



Sand Soil Stabilization Using *Halomonas* Bacterial Calcite Precipitation in East of Isfahan and Comparison with *Sporosarcina Pasteurii* (SP) Bacteria Function

Hoseinali Bagi^{1*} , Ali Rahimi² 

¹Assistant Professor, Department of Civil Engineering, Technical and Vocational University, Tehran, Iran.

²Professor, Department of Civil Engineering, VIT University, Vellore, India.

ARTICLE INFO

Article Type:

Original Research

Received: 09.06.2021

Revised: 01.05.2022

Accepted: 02.19.2022

Keyword:

Stabilization

Sands

Halomonas Bacteria

Biotechnology

*Corresponding Author:

Hoseinali Bagi

Email: hbagi@tvu.ac.ir

ABSTRACT

Biocementation is a recently developed link in geological engineering and biotechnology which deals with the application of microbiological activities to improve the engineering properties of soils and creates the positive role of geotechnical engineering for protection of the environment. In this investigation, *Halomonas* sp. and *Sporosarcina Pasteurii* (SP) was used for biocementation of sands in eastern area of Isfahan, Iran. As compared with conventional microbial induced calcite precipitation (MICP) methods, this strategy which uses free urease catalysts to secure bacterial enzyme induced calcite precipitation (MICP) appears to offer an improved means of bio-stabilizing sand soils in a 42day period. After biocementation, the velocity of ultrasonic waves reached approximately 390m/s and the internal angle of friction in bacterial sandy samples increased. Tests were conducted to evaluate the feasibility of using ultrasonic testing for stabilization applications. The ultrasonic testing consisted of determining primary-wave (P-wave) velocities of stabilized mixtures.



EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Biocement is a procedure that stimulates native soil bacteria to connect soil grains through a technique known as microbially induced calcite precipitation (MICP). Hydrolyze urea in the coarse soil leads to calcite precipitation, which binds soil particles together (bio-cementation). Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP) has been exhaustively explored using different types of bacterial species to enhance the compressive strength of cement composites such as mortar. *Sporosarcina pasteurii* is the most studied species of bacteria for MICP utilizations in cement composites and species of *Halomonas* sometimes are urease-creating bacteria that have the power to induce sufficient calcium carbonate precipitation for bio-cementation to materialize in concrete structure. *Halomonas* has been organized as a genus since 1980, and comprises of halophilic and/or halotolerant Gram-negative aerobic *bacteria*. The mechanism of bio-cementation of these bacteria are regulated by urea hydrolysis.

Methodology

Halomonas sp. and *Sporosarcina pasteurii* bacterias were chosen in this experimentation study focusing on eastern Isfahan sand soil area (central Iran). Bacterial solution composed of nutrient broth and bacteria. Nutrient broth consists of peptone, yeast extract and sodium chloride. In this process, the *temperature* to be maintained in the *oven* was approximately 37° C for 24 hours for the solution and then the experiment was conducted at a temperature of approximately 20° C and atmospheric pressure. This research study aimed at achieving a *more genuine environmental* condition for the application of MICP. A *control* specimen containing commercially bought *Halomonas* sp. was used to compare the MICP efficiency of the indigenous bacteria. A blank specimen (without any microorganism) was subjected to the same temperature, potential of hydrogen (PH) and cementation solutions.

Initially, bacteria were added to the sand soil and mixed well, which was followed by addition of the cementation reagent. The bacteria and cementation reagent were then added. Rapid direct shear and ultrasonic tests were performed on sandy soil. Proper mixing was ensured for proper fixation and distribution of bacteria in coarse soil. Sandy soil was compacted and tested. Since treatment duration was a parameter, sandy soil samples of given bacterial and molar concentrations were allowed for curing or treatment duration of 42 days. The treatment duration was provided in order to provide sufficient time period for the chemicals to react and further allow calcite precipitates to improve.

Results and discussion

A series of the Proctor Compaction Test, rapid direct shear and ultrasonic tests were organized to examine the behaviour of the bio-cemented sandy specimens of Isfahan area. These experiments were directed towards the stiffness of biocemented sandy samples with different agents. The specimens cemented by two different microbial products and *non-bacterial soil* were prepared and tested under normal stress. The variation of the deviatoric stress with the local normal stress was registered.

The shear stress behaviour of the specimens significantly changed with different times of microbial products for cementation *from the start of specimens' preparation*. An

outstanding increase in the shear stress values *velocity of ultrasonic waves* were observed during biological treatment.

The authors took into consideration the biological treatment of the sandy samples under confining pressure plays an important role in the increasing strength and internal friction. An increase in duration of the biological treatment process, which *coincided* with the number of urea-calcium chloride cycles, resulted in an increase in the amount of calcite precipitating on the sandy soils grains. These results were confirmed via *increasing velocity of ultrasonic wave*. This was most likely related to the amount of Ca increasing in the treated samples as the treatment period increased.

A modest decrease followed by a sharp decrease in the stiffness of biocemented specimen was observed, while a slight decrease in the stiffness of grainy soil was remarked. The sharp decrease, due to the bonding breakage, was a distinctive behaviour of typical artificially cemented sand.

Overall, velocities increased with curing time, and the increase from the day of compaction to a week was more pronounced than the increase from a week to 6 weeks. As the curing progressed, reactions occurred between the soils and the stabilizing agents. These reactions generally resulted in increases in the stiffness of the sandy soils. The velocity of wave propagation increased with increased stiffness of the sandy soils. Therefore, *MIBC can be a proposal method for soil stabilization of sand soil in eastern Isfahan.*

Conclusion

Both microorganism (*S. pasteurii* and *Halomonas* sp.) proposed for sandy soils were improved by MICP technique. *S. pasteurii demonstrated to be the most effective microorganism for MICP treatment.*

The MICP-treated soil specimen exhibited fair improvement in shear stress. This improvement was estimated for a specified density of soil sample. Density on strength improvement by MICP *increased slightly.*

The maximum amount was observed for the soil specimens treated with the microorganism *S. pasteurii* and *Halaomonas* sp. after biocementation; the velocity of ultrasonic waves and the internal angle of friction in bacterial sandy samples increased. Tests were conducted to evaluate the feasibility of using ultrasonic testing for stabilization applications. These findings indicated that some calcite forming microorganism were present in the original soil.

This research study described a method of strength improvement of cement–sand soil by the *Halomonas* sp. induced calcium carbonate precipitation. *The present research was carried out in a Laboratory and some effective agents in real environment might yield different results.*

Acknowledgement

We would like to thank the reviewers for the extremely careful and constructive review and for the detailed suggestions for improving our manuscript. This study was completed at the Universities of Technical and Vocational (Iran), and VIT. The authors are grateful to the administration staff for their support.



تثبیت ماسه‌های شرق اصفهان به کمک فناوری زیستی باکتری *Halomonas sp.* در مقایسه با عملکرد باکتری شاهد *Sporosarcina pasteurii* (SP)

حسینعلی بگی^{*۱}، علی رحیمی^۲

۱- استادیار، گروه مهندسی عمران، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران.

۲- استاد، گروه مهندسی عمران، دانشگاه VIT، ولور، هند.

