

Improvement of Sand Dunes with Enzyme-Induced Treatment to Control Hydraulic Erosion

SOUDABEH NIKBAKHT¹, HAMIDEH GHAFFARI¹, SEYED MOHAMMAD ALI ZOMORODIAN^{1*}, MARJAN MAJDI NASAB²

1. Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, Shiraz University of Shiraz, Iran.

2. Department of Food industry, Faculty of Agriculture, Shiraz University of Shiraz, Iran.

(Received: March. 15, 2021- Revised: May. 3, 2021- Accepted: May. 15, 2021)

ABSTRACT

Soil erosion is a destructive phenomenon that causes soil loss and the failure within structure built on it. Therefore, it is necessary to provide promising new approach to deal with it. In this paper, a new bio-inspired EICP technique has been used and the improvement of the erodibility parameters of silica sand has been evaluated using an erosion function apparatus device. Urease enzyme was extracted from watermelon seed kernel with an activity of 2.8 U/mL. In order to provide favorable environmental conditions and accelerate the deposition of calcium carbonate in the soil, a cementing solution containing 0.5, 0.75 and 1 M of calcium chloride and urea was used. Samples were treated with single and double injections (six days after the first injection) of enzyme and cementing solution with a treatment period of 14 days in an incubator at 50°C. The erodibility parameters of silica sand specimens treated with ten injection strategies were investigated. The best-performing treatment strategy produced a 98.55% reduction in erodibility and a six-fold increase in critical shear stress relative to untreated sand. These findings were confirmed by SEM, XRD and calcium carbonate titration tests. The results of titration test showed that in the best-performing treatment strategy, 18.7% of calcium carbonate was deposited in the soil compared to the control sample.

Keywords: Erosion, Urease Enzyme, Calcium Carbonate Precipitate, Erosion Function Apparatus, Erodibility Coefficient.

* Corresponding Author's Email: mzomorod@shirazu.ac.ir

بهسازی زیستی خاک‌های ماسه‌ای روان با آنزیم برای کنترل فرسایش هیدرولیکی

سودابه نیک‌بخت^۱، حمیده غفاری^۱، سید محمد علی زمردیان^{۱*}، مرجان مجدی‌نسب^۲

۱. بخش علوم و مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۲. بخش صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۵ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۲/۱۳ - تاریخ تصویب: ۱۴۰۰/۲/۲۵)

چکیده

فرسایش خاک یک پدیده مخرب است که باعث از بین رفتن خاک و همچنین خرابی و شکست سازه مرتبط می‌شود. بنابراین ارائه راهکارهای مقابله با این پدیده مخرب ضروری است. در این پژوهش از یک تکنیک نوین الهام گرفته زیستی، بر اساس رسوب کربنات کلسیم بر پایه استفاده از آنزیم آزاد در خاک (EICP) استفاده شده است و میزان بهبود پارامترهای فرسایش‌پذیری خاک با استفاده از دستگاه تابع فرسایش مورد ارزیابی قرار گرفته است. آنزیم اوره آز استفاده شده از مغز دانه هندوانه استخراج شد که میزان فعالیت آن $2/8 \text{ U/mL}$ تخمین زده شد. به منظور فراهم آوردن شرایط محیطی مطلوب و تسریع در رسوب کربنات کلسیم در خاک از محلول سیمانی کننده حاوی $0/5$ ، $0/75$ و 1 مولار کلسیم کلراید و اوره به صورت یک بار تزریق و همچنین دو بار تزریق با فاصله زمانی ۶ روز استفاده شد. عملکرد آنزیم اوره آز در بهبود خاک، به صورت یک بار تزریق و همچنین دو بار تزریق، تحت به‌کارگیری ۱۰ استراتژی تزریق آنزیم و محلول سیمانی کننده به خاک ماسه سیلیسی مورد ارزیابی قرار گرفت. دوره درمان ۱۴ روز تحت دمای 50°C در دستگاه انکوباتور بود. نتایج نشانگر بهبود مقاومت خاک در برابر فرسایش می‌باشد به گونه‌ای که ضریب فرسایش‌پذیری خاک ماکزیمم $98/5\%$ کاهش و تنش برشی بحرانی ماکزیمم ۶ برابر افزایش پیدا نمودند. نتایج تست SEM و XRD نشانگر توزیع مناسب رسوب کربنات کلسیم میان ذرات ماسه و تشکیل کانی کلسیت در خاک می‌باشد. همچنین نتایج تست تیتراسیون نشان داد که در حالت بهینه $18/7\%$ کربنات کلسیم نسبت به نمونه شاهد در خاک رسوب نموده است.

واژه‌های کلیدی: فرسایش، آنزیم اوره آز، رسوب کربنات کلسیم، دستگاه تابع فرسایش، ضریب فرسایش‌پذیری.

مقدمه

آینده مهندسی عمران به سمت علوم محیط‌زیست، بیولوژی و باکتری، لزوم ادغام علوم مهندسی عمران و مباحث سنتی مربوطه با این علوم ضروری است و لازم است که در کشور بومی‌سازی گردد. در همین راستا، در تقسیم‌بندی جدید در این پژوهش، روش‌های بهسازی خاک در علم ژئوتکنیک زیست‌محیطی به دو دسته روش‌های سنتی و نوین و همچنین روش‌های غیر سازگار با محیط‌زیست و روش‌های سازگار با محیط‌زیست تقسیم‌بندی می‌شوند. در روش‌های سازگار با محیط‌زیست سعی می‌شود که با الگوبرداری از طبیعت برای درمان طبیعت استفاده شود. لذا با توجه به کند بودن و زمان‌بر بودن این پدیده‌های طبیعی، با فراهم آوردن شرایط مطلوب در آزمایشگاه، آن‌ها را تسریع می‌بخشند (Benini et al., 1999). در همین ارتباط یکی از روش‌های نوین، روش رسوب میکروبی کربنات کلسیم در خاک یا روش MICP^۱ است که با بهره‌گیری از میکروارگانیسم‌های خاکزی که به صورت

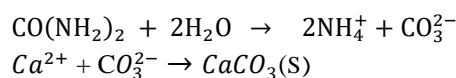
بهسازی خاک در کاربری‌های مهندسی امری غیر قابل اجتناب است که این موضوع در خاک‌های مسئله‌دار غالب‌تر است. لذا به منظور جلوگیری از فرسایش و همچنین احداث سازه روی خاک، بسته به نوع کاربری، نیاز به بهسازی سطحی و عمقی در جهت بهبود خصوصیات فیزیکی و مکانیکی دارد. بدین منظور روش‌های مختلفی ارائه شده‌اند که به روش‌های مکانیکی، شیمیایی، مدیریتی و بیولوژیکی تقسیم‌بندی شده‌اند. هر کدام از این روش‌ها با توجه به ضرورت، معایب و محدودیت‌های خاص خود را دارند که لازم است مورد توجه مهندسین واقع گردد (Ghaffari and Zomorodian, 2017). با توجه به اهم مباحث زیست‌محیطی و توجه به آن‌ها و همچنین خلأ آن در کشور، لزوم حرکت در این جهت، همسو با اغلب دانشگاه‌های تراز اول در دنیا و الگوبرداری از آن‌ها ضروری است. با توجه به حرکت و جهت

* نویسنده مسئول: mzomorod@shirazu.ac.ir

واقع آنزیم با کاهش انرژی فعال‌سازی مورد نیاز برای تبدیل سوبسترا به فرآورده، سرعت واکنش را افزایش می‌دهد. فاکتورهای ماهیت محیط کشت، غلظت آنزیم، غلظت سوبسترا، دما، pH، وجود بازدارنده‌ها و فعال‌کننده‌ها بر میزان سرعت تجزیه واکنش بوسیله آنزیم تأثیر می‌گذارند (Arsalan and Younus, 2018). مطالعاتی در این زمینه و همچنین مقایسه دو روش MICP و EICP توسط محققین انجام گرفته است از جمله Nafisi *et al.*, (2019) گزارش دادند که عملکرد روش MICP در ایجاد رسوب کربنات کلسیم و همچنین افزایش مقاومت برشی (سه محوری) در خاک ماسه‌ای بیشتر از روش EICP است و این در حالی است که توزیع رسوب کربنات کلسیم در روش EICP به گونه یکنواخت‌تری در خاک صورت می‌پذیرد. در پژوهش دیگری گزارش شده است که روش EICP میزان نفوذپذیری خاک ماسه‌ای را با مرتبه بزرگی بیشتر از یک، کاهش می‌دهد و همچنین مقاومت فشاری محصور نشده خاک را به میزان ماکزیمم 1.6 MPa افزایش می‌دهد (Yasuhara *et al.*, 2012). بهترین ترکیب محلول مورد استفاده در روش EICP توسط Almajed *et al.*, 2018 گزارش شده است که با بررسی و انجام ۳۷ تست در تیوب‌های آزمایشگاهی، بهترین ترکیب محلول در افزایش میزان رسوب کربنات کلسیم و افزایش بازدهی رسوب و آنزیم را ترکیب یک مولار اوره، 0.67 مولار کلسیم کلراید و 3 g/l آنزیم اوره‌آز با فعالیت 3500 U/g ذکر نموده‌اند. همچنین بیان نمودند که میزان مقاومت خاک بهسازی شده با روش EICP به میزان رسوب کربنات کلسیم، شیوه آماده‌سازی و بسته ذرات خاک بستگی دارد. Bang *et al.*, 2009، با مقایسه عملکرد سه روش MICP، EICP و ترکیبی از باکتری و آنزیم در بهبود مقاومت برشی خاک ماسه‌ای و همچنین مقاومت در برابر فرسایش بادی، به این نتیجه رسیدند که به ترتیب روش EICP و روش ترکیبی عملکرد بیشتری نسبت به روش MICP در افزایش مقاومت برشی خاک و همچنین کاهش فرسایش بادی دارند. با توجه به نو بودن، پیچیدگی و همچنین بین‌رشته‌ای بودن این علم، مطالعات بیشتر به منظور شناخت همه جانبه و افزایش دانش و آگاهی در رابطه با کاربرد آن‌ها ضروری است. این مهم، نیازمند یک تلاش بین‌رشته‌ای است که شامل علوم میکروبیولوژی، اکولوژی، ژئوشیمی و دانش مهندسی ژئوتکنیک می‌باشد (Ivanov and Chu, 2008). در همین راستا در پژوهش حاضر سعی شده است به جنبه دیگری از کاربرد تکنیک EICP در خاک پرداخته شود که در مطالعات پیشین مورد توجه واقع نشده است. بنابراین به ارزیابی روش EICP در بهسازی

