Vol. 2, No. 1, Semi-Annual Spring & Summer 2016

Received: 01/05/2016 Accepted: 05/08/2016

Possibility of Using Biogrout for Stabilization of Sand Dunes in Desert Areas with Approach in Conservation of Archaeological Remains

Alireza Baghbanan[*1], Farshad Ramezanifar[2], Hamid Hashemolhosseini[3], Mehdi Razani[4]

[1] *Associate Professor, Department of Mining Engineering, Isfahan University of Technology, IRAN*
[2] *M.A. Rock Mechanics, Department of Mining Engineering, Isfahan University of Technology, IRAN*
[3] *Associate Professor, Department of Civil Engineering, Isfahan University of Technology, IRAN*
[4] *PhD candidate, Faculty of Conservation-Restoration, Art University of Isfahan, IRAN*

Abstract

Archaeological sites in desert areas are at risk for destroying and reburied with sand dunes by sand storms. One of the most important issues for archaeologist and conservators in these regions is maintenance of archaeological remains, during the excavation process and after it. There are several sand dune stabilization methods such as mechanical dune stabilization, mulch or protective screen, aerodynamic method and biological fixation (woody and grassy species, planting). However they are mostly expensive and time consuming and may have some harmful effects on environment. In this regard, the bio-grouting technique which produce calcite cements are new approaches to consolidate land in geotechnical engineering. This method has created a potential for archaeological conservation, stabilization procedure for sand dunes or soil. This method works according to the chemical reactions of natural non-pathogenic microorganisms that exist in the soil. The main objective of this research work is to evaluate the possibility of using biological stabilization with calcite-forming bacteria, for consolidating of sand dunes in desert areas with an approach in the conservation of archaeological remains, and archaeological conservation during and after the excavations. In this case sand grains/soil particles are coagulated and make a more dense soil with higher mechanical properties than natural condition. Biological stabilization of sand dunes and soil has been conducted with *Sporosarcina Pasteurii Bacteria*. When this bacteria supplies with suitable substrates, micro-organisms can catalyze chemical reactions in the subsurface resulting in precipitation of inorganic minerals. These bacteria could microbially catalyze hydrolysis of urea and calcium carbonate reaction when it is cultivated with enough nutritions under proper environmental conditions at laboratory and then it is located on the soil surface with other reactive substances. It results a scaffolding calcite between soil/sand particles. The best reactive environment is achieved at pH 7-9, temperature of 25 °C to examine the depth of penetration of biogrout, a cylindrical mold (PVC) tube (by 1 meter high) is filled with dry sand and consolidates with bio-grouts. The results show that the measured depth of bio-consolidation is 50cm in dry sand. Soil density is 1.6gr/cm3; the permeability of soil is smaller than the normal condition. To control the functional rate and also surface resistance of biogrouted sand, the standard penetration test with 250 g plummet in the dry and wet conditions have been examined. The results of this test show that bio-consolidation was successfully conducted and depth of plummet penetration becomes negligible.

Keywords: Biogrout, Conservation, Archaeological Remains, Biological Stabilization, Running Sands.

[*] Corresponding author: bagh110@cc.iut.ac.ir

پژوهه باستان‌سنجی

مقاله پژوهشی
سال دوم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۵، ۱۷-۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۱۵

امکان‌سنجی استفاده از دوغاب زیستی برای تثبیت ماسه‌های روان در مناطق کویری با رویکرد حفاظت از بقایای باستان‌شناسی

علیرضا باغبانان[1*]، فرشاد رمضانی فر[2]، حمید هاشم الحسینی[3]، مهدی رازانی[4]

۱.دانشیار، دانشکده مهندسی معدن، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مکانیک سنگ، دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی اصفهان
۳. دانشیار، دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی اصفهان
۴. دانشجوی دکتری مرمت اشیا تاریخی و فرهنگی، دانشکده حفاظت و مرمت، دانشگاه هنر اصفهان

