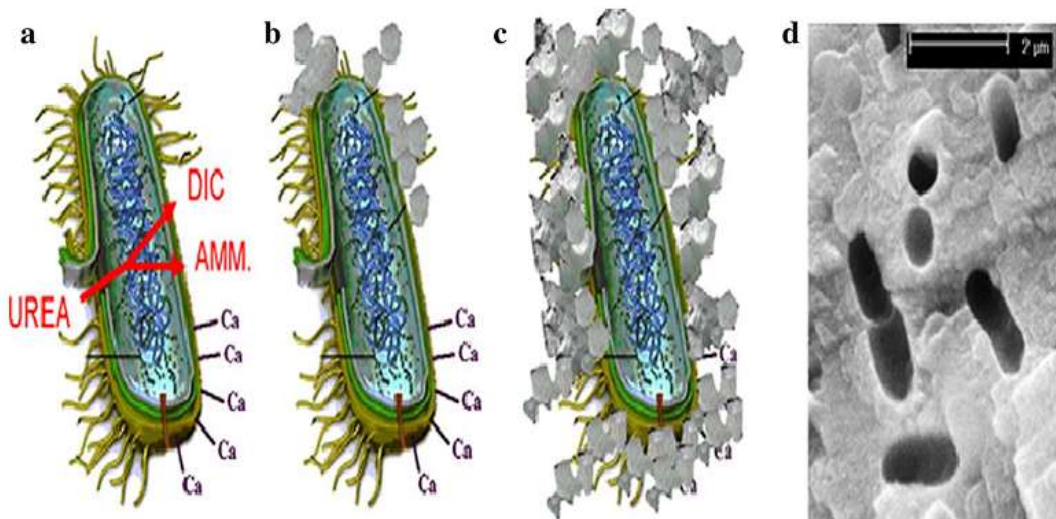
۲- ۱- ترسیب میکروبی کلسیم کربنات القایی (MICP)

کانی‌سازی زیستی تغییرات شیمیایی یک محیط به‌وسیله‌ی فعالیت‌های میکروبی می‌باشد که نتیجه‌اش رسوب کانی‌ها می‌باشد (۶). تا امروز بیش از ۶۰ نوع کانی شناسایی شده است که می‌توان به روش کانی‌سازی زیستی تولید گرد (۷، ۸)، فرایند MICP در حقیقت تشکیل کلسیم کربنات از محلول فوق اشباع به دلیل وجود سلول‌های میکروبی و فعالیت‌های بیوشیمیایی می‌باشد. در طول فرایند MICP، ارگانیسم‌ها می‌توانند یک یا تعداد بیشتری محصولات متابولیک (CO_3^{2-}) را ترشح نمایند که با یون (Ca^{2+}) در محیط واکنش می‌دهد و به پیامد آن کانی‌ها رسوب می‌گردند. قبلاً ترسیب کلسیم کربنات توسط مکانیزم‌های مختلف پیشنهاد شده است که از جمله این مکانیزم‌ها شامل فوتوسنتز، هیدرولیز اوره، احیا سولفات، اکسیداسیون غیر هوازی سولفور، مواد تولیدشده خارج سلولی باکتری می‌باشد. البته از بین این مکانیزم‌ها ترسیب کلسیم کربنات به‌وسیله‌ی باکتری از طریق هیدرولیز اوره رایج‌ترین روش می‌باشد.

توانایی اوره آز در ترسیب کربنات القایی در میکروارگانیسم‌ها به‌وسیله‌ی محققان بسیاری بحث گردیده است. فعالیت اوره آز در طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها وجود دارد؛ اما تنها تعدادی محدود از سویه‌ها ی میکروارگانیسم‌ها مقدار زیادی اوره آز تولید می‌کنند. برای مثال باکتری اسپروسارسینا پاستوری (باسیلوس پاستوری) یک باکتری غیر بیماری‌زا در خاک است که در شرایطی که pH خاک از ۹ بالا می‌رود می‌تواند با تولید فرم مقاوم تر شرایط سخت محیطی را تحمل کند. تعداد زیادی از محققان در مورد استفاده از این سویه‌ی باکتری مطالعات گسترده‌ای انجام داده‌اند (۹). طی این مطالعات آچل و همکارانش

(۱۰) یه سویه تغییر یافته (BP-M-3) از اسپروسارسینا پاستوری MTCC1761 را توسعه دادند که فعالیت اوره آز بالایی دارد و موجب ترسیب بیشتر کلسیم کربنات نسبت به نمونه اولیه می شود.

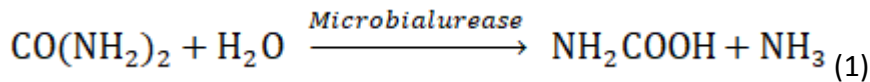
فرایند رسوب کلسیم کربنات (CaCO_3) یک مکانیزم قابل کنترل از طریق فرایند MICP می باشد و می توان با کمک این فرایند در زمان کمی مقدار زیادی کلسیم کربنات تولید نمود. در فرایند MICP واکنش شیمیایی که موجب تشکیل کانی های زیستی می گردد، توسط آنزیم اوره آز کنترل می گردد. تأثیرگذاری اوره آز بر این فرایند شیمیایی از طریق چهار پارامتر می باشد که شامل pH محیط، مقدار کربن غیر ارگانیک (DIC) حل شده در محیط، غلظت کلسیم موجود در محیط و در دسترس بودن هسته ی شکل گیری (میکروارگانیسیم ها) در محیط رسوب گذاری می باشد. سه پارامتر اولی ذکر شده به مقدار غلظت یون کربنات (CO_3^{2-}) در محیط (محیط اشباع) اثر می گذارد. در حالی که آخرین پارامتر برای پایداری و پیوستگی کلسیم کربنات تشکیل شده خیلی مهم می باشد. در فرایند کانی سازی زیستی باکتری به عنوان هسته ی قرارگیری محصولات عمل می کند، بدین صورت که رسوب کلسیم کربنات در اطراف سلول باکتری صورت می پذیرد (۱۱). همه ی این پارامترها بر فعالیت اوره آزی یا تولید کلسیم کربنات اثر می گذارند. سطح سلول های باکتری دارای بار منفی می باشند که موجب به دام انداختن کاتیون های دارای دوبار مثبت می شوند (Ca^{2+} و Mg^{2+}) با اتصال این کاتیون ها به سطح سلول باکتری در pH طبیعی، هسته پایه برای ترسیب کلسیت به وجود می آید. البته مقدار بیشتری یون Ca^{2+} نسبت به یون Mg^{2+} با سطح سلول باکتری اتصال ایجاد می کند که این فرایند به دلیل قدرت بیشتر یون کلسیم برای تشکیل پیوند می باشد به پیامد تشکیل این پیوند یون کلسیم کربنات به شکل جامد در محیط تولید می گردد که در شکل (۱) نحوه ی ترسیب نشان داده شده است. وجود باکتری در محیط برای ترسیب کلسیم کربنات خیلی مهم می باشند چون باکتری ها در حقیقت هسته های تشکیل این رسوبات می باشند و بر نوع کانی تشکیل شده اثر گذار می باشند.



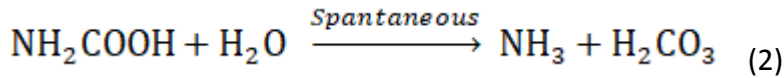
شکل شماره ۱. فرایند ترسیب کلسیم کربنات در اثر فعالیت باکتری تولیدکننده آنزیم اوره آز. (۱۲)

۲-۲- مکانیزم ترسیب کلسیم کربنات

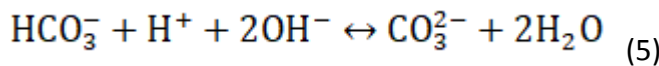
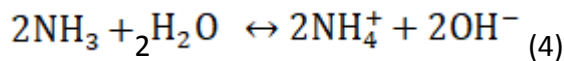
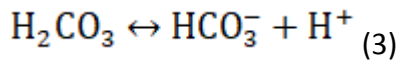
آنزیم اوره آز فرایند هیدرولیز اوره به آمینیوم و کربنات را سرعت می بخشد. همان طور که در فرمول شیمیایی (۱) مشهود می باشد، در این واکنش، یک مول از اوره به یک مول آمینیوم و یک مول اسید کربنیک هیدرولیز می گردد.



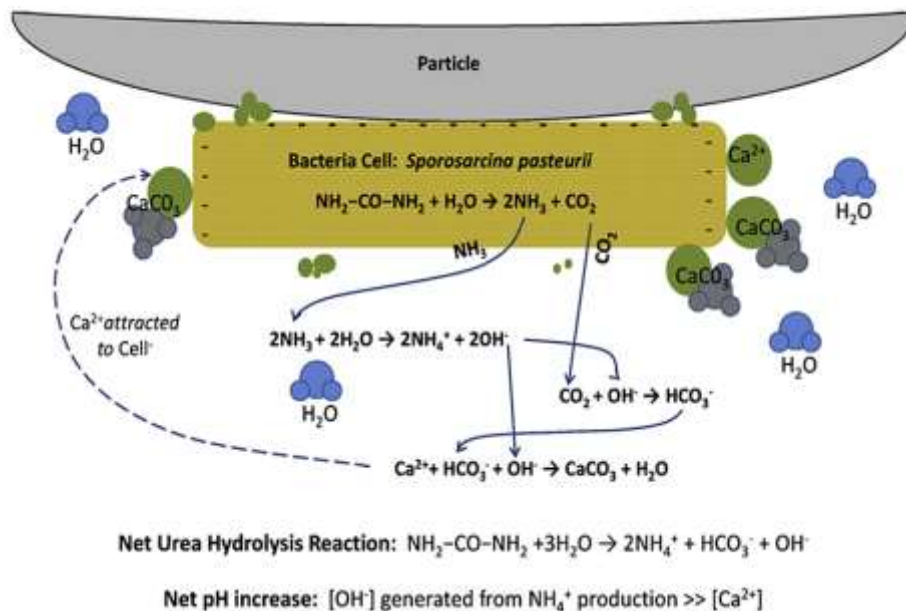
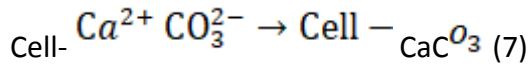
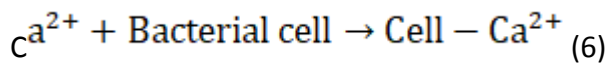
در ادامه مواد حاصل از معادله (۱) در فرایند شیمیایی خود به خودی (۲) به یک مول آمونیاک و اسید کربنیک هیدرولیز می‌گردد.