چکیده

اطلاعات مقاله

اخیراً بهبود و مقاوم‌سازی خاک به کمک رسوب‌زایی کربنات توسط میکروبها (MICP) حلقه‌ای بین فناوری زیستی و مهندسی زمین‌شناسی ایجاد کرده است. تکوین چنین روشی می‌تواند هم‌زمان تأثیرات دوسویه مفید زیست‌محیطی و ژئوتکنیکی ایجاد کند. در این پژوهش برای مقاوم‌سازی ماسه‌های شرق اصفهان، از باکتری‌های *Halomonas sp.* و *Sporosarcina pasteurii* (SP) (استاندارد) استفاده شده است. در این راستا طی دوره‌های ۴۲ روزه آزمایش‌های مختلفی به‌منظور بررسی بهبود مقاومتی خاک انجام گردیده است. در این مطالعه مشخص گردید که خواص مهندسی خاک‌های موردآزمایش با تحریک باکتری‌های موجود در آن به کلسیت‌زایی، به‌صورت قابل‌توجهی تغییر یافته است. بررسی این ویژگی‌ها به کمک آزمایش‌های برش مستقیم و امواج فشاری نشان می‌دهد که مقاومت خاک به کمک باکتری *Halomonas sp.* در مقایسه با باکتری استاندارد (SP) به‌صورت امیدوارکننده‌ای بهبود یافته است؛ به‌طوری که سرعت امواج فشاری در نمونه مقاوم شده توسط باکتری به حدود ۳۹۰ متر بر ثانیه رسیده است و زاویه اصطکاک داخلی خاک نسبت به باکتری استاندارد با شیب ملایم‌تری افزایش یافته است.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۶/۱۵

بازنگری مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۲۵

پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰

کلید واژگان:

تثبیت

ماسه

باکتری هالومونوس

فناوری زیستی

*نویسنده مسئول: حسینعلی بگی

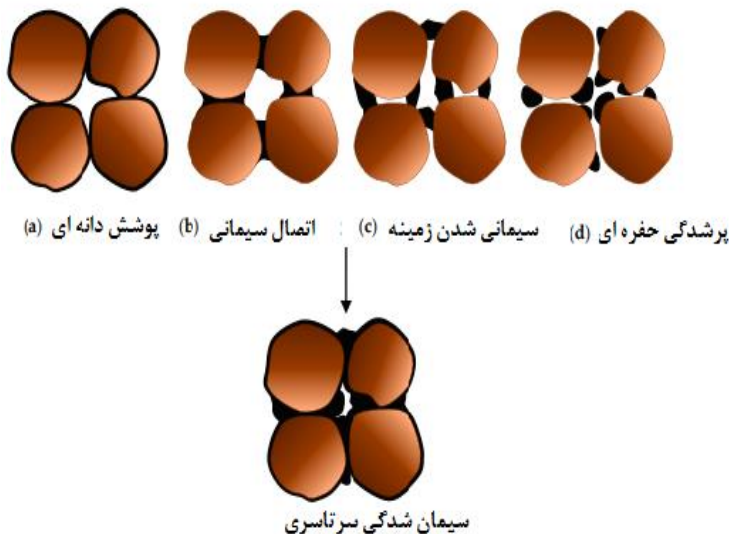
پست الکترونیکی:

hbagi@tvu.ac.ir

مقدمه

کشور ایران همانند بسیاری از مناطق دیگر جهان، در زمره کشورهای است که خاک‌های ناپایدار در گستره آن پراکنده است و تاکنون در پروژه‌های مهندسی زمین‌شناسی و عمران برای بهبود شاخص‌های مقاومتی خاک از راهکارهای مختلفی استفاده شده است. مهندسان و متخصصان، به‌طور سنتی غالباً دو روش را برای تراکم و تثبیت شیمیایی خاک به کار می‌گیرند [۱]. به‌کارگیری هر روشی به نوع خاک، درصد خاک ریزدانه، عمق موردنظر برای تثبیت و دسترسی به مواد لازم بستگی دارد. روش معمول در مقاوم‌سازی خاک، استفاده از سیمان پرتلند، آهک، روش‌های شیمیایی همانند به‌کارگیری اپوکسی‌ها، سیلیکات‌ها و پلی‌اورتان‌ها می‌باشد تا فضاهای خالی خاک پرگردد و مقاومت خاک افزایش یابد. با این وجود تقریباً همه این موارد به‌جز سیلیکات سدیم، برای محیط‌زیست سمی و خطرناک هستند. برای مثال در سال ۱۹۷۴ تزریق آکریلامید در خاک سبب سمی شدن آب در ژاپن گردید و باعث ممنوعیت تزریق تقریباً تمام مواد شیمیایی در این کشور گردید [۲].

با توجه به خطرات زیست‌محیطی، تزریق مواد شیمیایی در خاک، تمایل کارشناسان به فناوری زیستی در چند سال اخیر افزایش یافته و به‌طور محسوس‌تری روش‌های نوین استفاده شده است [۱]. یکی از این روش‌ها، تولید سیمان زیستی کلسیت به روش تحریک میکروبی یا رسوب دادن باکتریایی کلسیت^۱ (MICP) می‌باشد [۲؛ ۳]. رایج‌ترین نوع MICP روش غیرمستقیم است که در آن غلظت یون هیدروژن یا اسیدیته تغییر می‌کند و یون بیکربنات تولید می‌شود و در نهایت باعث رسوب کربنات کلسیم در حضور یون کلسیم می‌گردد. این رسوب‌زایی در مرحله اول ذرات خاک را می‌پوشاند و سپس باعث سیمانته شدن خاک و اتصال ذرات خاک به یکدیگر می‌گردد (شکل ۱). در دوره‌های مختلف زمین‌شناسی، فرایند سیمانی شدن در سیانوباکتری‌ها نیز مشاهده شده است. برای نمونه سیمانی شدن در استروماتولیت‌های به‌جامانده به‌صورت فسیل در ابتدای تریاس زیرین (۲۴۰ میلیون سال قبل) مشاهده می‌گردد [۲؛ ۴].



شکل ۱. پوشش دانه‌ها و رسوب کربنات کلسیم در ذرات ماسه.

¹ Microbiologically induced calcite precipitation

برخی از گونه‌های باکتری به دلیل داشتن آنزیم آز، توانایی افزایش PH سیستم و تولید یون‌های کربنات را دارند. از نظر شیمیایی در گستره PH بالاتر از ۸/۳ تا ۹، کربنات کلسیم شروع به رسوب می‌کند. در این شرایط PH به سمت قلیایی شدن پیش می‌رود [۵؛ ۶]. تاکنون محققان مختلفی، پتانسیل باکتری‌ها در کلسیم‌زایی را بررسی و ارزیابی کرده‌اند [۱؛ ۷]. در تحقیقات مختلف مشخص شده که به کمک فناوری زیستی می‌توان مقاومت خاک را افزایش داد و شیروانی‌های ناپایدار را تثبیت کرد. در تحلیل نمودارها در آزمایش امواج برشی در این خاک‌ها مشخص شده که تغییرات سرعت امواج همواره افزایش یافته بوده است [۸]، همچنین جیانگ و همکاران (۲۰۱۶) توانستند به روش MICP، فرسایش خاک را کاهش دهند [۹].

گروه‌ها، جنس‌ها و گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها توانایی تولید آنزیم اوره دارند و از مهم‌ترین آنها می‌توان اسپوراسارینا، اسپولواکتوباسیلوس، کلوستریدیوم، دزفولوتوماکولوم و ... را نام برد. به طوری که این فناوری به عنوان روشی مؤثر در تشکیل ذرات ریزدانه و تغییر خواص مهندسی خاک‌های درشت‌دانه شناخته شده است [۱۰].