چکیده

محوطه‌های باستان‌شناسی در مناطق بیابانی همواره در معرض تخریب و دفن شدن به‌وسیله ماسه‌های روان در طی توفان‌های ماسه‌ای هستند و نگهداری از این مناطق و بقایای آن‌ها در مراحل کاوش و در ادامه، از مهم‌ترین اقدامات حفاظت باستان‌شناسی است. در همین راستا استفاده از روش‌های تثبیت بیولوژیکی برای تولید سیمان‌های کلسیتی، که به‌عنوان روشی نوین جهت تحکیم و تثبیت زمین در مهندسی ژئوتکنیک است، ظرفیتی جدید برای عملیات حفاظت در کاوش به وجود آورده است؛ به‌نحوی‌که در این روش‌ها از میکروارگانیسم‌های غیر بیماری‌زایی که به‌طور طبیعی در محیط خاکی یافت می‌شوند، برای تثبیت خاک، ماسه‌های روان استفاده می‌گردد. در این تحقیق، امکان‌سنجی استفاده از روش بهسازی بیولوژیکی با استفاده از باکتری‌های کلسیت‌ساز، جهت تثبیت ماسه‌های روان در محوطه‌های تاریخی و همچنین حفاظت بقایای باستان‌شناسی در حین و بعد از کاوش مورد مطالعه قرار گرفته است. در این پژوهش برای تثبیت بیولوژیکی خاک (ماسه بادی و خاک ماسه‌ای) تحت شرایط بهینه، از باکتری‌های مصرف‌کننده اوره به نام *Sporosarcina Pasteurii* و از دو نوع خاکِ طبیعی مناطق کویری و ماسه شناسنامه‌دار ریخته‌گری استفاده گردیده است. به‌نحوی‌که بعد از اعمال دوغاب زیستی استحکام‌بخش با استفاده از آزمایش‌های مکانیکی میزان تأثیر این روش در بهسازی خاک ماسه‌ای ارزیابی شد، جهت تعیین میزان نفوذ ماده استحکام‌بخش و عمق بهسازی خاک، قالبی از جنس PVC با ارتفاع ۱m با ماسه به‌صورت خشک تا چگالی ۱/۶ gr/cm^3 متراکم شد و مورد بهسازی قرار گرفت. برای کنترل میزان کارکرد روش و بررسی کیفی مقاومت سطحی ایجاد شده از آزمون نفوذ استاندارد با استفاده از سنبه ۲۵۰ gr در دو حالت تر و خشک استفاده گردید. که نتایج نشان داد دوغاب بیولوژیکی مورد استفاده قادر به تحکیم ماسه بادی تا عمق ۵۰ cm است و تثبیت ماسه با مواد دوغاب زیستی موجب شده تا نفوذ سنبه در هر دو حالت بسیار کاهش یافته و حتی به صفر برسد.

واژگان کلیدی: دوغاب زیستی، حفاظت، بقایای باستان‌شناسی، تثبیت بیولوژیکی، روان ماسه.

* نویسنده مسئول: مکاتبات: اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده مهندسی معدن، تلفن : ۰۰۹۸۳۱۳۳۹۱۵۱۲۸، فکس: ۰۰۹۸۳۱۳۳۹۱۲۷۷۶
پست الکترونیکی: bagh110@cc.iut.ac.ir

حق نشر متعلق به نویسنده(گان) است و نویسنده تحت مجوز Creative Commons Attribution License به مجله اجازه می‌دهد مقاله چاپ شده را با دیگران به اشتراک بگذارد منوط بر اینکه حقوق مؤلف اثر حفظ و به انتشار اولیه مقاله در این مجله اشاره شود.