این دو محصول (آمونیاک و اسید کربنیک) در آب به شکل بی کربنات به تعادل می‌رسد (معادله شیمیایی ۳) و دو مول یون آمینیوم و هیدروکسید مطابق معادله شیمیایی (۴) تولید می‌گردد. یون هیدروکسید تولیدی موجب افزایش pH می‌گردد که موجب تغییر تعادل بی کربنات گردیده و در نتیجه سبب تولید یون کربنات طبق معادله شیمیایی (۵) می‌شود. این تغییر سپس موجب رسوب شدن یون های فلزی می‌گردد. یون آمینیوم تولیدی موجب بالارفتن pH در محیط گردیده و واکنش به صورت پیوسته و خود به خودی به تشکیل کلسیم کربنات منجر می‌گردد.



در صورتی که غلظت یون کلسیم و یون کربنات در محلول به صورت کافی باشد، ترسیب کلسیم کربنات در سطح سلول باکتری مطابق شکل (۲) و معادله شیمیایی (۶) و (۷) اتفاق می‌افتد.



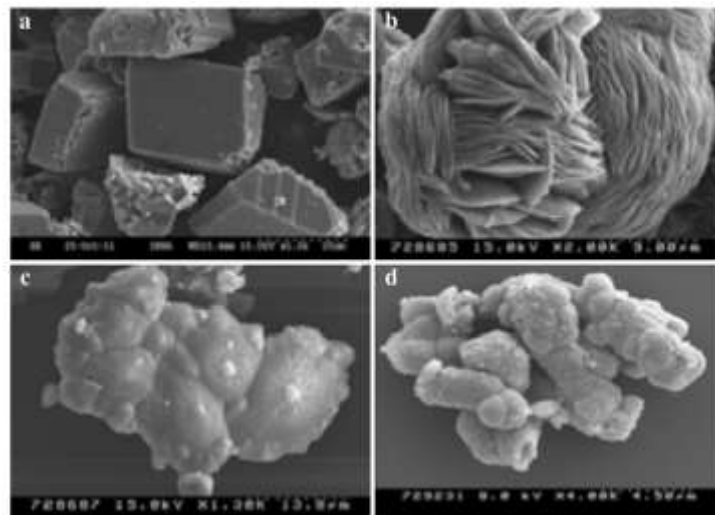
شکل شماره ۲. فرایند ترسیب میکروبی کلسیت به وسیله ی هیدرولیز اوره (۱۳)

۳- چند ریختی های مختلف CaCO_3 و عواملی که بر تشکیل چند ریختی های متفاوت موثر هستند

کانی سازی زیستی می تواند به تولید بلورهای چند ریختی کلسیم کربنات منجر گردد. از جمله این چند ریختی های تولیدی شامل کلسیت، آراگونیت و وتریت و همچنین فازهای کریستالی هیدراته همانند کلسیت تک آبه ($\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) و کلسیت شش آبه ($\text{CaCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) و کلسیم کربنات بی شکل (ACC) می باشد. از میان چند ریختی های مختلف کلسیت و وتریت چند ریختی های رایج تری هستند. وتریت کانی کوچک و کم ثبات می باشد که به کلسیت تغییر می یابد. کلسیت چند ریختی می باشد که بیشترین پایداری ترمودینامیکی را داراست و در اکثر فرایندهای MICP به عنوان محصول اصلی تولید می گردد (۱۴).

ریوادیروا و همکاران (۱۵) گزارش کردند که محصول اصلی باکتری *Deleya-haliphila* کریستال های آراگونیت می باشد. چن و همکاران (۱۶) متوجه شدند که کلسیم کربنات تولیدی به وسیله باکتری *Proteus mirabilis* یک چند ریختی غیر عادی کروی و وتریت می باشند. در حقیقت کلسیت و وتریت فاز جامد کلسیم کربنات می باشند. ترسیب کلسیم کربنات در محلولی که شامل Ca^{2+} و CO_3^{2-} می باشد، حداقل شامل سه مرحله می باشد. در مرحله اول کلسیم کربنات بی شکل که فرمی از CaCO_3 با پایداری حداقل و انحلال پذیری زیاد است، تشکیل می گردد، در مرحله دوم کلسیم کربنات بی شکل به وتریت تبدیل می گردد و در مرحله سوم وتریت به کلسیت تبدیل می گردد.

منابع مختلف کلسیم موجب تشکیل کریستال های القایی به شکل های مختلف می گردد که نمونه های از این اشکال در شکل (۳) نشان داده شده است. در صورتی که در فرایند MICP از محلول CaCl_2 به عنوان محلول سیمانته کردن استفاده گردد، کریستال CaCO_3 حاصله از این فرایند به شکل مکعب های منظم خواهد بود که این نوع کریستال همان کلسیت پایدار می باشد. همچنین تحقیقات نشانگر آن است که انواع دیگر منابع کلسیم موجب القا شدن کلسیم کربنات در اشکال مختلف می گردد. به عنوان مثال کلسیم استات موجب القا شدن کلسیم کربنات به شکل کاهویی و چند لایه ای و وتریت می گردد و همچنین کلسیم لاکتات و کلسیم گلوکانات موجب القا شدن کلسیم کربنات به صورت وتریت کروی می گردد.



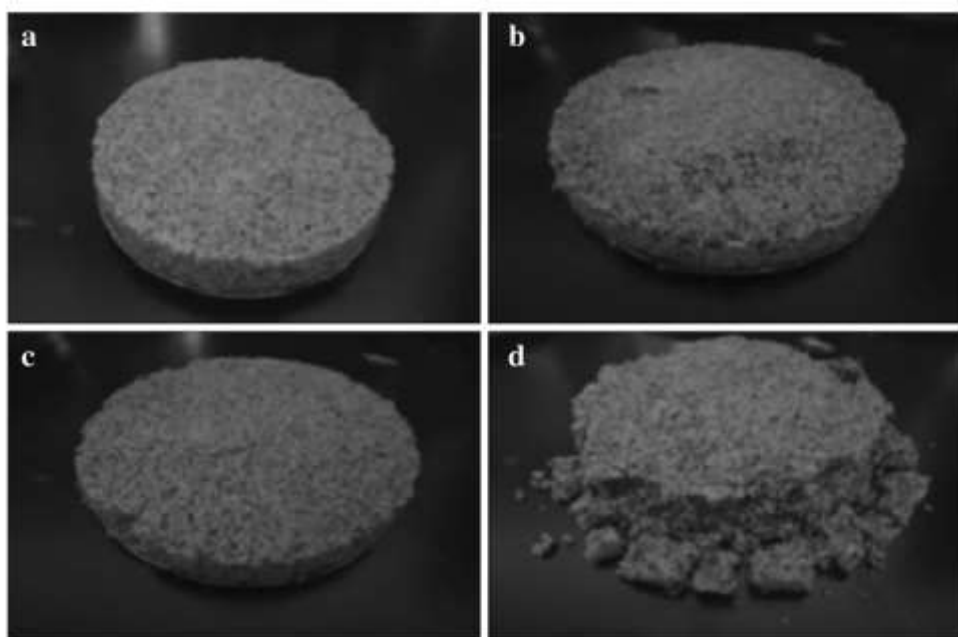
شکل شماره ۳. اثر منابع مختلف کلسیم بر روی کریستال های تشکیل شده، نشان داده شده توسط میکروسکوپ

الکترون روبشی. a. کلسیم کلرید، کلسیم استات، کلسیم لاکتات، کلسیم گلوکانات (17)

کاوکوچی و دکو (۱۸) این تفاوت در شکل کریستال ها را به خاطر فعالیت پروتوئین هایی که خارج از سلول هستند (EPS) و توسط باکتری تولید می گردند ارتباط دادند که موجب می گردد چند ریختی کلسیت یا آراگونیت تولید گردد. هم چنین نوع محیط کشت باکتری می تواند بر شکل این کریستال ها تأثیرگذار باشد.

محققان از منابع کلسیم متفاوتی برای القای کلسیم کربنات با فرایند MICP استفاده نمودند از جمله آشل و پن (۱۹) پس از انجام آزمایش هایی با منابع کلسیم متفاوت در فرایند MICP به این نتیجه دست یافتند که $CaCl_2$ بهترین منبع برای انجام فرایند ترسیب کلسیم کربنات می باشد.

گراسپ (۱۷) از نمک های متفاوت کلسیم در فرایند سیمان تاسیون زیستی برای بررسی پایداری نمونه ماسه که در ظروف مکعبی ریخته بود استفاده کرد که در شکل (۴) قابل مشاهده می باشد. البته در نمونه ی کنترلی که از سلول های باکتری مرده استفاده کرده بود، بعد از باز کردن قالب بلوک، بلوک ماسه ای فرو ریزش کرد.



شکل شماره ۴. بلوک هایی که عمل سیمان تاسیون زیستی بر روی آنها توسط نمک های مختلف کلسیم صورت گرفته است. a. کلسیم کلرید b. کلسیم استات c. کلسیم لاکتات d. نمونه ی کنترلی (۲۰)

۴- میکروارگانیسم های خاک

میکروارگانیسم های خاک دارای انواع گوناگونی می باشد و از میکروارگانیسم های موجود در سایر محیط ها بیشتر می باشند. این تنوع و گستردگی ممکن است به دلیل وجود مواد مغذی و آب در میان خلل و فرج خاک باشد. میزان این میکروارگانیسم در فضای خاک در قسمت های مختلف متفاوت است. این تفاوت ممکن است به این دلیل باشد که فاکتورهای مورد نیاز برای زیست و پرورش این میکروارگانیسم ها به صورت یکسان در عمق خاک گسترش نیافته است. میکروارگانیسم ها در طی ۳,۵ میلیارد سالی که داشته اند با توجه به شرایط های متفاوت محیط از نظر ژنتیکی و هم فیزیولوژیکی تغییر یافته اند. در هر کیلوگرم از خاک های سطح زمین تقریباً 10^9-10^{12} میکروارگانیسم وجود دارد. میکروارگانیسم های موجود در خاک

باکتری، آرکی و یوکاریا می باشند. طبقه بندی میکروارگانیسم ها معمولاً با توجه به دیواره سلولی، شکل، مواد مغذی، نوع تبدیلیات بیوشیمیایی، DNA و RNA شان انجام می شود.

مطابق یافته های میشل و سانتامارینا (۵) فراوترین میکروارگانیسم های خاک باکتری ها می باشند. در صورتی که شرایط برای زیست باکتری ها سخت تر گردد، تعدادی از باکتری ها برای اینکه از بین نروند اسپور (فرم مقاوم باکتری) ایجاد می کنند. باکتری های خاک به صورت تک سلولی می باشند و قطر آنها بین ۰.۵ تا ۳ میکرومتر می باشد و شکل آنها گرد، میله ای یا به صورت مارپیچی می باشد.