طبیعی در خاک زیست می‌کنند در تولید آنزیم اوره آزه، اوره موجود در محیط را هیدرولیز می‌نمایند که با توجه به روابط ۱ و ۲ که در ذیل ارائه شده است یون‌های کربنات و آمونیوم ایجاد می‌شود. در صورت وجود یون کلسیم در خاک، کربنات کلسیم به عنوان محصول نهایی در خاک رسوب می‌کند. کربنات کلسیم همانند چسب عمل می‌نماید و دانه‌های خاک را به هم می‌چسباند و با این عمل خصوصیات فیزیکی و مکانیکی خاک بهبود می‌یابد (Dejong *et al.*, 2010).

(رابطه ۱)



در رابطه با روش MICP و انواع کاربردهای آن، مطالعات

زیادی توسط محققین انجام پذیرفته است که از جمله افزایش مقاومت خاک (Shahrokhi-Shahraki *et al.*, 2015, Amin *et al.*, 2017, Al Qabany *et al.*, 2012, van Paassen *et al.*, 2009)، مقابله با فرسایش بادی (Meyer *et al.* 2011)، Zomorodian *et al.*, 2019, Anderson *et al.* 2012, Bang *et al.* 2009)، کاهش میزان نفوذپذیری خاک (Seki *et al.*, 1998)، بازسازی ترک در بتن (Dennis and Turner, 1998)، تثبیت (Ramachandran *et al.*, 2001, Achal *et al.*, 2010)، سیلاب‌دشت رودخانه (Ivanov and Chu, 2008, Shanahan and Montoya, 2014) و غیره. به دلیل استفاده از میکروارگانیسم‌های زنده در روش MICP و در واقع زیست واسطه‌ای بودن آن، این روش در کنار محاسنی که دارد با چالش‌هایی روبرو است که کاربردهای آن را در مواردی با محدودیت مواجه ساخته است. از جمله، عدم توزیع یکنواخت رسوب کربنات کلسیم در خاک به خصوص در مقیاس‌های بزرگ، محدودیت استفاده در خاک‌های ریزدانه نظیر خاک سیلتی به دلیل عدم جابجایی آزادانه میکروارگانیسم در خاک (Nafisi *et al.*, 2019, Mitchell and Santamarina, 2005) و همچنین محدودیت استفاده از میکروارگانیسم‌های هوازی در عمق خاک (Khodadadi *et al.*, 2017). بنابراین در همین راستا لازم است که با الگوبرداری از این روش، تکنیک‌های دیگر و جایگزین را نیز مورد بررسی قرار داد. یکی از تکنیک‌های نوین، روش EICP^۲ است که با الگوبرداری از روش MICP، از آنزیم اوره‌آز به صورت استخراج شده و آزاد، استفاده می‌نماید. بنابراین چالش‌های استفاده از میکروارگانیسم زنده را ندارد (Khodadi *et al.*, 2017). این آنزیم به صورت طبیعی در انواع مختلفی از گیاهان (نخودیان) و میکروارگانیسم‌ها (باکتری، قارچ، مخمر) یافت می‌شود (javadi *et al.*, 2018). در

منظور مرحله دوم خالص‌سازی، به مایع رویی به نسبت حجمی یک به یک، بافر فسفات اضافه گردید. سپس در دو مرحله استون اضافه و محلول سانتریفیوژ شد، در نهایت رسوب آنزیم به دست آمده در بافر فسفات رقیق شد و برای تزریق به خاک استفاده گردید. آنزیم استخراج شده در شکل (۱) قابل مشاهده می‌باشد. روش به کار گرفته شده در این پژوهش بر اساس پژوهش Javadi *et al.*, 2018 می‌باشد.



شکل ۱- آنزیم اوره آز استخراج شده

اندازه‌گیری فعالیت بیولوژیکی آنزیم اوره آز

فعالیت آنزیم اوره‌آز با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۵۶۰ nm تعیین شد (Stefance *et al.*, 2006). بدین منظور از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Cytation 3, Biotek, Winooski, USA استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم، ابتدا منحنی کالیبراسیون با استفاده از غلظت‌های مختلف کربنات آمونیوم و معرف فنول رد رسم شد. بدین صورت که ابتدا محلول کربنات آمونیوم ۰/۵ مولار با غلظت‌های ۰/۰۸، ۰/۰۶، ۰/۰۴، ۰/۰۲ و ۰/۰۱ مولار در بافر فسفات ۰/۰۱ مولار با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر فنول رد حل شد. برای قرائت میزان جذب محلول‌های آماده شده، به اندازه ۱۰۰ میکرو لیتر درون سلول‌های میکروپلیت ریخته شد و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۶۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر، قرائت شد. سپس محلولی از بافر فسفات ۲۰ میلی‌مولار، فنول رد و اوره ۰/۵ مولار آماده شد و به تعداد ۱۲ نمونه در میکروتیوب ۵۰۰ میکرولیتر از محلول ذکر شده و ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی اضافه گردید. نمونه‌ها در دستگاه انکوباتور در دمای ۳۰ و ۵۰ درجه قرار داده شدند به طوری که نمونه ۱ به مدت ۵ دقیقه، نمونه ۲ به مدت ۱۰ دقیقه، نمونه ۳ به مدت ۱۵ دقیقه و در نهایت نمونه ۱۲، به مدت یک ساعت در دماهای ذکر شده نگهداری شدند. هدف از این اندازه‌گیری، مقایسه میزان فعالیت در دو دمای ذکر شده بود. فعالیت آنزیمی به مقدار آنزیمی است که قادر است در هر دقیقه

خاک به منظور کنترل فرسایش هیدرولیکی ناشی از تنش برشی جریان با استفاده از دستگاه تابع فرسایش EFA^۱ پرداخته شده است. با توجه به اینکه توزیع یکنواخت رسوب کربنات کلسیم در خاک عامل مهمی در میزان اثربخشی این روش در خاک به شمار می‌آید بنابراین سعی شده است که با به‌کارگیری غلظت‌های مختلف محلول سمناسیون و کاربرد روش تزریق باکتری و محلول سمناسیون به دو صورت یک بار تزریق و همچنین دو بار تزریق، بهترین استراتژی در افزایش مقاومت خاک و کاهش ضریب فرسایش‌پذیری انتخاب گردد که در ادامه گزارش شده است.

مواد و روش‌ها

استخراج آنزیم اوره آز

آنزیم مورد استفاده در این پژوهش از مغز دانه‌های هندوانه استخراج شد. از دلایل استفاده از دانه هندوانه، اطمینان از اثربخشی و بازدهی بالای آن در تولید آنزیم اوره‌آز و همچنین کم کردن هزینه‌های تهیه آن به عنوان ضایعات مواد غذایی می‌باشد (Dilrukshi *et al.*; 2016, Dilrukshi and Kawasaki; 2016;) (Khodadadi *et al.*, 2017). برای آماده‌سازی آنزیم اوره‌آز، پس از جدا نمودن پوست دانه‌ها مغز آن‌ها له شد. سپس در بافر فسفات ۲۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 7/2$ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای یک شبانه‌روز قرار داده شد. پس از اتمام این دوره زمانی، به مدت ۵ دقیقه هم زده شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و رسوب جداسازی شد (دستگاه سانتریفیوژ مورد استفاده از نوع اولترا با مدل XL-100k، کمپانی Batman می‌باشد). برای حذف لایه‌های چربی (v/v) ۲۰٪ استون به محلول اضافه شد. از یک پارچه کتان برای جداسازی ذرات موجود در محلول استفاده شد و رسوبات روی سطح پارچه دور ریخته شد. به منظور کم کردن هزینه‌ها، خالص‌سازی در دو مرحله انجام گرفت. برای اولین مرحله خالص‌سازی (v/v) ۴۴٪ استون ۲۰- درجه سانتی‌گراد به آرامی به محلول اضافه شد (استون باعث رسوب دادن پروتئین موجود در محلول می‌گردد) سپس ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مجدداً با جداسازی رسوب موجود، در بافر فسفات حل شد. محلول یک شبانه‌روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از آن به مدت ۲ ساعت هم زده شد. سپس با دور ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴ درجه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس با جداسازی رسوب، به