۱- مقدمه

حدود ۲۰٪ مساحت ایران را مناطق بیابانی به وسعت ۳۴ میلیون هکتار در بر گرفته است که برخی از این مناطق از جمله بخش جنوب شرقی ایران، با توفان‌های روان ماسه مواجه است. ماسه‌های روان در مناطق بیابانی موجب تهدید زیرساخت‌های سکونتی گردیده است، به نحوی گسترش توده‌های ماسه‌ای و جابجایی آن‌ها در نواحی مجاور، ضایعات زیست‌محیطی مخربی از قبیل: مدفون نمودن روستاها، تخریب مزارع، بستن راه‌های ارتباطی، پر شدن منابع آب و دیگر مشکلات و اثرات اجتماعی و بهداشتی را بر جای می‌گذارد که نهایتاً منجر به گسترش نواحی بیابانی می‌گردد (رفاهی، ۱۳۸۵؛ خسروی، ۱۳۷۸، ص. ۹۷-۱۱۷)؛ از طرفی بخش‌های عمده‌ای از محوطه‌های باستان‌شناسی ایران در مناطق جنوب شرقی و مرکزی در نواحی بیابانی و نیمه بیابانی قرار دارند، که از مهم‌ترین چالش‌ها حفاظت و نجات بخشی برای باستان‌شناسان و مرمتگران در این مناطق غلبه بر ویژگی‌های طوفان‌های ماسه‌ای است، در همین راستا ماسه‌های روان برای بناهای تاریخی که در معرض تخریب ناشی از فرسایش بادهای ماسه‌ای قرار دارند به چالشی برای انجام مطالعات باستان‌شناسی و همچنین حفاظت از بقایای باستان‌شناسی (مثلاً: بخش عمده محوطه‌های باستانی دهانه غلامان و محوطه‌های اقماری آن در زیر لایه چند متری ماسه قرار دارند (شکل ۱و۲)) تبدیل شده است.

در ایران از اواخر دهه ۳۰ شمسی تلاش‌هایی در تثبیت ماسه‌های روان صورت گرفته است و اقداماتی از قبیل مالچ پاشی در سال ۱۳۴۶ در ایران شروع شده است (رفاهی، ۱۳۸۵، ص. ۲۵۱-۲۵۷). لازم به ذکر است اقداماتی همچون مالچ پاشی علاوه بر اینکه یکی از دشوارترین و پرهزینه‌ترین پروژه‌های تثبیت ماسه‌های روان است همواره به‌عنوان عملی موقت مطرح بوده است. زیرا که پس از طی مدت زمانی خاص مالچ توانایی چسبندگی خود را از دست داده و علاوه بر تکرار موارد مشکل‌ساز قبل، مشکلاتی نظیر وجود ذرات آلی و خطرناک همراه با جریان ماسه‌های روان را در پی دارد. همچنین به هیچ وجه نمی‌توان از مالچ به‌عنوان یک ماده روغنی در محوطه‌های حفاری که شامل آثار ارزشمند تاریخی و فرهنگی هستند استفاده نمود. ازاین‌رو نوآوری در شیوه‌های تثبیت ماسه‌های روان به‌صورت یک امر کلان ملی و همچنین حفاظت از محوطه‌های باستانی موجود در این مناطق در حوزه تخصصی حفاظت و مرمت بقایای باستان‌شناسی امری واجب تلقی می‌شود. در همین راستا این تحقیق با هدف امکان‌سنجی استفاده از دوغاب زیستی (Bio-Grout) به عنوان یک ماده دوستدار محیط‌زیست که توانایی تثبیت ماسه‌های روان را دارد با رویکرد حفاظت از محوطه‌های باستان‌شناسی انجام گرفته است.