مطالعات نشان داده است که باکتری ها می توانند در محیط های با درجه اسیدی بالا و پایین و محیط های نمکی زیست نمایند. همچنین باکتری ها در دمای متفاوت از پایین به بالا که می تواند زیر نقطه ی ذوب یا بالای نقطه ی جوش باشد و در فشار های بالا قادر به زیستن می باشند.

اکثر باکتری ها که در مجاورت سطح زمین که pH آب بین ۵ تا ۷ می باشد، در سطح خود دارای بار منفی می باشند. بار منفی سطح این باکتری ها با افزایش غلظت یون ها در فضای بین خلل و فرج خاک کاهش می یابد (۲۱).

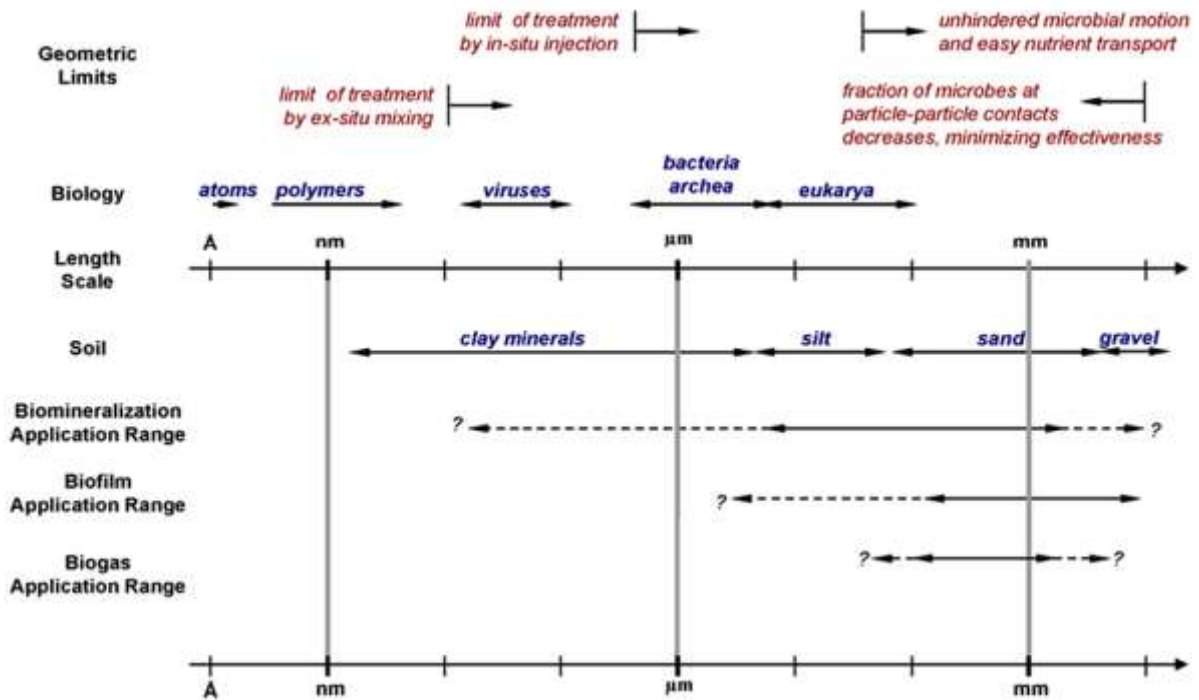
بعضی از باکتری ها قادر به تولید آنزیم اوره می باشند. از این باکتری ها در فناوری بهبود وضعیت خاک به صورت زیستی استفاده می گردد. عملکرد باکتری ها براساس پاسخ آنها در برابر غلظت بالای آمونیوم به دو دسته تقسیم می شوند. دسته ی اول شامل باکتری هایی هستند که در صورت بالا بودن غلظت آمونیوم آنزیم اوره از تولید نمی کنند، این گروه باکتری شامل *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella aerogenes*، *Alcaligenes eutrophus*، *Bacillus megaterium* می باشد. دسته ی دوم باکتری هایی هستند که در غلظت ها بالای آمونیوم به فعالیت اوره آزی خود ادامه می دهند. که در جدول (۱) آورده شده است.

جدول شماره ۱. میکروارگانیسم هایی که فعالیت اوره آزی آنها در غلظت های بالا از یون آمونیوم متوقف نمی گردد (۴).

Microorganisms	High activity	Not repressed by NH ₄ ⁺	Not pathogenic or genetically modified
<i>Sporosarcina pasteurii</i>	Yes	Yes	Yes
<i>Proteus vulgaris</i>	Unknown	Yes	Moderately
<i>Proteus mirabilis</i>	Unknown	Yes	No
<i>Helicobacter pylori</i>	Yes	Yes	No
<i>Ureplasma (Mollicutes)</i>	Yes	Yes	No

همه ی میکروارگانیسم هایی که برای عملکرد کانی سازی مناسب می باشند دارای فعالیت اوره آزی می باشند. این میکروارگانیسم ها باید در طول فرایند بهسازی خاک و پس از آن باید به محیط زیست آسیبی وارد نکنند. در نتیجه باکتری های دارای فعالیت اوره آزی نباید آسیب زا باشند.

در شکل (۵) ابعاد ذرات خاک و میکروارگانیسم ها بایکدیگر مقایسه گردیده است. در خاک های با دانه بندی درشت دانه باکتری ها آزادانه در بین ذرات معدنی خاک حرکت کرده و ممکن است به سطح این ذرات بچسبند و عمل سوخت و رساز خود را انجام داده و پسماندهایی تولید نمایند.



شکل شماره ۵. مقایسه ی اندازه هندسی ذرات خاک و میکروارگانیسم ها (۱۳)

۵- فاکتورهای تأثیرگذار بر فرایند MICP

۱-۵- دما

دمای ایده آل اثر خوبی بر روی عمل ترسیب کلسیت توسط باکتری ها و افزایش توانایی سوپه های باکتری در شکل دادن کریستال ها دارد. بهینه ترین دما برای بیشترین فعالیت اوره بین ۳۷-۲۰ درجه ی سانتی گراد می باشد (۲۲). زمانی که دما از ۱۰ به ۱۵ درجه ی سانتی گراد افزایش می یابد فعالیت اوره از دو برابر می گردد و با افزایش دما از ۱۵ به ۲۰ درجه سانتی گراد فعالیت اوره از پنج برابر می گردد (۲۳). در دمای بالاتر از ۶۰°C تولید کلسیم کرنات به دلیل مرگ میکروارگانیسم ها متوقف می گردد (۲۴). چن و همکاران (۲۵) اثر دما بر مقاومت نمونه ها که با فرایند MICP بهبود یافته بودند را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند در دمای ۵۰°C زمان ترسیب نسبت به دمای ۲۵°C، ۳ برابر کاهش می یابد و مقاومت نمونه خاکی که در ۵۰ درجه عمل آوری شده است، نسبت به نمونه ای که در دمای ۲۵ درجه ی سانتی گراد عمل آوری شده است ۶۰% کمتر است. دامی و همکاران (۲۶) به این نتیجه دست یافتند که آنزیم اوره آز در دمای ۳۵°C کاملاً پایدار می باشد اما پس از افزایش دما به ۵۵°C فعالیت آنزیم تا ۴۷% کاهش می یابد. ون پاسن (۲۷) به این نتیجه رسید که هیچ گونه فعالیت آنزیمی در دمای کمتر از ۵°C اتفاق نمی افتد. طبق تحقیقات کلارا ساراچو و همکاران برای باکتری های *S. newyorkens* و *S. aquimarina* که از ته دریا ایزوله گردیده اند دمای بهینه برای فعالیت آنزیم اوره آز بین ۴ تا ۱۵ درجه ی سانتی گراد می باشد. این در حالی است که باکتری اسپوروسارینا در این دما تقریباً غیر فعال می باشد (۱۴).

۲-۵-pH

مقدار pH بر ترسیبات کلسیت اثر دارد به دلیل اینکه آنزیم اوره آز تنها در pH مخصوص به آبکافت اوره فعال می‌باشد. باکتری‌هایی که فعالیت اوره آز دارند می‌توانند موجب تولید یون آمونیوم و یون بی‌کربنات شوند بنابراین موجب بالا رفتن pH در محیط می‌گردند که نتیجه‌ی آن تولید CaCO_3 در محیط می‌باشد. آنزیم اوره آز فرایند آبکافت اوره به یون آمونیوم و CO_2 سرعت می‌بخشد که در نتیجه‌ی آن pH و غلظت کربنات در محیط باکتریایی افزایش می‌یابد. برای تولید یون آمونیوم از طریق فرایند هیدرولیز اوره، بالا بودن pH محیط خیلی مهم می‌باشد. باکتری‌های هوازی از طریق تنفس سلولی CO_2 تولید می‌کنند که این خود در کمک به بالا رفتن pH محیط موثر می‌باشد. (۲۸)

بهینه‌ترین فرایند MICP در PH بین ۸،۳-۹ اتفاق می‌افتد که در شکل (۶) نشان داده شده است (۲۹). مطابق نتایج تحقیقات پاپسکو (۳۰) وقتی که از آمونیاک برای تشکیل CaCO_2 استفاده می‌شود مقدار PH بین ۸-۱۱ می‌باشد. اخیراً محققان تحقیقاتی بر روی باکتری‌های تولیدکننده آنزیم اوره آز نمک دوست انجام داده‌اند و نتایج نشان‌گر آن است که این باکتری‌ها در غلظت‌های بالای نمک غیر ارگانیک و pH بالای ۸،۵ هم قادر به انجام فرایند ترسیب کربنات می‌باشند.

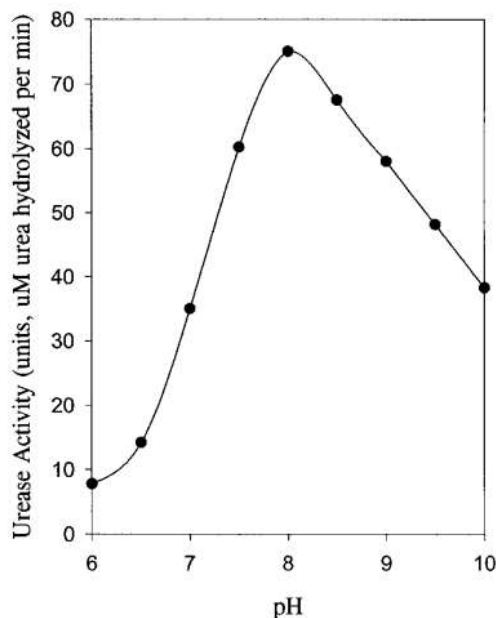


Fig. Effect of pH on urease activity from the cell-free extract of *B. pasteurii*.