ارگانسیم‌های زنده می‌توانند کانی‌ها یا مینرال‌هایی مانند سیلیکات، کربنات‌ها و کلسیم در فرایند کانی‌سازی زیستی تولید کنند [۱۱]. این مواد ممکن است توسط فرایند مشخص زیستی که منجر به کانی‌سازی می‌شود، ساخته شوند. کانی‌های ساخته شده می‌توانند نقش پرکننده فضاهای خالی را داشته باشند و بنابراین باعث کاهش نفوذپذیری، افزایش مقاومت و سختی خاک می‌شوند.

از بین فناوری زیستی، روش MICP به صورت گسترده‌ای برای بهبود خواص مکانیکی و هیدرولیکی خاک استفاده شده است. گسترش بهبود خاک با استفاده از این روش بستگی به عوامل محیطی، خواص فیزیکی-شیمیایی خاک، آب محتوی، کانی‌شناسی، پراکندگی اندازه ذرات و بافت خاک دارد. در بررسی‌های مختلف گزارش شده است که روند بهبود مقاومت خاک در اثر کانی‌سازی زیستی ابتدا کند و بعد از مدتی متوقف می‌شود اگرچه در این دوره زمانی، موجودات ذره‌بینی از نظر تعدادی، روند افزایش یافته‌اند. این موضوع می‌تواند با افزایش شوری متوسط ناشی از فعالیت باکتری‌ها مرتبط باشد که به نوبه خود رشد جمعیتی را کنترل می‌کند [۱۲].

ایران از نظر آب‌وهوایی به خصوص میزان رطوبت تنوع زیادی دارد، همچنین انواع مختلفی از خاک‌ها در اقلیم‌های متفاوت آن پیدا می‌شود. به دلیل شرایط آب‌وهوایی نسبتاً خشک در قاره آسیا، به خصوص در بیابان‌های هند، چین و گسترش مناطق بیابانی در مرکز ایران همانند قم و شرق اصفهان، باکتری‌های مقاوم به خصوص *Halomonas* sp. نسبتاً فراوان هستند [۱۳]. این باکتری‌ها نمک‌دوست هستند و در محدوده نمک بین درصد تا ۳۲ درصد توانایی رشد دارد [۱۴].

هالوموناس‌ها از نظر رده‌بندی در خانواده *Halomonadaceae* قرار دارند و تاکنون بیش از ۱۳۰ گونه از آنها شناخته شده است [۱۵].

هدف از این پژوهش، بررسی پتانسیل کربنات‌زایی این باکتری و ارزیابی افزایش مقاومت خاک‌های ماسه‌ای از طریق زیستی و مقایسه عملکرد این باکتری با باکتری شناخته شده *Sporosarcina pasteurii* (SP) به منظور ارزیابی تثبیت ماسه‌های شرق اصفهان می‌باشد. مهم‌ترین عناصر ژئومورفولوژیک تپه‌های ماسه‌ای شرق اصفهان (ورزنه-جرقویه) تپه‌های ستاره‌ای و شمشیری می‌باشند [۱۶]. در بین تپه‌ها و اطراف آنها زمین‌های مسطح ماسه‌ای شامل بین تپه‌های ماسه‌ای و پهنه‌های ماسه‌ای توسعه دارند. وسعت و حجم تپه‌های ماسه‌ای از شمال به جنوب کاهش می‌یابد. از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر مورفولوژی فعلی حرکت و تثبیت ماسه‌های بادی در منطقه، شرایط اقلیمی (باد و آب) و وجود ماسه‌های دانه‌ریز فراوان می‌باشد. باد در تمام فصول سال با جهت و سرعت‌های متفاوت باعث حرکت ماسه‌های بادی می‌گردد. این ماسه‌ها با تبعیت از جهت باد جابه‌جا می‌شوند. حجم زیاد ماسه‌های بادی در یال شرقی و یال غربی و نیز حجم زیاد ماسه‌های بادی در بخش شمال بیانگر تأثیر دو عامل دیگر رطوبت و منبع ماسه می‌باشد که توأم با باد عمل می‌کنند. مقدار زیادی ماسه دانه‌ریز توسط رودخانه زاینده‌رود در بخش شمال و شمال شرقی و غربی تپه‌های ماسه‌ای

نهشته شده‌اند و این ماسه‌ها منشأ ماسه‌های بادی محسوب می‌شوند علاوه بر آن مقداری ماسه توسط تعدادی رودخانه فرعی و آبراه‌ها به منطقه، حمل و ته‌نشست شده‌اند که در مقایسه با رودخانه زاینده‌رود حائز اهمیت نمی‌باشند. وجود باتلاق گاوخونی در بخش شرقی تپه‌های ماسه‌ای، عامل مهمی می‌باشد که حمل ذرات ماسه از طرف شرق و نیز بالعکس حمل ماسه از تپه‌های ماسه‌ای به طرف شرق را به مقدار زیادی مانع می‌شود و گسترش تپه‌ها را در این جهت محدود می‌کند. اجلوییان و همکار (۲۰۰۱) طی سه سال مطالعات و برداشت‌های صحرایی را در زمینه تأثیر عوامل مذکور بر حرکت و تثبیت ماسه‌های بادی، مورفولوژی تپه‌های ماسه‌ای و جهت عمومی حرکت تپه‌ها بررسی کردند و نشان دادند که: (۱) برآیند حرکت تپه‌های ماسه‌ای بسیار کند و بطئی است و به طرف جنوب و غرب می‌باشد. (۲) اشکال تپه‌های ماسه‌ای غالباً به صورت چند جهته و عموماً ستاره‌ای شکل است. (۳) میزان حرکت ماسه در جهات مختلف تپه‌های ماسه‌ای را جهت باد و رطوبت (پوشش گیاهی) به میزان زیادی کنترل می‌کند [۱۶].

روش تحقیق

در این مطالعه از خاک‌های ماسه‌های محلی شرق اصفهان که تشابه شیمیایی و دانه‌بندی با ماسه‌های بیابان‌های مرکزی هند داشته و همچنین گسترش قابل توجهی در شرق اصفهان دارند، استفاده شده است. مطابق با رده‌بندی خاک به روش انگلیسی و یونیفاید [۱۷]، این خاک‌ها از نظر توصیفی ماسه‌های یکنواخت متوسط دانه هستند و غالباً در هر دو رده‌بندی به صورت ماسه‌های بدانه‌بندی شده یا SP نامگذاری می‌شوند. خواص فیزیکی و شیمیایی این خاک‌ها در جدول ۱ مشخص گردیده است.

جدول ۱. مشخصات شیمیایی و وضعیت دانه‌بندی خاک مورد استفاده.

ماسه	G	D ₅₀	C _U	C _C	درصد اکسیدها				
					Al ₂ O ₃	SiO ₂	TiO ₂	Cr ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃
	۲.۸۱	۰.۳۷	۳.۵۸	۱.۱۲	۳.۶۴	۷۵.۳۹	۴.۲۵	۸.۳۹	۸.۱۳
	وزن مخصوص (G)، اندازه دانه‌هایی که ۵۰ درصد ذرات خاک از آن عبور می‌کنند (D ₅₀)، ضریب یکنواختی (C _U)، ضریب انحنای (C _C)				NiO	CuO	SrO	PbO	-
					۰.۰۸	۰.۰۷	-	-	-

در این پژوهش، تحلیل و ارزیابی از تشکیل کلسیت زیستی بر مبنای هیدرولیز و رسوب کلسیت به کمک روش بوربانک و همکاران (۲۰۱۳) انجام شده است [۱۸]:



در محیط آزمایشگاهی که در آن باکتری، مواد فعال‌کننده، اوره و یون‌های کلسیم باشد، پس از رسوب کلسیت و پوشش ذرات ماسه (شکل ۱)، تدریجاً مقاومت خاک افزایش می‌یابد. در این راستا به منظور ارزیابی عددی و بررسی خواص مکانیکی خاک، آزمایش‌های برش مستقیم و سرعت امواج روی نمونه‌ها انجام گردید. هم‌زمان تأثیر زمان در ایجاد مقاومت در نمونه‌های آزمایشی در نظر گرفته شده است.