۲- پیشینه تحقیق

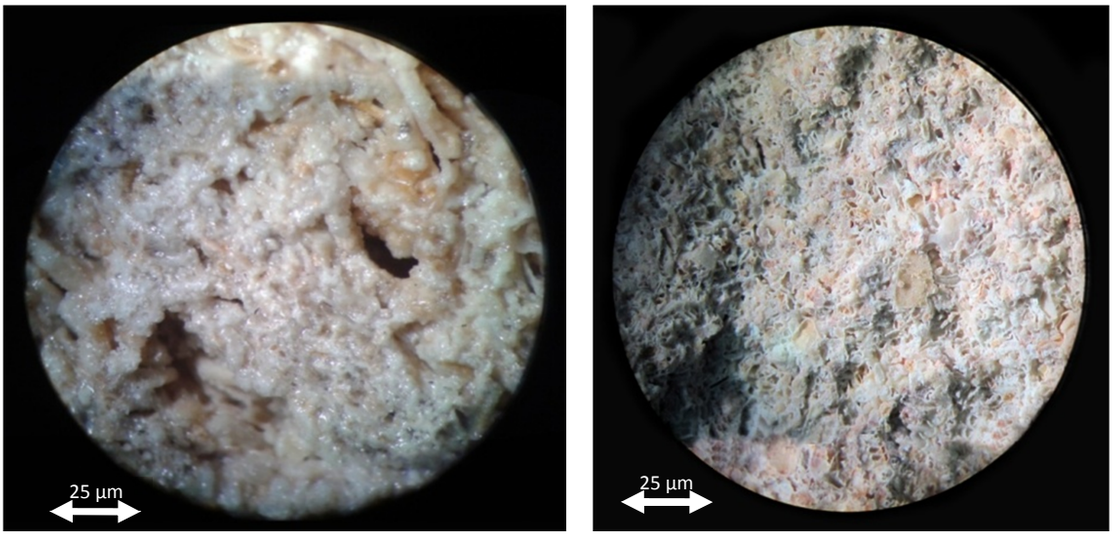
حفاظت و مرمت ابنیه تاریخی و بقایای برجا در محوطه‌های تاریخی بعد از کاوش‌های علمی از چالش‌های قابل توجه مطالعات باستان‌شناسی بوده است (استانلی پرایس، ۱۳۷۷/۱۹۸۳؛ استابز، ۱۳۷۷/۱۹۸۳). به‌نحوی‌که ضرورت پرداختن به موضوع حفاظت از بقایای باستان‌شناسی در طی قرن اخیر از بخش‌های مهم گنجانده شده در برنامه‌ریزی کلان رویکردهای باستان‌شناسی و دانش‌های مرتبط با میراث فرهنگی بوده است و اهمیت این امر به تناوب در عرصه‌های بین‌المللی چون: قطعنامه آتن در سال ۱۹۳۳ (بند: ۴)، توصیه بین‌المللی در مورد کاوش‌های باستان‌شناسی ۱۹۵۶ (بند: ۲۱) (یونسکو، ۱۳۸۳)، منشور ونیز ۱۹۶۴ (بندهای ۱۵ به بعد) و در نهایت منشور مدیریت میراث باستان‌شناختی ایکوموس در سال ۱۹۹۰ لوزان (فیلدن و یوکیلتو، ۱۳۸۶) به نحو شایسته‌ای مطرح شده است. شایان ذکر است در ایران مبحث حفاظت از بازمانده‌های خشتی و دیوارهای برآمده از کاوش‌های باستان‌شناسی تا حوالی سال ۱۳۳۶ه.ش و کاوش‌های دایسون در تپه حسنلو چندان شناخته شده نبوده است (نگهبان ۱۳۷۶، ص. ۱۲۶-۱۲۷). از جمله اقداماتی که از گذشته تا به حال برای حفاظت از بقایای باستان‌شناختی انجام گرفته است موارد زیر قابل ذکر هستند؛ ۱) محافظت موقت از تپه‌ها در بین فصول حفاری، ۲) دفن مجدد (Reburial) با پر کردن مجدد محوطه کاوش، ۳)

آجرکشی و پوشاندن دیوارها و آثار باقی‌مانده در محل، ۴) سقف زنی و جان‌پناه‌ها روی محوطه برای حفاظت دائمی یا موقت، ۵) استفاده از مواد شیمیایی برای استحکام‌بخشی دیواره‌ها (جاندرو و همکاران، ۱۳۷۷/۱۹۸۳؛ استانلی پرایس، ۱۳۷۷/۱۹۸۳). می‌توان گفت موارد فوق به میزان ناچیزی در راستای حفاظت از بقایای باستان‌شناسی در محوطه‌های کویری که دارای توفان‌های روان ماسه هستند؛ می‌تواند کاربرد داشته باشند. ازاین‌رو استفاده از روش‌های نوین بهسازی زمین و الگوبرداری از طبیعت به‌منظور ایجاد بسترهای مناسب جهت اهداف عمرانی و حفاظتی، علاوه بر مزایایی نظیر حفاظت از محیط‌زیست و سازگاری با گونه‌ای مختلف حیات، از عمر بالاتری برخوردار هستند (DeJong et al., 2010). سیمانی شدگی مصنوعی، شبیه به آنچه که در هنگام استفاده از سیمان پرتلند در تزریق‌های سیمانی صورت می‌گیرد، شامل افزودن موادی با خاصیت قلیایی بالا به خاک است که باعث آلودگی خاک می‌گردد (Ozdogan, 2010). بسیاری از دوغاب‌های شیمیایی نیز که به‌طور عمومی مورد استفاده قرار می‌گیرند، سمی بوده و ممکن است دارای تأثیرات جدی و مهمی بر روی سلامت انسان و محیط‌زیست داشته باشند (Reuben, 2003).