شکل شماره ۶. منحنی نشان‌گر فعالیت آنزیم اوره آز در pH های مختلف (۲۹)

۳-۵-باکتری‌ها

از آنجایی که باکتری‌ها تنها موجودات زنده فعال در فرایند MICP می‌باشند بنابراین فاکتوری بسیار مهم در فرایند ترسیب کربنات می‌باشند. باکتری‌ها از جنبه‌های متفاوتی می‌توانند در فرایند ترسیب تأثیرگذار باشند که در زیر به آنها اشاره گردیده است.

۱-۳-۵- نوع باکتری

نوع باکتری می‌تواند بر فعالیت اوره آزی باکتری تأثیرگذار باشد و به تبع آن کارایی فرایند MICP را کنترل کند. مطالعات زیادی در مورد نحوه ی اثر نوع باکتری در ترسیب سنگ آهک صورت گرفته است. باکتری که به فرایند هیدرولیز اوره سرعت ببخشد برای انجام فرایند MICP مناسب می‌باشد و این باکتری ها اکثرا تولیدکننده آنزیم اوره آزی می باشند. استفاده از باکتری *Bacillus pasteurii* یا *Sporosarcina pasteurii* برای انجام فرایند MICP در بین محققان رایج می‌باشد که این انتخاب به دلیل توانایی تولید مقدار زیادی رسوبات کربنات در زمان کوتاه می‌باشد (۳۱)(۳۲) انواع باکتری‌های تولیدکننده آنزیم اوره آزی شامل *Clostridium*, *Sporosarcina*, *Bacillus*, *Sporosarcina*, *Sporosarcina*, *Desulfotomaculum* می‌باشند (۳۳).

۲-۳-۵- غلظت باکتری

مطابق تحقیقات اوکودا و لی (۲۲) غلظت بالای سلول های باکتری (10^6 تا 10^8 سلول) باعث افزایش مقدار رسوبات حاصل از فرایند MICP می‌گردد. این عمل به دلیل بالا رفتن غلظت آنزیم اوره آزی تولیدی توسط باکتری ها که موجب آبکافت اوره می‌گردند انجام می‌پذیرد.

مطابق تحقیقات ان جی و همکاران (۳۴) سلول های باکتری به عنوان پایگاه هسته ای برای رسوب گذاری کلسیم کربنات به کار می‌روند، در نتیجه در دسترس بودن باکتری ها برای انجام عمل ترسیب خیلی مهم می‌باشد. استاکس- فیشر و همکاران در سال ۱۹۹۹ (۲۹). ترسیب $CaCO_3$ به روش MICP و روش شیمیایی در pH ۹ مورد مقایسه قرار داند و نتایج نشان گر آن بود که 98% از Ca^{2+} اولیه اضافه شده به نمونه ای که با فرایند MICP بررسی می‌شد ترسیب گشته است؛ اما تنها 54% از این Ca^{2+} در فرایند شیمیایی ترسیب گشته است. این اختلاف در رسوب گذاری به دلیل وجود سلول های باکتری در فرایند MICP می‌باشد که به عنوان هسته ی رسوب گذاری عمل می‌کنند و محیط قلیایی جهت رشد این رسوبات کلسیم کربنات ایجاد می‌نمایند.

۳-۳-۵- اندازه و شکل باکتری

اندازه باکتری ها در رسوب گذاری باکتری می‌باشد. اندازه باکتری ها معمولا بین 0.5 تا 3 μm می‌باشد، اما سلول های میکروبی رشته ای می‌توانند تا $100\mu m$ طول داشته باشد، که این موجب می‌شود این باکتری‌های رشته ای نتوانند در خاک نفوذ کنند. در صورتی که خلل فرج و خاک اشباع باشند و اندازه ی باکتری‌های موجود در محیط $1.0\mu m$ باشند (مانند *S. pasteurii*) غلظت باکتری می‌تواند تا 10^8 cell/ml افزایش یابد. در نتیجه انتقال و غلظت میکروب های موجود در محیط خاکی به اندازه، ویژگی های سطح سلول و حالت فیزیولوژیکی آن بستگی دارد (۳۵).

۴-۵- اندازه ذرات خاک

اندازه خلل و فرج خاک باید به اندازه ی کافی باشد تا میکروب های با اندازه $0.5 - 3\mu m$ بتوانند در میان آنها انتقال یابند. رباتا-لاند (36) مطلوب ترین اندازه خاک که باکتری ها بتوانند فعالیت خود را در بین خلل و فرج آنها انجام دهند بین 50-

400 μm گزارش کردند. سازگاری اندازه ی ذرات خاک و اندازه ی باکتری ها یک فاکتور مهم برای انجام فرایند MICP می باشد.

۵-۵- مواد مغذی

باکتری ها تنها ارگانیسم ها ی دخیل در فرایند MICP می باشند که برای انجام و ادامه فعالیت های متابولیسم خود که منجر به ترسیب کربنات می شود نیازمند منبع انرژی (مواد مغذی) می باشند؛ که این مواد غذایی هم در مرحله کشت باکتری و هم در عمل آوری خاک مورد نیاز باکتری می باشد. مواد مغذی معمول باکتری شامل CO_2 ، N، P، K، Mg، Ca و... می باشد اما هزینه ی مربوط به این مواد مغذی بالا می باشد (5)، همچنین مواد غذایی جایگزین به جای مواد مغذی مذکور پیشنهاد گردیده است. از مزایای این مواد غذایی جاگزین کم هزینه بودن و حافظ محیط زیست بودن آن می باشد. مشخصات طبیعی باکتری های کشت شده نشان داده است که عملکرد باکتری S. Pasteur در محیط های حاوی پروتئین بالا می باشد، مطابق گزارشات متعدد ارائه شده طی مطالعات اخیر از 3g/l مواد مغذی برای انجام فعالیت باکتری و تولید آنزیم اوره آز استفاده می گردد.

۵-۶- درجه ی اشباع

چنج و همکاران (۳۷) اولین کسانی بودند که توانایی کنترل پراکندگی کریستال های CaCO_3 و تماس بین ذره ای خاک را با استفاده از کنترل درجه اشباع خاک در طی فرایند MICP مطرح کردند. ایشان چند نمونه با درجه اشباع های متفاوت و با مقدار رسوبات کلسیم کربنات یکسان را به لحاظ مقاومتی این نمونه ها مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه دست یافتند که مقدار مقاومت حاصل از نمونه هایی که در درجه ی اشباع پایین سیمان تاسیون زیستی گردیده اند بالاتر از نمونه های با همان مقدار کلسیم کربنات ترسیبی و با درجه ی اشباع های بالاتر سیمان تاسیون یافته، می باشد. به دنبال این تحقیقات چنج و همکاران در سال ۲۰۱۳ کارایی نمونه های خاک که با فرایند MICP بهبود یافته بودند را در درجه های اشباع متفاوت ۲۰، ۴۰، ۶۰، و صد درصد مورد بررسی قرار دادند. وبه این نتیجه دست یافتند که مقاومت حاصله از نمونه ی در ۲۰ درصد درجه ی اشباع بهبود یافته، کارایی مناسب تری دارد.

۵-۷- نحوه ی تزریق باکتری و محلول سیمانته کاری در خاک

برای انجام مناسب فرایند MICP باید از روش مناسب تزریق استفاده نمود. چندین روش برای تزریق در روش MICP استفاده می گردد. فاکتور مهم برای دست یافتن به ترسیب مناسب کلسیم کربنات در خاک پخش یکنواخت سلول های باکتری و ثابت و پایدار شدن آن ها در فضای نمونه خاک برای انجام عمل ترسیب می باشد. مخلوط کردن سلول های باکتری و محلول سیمانته کاری با هم دیگر قبل از تزریق آن به خاک موجب لخته شدن باکتری و رشد کریستال ها می گردد. در حالی که از این روش ممکن است برای عمل آوردن خاک های سطحی استفاده شود، خاک هایی که شامل دانه های درشت می باشند به صورت درجا با محلول حاصل مخلوط می گردند. این روش ممکن است منتهی به گرفتگی سریع نقاط تزریقی و خلل و فرج ریز اطراف نقطه ی تزریق گردد (38). استراتژی دیگری که برای تزریق استفاده می گردد تزریق دو فازی می باشد، به این صورت که ابتدا محلول سلول های باکتری به خاک تزریق می گردد و در ادامه محلول سیمانته کاری به محیط خاک اضافه می گردد. این

استراتژی موجب می‌گردد که از تجمع کریستال‌ها در اطراف نقطه‌ی تزریق جلوگیری گردد و توزیع CaCO_3 تقریباً به صورت یکنواخت در فضای خاک صورت پذیرد (39).

۶- انواع روش‌های تزریق

درحقیقت دو روش برای تزریق وجود دارد. در روش اول محلول باکتری بر روی سطح خاک مورد نظر پاشیده می‌شود و بعد از این مرحله محلول سیمانته کاری به سطح نمونه پاشیده می‌شود. در این روش تزریق نیروی گرانش زمین تنها عامل حرکت و نفوذ محلول باکتری و محلول سیمانته کاری در خاک می‌باشد. مطابق تحقیقات (۴۰) در این روش تزریق خاک تا عمق دو متری از سطح زمین با موفقیت سیمانی می‌گردد. از مهمترین مزایای این روش تزریق عدم نیاز به ماشین‌آلات سنگین برای بهبود وضعیت خاک می‌باشد. این نوع تزریق برای خاک‌های ریزدانه که نفوذپذیری آنها کم است، مناسب نمی‌باشد. تحقیقات نشان‌گر آن است که برای خاکی که اندازه‌ی دانه‌های آن کمتر از 0.3mm می‌باشد تنها تا عمق یک متری خاک عمل سیمانته کاری صورت می‌پذیرد. خاک‌هایی درشت‌دانه‌ای که با این روش تزریق تا عمق دو متری سیمانی شده بودند دارای مقاومت 850 kPa تا 2067kPa حاصل از آزمایش مقاومت فشاری تک محوره (UCS) می‌باشند.