شیمیایی، ابتدا ماسه مورد استفاده شسته شد و کاملاً خشک شد. خاک در قالب‌هایی با قطر 66mm، ارتفاع تقریبی 50mm و حجم 0.17 L به اندازه تقریبی یک میلی‌متر بالاتر از سطح قالب نمونه با تراکم نسبی ۰.۷۵ در سه لایه یکسان ریخته شد. به منظور خارج نمودن هوای موجود در خلل و فرج خاک، با اضافه کردن آب مقطر به خاک، از طریق یک حفره در انتهای قالب که از طریق یک لوله به پمپ پرستالتیک متصل شده بود زهکشی می‌شد. آنزیم اوره‌آز به صورت رقیق شده با محلول بافر فسفات (غلظت 4g/l) برای توزیع یکسان در تمام عمق نمونه به میزان حجمی یک سوم حجم خلل و فرج خاک، به نمونه‌ها تزریق شد. سپس محلول سمنتاسیون حاوی اوره و کلسیم کلراید با غلظت‌های 0.5، 0.75 و یک مولار به نسبت حجمی برابر با حجم خلل و فرج خاک اضافه گردید. تزریق محلول آنزیم و سمنتاسیون بسته به نوع تیمار به دو حالت یک بار تزریق و دو بار تزریق انجام پذیرفت. سپس قالب درون کیسه‌های پلاستیکی به منظور جلوگیری از خشک شدن و از دست دادن رطوبت قرار داده شد و به مدت زمان ۱۴ روز در دستگاه انکوباتور در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تحت درمان قرار گرفت. طرح آزمایش‌ها در جدول (۲) ارائه شده است. تاثیر تیمارها بر پارامترهای فرسایش پذیری خاک به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار بررسی گردید. نمونه‌ای از خاک تیمار شده درون قالب، در شکل (۳) ارائه شده است.



شکل ۳- نمایی از خاک تیمار شده درون قالب

دستگاه EFA

دستگاه تابع فرسایش EFA توسط Briaud *et al.*, (1999, 2001) به منظور ارزیابی میزان فرسایش خاک، توسعه یافته است. بنابراین با الگوبرداری از این روش، دستگاه تابع فرسایش در آزمایشگاه هیدرولیک رسوب دانشگاه شیراز ساخته شد. اساس کار این روش به این صورت است که با عبور دبی‌های مشخص روی سطح خاک درون قالب متصل شده در کف فلوم، در مدت زمان مشخص و بدست آوردن تنش‌های برشی وارد شده به خاک، میزان فرسایش خاک اندازه‌گیری می‌شود. فلوم مورد استفاده

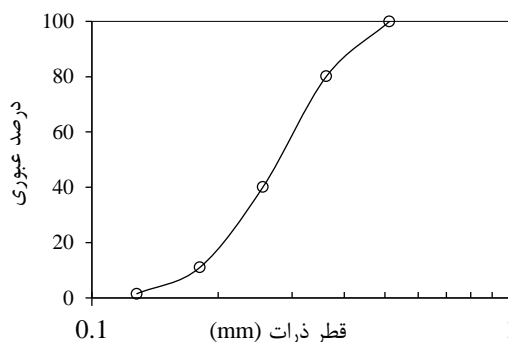
یک میکرومول آمونیاک آزاد کند. با استفاده از داده‌های منحنی کالیبراسیون و روابط مربوطه، میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز بر حسب U/mL بدست آمد. جزئیات بیشتر در رابطه با اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم در پژوهش، Stefance *et al.*, (2006) ارائه شده است.

مشخصات خاک

خاک‌های ماسه‌ای غیر چسبنده به راحتی فرسایش می‌یابند، زیرا تنها نیروی مقاومت‌کننده در برابر فرسایش، اصطکاک بین دانه‌ها است (Larsen, 2008). خاک استفاده شده در این پژوهش، از نوع ماسه سیلیسی (۹۸٪ سیلیس) است که خصوصیات فیزیکی آن در جدول (۱) ارائه شده است. این خاک از معادن ماسه چپروک تهیه شده است که از موارد کاربرد آن‌ها در کارخانه‌های ریخته‌گری می‌باشد. از دلایل استفاده از این خاک، دانه‌بندی یکنواخت، عدم دارا بودن چسبندگی و همچنین اطمینان از عدم وجود مواد شیمیایی در خاک است. با این حال قبل از انجام آزمایش، خاک مورد نظر با آب مقطر شستشو داده شده است. همچنین دلیل دیگر استفاده از این نوع خاک این است که در طول آزمایش‌ها میزان رسوبی که تنها ناشی از فعالیت آنزیم بوده به راحتی برآورد شود. نمودار دانه‌بندی خاک در شکل (۲) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود محدوده دانه‌بندی خاک 0.125-0.5 میلی‌متر است.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی خاک

پارامتر	مقدار
D_{50}	۰/۲۸ mm
$\rho_d \max$	$۱۶۶۱ \frac{kg}{m^3}$
$\rho_d \min$	$۱۴۰۱ \frac{kg}{m^3}$
e	۰/۶۷۵
Gs	۲/۶۵
Cu	۱/۷
Cc	۰/۹۸



شکل ۲- نمودار دانه‌بندی خاک

تزریق آنزیم اوره‌آز و محلول سیمانی کلسیم کلراید و اوره قبل از انجام آزمایش، به منظور اطمینان از عدم وجود مواد

فرسایش (E) است. تنش برشی بحرانی (τ_c) با توجه به محل برخورد منحنی تابع فرسایش با محور افقی بدست می‌آید. ضریب فرسایش‌پذیری خاک (k) به عنوان شیب منحنی تابع فرسایش معرفی می‌شود. هرچه میزان ضریب فرسایش‌پذیری خاک کمتر باشد مقاومت در برابر فرسایش بیشتر می‌باشد.

دارای طول 2 m و مقطع عرضی مستطیلی با ابعاد 0.12×0.06 m است که در کف آن، یک حفره به قطر 0.066 m قرار داشت که قالب خاک در آن تعبیه می‌شد (شکل ۴، الف). نمای جانبی و پلان دستگاه تابع فرسایش در شکل (۴، ب و ج) ارائه شده است. تابع فرسایش رابطه بین تنش برشی هیدرولیکی (τ) و سرعت

جدول ۲- استراتژی‌های تزریق اعمال شده

تیماها	روز اول	روز هفتم	تیماها	روز اول	روز هفتم
A	آنزیم و محلول سیمانی (0.5M)	محلول سیمانی (0.5M)	F	آنزیم و محلول سیمانی (0.75M)	محلول سیمانی (0.75M)
B	آنزیم و محلول سیمانی (0.5M)	-	G	آنزیم و محلول سیمانی (1M)	-
C	آنزیم و محلول سیمانی (0.5M)	تزریق آنزیم	H	آنزیم و محلول سیمانی (1M)	تزریق آنزیم
D	آنزیم و محلول سیمانی (0.75M)	-	I	آنزیم و محلول سیمانی (1M)	محلول سیمانی (1M)
E	آنزیم و محلول سیمانی (0.75M)	تزریق آنزیم	J	آنزیم و محلول سیمانی (1M)	آنزیم و محلول سیمانی (1M)

(۳) و زبری نسبی (رابطه ۴) از دیاگرام مودی بدست می‌آید. عدد رینولدز رابطه مستقیم با سرعت جریان (V) و قطر هیدرولیکی (D) (۴ برابر شعاع هیدرولیکی) و رابطه معکوس با لزجت سینماتیکی جریان (ν) ($10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ در دمای 20°C) دارد. شعاع هیدرولیکی جریان از رابطه (۵) بدست می‌آید.

$$R_e = \frac{VD}{\nu} \quad (\text{رابطه ۳})$$

$$\varepsilon = \frac{1}{2} D_{50} \quad (\text{رابطه ۴})$$

$$R = \frac{ab}{2(a+b)} \quad (\text{رابطه ۵})$$

D_{50} : قطر متوسط خاک (m)

R : شعاع هیدرولیکی (m)

a, b: طول و عرض سطح مقطع جریان عبوری (m)

سرعت فرسایش

نمونه خاک شاهد و تیمار شده پس از جاسازی در دستگاه تابع فرسایش، در معرض عبور دبی‌های مختلف جریان قرار گرفتند. آزمایش‌ها با ۳ تکرار انجام شدند و بعد از هر تکرار میزان فرسایش‌پذیری خاک به صورت حجمی از طریق یک سرنگ آب، اندازه‌گیری شدند. با داشتن سرعت جریان و حجم فرسایش یافته نمونه‌ها، با استفاده از رابطه (۶) میزان سرعت فرسایش خاک (E , mm/hr) بدست می‌آید.