در تثبیت ماسه‌های روان از دیرباز روش پاشیدن مالچ‌های نفتی و غیرنفتی و ایجاد دیوارهای گیاهی و حصیری و امثالهم مطرح بوده است. گرچه ایجاد پوشش گیاهی در راستای اهداف زیست‌محیطی است اما زمان زیادی را جهت تثبیت تل‌های ماسه‌ای می‌طلبد. همچنین مالچ‌های نفتی در قبال تثبیت سریع ماسه‌ها مشکلات زیست‌محیطی عدیده‌ای را ایجاد کرده و همواره مستلزم تکرار این عملیات هستند (رفاهی، ۱۳۸۵). استفاده از روش‌های بیولوژیکی برای بهسازی زمین، گزینه‌ای جدید و دوستدار محیط‌زیست است. استفاده از میکروارگانیسم‌ها برای تولید سیمان کلسیتی، چندین دهه است که با کاربردهای صنعتی برای فرآیندهایی نظیر تولید سیمان در مناطق دلخواه در اطراف چاه‌های نفت برای افزایش میزان بازیابی از مخازن نفتی (Ferris et al., 1997)، غیر متحرک کردن کلسیم و سایر آلودگی‌ها در آب‌های زیرزمینی و سطحی (Mitchell et Hammes et al., 2003; al., 2005)، بهسازی و تعمیر مصالح سنگی آهکی (Le Metayer-Levrel, 1999) به‌کاربرده شده است. همچنین دارای کاربردهای زیادی در مهندسی ژئوتکنیک و عمران نظیر بازسازی و تعمیر ترک‌ها در بتن و گرانیت (Ramachandran et al., 2001; Gollapudi et al., 1995)، افزایش ظرفیت باربری خاک (Van Paassen et al., 2009)، پر کردن حفرات خاک و چسباندن ذرات خاک به یکدیگر (Ivanov & Chu, 2008) و افزایش مقاومت برشی خاک (DeJong et al., 2006) است. در این روش‌ها

شکل ۱: محوطه باستانی دهانه غلامان و محوطه‌های کاوش‌شده آن که در تپه‌های ماسه روان محصور شده‌اند (مأخذ: باشگاه خبرنگاران دانشجو، ۱۳۹۳)

شکل ۲: نجات اسکلت باستانی در میان روان ماسه‌های محوطه میراث جهانی و باستان‌شناختی شهر سوخته سیستان (مأخذ: سید سجادی، ۱۳۹۴)



شکل۳: مقایسه شیوه عملکرد و بهسازی سطح متخلخل با استفاده از میکروارگانیسم باکتریایی
نمونه شاهد سنگ لوماشل استان هرمزگان (راست) نمونه استحکام‌بخشی شده با دوغاب زیستی (چپ)

از میکروارگانیسم‌های غیر بیماری‌زایی که به‌طور طبیعی در محیط خاکی یافت می‌شوند، استفاده می‌شود تا موجب تولید سیمان طبیعی در مواد متخلخل از جمله خاک گردد. پیشینه تحقیق در این رابطه بر اساس تجربیات داخلی حاکی از آن است که روش فوق بر مبنای استفاده از باکتری‌های مصرف‌کننده اوره به نام Sporosarcina Pasteurii در قالب بهسازی بیولوژیکی در جهت تثبیت ماسه‌های روان و مبارزه با ریزگردها (رمضانی فر، ۱۳۹۲)، و بهسازی و استحکام‌بخشی سنگ‌های لوماشل (محمدی، ۱۳۹۲) کاربرد داشته است. مطالعات فوق نشان‌دهنده قابلیت استفاده از این روش در بهینه‌سازی سطوح متخلخل است (شکل۳).