در روش دوم در ابتدا محلول باکتری با استفاده از ماشین‌آلات مکانیکی با خاک مخلوط می‌گردد تا باکتری‌ها به صورت همگن در تمام نقاط خاک پخش گردد (۴۱) (۴۲). مطابق تحقیقات (۴۳) مقدار مقاومت حاصل از آزمایش UCS بین 1.6 MPa و 400 KPa می‌باشد. اگر چه در این روش مقاومت نمونه‌ها بیشتر مقاومت حاصل از سایر نمونه‌ها نمی‌باشد ولی عمل ترسیب به صورت یکنواخت در تمام نقاط خاک اتفاق می‌افتد. آزمایشات نشان‌گر آن است که ۸۳٪ از کلسیم کربنات رسوب شده در این روش به صورت یکنواخت در فضای خاک پخش گردیده است. (۴۴)

۷- کاربردهای فرایند MICP

فرایند MICP یک فناوری موثر و محیط‌زیست دوستانه می‌باشد که برای حل مشکلات مختلف محیط‌زیستی از قبیل پاک‌سازی مواد پرتوزا و فلزات سنگین مانند مس، کلسیم، کروم، سرب، آرسنیک و...، تحکیم زیستی، سیمانته کردن زیستی، و به دام انداختن CO_2 و... به کار می‌رود. فرایند MICP با اینکه به صورت آزمایشگاهی بهینه گردیده است اما کاربرد این روش در مقیاس بزرگ و در زمینه‌ی کار بزرگتر در مراحل اولیه می‌باشد و بسیاری از محققان درحال بررسی کارایی کاربرد این فرایند در مقیاس بزرگ مثلاً ستون‌های طویل خاک با سطح بزرگتر می‌باشند تا بهینه‌سازی در مقیاس بزرگ نیز موثر گردد.

۸- بررسی خواص ژئوتکنیکی خاک‌های که به صورت زیستی سیمانی (Bio-Cemented Soils) گردیده اند

۸-۱- نفوذپذیری

ارزیابی نفوذپذیری به دلیل بررسی توانایی محیط متخلخل برای انتقال سیال انجام می‌پذیرد. در استفاده از فرایند MICP نفوذپذیری خاک از اهمیت بسیار بالایی دارد به دلیل اینکه این فناوری برای خاک‌هایی مانند خاک‌های درشت‌دانه (مانند ماسه و شن) که نفوذپذیری مطلوبی دارند به کار می‌رود. همچنین خاک‌های متخلخل که نفوذپذیری بالایی دارند می‌توانند از افزایش فشار آب حفره‌ای در طی بارگذاری خاک جلوگیری کنند. به طور کلی فرایند MICP مقاومت خاک را بالایی برد در

حالی که نفوذ پذیری کافی برای خاک را هم از بین نمی برد (در مورد خاک های سیمانته شده ی زیستی) و یا موجب گرفتگی کامل فضای متخلخل خاک می گردد.

مطابق تحقیقات (۴۵) برای اینکه محلول باکتری و محلول سیمان تاسیون تا عمق مطلوبی از خاک نفوذ نمایند و رسوبات CaCO_3 به صورت همگن در عمق خاک پخش گردد، خاک مورد نظر باید حداقل دارای نفوذ پذیری $1 \times 10^4 \text{ m/s}$ باشد.

مطابق تحقیقات (۴۶) فرایند MICP در مقایسه با سایر روش های سیمانی کردن خاک (مانند استفاده از سیمان پرتلند معمولی) تا مقدار زیادی موجب حفظ نفوذ پذیری خاک می گردد.

مطابق تحقیقات (۲۷) نمونه های خاکی با ترسیب 100 kg/m^3 بهبود یافته اند مقدار نفوذ پذیری آنها نسبت به حالت بهبود نیافته خود ۶۰٪ درصد کاهش می یابد. نفوذ پذیری نمونه خاک های بهبود یافته با محلول سیمان تاسیونی که غلظت بالایی (0.5- 1 M) دارد کمتر از نمونه هایی است که با محلول سیمان تاسیون با غلظت پایین (0.1- 0.5 M) بهبود یافته اند.

اگرچه عمل سیمان تاسیون زیستی موجب حفظ نفوذ پذیری خاک می گردد، اما می توان از آن برای مسدود کردن حفرات خاک نیز استفاده کرد که به صورت عمده ای ضریب هدایت هیدرولیکی خاک را کاهش می دهد. مفهوم مسدود کردن زیستی حفرات خاک (Bio- Clogging) توسط ایوانوو و چو (۴۷) معرفی گردید که شامل پرشدن حفرات خاک با ترسیب CaCO_3 حاصل از فعالیت باکتری می باشد.

۲-۸- تخلخل

تخلخل مشخصه ی مقدار فضای خالی در خاک می باشد. کیان و همکاران (۴۸) میزان کارایی سیمانته شدن زیستی خاک را به مشخصه ی تخلخل در نمونه های ماسه بهبود یافته نسبت دادند به صورتی که هرچه تخلخل خاک بیشتر کاهش یابد فرایند سیمان تاسیون موفقیت آمیزتر می باشد و متوجه شدند که در طی فرایند MICP میزان تخلخل خاک تا ۲۵٪ کاهش می یابد. کاهش تخلخل خاک در نمونه های بهبود یافته به دلیل ترسیب CaCO_3 در حفرات خاک می باشد. همچنین با افزایش درجه ی سیمان تاسیون خاک مقدار CaCO_3 رسوب شده در و اندازه ابعاد این رسوبات افزایش می یابد که موجب افزایش مقاومت می گردد.

۳-۸- سختی

سختی خاک که معمولا با نام مدول الاستیسیته خاک (E شناخته می شود، نسبت تنش به کرنش می باشد. سختی خاک به مقدار استحکام اتصال ذرات خاک مرتبط می گردد. مطابق تحقیقات (۴۶) مدول الاستیسیته ماسه سیمانته شده زیستی با مدول الاستیسیته مربوط به انواع دیگر مصالح حاصل از زمین مانند شن و بتن مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج نشان گر آن است که ماسه بهبود زیستی یافته انعطاف پذیر تر از سایر مصالح آزمایش شده می باشد.

اخیرا محققان مطالعاتی در خصوص اثر نوع مواد مختلف مورد استفاده برای سیمانی کردن خاک های دانه ای (از جمله سیمان پرتلند، سنگ گچ و سیلیکات سدیم) بر سختی و مقاومت این نوع خاک ها انجام دادند. مطابق تحقیقات (۴۶) با افزایش محلول سیمان تاسیون در فرایند MICP، سختی ماسه عمل آوری شده زیستی بالاتر می رود.

۴-۸- مقاومت برشی

مقاومت برشی خاک در حقیقت مقدار تنش برشی می باشد که خاک در تنش های پایین تر از آن پایدار می باشد و وابسته به پارامترهای مقاومت خاک شامل چسبندگی (C) و زاویه اصطکاک (Φ) می باشد. مطابق تحقیقات (49) مقاومت برشی خاک

های ماسه ای مستعد روانگرایی که به روش MICP عمل آوری شده اند با توجه به سرعت موج برشی وابسته به درجه سیمان‌تاسیون این خاک ها می‌باشد. مقاومت برشی خاک سیمانته شده‌ی زیستی با افزایش چسبندگی حاصل از فرایند سیمان‌تاسیون افزایش می‌یابد در حالی که زاویه ی اصطکاک داخلی خاک مستقل از فرایند سیمان‌تاسیون زیستی عمل می‌کند و فرایند سیمان‌تاسیون بر افزایش یا کاهش این پارامتر اثری ندارد. در مقابل این نتایج چوو و همکاران سال ۲۰۱۱ طبق آزمایشاتی که درمورد مقاومت برشی نمونه های عمل آوری شده زیستی به وسیله باکتری *Sporosarcina pasteurii* انجام داده بود به این نتیجه دست یافت که تغییر زاویه ی اصطکاک داخلی نمونه های بهبود یافته بیشتر از تغییراتی است که در پارامتر چسبندگی این نمونه ها اتفاق می افتد.

چنج و همکاران در سال ۲۰۱۳ مطالعاتی بر روی چسبندگی و زاویه اصطکاک نمونه های خاک سیمان‌تاسیون زیستی شده برای درجه ی اشباع متفاوت انجام داد و نتایج نشانگر آن بود که در درجه اشباع های پایین مقدار بهبود چسبندگی از زاویه اصطکاک داخلی بیشتر است؛ اما در صورت کلی بدون توجه به درجه ی اشباع زاویه اصطکاک داخلی و چسبندگی هر دو افزایش می‌یابد و موجب افزایش مقاومت برشی خاک می‌گردد.

۵-۸- مقاومت فشاری تک محوره

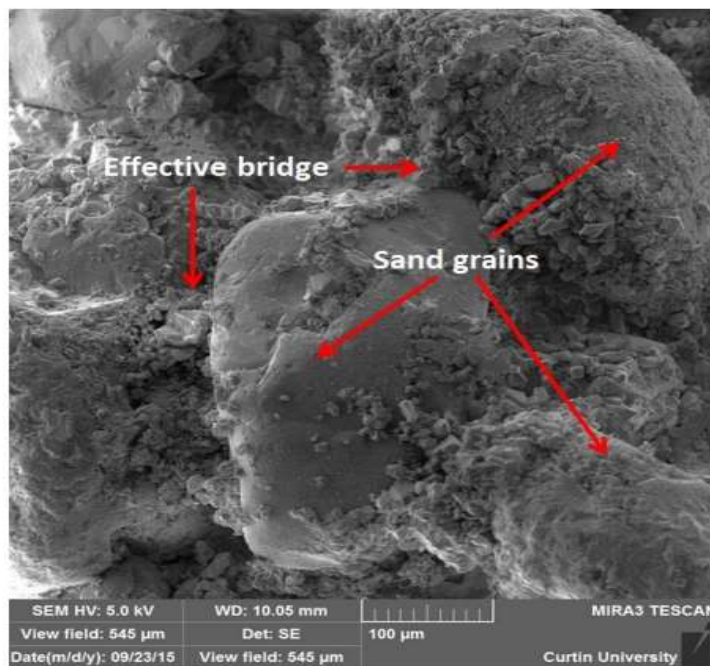
مقاومت فشاری تک محوره رایج ترین آزمایش استفاده شده برای بررسی مقاومت خاک های سیمان‌تاسیون زیستی شده می‌باشد. یکی از مهمترین دلایل استفاده از این معیار اندازه گیری این است که در زمان کم می‌توان تعداد بیشتری نمونه خاک را مورد آزمایش قرار داد. مطالعات صورت گرفته حاکی از آن است که کمترین مقدار مقاومت تک محوری حاصله از نمونه های سیمان‌تاسیون زیستی یافته برابر 150 kPa و بیشترین مقاومت حاصله برابر 34 MPa می‌باشد. وان پس و همکاران در سال ۲۰۱۰ طبق آزمایشات ارتباطی نمایی بین کلسیم کربنات ترسیبی و مقاومت فشاری تک محوره حاصل از نمونه های سیمان‌تاسیون زیستی یافته را به دست آورد. پاسخ مکانیکی خاک های سیمان‌تاسیون زیستی یافته به مقدار زیادی به کارایی و میزان CaCO_3 ترسیب یافته بستگی دارد (۵۰).