$$E = \frac{V_e}{A_s \Delta t} \quad (\text{رابطه ۶})$$

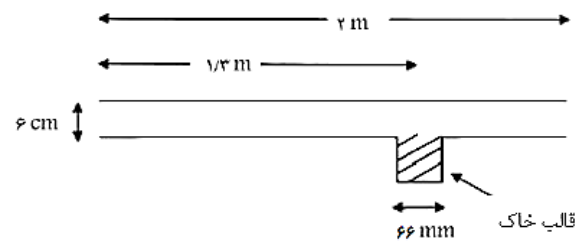
V_e : حجم آب مورد نیاز برای پر شدن حفره‌ها (mm^3)

A_s : سطح نمونه خاک (mm^2)

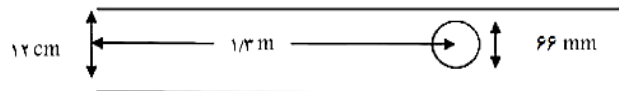
Δt : مدت زمان آزمایش (hr)



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۴- دستگاه تابع فرسایش مورد استفاده. الف: شکل دستگاه. ب: نمای جانبی، ج: نمای پلان

تنش برشی

برای محاسبه تنش برشی وارد شده به خاک از رابطه (۲) استفاده می‌شود. در این رابطه، τ تنش برشی (N/m^2)، ρ چگالی آب (1000 kg/m^3)، V سرعت متوسط جریان (m/s) در لوله و f ضریب اصطکاک است.

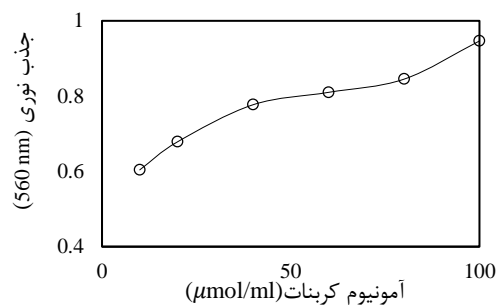
$$\tau = \frac{1}{8} f \rho v^2 \quad (\text{رابطه ۲})$$

ضریب اصطکاک فلوم (f) با توجه به عدد رینولدز رابطه

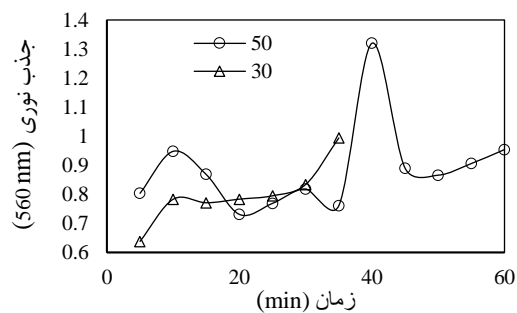
نتایج و بحث

فعالیت بیولوژیکی آنزیم اوره‌آز

منحنی کالیبراسیون در شکل (۵) و روند فعالیت آنزیم اوره‌آز استخراج شده در دو دمای ۳۰ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد در شکل (۶) نشان داده شده است. همانگونه که از شکل (۶) مشاهده می‌شود میزان جذب نوری و در واقع میزان فعالیت آنزیم در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر از دمای ۳۰ درجه می‌باشد به گونه‌ای که فعالیت آنزیم اوره‌آز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد $2/4$ U/mL و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد $2/8$ بدست آمد. از آنجایی که آنزیم در دمای ۵۰ درجه، فعالیت بیشتری نشان می‌دهد این دما به عنوان دمای بهینه فعالیت آنزیم انتخاب شد و نمونه‌ها در این دما تحت تیمار قرار گرفتند.



شکل ۵- منحنی کالیبراسیون



شکل ۶- فعالیت آنزیم استخراج شده در دو دمای ۳۰ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد

نتایج آزمایش‌های EFA

فرسایش تیمارهای (A- J) را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در تیمارهای یک بار تزریق محلول آنزیم و سم‌تاسیون B, D و G با افزایش غلظت محلول سم‌تاسیون از 0.5 مولار به یک مولار شیب منحنی تابع فرسایش که نشانگر میزان ضریب فرسایش‌پذیری است به ترتیب به میزان 38.44, 57.84 و 97 درصد کاهش پیدا کرده است که نشانگر افزایش میزان مقاومت در برابر فرسایش هم‌زمان با افزایش غلظت محلول سم‌تاسیون می‌باشد. در تیمارهای دو بار تزریق محلول سم‌تاسیون A, F و I با افزایش غلظت محلول سم‌تاسیون از 0.5 مولار به 1 مولار، میزان ضریب فرسایش‌پذیری کاهش پیدا کرده است که این میزان کاهش نسبت به نمونه شاهد به ترتیب برابر با 49.31, 59.89 و 96.57 درصد می‌باشد. با مقایسه تیمارهای A, F و I به ترتیب با تیمارهای B, D و G (نمونه‌های یک بار تزریق)، مشاهده می‌شود که در غلظت‌های 0.5M و 0.75M محلول سم‌تاسیون، با تزریق مجدد محلول سم‌تاسیون، ضریب فرسایش‌پذیری خاک کاهش پیدا کرده است که این در مورد غلظت 1M محلول سم‌تاسیون، افزایشی است به این صورت که در تیمار I نسبت به تیمار G به میزان تقریباً 15.6٪ ضریب فرسایش‌پذیری افزایش یافته است. بنابراین تیمار G نسبت به تیمار I مقاوم‌تر می‌باشد. علت این موضوع می‌تواند به نسبت بین میزان آنزیم اوره‌آز و محلول سم‌تاسیون ارتباط داشته باشد که با افزایش غلظت محلول سم‌تاسیون (1M)، هیدرولیز بیشتر اوره نیازمند افزایش میزان آنزیم می‌باشد. بنابراین با افزایش محلول سم‌تاسیون به میزان 1M لازم است که به صورت مجدد آنزیم نیز به خاک اضافه شود. کماکان که مشاهده می‌شود که در تیمار J که تزریق مجدد محلول سم‌تاسیون (1M) و همچنین محلول آنزیم انجام پذیرفته است، کمترین ضریب فرسایش‌پذیری و در واقع مقاوم‌ترین نمونه خاک ایجاد شده است به گونه‌ای که به میزان 98.5٪ کاهش در ضریب فرسایش‌پذیری نسبت به نمونه شاهد رخ داده است. تیمارهای C, E و H مربوط به تزریق مجدد محلول آنزیم به ترتیب در غلظت‌های 0.5, 0.75 و 1 مولار محلول سم‌تاسیون در تزریق اول می‌باشد. همان‌گونه که از نتایج جدول (۵) و منحنی‌های تابع فرسایش (شکل ۷) مشاهده می‌شود در تیمارهای C و E با تزریق مجدد محلول آنزیم، میزان ضریب فرسایش‌پذیری به ترتیب به میزان 70.77 و 75.18٪ نسبت به نمونه شاهد، کاهش نشان داده است. اما برخلاف انتظار در تیمار H که تزریق مجدد آنزیم در غلظت 1M محلول سم‌تاسیون در خاک انجام شده است با افزایش شدید ضریب فرسایش‌پذیری نسبت به بقیه تیمارها روبرو شده‌ایم به گونه‌ای

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین پارامترهای فرسایش‌پذیری حاصل شده به ترتیب در جدول (۳) و جدول (۴) ارائه شده است. نتایج مربوط به تست EFA و در واقع پارامترهای فرسایش‌پذیری خاک تیمار شده با استراتژی‌های مختلف تزریق آنزیم و محلول سم‌تاسیون در شکل (۷) و جدول (۵) ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که روش MICP و در واقع تیمارهای اعمال شده تاثیر بسزایی در بهسازی خاک داشته است. مقایسه میانگین نتایج نشان داد که تیمارهای موجود به طور معنا داری بر تنش برشی خاک و همچنین سرعت فرسایش آن تاثیر گذاشته است. شکل (۷) منحنی‌های تابع

در صورت وجود مقدار کافی شود که نوعی بازخورد منفی است. بنابراین وجود یک مهارکننده در خاک باعث کاهش فعالیت آنزیم اوره آز و رسوب کربنات کلسیم در تیمار H شده است. بنابراین ضریب فرسایش پذیری این تیمار نسبت به نمونه شاهد به میزان زیادی کاهش نشان نداده است. پارامترهای فرسایش پذیری خاک، شامل پارامترهای تنش برشی بحرانی (τ_c) و ضریب فرسایش پذیری خاک (k) تیمار شده با انواع استراتژی‌های تزریق و همچنین خاک شاهد در جدول (۵) ارائه شده است. همان‌گونه که از این جدول مشاهده می‌شود بیشترین آستانه فرسایش مربوط به تیمارهای E، G می‌باشد که به ترتیب باعث افزایش تقریبی ۵/۸۹ و ۵/۳۵ برابری تنش برشی بحرانی نسبت به نمونه شاهد شده‌اند.