۳-روش تحقیق

فرآیند اصلی این تحقیق، بر سیمانی شدگی کلسیتی و تبدیل خاک ماسه‌ای از حالت روان طبیعی با دانه‌های گسسته به حالت جامد با دانه‌های به هم چسبیده است. این روش جهت تثبیت ماسه‌های روان با بهره‌گیری از باکتری‌های تولیدکننده آنزیم‌های اوره آز، بر استفاده از شیوه پاششی، متمرکز خواهد شد. چراکه این امر می‌تواند مفیدترین راهکار برای سطوح وسیع قلمداد شود. در همین راستا در ابتدا با کمک تزریق مواد بهساز به یک نمونه ماسه ریخته‌گری با دانه‌بندی مشخص نشان داده می‌شود مقاومت ماسه به طرز چشمگیری افزایش یافته و بر مؤثر بودن نتیجه تزریق صحه می‌گذارد. در ادامه با کمک بنتونیت (Bentonite) محلولی تهیه گشته که قادر به پاشش (شبیه به آنچه در مالچ پاشی رخ می‌دهد) بوده و به سبب خواص این ماده سیلیکاته قادر به تحمل شرایط کویری و بیابانی است. بنتونیت[۱]، با توجه به تحقیقات انجام شده در علوم کشاورزی و پزشکی یک جاذب و یک کند کننده تلقی شده و شبیه اسفنج مواد محلول و یون‌ها، را جذب کرده و بعد به کندی رها می‌سازد. پس از تعیین شرایط بهینه، فرآیندهای بهسازی بر روی نمونه‌ها انجام شده و نتیجه سیمانی شدگی و تثبیت بیولوژیکی حاصل روی خصوصیات مقاومتی و فیزیکی خاک‌های غیر چسبنده و سست، از طریق آزمایش‌های اندازه‌گیری عمق بهسازی، با انجام آزمون نفوذ وزنه ۲۵۰g در حالات تر و خشک بررسی می‌شود. در مجموع با توجه به نتایج حاصل از آزمایش‌های انجام گرفته، به ارزیابی این نوع فرآیندها از جهات مختلف مانند شاخصه‌های اجرایی، زیست‌محیطی و مقاومتی پرداخته شده و امکان استفاده از این نوع روش‌ها به عنوان روش‌های جایگزین برای تثبیت ماسه‌های روان و متعاقب آن استفاده در حفاظت از بقایای باستان‌شناسی مورد بحث و تحلیل قرار می‌گیرد.

۴- مواد و روش‌های مورد استفاده

۴-۱- میکروارگانیسم مورد استفاده، مکانیسم‌های بیوشیمیایی و محیط رشد آن

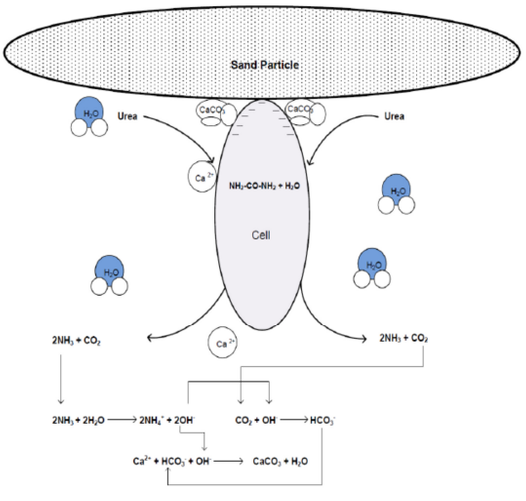
باکتری *Sporosarcina Pasteurii* عمومی‌ترین و رایج‌ترین میکروارگانیسم قلیادوست خاک است که نقش مهمی در فرآیند سیمانی کردن خاک، از طریق تولید آنزیم اوره آز ایفا می‌کند و باعث هیدرولیز اوره به آمونیوم و دی‌اکسید کربن می‌شود. در طی این واکنش آمونیوم تولیدشده باعث افزایش pH در محیط می‌شود و به دنبال آن کربنات کلسیم رسوب می‌کند (Whiffin, 2004). بر اساس تحقیقات صورت گرفته، مهم‌ترین مواد لازم برای رشد باکتری‌ها و همچنین مهم‌ترین مؤلفه‌های شیمیایی برای سیمانی کردن خاک و تشکیل کربنات کلسیم، مخمر، کلرید آمونیوم[۲]، کلرید کلسیم[۳] و اوره[۴] هستند. به‌نحوی‌که تحت شرایط مطلوب زیست‌محیطی، باکتری مذکور، اوره را به‌عنوان منبع انرژی مصرف کرده و باعث تولید آمونیاک (NH_3) و دی‌اکسید کربن می‌گردد و باعث افزایش pH در محیط مجاور می‌شود. این واکنش هیدرولیزی آنزیمی اوره، در سطح سلول‌های باکتریایی اتفاق می‌افتد، هم‌زمان با هیدرولیز شدن آنزیمی اوره، دو واکنش دیگر به‌طور طبیعی در حضور آب انجام‌شده و باعث می‌شود آمونیاک و دی‌اکسیدکربنی که به‌وسیله اوره آزاد شده‌اند، به یون‌های آمونیوم (NH_4^+) و اسیدکربنیک (HCO_3^-) تبدیل گردند. تولید یون‌های آمونیوم باعث افزایش pH محیط می‌گردد. این افزایش pH ناشی از افزایش میزان یون‌های هیدروکسید (OH^-) است که باعث می‌شود بهترین و مناسب‌ترین شرایط محیطی برای رشد باکتری‌ها فراهم آید تا از اوره موجود تغذیه کرده و باعث رسوب کربنات کلسیم شوند. افزایش pH، که در محیط روی می‌دهد، باعث می‌شود که یون‌های کلسیم موجود در محلول که از طریق حل شدن کلرید کلسیم در آب حاصل‌شده‌اند، با یون‌های اسیدکربنیک و یون‌های هیدروکسید موجود در محلول واکنش داده و منجر به رسوب سیمان کلسیتی شوند (آقایاری، ۱۳۹۱؛ Whiffin, 2004) معادله کلی واکنش به‌صورت زیر است: طی این واکنش‌ها، سلول‌های باکتریایی که به دلیل وجود یون‌های هیدروکسید (OH^-) در بیرون از دیواره سلولی خود، دارای بار منفی هستند، موجب جذب سطح ذرات خاک می‌شوند که به‌طور نسبی غلظت‌های بالایی از مواد مغذی در مقایسه با محیط اطراف خود دارند (Paassen, 2009; Jonkers, 2009).