۶-۸- ساختار

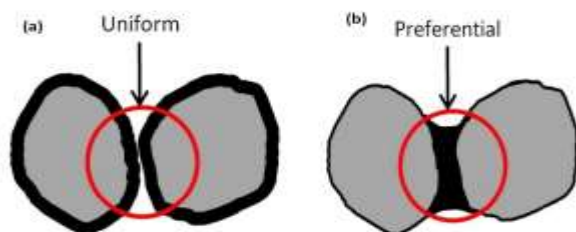
مکانیزم اتصال ذرات در خاک های سیمان‌تاسیون زیستی یافته به گونه ای است که موجب قوی تر شدن این خاک ها می‌گردد. میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای محققان امکان مشاهده و بررسی نحوه ی اتصال ذرات خاک به وسیله ی کریستال های CaCO_3 حاصل از فرایند MICP را فراهم آورده است و موجب شده است که محققان بینشی را برای توضیح مکانیزم بهبود خاک های سیمان‌تاسیون یافته به دست آورند.

چنج و همکارانش در سال ۲۰۱۳ به این نتیجه دست یافتند که نحوه ی ترسیب کریستال های CaCO_3 در بین حفرات ماسه نه تنها با مقاومت برشی خاک های سیمانی شده زیستی مرتبط می‌باشد بلکه شکل کریستال های ترسیب گشته به عنوان پل اتصالی ذرات نیز بر مقاومت برشی حاصله تأثیرگذار می‌باشد. در شکل (۷) نمایی از این اتصال ذرات نشان داده شده است. دی جانگ و همکاران در سال ۲۰۱۰ توضیحاتی در ارتباط با روشن کردن نحوه ی گسترش CaCO_3 در فضای خالی بین ذرات خاک ارائه نمودند. ایشان دو نوع متفاوت ترسیب کلسیم کربنات در بین ذرات خاک را معرفی کردند. در نمونه ی اول CaCO_3 به صورت یکنواخت در اطراف ذره های خاک ترسیب می‌یابد که در این نوع ترسیب اتصال بین ذرات خاک بسیار اندک

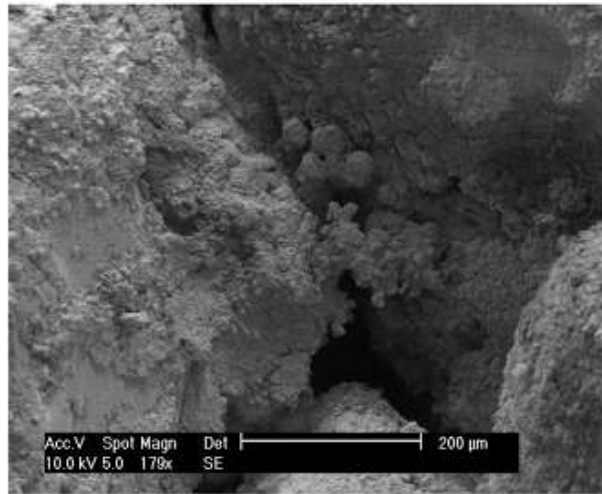
می‌باشد. در نمونه ی دوم (preferential distribution) که به گسترش ترجیعی معروف می‌باشد، ذرات خاک توسط رسوبات CaCO_3 به یکدیگر اتصال می یابند. شکل (۸) به صورت شماتیک هر دو نوع گسترش CaCO_3 را در بین ذرات خاک نشان می دهد. در شکل (۹) هم تصویر واقعی (SEM) از نحوه ی گسترش کلسیم کربنات در بین ذرات خاک نشان داده شده است.



شکل شماره ۷. نحوه ی اتصال موثر ذرات خاک در فرایند MICP (Cheng et al. 2013)



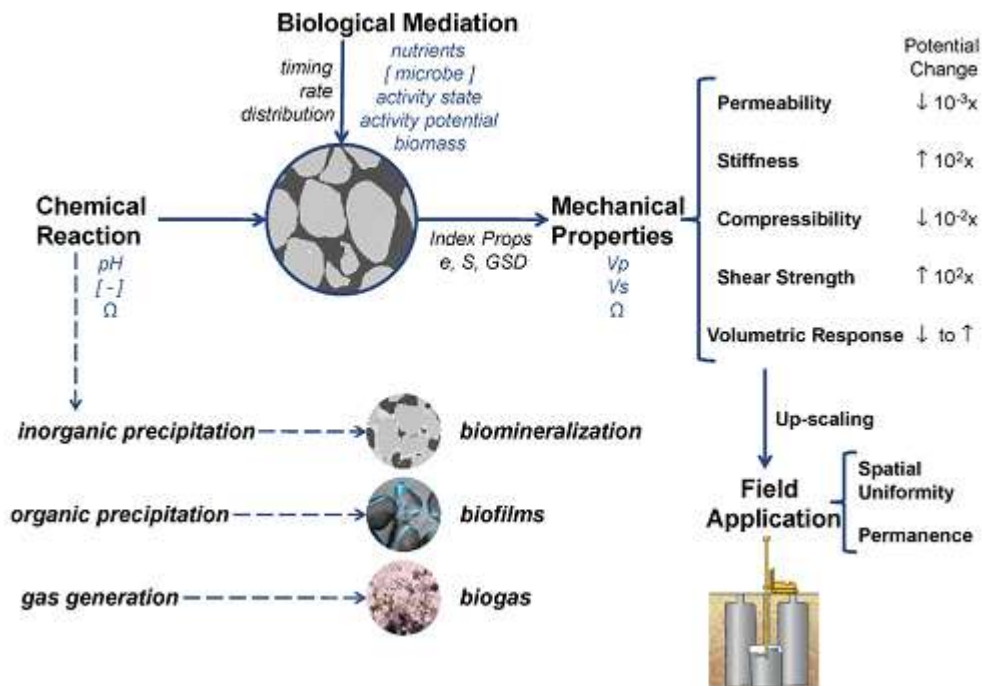
شکل شماره ۸. نحوه ی گسترش کلسیم کربنات در اطراف ذرات خاک (DeJong. 2010)



شکل شماره ۹. اتصال واقعی ذرات خاک در فرایند MICP (46)

۷-۸- سرعت موج برشی

یک فناوری غیر مخرب برای ارزیابی مقاومت خاک استفاده از المان خمشی (BE) می‌باشد. مونتایا و دیجانگ (۵۱) با استفاده از سرعت موج برشی سختی خاک سیمان‌تاسیون زیستی شده در محدوده کرنش‌های کوچک را مورد بررسی قرار دادند؛ و به این نتیجه دست یافتند که درجه ی سیمان‌تاسیون خاک با مقاومت برشی و سختی خاک رابطه دارد، به این صورت که با افزایش درجه سیمان‌تاسیون خاک مقاومت برشی و سختی خاک افزایش می‌یابد. در شکل (۱۰) خصوصیات خاک‌هایی که فرایند MICP بر روی آنها انجام شده است به صورت شماتیک آورده شده است.



شکل شماره ۱۰. بازنگری بر خاک‌های بهبود یافته زیستی و تغییر خصوصیات ژئوتکنیکی خاک (۱۳)

۹- کاربردهای خاک سیمانتاسیون شده زیستی

فرایند MICP با اینکه به صورت آزمایشگاهی بهینه گردیده است اما کاربرد این روش در مقیاس بزرگ و در زمینه‌ی های کاربردی بزرگتر در مراحل اولیه می‌باشد و بسیاری از محققان در حال بررسی کارایی کاربرد این فرایند در مقیاس بزرگ مثلا ستون های طویل خاک با سطح بزرگتر می باشند تا بهینه سازی در مقیاس بزرگ نیز موثر گردد. فرایند سیمانتاسیون زیستی در خاک ها می‌تواند به منظور خود ترمیمی خاک، پایداری شیب ها، کاهش نشست، کنترل فرسایش و جلوگیری از روان گرایی به کار رود.

۱۰- مزایا و معایب استفاده از فرایند سیمانتاسیون زیستی در خاک ها

۱۰-۱- هزینه

فرایند MICP از جهت اقتصادی نسبت به سایر تکنیک های بهبود خاک به منظور سیمانتاسیون خاک مقرون به صرفه تر می‌باشد. اگرچه قیمت اولیه استفاده از روش سیمانتاسیون زیستی نسبت به سایر عوامل سیمانتاسیون گران تر است اما مطابق تحقیقات وایفین در سال ۲۰۰۷ (۳۹) فرایند MICP موجب موجب ذخیره شدن هزینه ها می‌گردد به این دلیل که آنزیم تولیدی توسط باکتری می‌تواند در چند زمینه به منظور بهبود خاک با استفاده از همان محلول سیمانتاسیون زیستی به کار برده شود. در نتیجه کاربرد چند جانبه از فرایند MICP موجب کمتر شدن هزینه ها نسبت به سایر روش ها می شود. مشابه این نتایج در گزارشات اسماعیل (۵۲) و آل تاوادی در سال ۲۰۱۳ (۵۳) آورده شده است.

مطابق تحقیقات ایوانو و چو (۴۷) مقایسه بین مواد اولیه استفاده شده در سیمانی کردن با استفاده از مواد شیمیایی و میکروپ ها نشانگر آن است که سیماتاسیون شیمیایی از سیمانتاسیون زیستی ارزان تر می‌باشد؛ و ایشان به این نکته هم اشاره کردند که با اینکه سیمانتاسیون زیستی به لحاظ هزینه بالاتر می‌باشد اما مواد تولید شده مضر و سمی برای محیط زیست در فرایند شیمیایی بیشتر از فرایند زیستی می‌باشد. تعدادی از محققان هم برای پایین آوردن هزینه ی سیمانتاسیون زیستی استفاده از آب دریاها که یون Ca^{2+} در آن ها وجود دارد به جای کلسیم کلرید تجاری که موجب کمتر شدن هزینه ی استفاده از فرایند MICP می‌گردد استفاده کرده اند (۵۴).

۱۰-۲- قابلیت اطمینان

در واقع قابلیت اعتماد فرایند MICP به توانایی این روش برای ارجعیت یافتن در بین روش‌های بهبود خاک مرتبط می‌گردد. فرایند MICP با توجه به موقعیت خاک و کارکرد مورد نظری که از خاک انتظار می رود توانایی تنظیم آسانی به منظور بهینه کردن عملکرد مطابق این نیاز ها را دارد. همگنی و توانایی رسوبات کلسیم کربنات در فرایند MICP قابل کنترل می‌باشد و این ویژگی های فرایند MICP موجب ترغیب به استفاده از این فناوری برای بهبود وضعیت خاک ساختگاه ها شده است.