که نسبت به نمونه شاهد فقط حدود ۲۱٪ کاهش در ضریب فرسایش پذیری رخ داده است. علت این موضوع می‌تواند به احتمال وجود یک مهارکننده فعالیت آنزیم اوره آز در خاک ارتباط داشته باشد. از جمله مهارکننده‌های فعالیت آنزیم اوره آز، وجود میکروارگانیسم‌های تولید کننده آنزیم پروتئاز، ترکیبات ادتا (EDTA^۱) و ترکیبات دی متیل گلیسین (DMG^۲) در خاک است. بر خلاف بسیاری از آنزیم‌ها، آنزیم اوره آز از نوع آلوستریک نیست و احتمال رخ دادن پدیده مهار پس‌نورد^۳ یا مکانیسم بازخورد منفی^۴ فرآورده روی فعالیت آنزیم اوره‌آز ممکن نمی‌باشد (Svane *et al.*, 2020). مکانیسم بازخورد منفی بدین معناست که اگر یک آنزیم بیش از حد، یک ماده را تولید کند، ممکن است آن ماده به عنوان یک بازدارنده برای آنزیم در ابتدای مسیر تولید آن عمل نماید و باعث کند شدن تولید ماده

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای اعمال شده بر پارامترهای فرسایش پذیری خاک

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
تنش برشی	سرعت فرسایش		
* ۲۴۱۵۳۵/۴۶۹	* ۲۲۵۸۳۵/۸۸۰	۱۰	تیمار
۸۹۶۱۰/۵۶۴	۱۰۰۲۴۹/۶۸۶	۲۲	خطا
		۳۲	کل

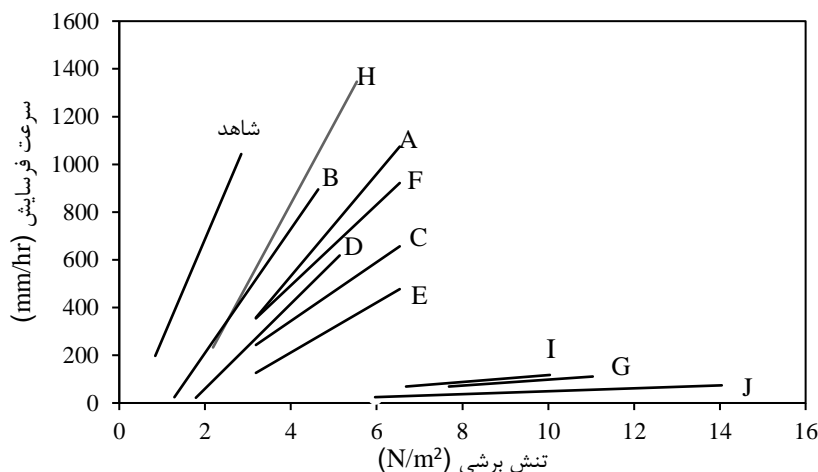
* معنی‌دار در سطح ۵ درصد

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین تاثیر تیمارهای اعمال شده بر پارامترهای فرسایش پذیری خاک

میانگین		تیمار
سرعت فرسایش	تنش برشی	
۷۰۲/۹۴ ^{ab}	۲/۰۶ ^c	شاهد
۷۲۶/۹ ^a	۷۲۸/۹ ^a	A
۴۷۲/۹۴ ^{abc}	۴۷۳/۰۴ ^{abc}	B
۴۵۶/۰۳ ^{abc}	۴۵۸/۰۳ ^{abc}	C
۳۲۹/۰۳ ^{abc}	۳۲۹/۶۳ ^{abc}	D
۳۰۷/۰۱ ^{abc}	۳۰۹/۰۱ ^{abc}	E
۶۴۶/۸۶ ^{abc}	۶۴۸/۸۶ ^{ab}	F
۹۰/۴۸ ^{bc}	۹۶/۹۸ ^{bc}	G
۸۰۶/۵۳ ^a	۸۰۷/۵۳ ^a	H
۹۳/۹۲ ^{bc}	۹۹/۴۲ ^{bc}	I
۴۸/۵۶ ^c	۵۲/۷۶ ^c	J

میانگین‌هایی که دارای یک حرف لاتین مشترک هستند فاقد تفاوت معنی‌دار

به روش دانکن می‌باشند.



شکل ۷- تابع فرسایش تیمارهای اعمال شده، با توجه به جدول ۳

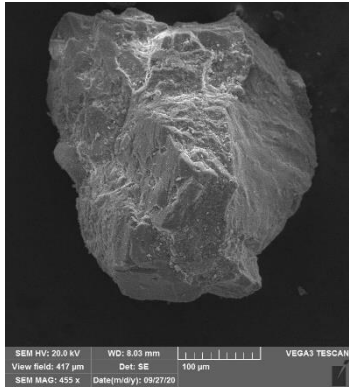
جدول ۵- نتایج حاصل از تست EFA مربوط به استراتژی‌های مختلف تزریق آنزیم و محلول سمنتاسیون

تیمار	τ_c (Pa)	k ($\frac{\text{mm/hr}}{\text{N/m}^2}$)	میزان افزایش در تنش برشی بحرانی	میزان کاهش در ضریب فرسایش پذیری نسبت به نمونه شاهد: %
شاهد	۰/۳۷	۴۲۱/۸	-	-
A	۱/۵۱	۲۱۳/۸۱	۴/۰۸	۴۹/۳۱
B	۱/۱۹	۲۵۹/۶۶	۳/۲۲	۳۸/۴۴
C	۱/۲۱	۱۲۳/۲۹	۳/۲۷	۷۰/۷۷
D	۱/۶۶	۱۷۷/۸۳	۴/۴۹	۵۷/۸۴
E	۱/۹۸	۱۰۴/۶۷	۵/۳۵	۷۵/۱۸
F	۱/۰۹	۱۶۹/۱۹	۲/۹۵	۵۹/۸۹
G	۲/۱۸	۱۲/۵۱	۵/۸۹	۹۷/۰۳
H	۰/۹۸	۳۳۲/۲	۲/۶۵	۲۱/۲۴
I	۱/۹۲	۱۴/۴۶	۵/۱۹	۹۶/۵۷
J	۱/۹۷	۶/۱۲	۵/۳۲	۹۸/۵۵

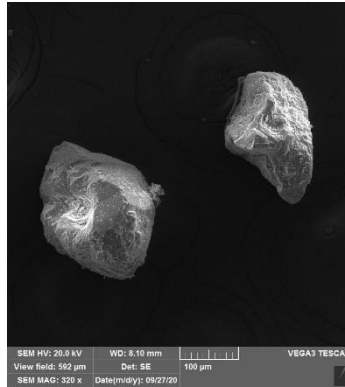
نتایج مربوط به تست SEM

به منظور بررسی توزیع رسوب‌گذاری و اطمینان از شکل‌گیری رسوب کربنات کلسیم در خاک تیمار شده، از عکس‌برداری با میکروسکوپ الکترونی (SEM^۱) استفاده شد و با خاک شاهد مقایسه شد. شکل (۸) نتایج تست SEM در خاک شاهد را در سه مقیاس مختلف نشان می‌دهد. در این شکل، مجزا بودن دانه‌های خاک از هم و همچنین دندان‌های و تیز گوشه بودن آن‌ها کاملاً مشهود می‌باشد. شکل (۹ و ۱۰) به ترتیب نتایج تست SEM را در حالت یک بار تزریق و همچنین دو بار تزریق نشان می‌دهد. در مقایسه با خاک شاهد مشاهده می‌شود که

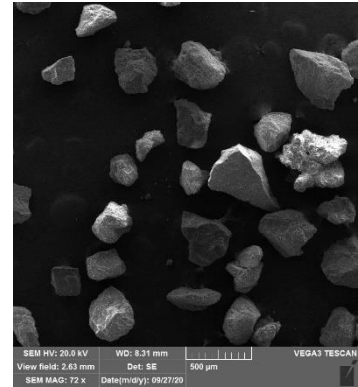
بین دانه‌های خاک و همچنین در پیرامون آن‌ها چسب ایجاد شده است که همان رسوب کربنات کلسیم می‌باشد. بهترین حالت از رسوب کربنات کلسیم زمانی است که کربنات کلسیم در مرز بین دانه‌های خاک رسوب نماید و مانند پلی بین دانه‌های خاک چسبیدگی ایجاد نماید (Dejong *et al.*, 2010). بنابراین در هر دو تیمار این مطلوب به نسبت ایجاد شده است و بین دانه‌های خاک فضای خالی مشاهده نمی‌شود. به منظور مشاهده چشمی و ارزیابی کیفی خاک تیمار شده، مشاهده شد که خاک تیمار شده، به سختی با اره دستی برش می‌خورد که نمایی از آن در شکل (۱۱) ارائه شده است.