اوره — آمونیاک

$$NH_2 - CO - NH_2 + H_2O \longrightarrow 2NH_3^+ + CO_2$$
$$2NH_3 + 2H_2O \longrightarrow 2NH_4^+ + 2OH^-$$
$$CO_2 + OH^- \longrightarrow HCO_3^-$$
$$Ca^{2+} + HCO_3^- + OH^- \longrightarrow H_2O + CaCO_3$$

به دنبال این فرآیند، باندهایی از سیمان کلسیتی در فضاهای خالی موجود بین دانه‌های خاک تشکیل می‌شوند و باعث چسبیدن ذرات خاک با یکدیگر و درنتیجه کاهش تخلخل، افزایش تراکم و افزایش مقاومت خاک می‌شوند. این امر با پر کردن منافذ و ایجاد زنجیره کلسیتی همراه است و باعث کاهش جذب آب در توده متخلخل می‌شود در شکل ۴ به‌طور شماتیک تمام مکانیسم واکنش‌های شیمیایی که در ماتریکس ماسه به وقوع می‌پیوندند، نشان داده شده است.

میکروارگانیسم مورد استفاده در این پژوهش نوعی باکتری از خانواده باسیلوس‌ها (Bacillaceae family) با نام علمی *Sporosarcina Pasteurii* است. سویه (strain) – یاخته‌هایی که در کشت خالص، از یک یاخته به‌دست آمده‌اند – مورد نظر از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و



شکل ۴: شماتیک مکانیسم‌های بیوشیمیایی در ماتریکس ماسه (Ozdogan, 2010)

جدول ۱: مواد مورد استفاده و مقادیر آنها در محیط کشت مایع

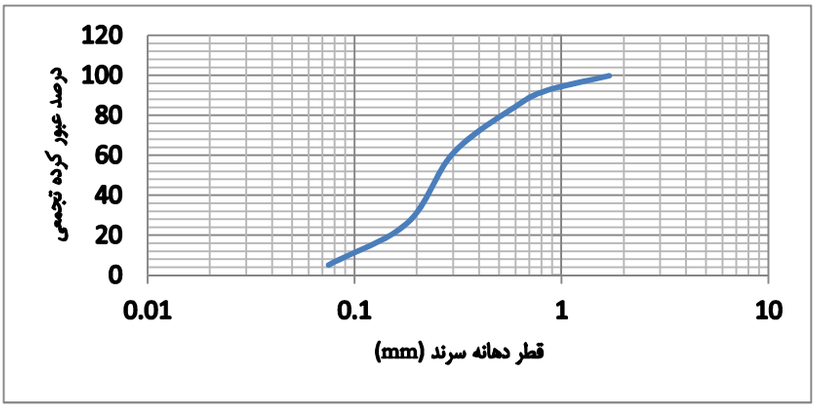
ماده مورد استفاده	مقدار
عصاره مخمر (Yeast extract)	۲۰g
کلرید آمونیوم (NH_4Cl)	۱۰ g
آب مقطر	۱ L