ابتدا مطالعات اولیه‌ای در خصوص شناسایی انواع باکتری‌های تولیدکننده آنزیم اوره آز و ارزیابی توانایی باکتری‌ها در تولید آنزیم انجام گردید و پس از بررسی‌های مقدماتی باکتری (PTCC ۸۶۴۵) *Sporosarcina pasteurii* به‌عنوان شاهد انتخاب شد. ضمن آن که در این تحقیق باکتری‌ها در محیط مجزا از خاک کشت داده شدند.

نمونه‌برداری ماسه‌ها (در منطقه شرق اصفهان) از عمق سی سانتی‌متری انجام گردید و پس از آن نمونه‌ها در فلاسک‌های استریل قرار داده شد و تمام نمونه تا زمان بررسی در دمای چهار درجه نگهداری شدند. ده گرم از هر نمونه با محلول نمکی نه‌دهم درصد مخلوط گردید و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه در شیکر انکوباتور ۱۰۰

دور در دقیقه گرمخانه قرار داده شد. پس از این مدت، پلیت‌ها برای مشاهده وضعیت رشد، بررسی شدند و از هر کلونی مجدداً کشت به عمل آمد تا اینکه کشت‌های کاملاً خالصی حاصل گردد. به‌منظور غربالگری باکتری‌های تولیدکننده اوره آز، از محیط اوره براث استفاده شد. تغییر رنگ محیط اوره براث از زرد به صورتی نشان‌دهنده فعالیت اوره آزی مثبت است [۱۹].

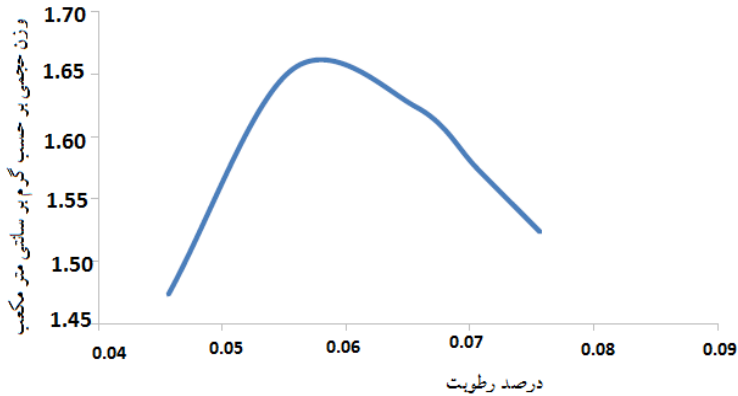
آماده‌سازی نمونه‌ها

ابتدا هردو جنس باکتری به‌طور جداگانه در محیط نوترینت براث به حجم ۲۰۰۰ میلی‌لیتر کشت مایع داده شد. کشت باکتری در محیط مایع، شامل ۱۵ گرم در لیتر پپتون کازین، ۵ گرم در لیتر پپتون سویمل، ۵ گرم در لیتر نمک و ۲۶ گرم در لیتر اوره و با اسیدیته ۷/۳ انجام گرفته است. همچنین برای طی دوره کشت و گرماگذاری از انکوباتور شیکردار و دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد استفاده شده است.

بررسی‌های اولیه نشان داد که سرعت رشد باکتری *Halomonas sp.* در دقایق اولیه نسبت به *pasturii* *Sporosarcina* کندتر می‌باشد. باکتری استاندارد *Sporosarcina pasturii* بیشترین تعداد زنده را در روز پنجم داشته اما باکتری *Halomonas sp.* از روز هفتم بیشترین تعداد زنده را داشته است. شمارش باکتری‌ها در آزمایشگاه تشخیص طبی انجام شده است. با افزایش تراکم ماسه، خلل و فرج ماسه‌ها کاهش می‌یابد و بنابراین ممکن است با کاهش تخلخل، روند کلسیت‌زایی باکتری در حالت تیمار شده کاهش یابد.

بررسی نمونه‌ها در آزمایش برش مستقیم

برای ارزیابی میزان مقاومت قابل دستیابی، از آزمایش مقاومت برش مستقیم سریع استفاده شد. آزمایش برش مستقیم به‌عنوان معیار ارزیابی مقاومت خاک برای پایلوت آزمایشگاهی استفاده شده است. ابعاد قالب ۱۰*۱۰ سانتی‌متر بوده است و برخی از هریک نمونه‌های خاک تیمار نشده و خاک با باکتری *Halomonas sp.* و خاک با باکتری استاندارد *Sporosarcina pasteurii*، در دوره‌های ۷ روزه به مدت ۴۲ روز آزمایش شده است. برای ساخت نمونه‌های مورد استفاده در آزمایش برش مستقیم بدون باکتری (با استفاده از منحنی رطوبت بهینه) از آزمایش تراکم (۷۸-۶۹۸ ASTM D) با ۵/۵ درصد رطوبت استفاده شده است [۲۰]. برای نمونه‌های با باکتری به‌جای آب پنج‌ونیم درصد، محلول باکتری اضافه شده است و سپس ۱۸ نمونه برای هر هفته برای سه نوع نمونه آماده گردید. همچنین، هم‌زمان آزمایش‌های برش مستقیم و اولتراسونیک در دوره‌های متوالی هفت روزه انجام شده است. برای آماده‌سازی و نگهداری مناسب نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش، ابتدا داخل قالب با روغن چرب شد و نمونه‌ها در یک نایلون قرار داده شد و سپس نمونه‌های برش مستقیم داخل قالب قرار گرفتند تا با همان نایلون از قالب به‌راحتی جدا شوند. این نمونه‌ها (تراکم نسبی ۳۸ درصد) تا روز آزمایش در شرایط مناسب نگهداری شده‌اند و در زمان آزمایش داخل قالب برش مستقیم قرار داده شد، ضمن آن که تمام آزمایش‌ها تحت تراکم نسبی ۵۰ درصد انجام گرفت (شکل ۲).

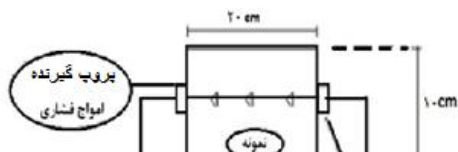


شکل ۲. نمودار منحنی تراکم.