۱۰-۳- محدودیت استفاده برای خاک های مختلف

از معایب استفاده از فرایند MICP برای بهبود وضعیت خاک توانایی کاربرد این روش برای خاک با اندازه مشخص می‌باشد. مطابق تحقیقات فراگاسی در سال ۲۰۱۱ (۵۵) تکنیک مرسوم در فرایند MICP برای خاک با ذرات به ابعاد ۰.۵ تا ۳ میلی متر

مناسب می‌باشد. در نتیجه یکی از درگیری های اساسی در حال حاضر استفاده از این روش برای خاک های با ابعاد کوچکتر مثلا رس ها و لای ها می‌باشد.

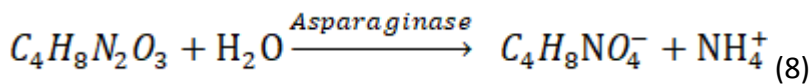
۴-۱۰- همگنی و یکنواختی خاک عمل آوری شده

همگن بودن خاک عمل آوری شده (پراکندگی یکنواخت ترسیبات کلسیم کربنات در فضای خاک عمل آوری شده زیستی در تمام ارتفاع نمونه) یکی از مولفه های بحرانی می‌باشد که نیازمند توجه می‌باشد (۵۶). برای به دست آوردن نمونه ی همگن عمل آوری شده در آزمایشگاه چند روش پیشنهاد گردیده است و این روش برای نمونه های خاک با مقیاس کوچک کاربرد دارد در نتیجه برای بررسی همگنی و کارایی این روش در مقیاس بزرگ نیازمند بررسی بیشتری می‌باشیم.

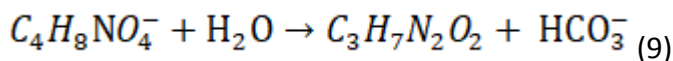
۵-۱۰- مواد حاصل از فرایند MICP

یکی از معایب هیدرولیز اوره در فرایند MICP، تولید آمونیاک به عنوان ماده جانبی می‌باشد که برای سلامتی انسان مضر می‌باشد. برای مقابله با این مواد تولیدشده محققان دو استراتژی پیشنهاد نمودند: بیش از منتشر شدن آمونیاک در محیط آمونیاک حاصل از فرایند MICP در محیط تصفیه گردد و استراتژی دوم استفاده از آمونیاک تولیدی در محیط به عنوان کود برای گیاهان محیط می‌باشد.

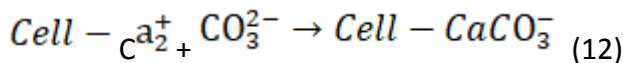
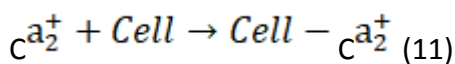
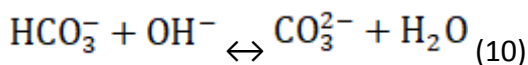
برای کاهش تولید آمونیاک در فرایند MICP لی و همکاران در سال ۲۰۱۵ (۵۷) استفاده از آنزیم آسپارژیناز به جای اوره از را پیشنهاد کردند. آنزیم آسپارژیناز موجب سرعت بخشیدن به هیدرولیز آسپارژین می‌گردد. فرایند ترسیب یون کلسیم در حضور آنزیم آسپارژیناز به صورت زیر می‌باشد.



Asparaginase Aspartate



Alanine



۱۱- تعاریف

اوره آز (urease):

اوره آز آنزیمی است که بعضی از ارگانیسم ها آن را تولید کرده و اوره را به دی اکسید کربن، آب و آمونیاک هیدرولیز می کنند. آمونیاک در محلول به کربنات آمونیوم تبدیل شده و باعث قلیایی شدن محیط و بالا رفتن pH می شود.

آسپارژیناز (asparaginase):

آسپارژیناز یک آنزیم هیدرولاز می‌باشد که آسپارژین را به آمونیوم و آسپارتیت تبدیل می‌کند.

آبکافت (Hydrolyze):

واژه Hydrolyze برگرفته از کلمه یونانی hydro به معنی "آب" و klysis به معنی "جدا کردن پیوند" می‌باشد. معمولاً یک واکنش جدا شدن پیوند های شیمیایی به واسطه اضافه کردن آب است. یک واکنش شیمیایی است که در طی آن یک یا چند مولکول آب به یون های هیدروژن و هیدروکسیل شکسته می‌شود که این ممکن است باعث ادامه یافتن حضور آن در واکنش های دیگری شود. در واکنش آبکافت، ممکن است همراه با تجزیه ی آب مولکول های دیگری نیز شکسته شوند که طی آن گروه هیدروژن به یک قسمت و گروه هیدروکسیل به قسمت دیگر مولکول شکسته شده اضافه می شوند. هیدرولیز واکنشی است که در محیط آبی منجر به یونیزاسیون ماده می‌شود. ترکیب شدن یک نمک با آب و تولید اسید و باز را هیدرولیز یا آبکافت گویند و به معنی تجزیه بوسیله آب است.

سیمانتاسیون (Cementation)

سیمانتاسیون در زمین شناسی در حقیقت عمل تسریب مواد معدنی در بین ذرات خاک می‌باشد. سیمانتاسیون می‌تواند طبیعی باشد و یا بصورت مصنوعی ایجاد شود. سیمانتاسیون در طبیعت ممکن است به علت وجود رس، سیلت، اکسیدهای آهن، سیلیکات و رسوبات شیمیایی باشد یا از پیامدهای جانبی هوازادگی و اثرات جوشکاری حاصل شود. مطالعات نشان می‌دهد که افزایش این عامل باعث بالارفتن مقاومت خاک می‌شود؛ بنابراین در خاک‌های سیمان نشده می‌توان با ایجاد سیمانتاسیون مصنوعی از طریق تزریق یک عامل سیمانتاسیون، مقاومت آنها را افزایش داد.

بیوسیمانتاسیون (Bio-grout, Bio-cementation, Bio-concrete)

عمل اتصال ذرات خاک در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌های زنده در محیط خاک، سیمانتاسیون زیستی نامیده می‌شود. که موجب ایجاد چسبندگی در خاک می‌گردد.

کانی سازی زیستی (Bio-mineralization):

کانی سازی زیستی یا کانی سازی زیستی فرایندی است که در آن موجودات زنده، کانی تولید می‌کنند که اغلب در بافت‌های سخت آنها که به آنها کانبافت گفته می‌شود، موجود هستند. سیلیکات در جلبک‌ها و دیاتوم‌ها، کربنات در بی‌مهرگان، و کلسیم کربنات و کلسیم فسفات در مهره‌داران از نمونه‌های آن هستند. در طبیعت کانی سازی زیستی، پدیده ای گسترده می‌باشد که به تشکیل شصت نوع مختلف کانی منجر می‌گردد و به‌صورت کریستال های غیر ارگانیک بیرون سلولی یا درون سلولی موجود می‌باشد. سه مکانیزم مختلف در تولید کانی های زیستی دخیل می‌باشد.

۱. کانی سازی زیستی کنترل شده شامل فعالیت باکتری که مستقیماً موجب شکل گیری کانی ها می‌گردد.

۲. کانی سازی زیستی متاثر از فرایند زیستی که در آن مواد ارگانیک سطح باکتری سبب رسوب گذاری کانی غیر فعال می‌شود.

۳. کانی سازی زیستی القایی که تغییرات شیمیایی محیط به‌وسیله‌ی فعالیت زیستی باکتری منجر به تولید کانی می‌گردد.

ژئوبیولوژی (Geobiology)

تحقیقاتی که در آن از دانش زمین شناسان و مهندسان ژئوتکنیک استفاده می‌گردد موجب ایجاد شاخه ی جدیدی از علم به نام ژئوبیولوژی گشته است.

کلیسیت (Calcite)

کلیسیت یک کانی کربناته است و پایدارترین کلیسیم کربنات (CaCO_3) چندریخت می‌باشد. کانی کلیسیت به کانی هزار چهره معروف است و از کلیسیم کربن و اکسیژن تشکیل شده و این کانی با اسید واکنش می‌دهد. از دیگر چند ریختی های کلیسیم کربنات کانی آرگونات و وتریت می‌باشد.

۱۲- پیشنهادات برای ادامه بررسی این فرایند

در حال حاضر مطالعاتی جهت بهینه سازی فرایند MICP از لحاظ اقتصادی و دیگر فاکتورهای مرتبط به منظور تجاری سازی این فرایند صورت نگرفته است. تا به حال بررسی صورت گرفته در فرایند MICP در مقیاس کوچک آزمایشگاهی بوده است و برای کاربرد این روش در عمل باید مطالعاتی در مقیاس بزرگ نیز صورت پذیرد.

منابع

1. Ikeagwuani CC, Nwonu DC. Emerging trends in expansive soil stabilisation: A review. *Journal of rock mechanics and geotechnical engineering*. 2019;11(2):423-40.
2. Soon NW, Lee LM, Khun TC, Ling HS. Factors affecting improvement in engineering properties of residual soil through microbial-induced calcite precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. 2014;140(5):04014006.
3. Jiang NJ, Wang YJ, Chu J, Kawasaki S, Tang CS, Cheng L, et al. Bio-mediated soil improvement: An introspection into processes, materials, characterization and applications. *Soil Use and Management*. 2022;38(1):68-93.
4. Whiffin VS. *Microbial CaCO_3 precipitation for the production of biocement*: Murdoch University; 2004.
5. Mitchell JK, Santamarina JC. Biological considerations in geotechnical engineering. *Journal of geotechnical and geoenvironmental engineering*. 2005;131(10):1222-33.
6. Krajewska B. Urease-aided calcium carbonate mineralization for engineering applications: A review. *Journal of Advanced Research*. 2018;13:59-67.
7. Anbu P, Kang C-H, Shin Y-J, So J-S. Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. *Springerplus*. 2016;5:1-26.
8. Sarikaya M. Biomimetics: materials fabrication through biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999;96(25):14183-5.
9. Kalantary F, Kahani M. Optimization of the biological soil improvement procedure. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2019;16:4231-40.
10. Achal V, Mukherjee A, Basu P, Reddy MS. Strain improvement of *Sporosarcina pasteurii* for enhanced urease and calcite production. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 2009;36(7):981-8.
11. Ghosh T, Bhaduri S, Montemagno C, Kumar A. *Sporosarcina pasteurii* can form nanoscale calcium carbonate crystals on cell surface. *PloS one*. 2019;14(1):e0210339.
12. De Muyneck W, De Belie N, Verstraete W. Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review. *Ecological engineering*. 2010;36(2):118-36.
13. DeJong JT, Mortensen BM, Martinez BC, Nelson DC. Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*. 2010;36(2):197-210.
14. Clarà Saracho A, Haigh SK, Hata T, Soga K, Farsang S, Redfern SA, Marek E. Characterisation of CaCO_3 phases during strain-specific ureolytic precipitation. *Scientific Reports*. 2020;10(1):10168.