(ج)

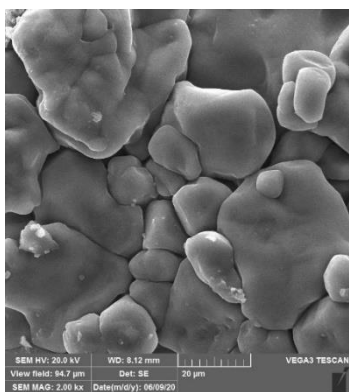


(ب)

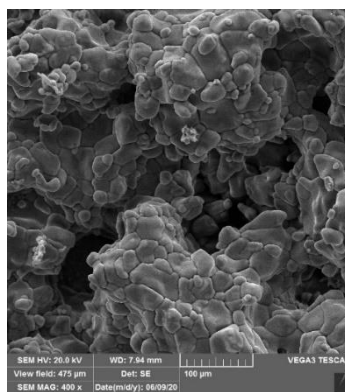


(الف)

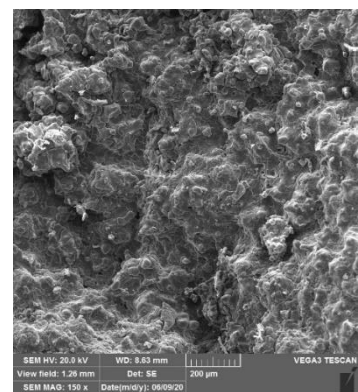
شکل ۸. تصاویر SEM گرفته شده از نمونه شاهد در سه مقیاس مختلف: (الف) $\times 72$ ؛ (ب) $\times 320$ ؛ و (ج) $\times 455$



(ج)

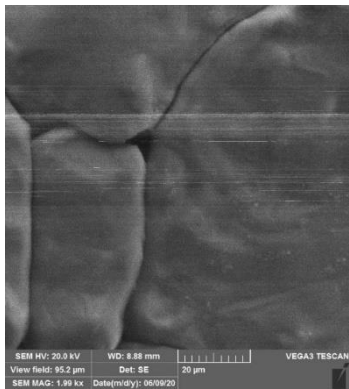


(ب)

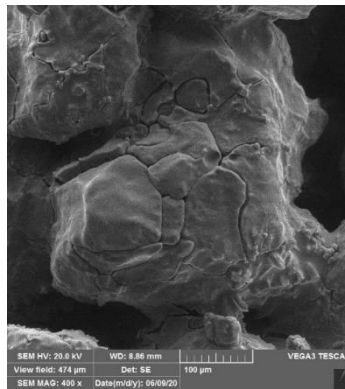


(الف)

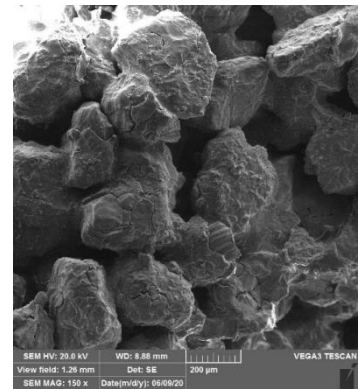
شکل ۹- تصاویر SEM گرفته شده از نمونه یکبار تزریق تحت درمان قرار گرفته، در سه مقیاس مختلف: (الف) $\times 150$ ؛ (ب) $\times 400$ ؛ و (ج) $\times 2000$



(ج)



(ب)



(الف)

شکل ۱۰- تصاویر SEM گرفته شده از نمونه دو بار تزریق تحت درمان قرار گرفته، در سه مقیاس مختلف: (الف) $\times 150$ ؛ (ب) $\times 400$ ؛ و (ج) $\times 1990$

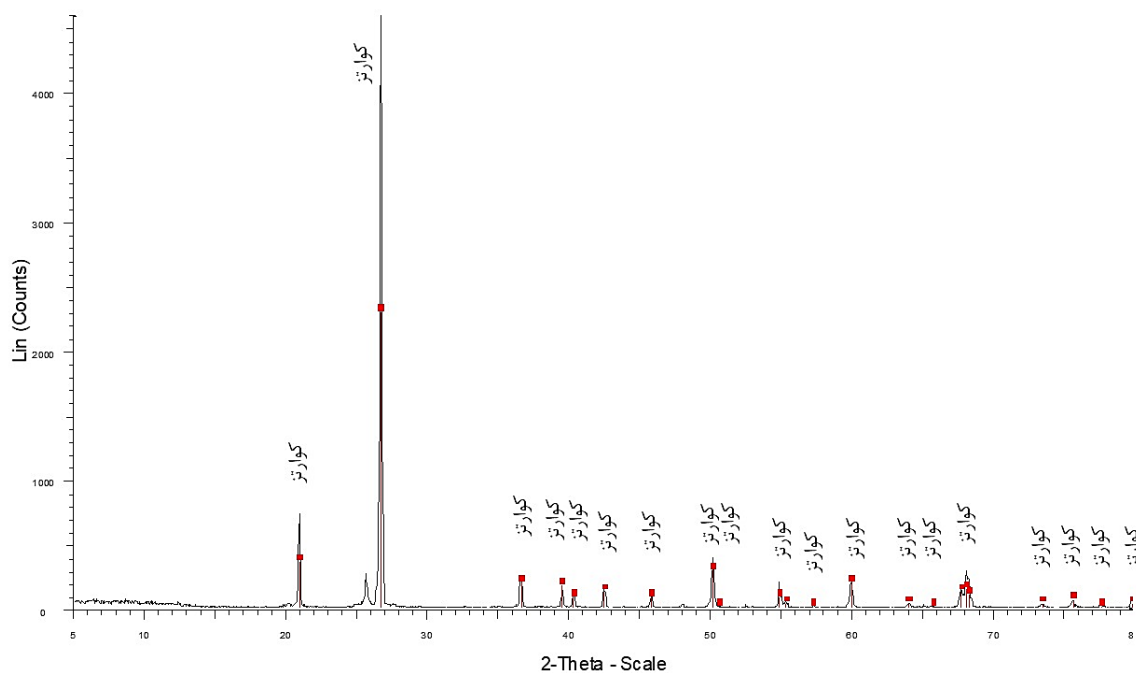


شکل ۱۱- نمونه‌های از خاک تیمار شده

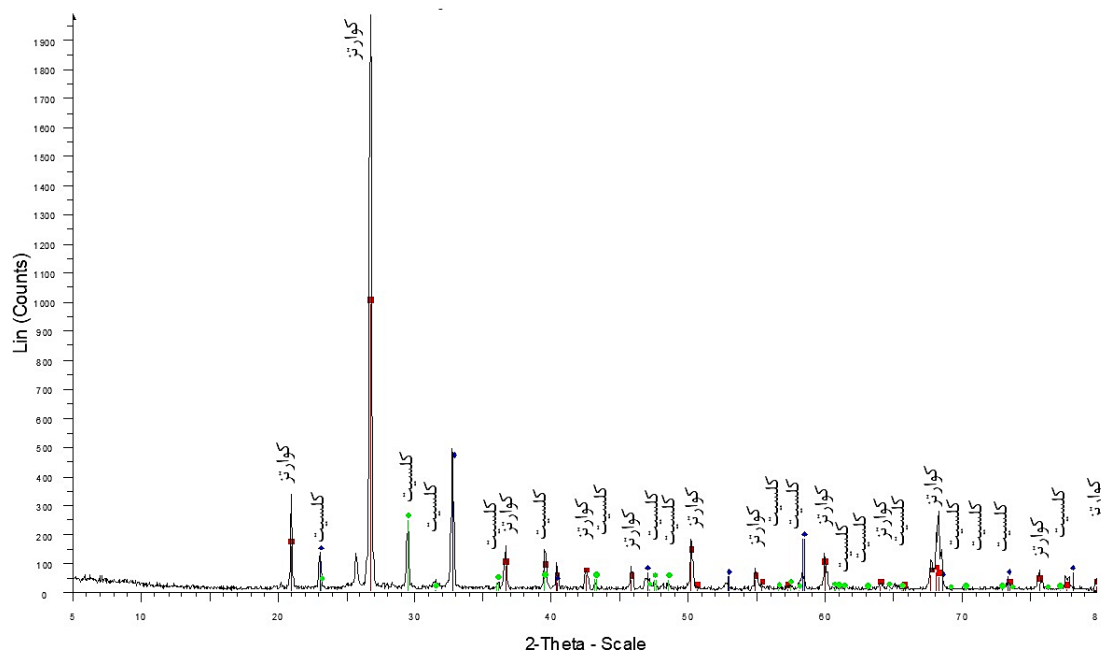
نتایج تست XRD

تست XRD بر مبنای شدت تابش اشعه X در زاویه‌های مختلف است که برای مطالعه کیفی ترکیب عنصری خاک و همچنین ساختار کریستال کربنات کلسیم رسوب شده در خاک تیمار شده به کار می‌رود. شکل (۱۲) نتیجه تست XRD در خاک شاهد را ارائه می‌دهد. محور عمودی شدت بازتاب اشعه ایکس و محور افقی زاویه بر حسب درجه را نشان می‌دهد. با

توجه به نوع سیلیسی بودن خاک، همان‌گونه که قابل پیش‌بینی بود، کانی کوارتز در خاک شاهد غالب است. نقاط قرمز نشانگر وجود کانی کوارتز هستند. شکل (۱۳) نتیجه تست XRD در خاک تیمار شده را نشان می‌دهد. با مقایسه این شکل با تست XRD خاک شاهد متوجه می‌شویم که علاوه بر کانی کوارتز، کریستال کربنات کلسیم از نوع کانی کلسیت شکل گرفته است که به صورت نقاط سبز رنگ نشان داده شده است.