بررسی نمونه‌ها در آزمایش اولتراسونیک

در این پژوهش برای بررسی افزایش مقاومت حاصل از کلسیت‌زایی باکتری‌ها از امواج فشاری دستگاه اولتراسونیک مدل $E-049/B$ - ۵۸ استفاده شده است [۲۱]. با توجه به این که امواج فشاری نسبت به امواج برشی، سرعت بیشتری دارند و از نظر سهولت در انتشار و بازگشت امواج نسبت به امواج برشی دارای برتری هستند و نیز به‌عنوان امواج سطحی به دلیل ضخامت کم نمونه و معادل‌سازی و مقایسه در محل کارگاه، از این مدل آزمایشگاهی استفاده شده است. در ابتدا در آزمایشگاه مدل‌سازی مصالح با تراکم مشخص از روش آشتو اصلاح‌شده صورت گرفت و در ادامه مصالح با محدوده دانه‌بندی مشخص و براساس پارامترهای کیفی نظیر درصد تراکم در معرض امواج فشاری دستگاه اولتراسونیک به‌صورت مستقیم قرار می‌گیرند. براساس نتایج حاصل از سرعت و زمان، عبور امواج با فراوانی بیش از سی بار تکرار شده است. در این ارتباط تمام آزمایش‌ها، در محیط آزمایشگاه بود و آزمایش صحرایی انجام نگرفت و برای کاهش خطاهای اندازه‌گیری انسانی و دستگاهی و امکان انجام آزمایش‌ها با فراوانی بیشتر در زمان کوتاه‌تر، با استفاده از نمودارهای کالیبره براساس نمونه مینا پارامترهای فیزیکی خاک در محل به‌دست خواهند آمد (شکل ۳). چون خاک داخل استوانه باید متراکم گردد، نیاز به جنس مقاوم می‌باشد اما با توجه به این که فلزات در امواج اختلال ایجاد می‌کنند به‌منظور بهبود دقت تحقیق از پلی‌اتیلن حفره‌دار استفاده شده است که قابلیت تطابق با پژوهش‌های دیگر محققان همانند کامپوس را داشته باشد. لوله‌های پلی‌اتیلن فقط نقش نگهدارنده مجموعه خاک را دارند و قابلیت جذب امواج برشی در آنها نیز کم است. در این راستا زبو و همکاران در تحقیقاتشان نمونه‌هایی با قطر ۱۰۰ میلی‌متر و ارتفاع ۲۰۰ میلی‌متر استفاده کرده‌اند تا امکان تشکیل رسوب به‌آسانی میسر گردد [۲۲].

در این پژوهش برای ارزیابی دقیق و تفاوت نوع ساختار این نوع خاک‌ها، از سه نمونه حاوی باکتری استاندارد، نمونه حاوی باکتری *Halomonas sp.* و نمونه بدون باکتری استفاده شده است. این نمونه‌ها در استوانه‌های حفره‌دار به ابعاد ۱۰ سانتی‌متر قطر و طول ۲۰ سانتی‌متر از جنس پلی‌اتیلین قرار داده شده است. ارزیابی حداکثر دانسیته خشک نمونه‌ها در حالت تیمار شده و غیر تیمار شده نشان می‌دهد که وزن حجمی نمونه‌های حاوی باکتری هالوموناس حدود ۲ درصد و باکتری استاندارد حدود ۷ درصد افزایش یافته‌اند.



شکل ۳. طرح کلی از نحوه عملکرد دستگاه اولتراسونیک و دورنمای دستگاه.

تجزیه و تحلیل

پس از انجام آزمایش‌های برش مستقیم طی دوره ۴۲ روزه روی نمونه‌های حاوی دو نوع باکتری هالومونوس و استاندارد که نسبت به زمان‌های موردنظر تیمارسازی شده‌اند، اطلاعات در جدول ۲ نشان داده شده است. این نتایج آزمایشی مشتمل بر تنش‌های، برشی و زمان می‌باشد.

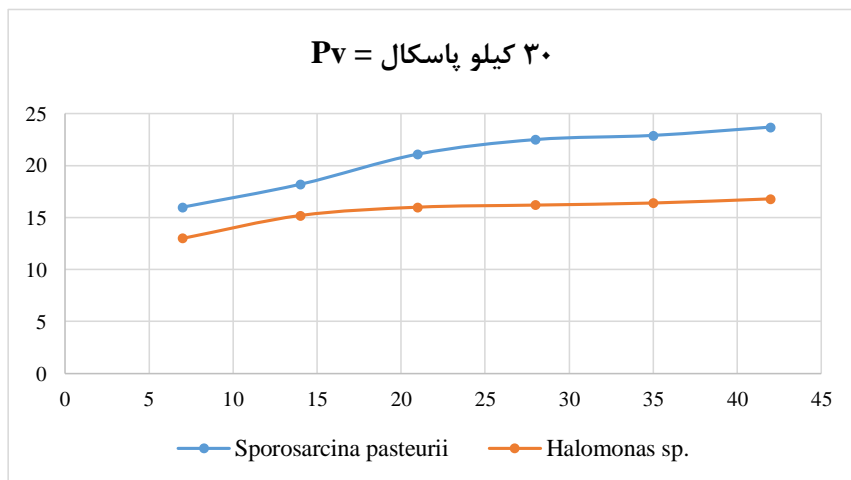
جدول ۲. تنش‌های اعمال شده در نمونه ماسه استفاده شده.

زمان شروع - باکتری: روز	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵	۴۲
<i>Sporosarcina pasteurii</i>	۱۶	۱۸.۲	۲۱.۱	۲۲.۵	۲۲.۹	۲۳.۷
<i>Halomonas sp.</i>	۱۳	۱۵.۲	۱۶	۱۶.۲	۱۶.۴	۱۶.۸
نمونه ۱۰*۱۰ سانتی متری Pv= ۳۰ Kpa						
زمان شروع - باکتری: روز	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵	۴۲
<i>Sporosarcina pasteurii</i>	۹۱	۹۳.۴	۹۶	۹۹.۲	۱۰۵.۳	۱۱۵
<i>Halomonas sp.</i>	۷۱	۷۵	۸۴.۴	۸۷.۵	۸۹.۶	۹۱.۳
نمونه ۱۰*۱۰ سانتی متری Pv= ۹۰ Kpa						
زمان شروع - باکتری: روز	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵	۴۲
<i>Sporosarcina pasteurii</i>	۹۹.۵	۹۹.۹	۱۰۵.۳	۱۰۹.۶	۱۱۲.۷	۱۲۱
<i>Halomonas sp.</i>	۸۱	۸۵.۳	۸۸.۴	۹۳.۲	۹۸	۱۰۰.۳
نمونه ۱۰*۱۰ سانتی متری Pv= ۱۲۰ Kpa						

نمودارهای تنش کرنش نمونه‌های تثبیت شده توسط باکتری‌های اسپوروسارسینا و هالوموناس حاصل از آزمایش‌های برش مستقیم تحت سربارهای ۳۰، ۹۰ و ۱۲۰ کیلو پاسکال در شکل‌های ۴، ۵ و ۶ نشان داده شده است. در این اشکال در محور X مقاومت برشی نمونه‌ها، طی هفت هفته بررسی شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش رسوب کربنات کلسیم، مقاومت برشی خاک افزایش می‌یابد.

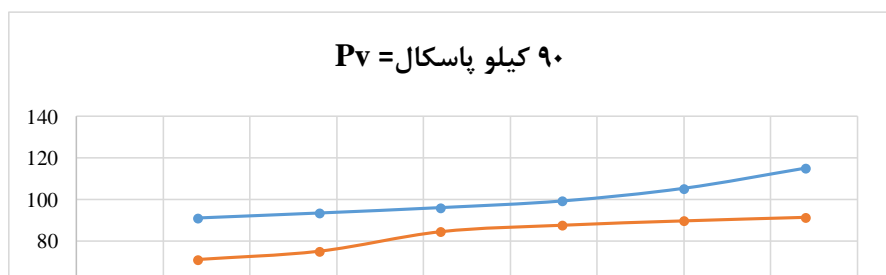
در شکل ۴، نمونه‌ها تحت فشار ثابت ۳۰ کیلو پاسکال قرار داشتند، در دو هفته اول مقاومت برشی خاک دارای باکتری‌های اسپوروسارسینا به سرعت افزایش می‌یابد اما در هفته‌های بعد افزایش مقاومت قابل توجه نیست. در

خاک حاوی باکتری هالمونوس، در هفته اول مقاومت خاک افزایش می‌یابد اما افزایش مقاومت، در هفته‌های بعدی قابل توجه نمی‌باشد.