15. Rivadeneyra M, Ramos-Cormenzana A, Delgado G, Delgado R. Process of carbonate precipitation by *Deleya halophila*. *Current microbiology*. 1996;32(6):308-13.
16. Chen L, Shen Y, Xie A, Huang B, Jia R, Guo R, Tang W. Bacteria-mediated synthesis of metal carbonate minerals with unusual morphologies and structures. *Crystal Growth and Design*. 2008;9(2):743-54.
17. Gorospe CM, Han S-H, Kim S-G, Park J-Y, Kang C-H, Jeong J-H, So J-S. Effects of different calcium salts on calcium carbonate crystal formation by *Sporosarcina pasteurii* KCTC 3558. *Biotechnology and bioprocess engineering*. 2013;18(5):903-8.
18. Kawaguchi T, Decho AW. A laboratory investigation of cyanobacterial extracellular polymeric secretions (EPS) in influencing CaCO₃ polymorphism. *Journal of Crystal Growth*. 2002;240(1):230-5.
19. Achal V, Pan X. Influence of calcium sources on microbially induced calcium carbonate precipitation by *Bacillus* sp. CR2. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2014;173(1):307-17.
20. Gorospe CM, Han S-H, Kim S-G, Park J-Y, Kang C-H, Jeong J-H, So J-S. Effects of different calcium salts on calcium carbonate crystal formation by *Sporosarcina pasteurii* KCTC 3558. *Biotechnology and bioprocess engineering*. 2013;18:903-8.
21. Chapelle F. *Ground-water microbiology and geochemistry*: John Wiley & Sons; 2001.
22. Okwadha GD, Li J. Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere*. 2010;81(9):1143-8.
23. Ferris F, Phoenix V, Fujita Y, Smith R. Kinetics of calcite precipitation induced by ureolytic bacteria at 10 to 20 C in artificial groundwater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 2004;68(8):1701-10.
24. Rebata-Landa V. *Microbial activity in sediments: effects on soil behavior*: Georgia Institute of Technology; 2007.
25. Cheng L, Shahin M, Cord-Ruwisch R, Addis M, Hartanto T, Elms C, editors. *Soil stabilisation by Microbial-Induced Calcite Precipitation (MICP): Investigation into some physical and environmental aspects*. 7th International Congress on Environmental Geotechnics: iceg2014; 2014: Engineers Australia.
26. Dharmi NK, Reddy MS, Mukherjee A. Synergistic role of bacterial urease and carbonic anhydrase in carbonate mineralization. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2014;172(5):2552-61.
27. Van Paassen LA. *Biogrout, ground improvement by microbial induced carbonate precipitation*: TU Delft, Delft University of Technology; 2009.
28. Gat D, Ronen Z, Tsesarsky M. Long-term sustainability of microbial-induced CaCO₃ precipitation in aqueous media. *Chemosphere*. 2017;184:524-31.
29. Stocks-Fischer S, Galinat JK, Bang SS. Microbiological precipitation of CaCO₃. *Soil Biology and Biochemistry*. 1999;31(11):1563-71.
30. Popescu M-A, Isopescu R, Matei C, Fagarasan G, Plesu V. Thermal decomposition of calcium carbonate polymorphs precipitated in the presence of ammonia and alkylamines. *Advanced Powder Technology*. 2014;25(2):500-7.
31. Hammes F. *Ureolytic microbial calcium carbonate precipitation/Door Frederik Hammes*: Ghent University; 2003.
32. Wei S, Cui H, Jiang Z, Liu H, He H, Fang N. Biomineralization processes of calcite induced by bacteria isolated from marine sediments. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2015;46(2):455-64.
33. Kucharski ES, Cord-Ruwisch R, Whiffin V, Al-thawadi SM. *Microbial biocementation*. Google Patents; 2012.

34. Ng W-S, Lee M-L, Hii S-L. An overview of the factors affecting microbial-induced calcite precipitation and its potential application in soil improvement. *World Acad Sci Eng Technol.* 2012;62:723-9.
35. Murphy EM, Ginn TR. Modeling microbial processes in porous media. *Hydrogeology Journal.* 2000;8(1):142-58.
36. Rebata-Landa V. *Microbial activity in sediments: effects on soil behavior*: Georgia Institute of Technology; 2007.
37. Cheng L, Cord-Ruwisch R. In situ soil cementation with ureolytic bacteria by surface percolation. *Ecological Engineering.* 2012;42:64-72.
38. Le Metayer-Levrel G, Castanier S, Oriol G, Loubière J-F, Perthuisot J-P. Applications of bacterial carbonatogenesis to the protection and regeneration of limestones in buildings and historic patrimony. *Sedimentary geology.* 1999;126(1-4):25-34.
39. Whiffin VS, Van Paassen LA, Harkes MP. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiology Journal.* 2007;24(5):417-23.
40. Cheng L, Cord-Ruwisch R. Upscaling effects of soil improvement by microbially induced calcite precipitation by surface percolation. *Geomicrobiology Journal.* 2014;31(5):396-406.
41. Osinubi K, Eberemu A, Gadzama E, Ijimdiya T. Plasticity characteristics of lateritic soil treated with *Sporosarcina pasteurii* in microbial-induced calcite precipitation application. *SN Applied Sciences.* 2019;1:1-12.
42. Pacheco VL, Bragagnolo L, Reginatto C, Thomé A. Microbially Induced Calcite Precipitation (MICP): Review from an Engineering Perspective. *Geotechnical and Geological Engineering.* 2022;40(5):2379-96.
43. Yasuhara H, Neupane D, Hayashi K, Okamura M. Experiments and predictions of physical properties of sand cemented by enzymatically-induced carbonate precipitation. *Soils and Foundations.* 2012;52(3):539-49.
44. Zhao Q, Li L, Li C, Zhang H, Amini F. A full contact flexible mold for preparing samples based on microbial-induced calcite precipitation technology. 2014.
45. Chu J, Ivanov V, Naeimi M, Stabnikov V, Liu H-L. Optimization of calcium-based bioclogging and biocementation of sand. *Acta Geotechnica.* 2014;9(2):277-85.
46. Cheng L, Cord-Ruwisch R, Shahin MA. Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation. *Canadian Geotechnical Journal.* 2013;50(1):81-90.
47. Ivanov V, Chu J. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology.* 2008;7(2):139-53.
48. Qian C, Pan Q, Wang R. Cementation of sand grains based on carbonate precipitation induced by microorganism. *Science China Technological Sciences.* 2010;53(8):2198-206.
49. Duraisamy Y, Airey D, editors. *Strength and stiffness of bio-cemented liquefiable sand soil*. Proceedings of the international conference on ground improvement and ground control, Singapore; 2012.
50. Van Paassen LA, Daza CM, Staal M, Sorokin DY, van der Zon W, van Loosdrecht MC. Potential soil reinforcement by biological denitrification. *Ecological Engineering.* 2010;36(2):168-75.
51. Montoya B, DeJong J. Stress-strain behavior of sands cemented by microbially induced calcite precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering.* 2015;141(6):04015019.

52. Ismail MA, Joer HA, Sim WH, Randolph MF. Effect of cement type on shear behavior of cemented calcareous soil. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. 2002;128(6):520-9.
53. Al-Thawadi SM. Consolidation of sand particles by aggregates of calcite nanoparticles synthesized by ureolytic bacteria under non-sterile conditions. *J Chem Sci Technol*. 2013;2(3):141-6.
54. Cheng L, Shahin M, Cord-Ruwisch R. Bio-cementation of sandy soil using microbially induced carbonate precipitation for marine environments. *Géotechnique*. 2014;64(12):1010-3.
55. Fragaszy R, Santamarina J, Amekudzi A, Assimaki D, Bachus R, Burns S, et al. Sustainable development and energy geotechnology—Potential roles for geotechnical engineering. *KSCE Journal of Civil Engineering*. 2011;15(4):611-21.
56. Gowthaman S, Mitsuyama S, Nakashima K, Komatsu M, Kawasaki S. Biogeotechnical approach for slope soil stabilization using locally isolated bacteria and inexpensive low-grade chemicals: A feasibility study on Hokkaido expressway soil, Japan. *Soils and foundations*. 2019;59(2):484-99.
57. Li M, Fu Q-L, Zhang Q, Achal V, Kawasaki S. Bio-grout based on microbially induced sand solidification by means of asparaginase activity. *Scientific reports*. 2015;5:16128.

A review of the studies conducted in the field of MICP process and soil bioremediation

Sepideh Aghaalizadeh^{1*}, Farzin Kalantary¹, Faezeh Ghanati², Mostafa Kahani³

**¹ Department of Civil Engineering, K.N. Toosi University of Technology, Valiasr St., Mirdamad Cr., Tehran, Iran.*

¹ Department of Civil Engineering, K.N. Toosi University of Technology, Valiasr St., Mirdamad Cr., Tehran, Iran.

² Department of Plant Biology, Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University (TMU), Tehran, Iran.

³ Department of Civil Engineering, K.N. Toosi University of Technology, Valiasr St., Mirdamad Cr., Tehran, Iran.

Abstract

Biom mineralization is a natural process that is carried out by living organisms. Microbial Induced Calcium Precipitation (MICP) is a process in which calcium carbonate mineral is rapidly produced and carbonate plays the role of strengthening and binding particles such as soil. In the MICP process, urease enzyme plays an essential role in the hydrolysis of urea to ammonia and carbonate, which is produced by a wide range of microorganisms. The microbially induced calcium carbonate precipitation process is an environmentally friendly process that can be used for various purposes such as cleaning the environment from impurities, stabilizing the soil, improving wastewater, improving concrete resistance, controlling erosion, controlling liquefaction, etc. In this article, the studies have been done on the MICP process and its influencing factors, improving the mechanical properties of the soil by this process, the advantages and disadvantages of using this method to improve the soil are collected and discussed.

Keywords: Microbial Induced Calcium Precipitation (MICP), Soil improvement, Enzyme producing bacteria, Urease