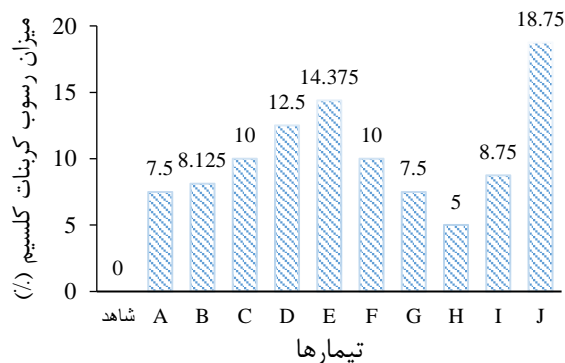
شکل ۱۲- آزمایش XRD برای نمونه شاهد



شکل ۱۳- آزمایش XRD برای نمونه تیمار شده

نتایج آزمایش‌های تیتراسیون

به منظور تخمین میزان کمی کلسیت رسوب شده در خاک، از آزمایش تیتراسیون استفاده شد. با توجه به شکل (۱۴) بیشترین میزان رسوب کلسیت در خاک با تیمار J (تیمار دو بار تزریق آنزیم اوره‌آز و دو بار تزریق محلول سیمانی ۱ مولار) ایجاد شده است که برابر با ۱۸/۷۵ درصد می‌باشد. کمترین میزان کلسیت، همان‌گونه که انتظار داشتیم مربوط به تیمار H (تیمار دو بار تزریق آنزیم اوره‌آز و یک بار تزریق محلول سیمانی ۱ مولار) به میزان ۵ درصد می‌باشد. در این تیمار همان‌گونه که در قسمت نتایج مربوط به تست EFA ذکر شد به دلیل احتمال وجود مهارکننده‌های فعالیت آنزیم در خاک، میزان رسوب کربنات کلسیم به میزان کمتری اتفاق افتاده است. میزان رسوب کلسیت در انواع دیگر تیمارهای اعمال شده، در شکل (۱۴) ارائه شده است. نکته‌ای که لازم به ذکر است این است که افزایش میزان رسوب کربنات کلسیم، نشانگر افزایش میزان مقاومت خاک نمی‌باشد بلکه توزیع مناسب رسوب کربنات کلسیم در خاک نیز به همین نسبت حائز اهمیت می‌باشد به‌گونه‌ای که اگر کربنات کلسیم در مرز اتصال دانه‌های خاک توزیع یافته باشد خصوصیات فیزیکی خاک را بهبود می‌بخشد. بنابراین میزان رسوب کربنات کلسیم همراه با توزیع مناسب آن‌ها در خاک نشانگر میزان بهبود خواص خاک می‌باشد.



شکل ۱۴- نتایج آزمایش‌های تیتراسیون

مقایسه نتایج پژوهش حاضر با (Amin & Zomorodian, 2017)

در شکل (۱۵) نتیجه آزمایش تابع فرسایش خاک با تیمار J که بهترین تیمار پژوهش حاضر در کاهش ضریب فرسایش پذیری خاک است با بهترین تیمار گزارش شده در پژوهش Amin and Zomorodian, (2017) مقایسه شده است. Amin and Zomorodian (2017) با استفاده از روش MICP و بکارگیری باکتری اسپوروسارسینا پاستوری در تولید آنزیم اوره‌آز، با

استفاده از دستگاه تابع فرسایش میزان ضریب فرسایش پذیری خاک ماسه سیلیسی مشابه با پژوهش حاضر را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نتایج یک بار تزریق و همچنین دو بار تزریق باکتری و محلول سممنتاسیون 0.5M را گزارش نمودند. همان‌گونه که در شکل (۱۵) مشاهده می‌شود میزان ضریب فرسایش پذیری در پژوهش آن‌ها 38.3 بدست آمده است که نسبت به نمونه شاهد آن، منجر به کاهش 95٪ در ضریب فرسایش پذیری شده است. در پژوهش حاضر ضریب فرسایش پذیری تا 98٪ با استفاده از روش EICP کاهش یافته است. همچنین در پژوهش Amin and Zomorodian کاربرد روش MICP در بهترین حالت، منجر به افزایش ۶ برابری تنش برشی بحرانی نسبت به نمونه شاهد شده است که این در پژوهش حاضر، ۵/۸۹ برابر می‌باشد. در هر دو پژوهش کریستال‌های کربنات کلسیم از نوع کلسیت می‌باشند که نتیجه‌ای قابل قبول است. زیرا که نوع دیگر کانی کربنات کلسیم که آراگونیت است معمولاً در محیط‌های دریایی و رودخانه‌ای و یا محلول‌های غنی از منیزیم یافت می‌شود (Berner, 1975; Rivadeneyra et al., 1991). بیشترین میزان رسوب کلسیت در خاک در پژوهش Amin and Zomorodian به میزان 15.5٪ گزارش شده است که این در پژوهش حاضر 18.7٪ مشاهده شد که به میزان بیشتری حاصل شده است. بنابراین مقایسه نتایج نشان می‌دهد که روش EICP همانند روش MICP بازدهی خوبی در رسوب کربنات کلسیم در خاک و بهبود خواص فیزیکی خاک در برابر فرسایش دارد. با توجه به اینکه شرایط آزمایش (دما، PH، غلظت مواد، زمان و ...) و استراتژی‌های تزریق پژوهش حاضر با پژوهش Amin and Zomorodian (2017) کاملاً مشابه نبوده است نمی‌توان با اطمینان در مورد اینکه بازدهی کدام روش بیشتر است نتیجه‌گیری کرد و تنها به ذکر این نکته می‌توان بسنده کرد که دو روش در بهبود خواص فیزیکی خاک، قابل قیاس هستند و خواص فیزیکی و مکانیکی خاک را به میزان قابل توجهی بهبود می‌بخشند. در روش MICP با مساعد بودن شرایط محیطی با گذشت زمان و در مدت‌های زمانی بیشتر، خواص خاک بهبود می‌یابد ولی روش EICP در کوتاه مدت و در واقع در مدت زمان پایداری آنزیم عملکرد مناسب دارد که بر اساس مطالعات این آنزیم از پایداری نسبتاً خوبی نیز در خاک برخوردار است (Zantua and Bremner, 1977). در روش MICP با میکروارگانیسم زنده سر و کار داریم که محدودیت‌های خاص خود را دارد که این در مورد تزریق آنزیم به صورت آزاد در خاک، کمتر است و در صورت عدم وجود مهار کننده‌ها در خاک،

باعث کاهش ضریب فرسایش‌پذیری و افزایش تنش برشی بحرانی حدوداً تا ۶ برابر ناشی از رسوب کریستال‌های کربنات کلسیم از نوع کانی کلسیت شد که ماکزیمم رسوب کربنات کلسیم به میزان 18.75٪ بدست آمد.

۲- در استراتژی یک بار تزریق آنزیم و محلول سمنتاسیون، با افزایش غلظت محلول سمنتاسیون، ضریب فرسایش‌پذیری به میزان قابل توجهی کاهش پیدا نمود که این در غلظت 1M محلول سمنتاسیون به میزان 97٪ حاصل شد.

۳- در غلظت زیاد محلول سمنتاسیون (1M)، تزریق مجدد محلول سمنتاسیون مستلزم افزایش میزان تزریق آنزیم جهت هیدرولیز بیشتر اوره و رسوب کربنات کلسیم در خاک می‌باشد. بنابراین تناسب مناسب بین غلظت محلول سمنتاسیون و دفعات تزریق آن با میزان آنزیم مورد استفاده از فاکتورهای بسیار مهم است.

۴- تزریق مجدد آنزیم یا محلول سمنتاسیون، در غلظت‌های 0.5 و 0.75 مولار نسبت به غلظت یک مولار، عملکرد بیشتری در افزایش مقاومت خاک در برابر فرسایش نشان داد.

۵- در غلظت‌های 0.5 و 0.75 مولار محلول سمنتاسیون، تزریق مجدد آنزیم، میزان اثربخشی بیشتری در کاهش ضریب فرسایش‌پذیری در مقایسه با تزریق مجدد محلول سمنتاسیون دارد به گونه‌ای که میزان افزایش بازدهی در غلظت 0.5M به میزان 42.3٪ و در غلظت 0.75M به میزان 38.1٪ بدست آمد.

۶- استراتژی دو بار تزریق آنزیم و محلول سمنتاسیون با کاهش 98.55٪ در ضریب فرسایش‌پذیری خاک شاهد، مقاوم‌ترین خاک در برابر فرسایش را ایجاد نمود.

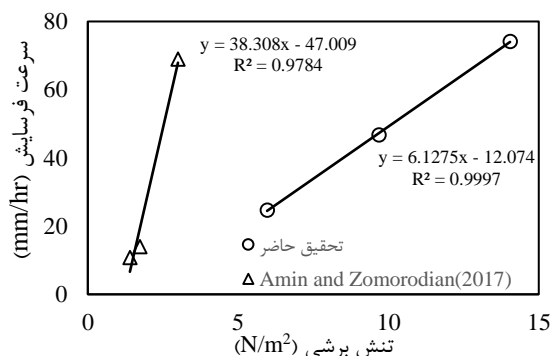
۷- استراتژی یک بار تزریق آنزیم و محلول سمنتاسیون با غلظت 1M با کاهش 97٪ ضریب فرسایش، بهینه‌ترین تیمار از لحاظ اقتصادی در افزایش مقاومت خاک در برابر فرسایش انتخاب می‌شود.

"هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

- Achal V, Mukherjee A and Reddy MS. (2010). Microbial concrete: way to enhance the durability of building structures. *Journal of Materials in Civil Engineering* 23(6): 730-734.
- Almajed, A., Khodadadi Tirkolaei, H., Kavazanjian Jr, E. (2018). Baseline Investigation on Enzyme-Induced Calcium Carbonate Precipitation, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 144(11): 04018081.
- Amin, M., Zomorodian, S.M.A., and O'Kelly, B.C. (2017). Reducing the hydraulic erosion of sand using microbial-induced carbonate precipitation. *Proceedings of the Institution of Civil Engineers Ground Improvement*. 2(117), 112-122.
- Amin, M., Zomorodian, S.M.A. (2017). Effect of

بیشتر تحت کنترل می‌باشد. به نظر می‌رسد که ترکیب دو روش MICP و EICP بازدهی بیشتری در رسوب کربنات کلسیم در خاک داشته باشد و در مدت زمان کمتری نسبت به روش MICP خواص خاک بهبود پیدا می‌کند که لازم است مورد بررسی قرار گیرد. استخراج و استفاده از آنزیم اوره‌آز از منبعی متفاوت و با فعالیت بیشتر نسبت به پژوهش حاضر توصیه می‌گردد. استفاده از یون‌های فعال کننده یا بازدارنده‌های فعالیت آنزیم در خاک، در بررسی میزان بهبود خواص خاک توصیه می‌شود. همچنین استفاده از روش EICP در خاک با کانی متفاوت و همچنین توزیع دانه‌بندی متفاوت توصیه می‌گردد. لازم به ذکر است که نتایج حاصل از این پژوهش مربوط به استراتژی‌های خاص به کار گرفته شده در این پژوهش است و با تغییر شرایط، قطعاً نتایج متفاوت حاصل می‌شود.



شکل ۱۵- مقایسه نتایج تیمار بهینه در تحقیق حاضر با تحقیق Amin & Zomorodian, (2017)

نتیجه‌گیری

بهسازی خاک با استفاده از EICP (رسوب کربنات کلسیم بر پایه استفاده از آنزیم اوره‌آز) روش نوینی است که استفاده از آن در این پژوهش نتایج بسیار خوبی به همراه داشت که در ذیل ارائه شده است:

۱- تزریق آنزیم و محلول سمنتاسیون به خاک ماسه‌ای

biogroutting in reducing the erosion rate of sand, *Sharif Journal of Civil Engineering*, 32-2(4/2), 13-19. (In Persian)

Al Qabany A, Soga K and Santamarina, C. (2012). Factors affecting efficiency of microbially induced calcite precipitation. *Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 138(8): 992-1001.

Anderson J., Bang S.S., Bang S., Lee S.J., Dho N.Y., Choi S.R., Ko S. (2012). Application of Microbial Calcite to Fiber Reinforced Soils to Reduce Wind Erosion Potential, *Int J Geo-Eng*, 4(2): 47-54.

Arsalan, A and Younus, H. (2018). Enzymes and nanoparticles: Modulation of enzymatic activity via nanoparticles. *International Journal of*

- Biological Macromolecules*, 118 (2018) 1833–184.
- Bang, S.S., Bang, S., Frutiger, S., Nehl, L.M. and Comes, B.L. (2009). Application of Novel Biological Technique in Dust Suppression. *TRB 2009 Annual Meeting CD-ROM*.
- Benini, S., Rypniewski, W.R., Wilson, K.S., Miletti, S., Ciurli, S., and Mangani, S. (1999). A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from *Bacillus pasteurii*: why urea hydrolysis costs two nickels. *Journal of Structure*, 7(2), 205–216.
- Berner, R.A. (1975). The role of magnesium in the crystal growth of calcite and aragonite from sea water. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 39, 489-504.
- Briaud JL, Ting FCK, Chen HC *et al.* (2001). Erosion function apparatus for scour rate predictions. *Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 127(2): 105–113.
- Briaud, J-L., Ting, F.C.K., Chen, H-C., Gudavalli, R., Kwak, K., Philogene, B., Han, S.W., Perugu, S., Wei, G., Nurtjahyo, P., Cao, Y., & Li, Y. (1999). SRICOS: Prediction of Scour Rate at Bridge Piers. College Station, USA: Texas A&M University.
- DeJong, J.T, Mortensen, B.M., Martinez, B.C. and Nelson, DC. (2010). Bio-mediate soil improvement. *Journal of Ecological Engineering*, 36 (2), 197-210.
- Dennis ML and Turner JP (1998). Hydraulic conductivity of compacted soil treated with biofilm. *Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 124(2): 120–127.
- Dilrukshi, R.A.N., Watanabe, J., and Kawasaki, S. (2016). Strengthening of sand cemented with Calcium Phosphate Compounds using Plant-derived Urease. *International Journal of Geomate*, 11(25), 2461-2467.
- Dilrukshi, R.A.N. and Kawasaki, S. (2016). Effective Use of Plant-Derived Urease in the Field of Geoenvironmental/Geotechnical Engineering. *Journal of Civil & Environmental Engineering*.
- Ghaffari, H., & Zomorodian, S.M.A. (2017). Evaluation of Shear Strength of Soil Stabilized by Microbiological Method, *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 48 (4), 737-748. (In Persian)
- Ivanov, V. and Chu, J. (2008). Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 7(2), 139-153.
- Javadi, N., Khodadadi, H., Hamdan, N., and Kavazanjian, E. (2018). EICP Treatment of Soil by Using Urease Enzyme Extracted from Watermelon Seeds. *International Foundations Congress and Equipment Expo*, Temp: Arizona State University, 115-124.
- Khodadadi T., H. Kavazanjian, E., van Paassen, L., DeJong, J. (2017). Bio-grout Materials: A Review. *Grouting*, 1-12.
- Larsen, R. (2008). Erosion Function Apparatus. *Journal of Undergraduate Research*, 6(1), 51-65.
- Meyer, F.D., Bang, S., Min, S., Stetler, L.D., Bang, S.S., (2011). Microbiologically-induced soil stabilization: application of *Sporosarcina pasteurii* for fugitive dust control. *GSP 211. ASCE, Reston, VA, USA*, 4002–4011.
- Mitchell, J.K., Santamarina, J.C. (2005). Biological Considerations in Geotechnical Engineering, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 131(10): 1222-1233.
- Nafisi, A., Safavizadeh, Sh., and Montoya, B.M. (2019). Influence of Microbe and Enzyme-Induced Treatments on Cemented Sand Shear Response. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 1090-0241.
- Ramachandran SK, Ramakrishnan V and Bang SS (2001). Remediation of concrete using micro-organisms. *ACI Materials Journal*, 98(1): 3–9.
- Rivadeneira, M.A., Delgado, R., Quesada, E., Ramos-Cormenzana, A. (1991). Precipitation of calcium carbonate by *Deleya halophila* in media containing NaCl as sole salt. *Current Microbiology*, 22, 185-190.
- Seki K, Miyazaki T and Nakano, M (1998). Effects of microorganisms on hydraulic conductivity decrease in infiltration. *European Journal of Soil Science*, 49(2): 231 236.
- Stefance, Z., Tomaskavic, M., Rakivic-tresic, Z. (2006). Spectrophotometric Method of Assaying Urease Activity. *Analytical Letters*, 2(4), 197-210.
- Shahrokhi-Shahraki, R., Zomorodian, S.M.A., Niazi, A., O’Kelly, B.C. (2015). Improving sand with microbial-induced carbonate precipitation. *Proc. Inst. Civ. Eng. – Ground Improv.* 168 (3), 217–230.
- Shanahan, C. and Montoya, B.M. (2014). Strengthening coastal sand dunes using microbial induced calcite precipitation, *Geo-Congress 2014, Technical Papers, GSP 234, ASCE*.
- Svane, S., Sigurdarson, J., Finkenwirth, F., Eitinger, T. Karring, H. (2020). Inhibition of urease activity by different compounds provides insight into the modulation and association of bacterial nickel import and ureolysis. *Scientific Reports*, 10: 8503 (2020).
- Van Paassen, L.A., Harkes, M.P., Van Zwieten, G.A., Van der Zon, W.H., Van der star, W.R.L. and Van Loosdrecht, M.C.M. (2009). Scale up of biogROUT: A biological ground reinforcement method. *Proceedings 17th International Conference on Soil Mechanics & Geotechnical Engineering* (pp.2328-2333), Amsterdam: IOS Press.
- Yasuhara, H., D. Neupane, K. Hayashi, and M. Okamura. (2012). Experiments and predictions of physical properties of sand cemented by enzymatically-induced carbonate precipitation. *Soils Found.* 52 (3): 539-549.
- Zomorodian SMA, Ghaffari, H. and O’Kelly, BC, (2019). Stabilisation of crustal sand layer using biocementation technique for wind erosion control. *Aeolian Research*, 40: 34–41.
- Zantua, M.I. Bremner, J.M. (1977). Stability of Urease in Soils, *Soil Bid. Bmchem*, 9: 135-140