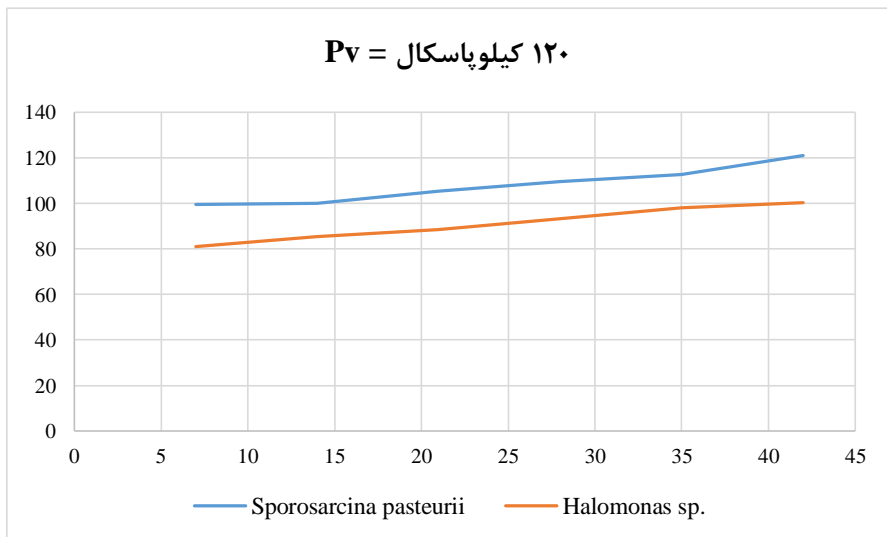
شکل ۴. مقاومت برشی خاک تحت تنش ۳۰ کیلو پاسکال در طی ۴۲ روز، محور x نشانگر تنش برشی، محور Y زمان بر حسب روز.

در شکل ۵، نمونه‌ها تحت فشار ثابت ۹۰ کیلو پاسکال قرار گرفته‌اند. مقاومت برشی خاک دارای باکتری‌های اسپوروسارسینا تدریجاً افزایش می‌یابد اما در هفته آخر، افزایش مقاومت قابل توجه می‌باشد. در خاک حاوی باکتری هالمونوس مقاومت خاک در دو هفته کمی اول افزایش می‌یابد اما شیب افزایش مقاومت در هفته‌های بعدی قابل توجه نمی‌باشد.



شکل ۵. مقاومت برشی خاک تحت تنش ۹۰ کیلوپاسکال طی ۴۲ روز، محور x نشانگر تنش برشی، محور Y زمان بر حسب روز.

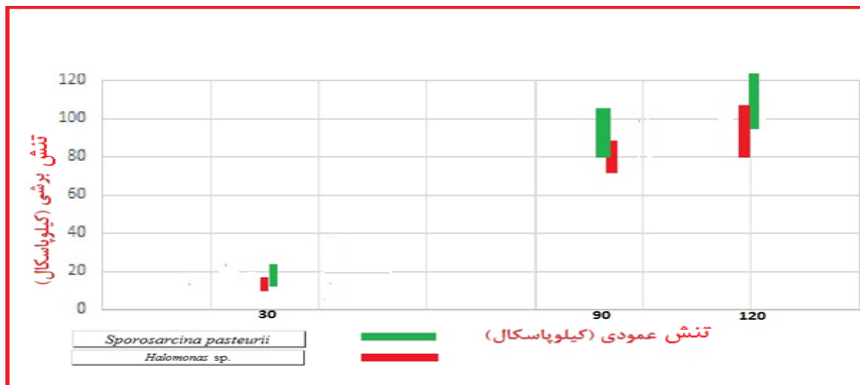
در شکل ۶ مشخص شده که نمونه‌ها تحت فشار ثابت ۱۲۰ کیلوپاسکال قرار گرفته‌اند، مقاومت برشی خاک دارای باکتری‌های اسپوروسارسینا تدریجاً افزایش می‌یابد و تغییرات قابل توجهی طی هفت هفته ایجاد نمی‌گردد اما در خاک حاوی باکتری هالوموناس مقاومت خاک با شیب کمی طی هفت هفته افزایش می‌یابد ولی افزایش مقاومت در دو هفته اول بیشتر است.



شکل ۶. مقاومت برشی خاک تحت تنش ۱۲۰ کیلوپاسکال طی ۴۲ روز، محور x نشانگر تنش برشی، محور Y زمان بر حسب روز.

زاویه اصطکاک داخلی خاک یکی از پارامترهای ژئوتکنیکی مؤثر بر مقاومت برشی خاک می‌باشد که تغییرات آن در این مطالعه بررسی شده است. تأثیر بیشتر رسوب کربنات کلسیم، در بهبود پارامترهای مقاومت برشی ماسه بیشتر در افزایش زاویه اصطکاک داخلی خاک نمایان می‌شود؛ زیرا باکتری با ایجاد رسوب روی سطوح ذرات ماسه و

سیمان‌شدگی بین ذرات، سبب افزایش اصطکاک ذرات با یکدیگر و نهایتاً افزایش مقاومت برشی سطح گسیختگی می‌گردد. روند افزایش زاویه اصطکاک داخلی خاک در زمان‌های عمل‌آوری در شکل ۷ نشان داده شده است.



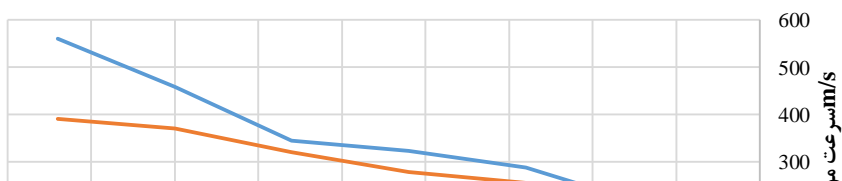
شکل ۷. مقاومت برشی خاک تحت تنش ۱۲۰ کیلوپاسکال طی ۴۲ روز، محور x نشانگر تنش قائم، محور y نشانگر تنش برشی.

روند افزایش زاویه اصطکاک داخلی خاک از هفته اول به هفته دوم باکتری اسپوروسارسینا زیاد است و هم‌زمان افزایش زاویه اصطکاک تدریجی می‌باشد. این وضعیت برای باکتری هالمونوس وضعیت مشابهی دارد اما میزان افزایش زاویه اصطکاک داخلی نسبت به باکتری استاندارد اسپوروسارسینا کمتر بوده است (شکل ۷). در آزمایشگاه هم‌زمان، مطابق جدول زمان‌بندی نمونه‌های تیمار شده با تراکم مشخص شده، به‌صورت مستقیم در معرض امواج P با استفاده از دستگاه اولتراسونیک، قرار گرفتند. در هر نمونه حداقل ۱۰ بار قرائت‌های لازم از سرعت توسط دستگاه ثبت می‌شود همان‌طور که هم‌زمان در نمونه‌ها، زمان عبور امواج (t) و سرعت عبور امواج (v) در دستگاه نشان داده شده و ثبت می‌گردد. برای ایجاد نشدن پراکندگی و خطای امواج فرستنده و گیرنده در سطوح مرزی نمونه‌ها که در تماس با پروب‌های فرستنده و گیرنده دستگاه هستند از ژل استاندارد دستگاه استفاده گردید. نتایج سرعت امواج در نمونه‌های مختلف مورد آزمایش در جدول ۳ ثبت شده است.

جدول ۳. سرعت امواج فشاری در نمونه‌های مختلف.

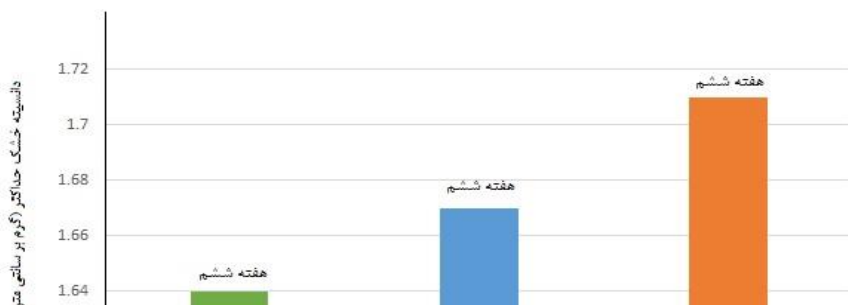
Time	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵	۴۲
Sp	۲۱۱.۲	۲۸۸	۳۲۲	۳۴۴.۵	۴۵۸.۶	۵۶۰
Halomonas	۱۸۲.۳	۲۵۵	۲۷۸	۳۲۰	۳۷۰.۴	۳۹۰.۴
Free Bacteria	۱۷۷	۱۸۲.۲	۱۸۵	۱۹۰.۱	۱۹۵	۲۰۱.۲

Ultrasonic Test



شکل ۸. نمودار سرعت امواج در نمونه‌های دارای باکتری و بدون باکتری، محور افقی (مدت زمان بر حسب روز و محور قائم سرعت عبور امواج، خط خاکستری نمونه فاقد باکتری، خط قهوه‌ای نمونه حاوی باکتری هالوموناس و خط آبی حاوی باکتری استاندارد).

با توجه به نمودارهای شکل ۸، سرعت امواج P در طول دوره ۴۲ روزه در نمونه‌های تیمار شده حاوی باکتری استاندارد اسپوروسارسینا، هولوموناس و فاقد باکتری در دوره زمانی ۴۲ روزه بررسی و مقایسه گردیده است. در سری ۱ (شکل ۸) که نمودار آن بار رنگ آبی نمایان شده (نمودار بالایی)، مشخص است که سرعت امواج در مقایسه با باکتری هالوموناس در تمام دوره ۴۲ روزه بیشتر است و روند تغییرات سرعت به‌طور پیوسته، افزایشی می‌باشد، این داده‌ها با نتایج تحقیقات سایر پژوهشگران مانند بوربانک و همکاران (۲۰۱۲)، پارک و همکاران (۲۰۱۷)، وایتاکر و همکاران (۲۰۱۸) و محمدی‌زاده و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت دارد [۵; ۲۰; ۲۱; ۲۳]. نمودار وسط که در شکل ۸ بار رنگ قهوه‌ای مشخص است تغییرات سرعت امواج مربوط به باکتری هولوموناس، در یک دوره زمانی را نشان می‌دهد. ابتدا سرعت امواج به علت کلسیت‌زایی افزایش یافته ولی این روند افزایشی، همانند نمونه‌های باکتری اسپوروسارسینا یا استاندارد نمی‌باشد، در شکل ۹ تغییرات دانسیته خشک نمونه‌ها که نشانگر شدت کلسیت‌زایی می‌باشد در آخر هفته ششم مشخص شده است. در نمونه فاقد باکتری مطابق پیش‌بینی، مقدار دانسیته خشک حداکثر، تغییری نداشته اما در نمونه حاوی باکتری‌های هالوموناس و استاندارد دانسیته خشک حداکثر به ترتیب افزایش حدود ۲ و ۵ درصدی داشته است (شکل ۹).



شکل ۹. مقایسه دانسیته خشک حداکثر (MDD)^۱ نمونه‌های دارای باکتری در هفته ششم.

این داده‌ها با پژوهش‌های ایوانوف و همکاران (۲۰۰۸)، زاو و همکاران (۲۰۱۷) و نایانترا و همکاران (۲۰۱۹) در ارتباط با تثبیت ماسه‌های سیلته‌ی تطابق بالایی دارد [۲۴-۲۶]. این پژوهشگران افزایش مقاومت ناشی از تأثیر کلسیت‌زایی باکتری هالوموناس را در آزمایش‌های تک‌محوری و تغییرات سرعت امواج در دوره‌های زمانی مشابه بررسی کرده‌اند. نمودار پایین در سری ۳ (شکل ۸) که با رنگ خاکستری مشخص است و فاقد باکتری می‌باشد. این نمونه‌ها (مطابق پیش‌بینی) تغییر قابل‌توجه‌ای در سرعت امواج فشاری طی دوره زمانی مشابه، در آنها مشاهده نگردید. مقاومت‌سازی خاک‌های سطحی و سایر مصالح به روش زیستی [۲۷؛ ۲۸] همراه با سایر روش‌های غیرزیستی می‌تواند اثرات زیست‌محیطی مفیدی در محدوده شرقی استان اصفهان داشته باشند.

نتیجه‌گیری

این پژوهش به‌منظور بررسی تجربی و آزمایشگاهی تأثیر پتانسیل کلسیت‌زایی در باکتری هالومونوس و مقایسه این نتایج با باکتری استاندارد اسپوروسارسینا، با هدف تثبیت بیوزیستی ماسه‌های شرق اصفهان انجام گردیده است. نتایج این مطالعه می‌تواند به پژوهشگران کمک کند تا اثربخشی بهسازی میکروبی را در سایر مناطقی از کشور که خاک‌های ماسه‌ای گسترش زیادی دارند، مورد ارزیابی مجدد قرار دهد.

بیشترین نرخ افزایش سرعت امواج فشاری برای نمونه‌های تیمار شده مربوط به باکتری هالومونوس، مربوط به دو هفته اول آزمایش می‌باشد اگرچه با گذشت زمان سرعت امواج افزایش یافته است. همچنین نتایج این آزمایش، حاصل از باکتری‌های استاندارد و باکتری هالومونوس تطابق نسبتاً زیادی با سایر پژوهش‌های مشابه دارد.

نتایج آزمایش‌های برش مستقیم و سرعت امواج فشاری، افزایش مقاومت خاک‌های ماسه‌ای را به روش زیستی به کمک باکتری‌های محیطی اطراف اصفهان تأیید می‌کند. اگرچه مقاومت خاک‌های ماسه‌ای تیمار شده با باکتری هالومونوس هم‌تراز خاک‌های تیمار شده با باکتری اسپوروسارسینا نمی‌باشد اما تثبیت بیوزیستی خاک به کمک این باکتری در مناطق با فراوانی و گسترش بالای ماسه، همانند شرق اصفهان می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. نکته قابل‌توجهی که در این تحقیق مشاهده گردید، افزایش اندک سرعت امواج در نمونه فاقد باکتری پس از شش هفته می‌باشد که این موضوع می‌تواند مرتبط با اثر خشک‌شدگی نمونه‌ها باشد.

¹ Maximum dry density

روش تثبیت بیوزیستی با باکتری می تواند در مناطق مختلف کشور با توجه به باکتری های بومی کلسیت ساز ارزیابی شود. این روش می تواند در تثبیت خاک های ماسه ای و جلوگیری از فرسایش به کار رود.

تشکر و قدردانی

از داوران محترم که با دقت فراوان، نظرات سازنده و مؤثری در بهبود این مقاله داشته اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می کنیم. در پایان بر خود لازم می دانیم که از مسئولان دانشگاه فنی و حرفه ای در استان اصفهان و دانشگاه ولور هند (VIT) که در این پژوهش ما را هم یاری کرده اند، سپاسگزاری کنیم.

References

- [1] Verma, R. K., Chaurasia, L., Bisht, V., & Thakur, M. (2015). Bio-mineralization and bacterial carbonate precipitation in mortar and concrete. *Bioscience and Bioengineering*, 1(1), 5-11. <http://files.aiscience.org/journal/article/pdf/70010018.pdf>
- [2] Karol, R. (2003). *Chemical Grouting And Soil Stabilization, Revised And Expanded* (3 ed.). CRC Press <https://doi.org/10.1201/9780203911815>
- [3] Sharifi Asadi, D., Ardakani, A., & Garoosi, G. (2018). Investigating effective factors of biocementation soil improvement on sandy soil with different Fine-content. *Modares Civil Engineering*, 18(2), 127-138. <https://mcej.modares.ac.ir/article-16-16953-fa.html>
- [4] Bagi, H., Atesampour, A., & Rahimi, A. (2021). Environmental significance of benthic foraminifera and microfacies of central Tethyan Upper Triassic strata, central Iran. *STRATIGRAPHY*, 18(2), 89-102. <https://www.micropress.org/microaccess/stratigraphy/issue-369/article-2230>
- [5] Mohammadzadeh, M., Ajalloeian, R., Nadi, B., & Nezhad, S. S. (2020). Experimental study on soil improvement using local microorganisms. *Arabian Journal of Geosciences*, 13(12), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s12517-020-05450-3>
- [6] Van Paassen, L. A. (2009). *Biogrout, ground improvement by microbial induced carbonate precipitation*. [Doctoral, Delft University of Technology]. Netherlands. <https://repository.tudelft.nl/islandora/object/uuid:5f3384c4-33bd-4f2a-8641-7c665433b57b?collection=research>
- [7] Kano, S., Moriwaki, T., & Ochi, K. (2017). A Study on the Bio-treatment Technique of Ground Improvement with Urease Microorganisms Which Live in Japan. In *Geotechnical Hazards from Large Earthquakes and Heavy Rainfalls*. Springer https://doi.org/10.1007/978-4-431-56205-4_41
- [8] Akyol, E., Bozkaya, Ö., & Dogan, N. M. (2017). Strengthening sandy soils by microbial methods. *Arabian Journal of Geosciences*, 10(15), 327. <https://doi.org/10.1007/s12517-017-3123-9>
- [9] Jiang, N-J., & Soga, K. (2017). The applicability of microbially induced calcite precipitation (MICP) for internal erosion control in gravel-sand mixtures. *Géotechnique*, 67(1), 42-55. <https://doi.org/10.1680/jgeot.15.P.182>
- [10] Kucharski, E., Cord-ruwisch, R., Whiffin, V., & Al-thawadi, S. M. J (2006). *Microbial Biocementation*. (WO/2006/066326). IP Australia. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2006066326>
- [11] Lowenstam, H. A., & Weiner, S. (1989). *On biomineralization*. Oxford University Press. <https://www.amazon.com/Biomineralization-Heinz-Lowenstam/dp/0195049772>

- [12] Sharma, S. S., & Fahey, M. (2003). Degradation of Stiffness of Cemented Calcareous Soil in Cyclic Triaxial Tests. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 129(7), 619-629. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-0241\(2003\)129:7\(619\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-0241(2003)129:7(619))
- [13] Pourbabae, A. A., Malekzadeh, F., Sarbolouki, M. N., & Mohajeri, A. (2005). Decolorization of Methyl Orange (As a Model Azo Dye) by the Newly Discovered Bacillus Sp. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* 24(3), 41-45. <https://doi.org/10.30492/ijcc.e.2005.8114>
- [14] Mata, J. A., Martínez-Cánovas, J., Quesada, E., & Béjar, V. (2002). A Detailed Phenotypic Characterisation of the Type Strains of Halomonas Species. *Systematic and Applied Microbiology*, 25(3), 360-375. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00122>
- [15] Amouzgar, M., Sooudi, M., & Malekzadeh, F. (2008). A highly resistant to toxic oxyanions, halomonas sp. Strain mam. *Journal Of Science (University Of Tehran)*, 33(4), 5-12. <http://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=113241>
- [16] Ajal Loueian, R., & Pakzad, H.R. (2001). Mechanism Of Aeolian Sands Movement In East Of Isfahan Area. *Research Journal Of University Of Isfahan "Science"*, 15(1-2), 53-70. <https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=22404>
- [17] American Society for Testing and Materials (2011). *Standard Practice for Classification of Soils for Engineering Purposes (Unified Soil Classification System)* (D 2487 – 11). American Society for Testing and Materials. [https://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qlt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=2064058](https://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=2064058)
- [18] Burbank, M., Weaver, T., Lewis, R., Williams, T., Williams, B., & Crawford, R. (2013). Geotechnical tests of sands following bioinduced calcite precipitation catalyzed by indigenous bacteria. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 139(6), 928-936. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0000781](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000781)
- [19] Chou, C-W., Seagren, E. A., Aydilek, A. H., & Lai, M. (2011). Biocalcification of sand through ureolysis. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 137(12), 1179-1189. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0000532](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000532)
- [20] American Society for Testing and Materials. (2021). *Standard Test Methods for a laboratory Compaction Characteristics of Soil Using Standard Effort (12,400 ft-lbf/ft³ (600 kN-m/m³))* ASTM (2021 D 698-78). American Society for Testing and Materials. <https://www.astm.org/Standards/D698>
- [21] Park, B., & Son, Y. (2017). Ultrasonic and mechanical soil washing processes for the removal of heavy metals from soils. *Ultrasonics Sonochemistry*, 35, 640-645. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.02.002>
- [22] Szabo, T. L., & Wu, J. (2000). A model for longitudinal and shear wave propagation in viscoelastic media. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 107(5), 2437-2446. <https://doi.org/10.1121/1.428630>
- [23] Whitaker, J. M., Vanapalli, S., & Fortin, D. (2018). Improving the strength of sandy soils via ureolytic CaCO₃ solidification by *Sporosarcina ureae*. *Biogeosciences*, 15(14), 4367-4380. <https://doi.org/10.5194/bg-15-4367-2018>
- [24] 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*, 7(2), 139-153. <https://doi.org/10.1007/s11157-007-9126-3>
- [25] Nayanthara, P. G. N., Dassanayake, A. B. N., Nakashima, K., & Kawasaki, S. (2019). Microbial Induced Carbonate Precipitation Using a Native Inland Bacterium for Beach Sand Stabilization in Nearshore Areas. *Applied Sciences*, 9(15), 1-24. <https://doi.org/10.3390/app9153201>

- [26] Zhao, Y., Yao, J., Yuan, Z., Wang, T., Zhang, Y., & Wang, F. (2017). Bioremediation of Cd by strain GZ-22 isolated from mine soil based on biosorption and microbially induced carbonate precipitation. *Environmental Science and Pollution Research international*, 24(1), 372-380. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7810-y>
- [27] Mohammadi, M. (2020). Investigating the effect of variation of Geology Strength Index (GSI) on the geomechanical parameters of rock mass. *Karafan Quarterly Scientific Journal*, 17(1), 165-180. <https://doi.org/10.48301/kssa.2020.112763>
- [28] Salimbahrami, S. R. (2021). Prediction of compressive strength of concrete with rubber fibers using artificial neural networks. *Karafan Quarterly Scientific Journal*, 18(1), 81-98. <https://doi.org/10.48301/kssa.2021.131038>