باکتری‌های صنعتی ایران به شماره شناسایی PTCC 1645 (DSM33) به صورت کشت زنده تهیه گردید. بر اساس نتایج حاصل از تحقیقات صورت گرفته، مناسب‌ترین محیط کشت برای میکروارگانیسم مورد نظر، محیط کشت مایع شامل عصاره مخمر و کلرید آمونیوم است. در جدول ۱ مقادیر مورد استفاده از هر کدام از مواد مورد استفاده در محیط کشت آمده است.

بر اساس مطالعات ون پاسن (Paassen, 2009) پس از انحلال مواد فوق در بطری‌های ۲۵۰ میلی لیتری محتوی ۱ لیتر آب مقطر، pH محیط با استفاده از محلول یک مولار هیدروکسید سدیم (NaOH) و به کمک دستگاه pH متر بر روی ۸/۵ تنظیم گردید. سپس محیط آماده شده به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس داخل دستگاه اتوکلاو قرار داده شد. پس از مدت زمان تعیین شده، بطری‌ها از داخل اتوکلاو بیرون آورده شده و پس از این که دمای آن‌ها با دمای محیط برابر شد، زیر هود لامینار و در شرایط استریل باکتری‌ها از محیط کشت اولیه به داخل این محیط کشت انتقال داده شدند. سپس محیط تلقیح شده در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت با سرعت دوران ۱۸۰ دور بر دقیقه در دستگاه انکوباتور شیکر –مورد استفاده در کشت هوازی باکتری‌ها– قرار داده شد پس از این که باکتری‌های کشت داده شده به ماکزیمم میزان رشد و تکثیر (۲۴ ساعت انکوبه شدن) خود رسید و در انتهای فاز سکون رشد خود قرار گرفتند، محیط کشت مورد نظر از داخل دستگاه انکوباتور شیکر خارج شده و تا زمان استفاده داخل یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

۴-۲- خاک و ماسه بادی مورد استفاده

در این پژوهش از دو نوع خاکِ طبیعی مناطق کویری و ماسه ریخته‌گری شناسنامه‌دار استفاده گردیده است. نوع اول یک نوع خاک ماسه‌ای با دانه‌بندی یکنواخت به رنگ زرد و خاکستری است که از نظر دانه‌بندی از نوع ماسه‌های بد دانه‌بندی SP است. نمونه دیگر از کویر مرنجاب در شمال شهرستان آران و بیدگل در استان اصفهان تهیه گشته است. این ماسه همواره تحت تأثیر عوامل فرسایشی قرار گرفته و در اثر وزش باد جابجا می‌شود لذا جهت بهسازی در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به آزمایش‌های مکانیکی خاک و تعیین حدود اتربرگ، خاک مورد آزمایش در کلاس SP-SC یعنی ماسه رس‌دار بد دانه‌بندی شده دسته‌بندی می‌شود. در شکل ۵ نتایج آزمایش دانه‌بندی بر روی ماسه تهیه شده نشان داده شده است. به علاوه لازم به ذکر است ماسه ریخته‌گری صرفاً جهت یافتن بهترین شرایط عملکرد باکتری در دما، pH و غلظت مواد مورد استفاده قرار گرفته است.



شکل ۵: منحنی دانه‌بندی خاک مورد استفاده

شکل ۶: قالب استوانه‌ای PVC و نمونه ماسه‌ای بهسازی شده آماده جهت آزمایش مقاومت تک‌محوره

۴-۳-آزمایش مقاومت فشاری تک محوره

ماسه ریخته‌گری در قالب‌های PVC به قطر ۵ cm و ارتفاع ۱۳ cm تحت تزریق سوسپانسیون باکتریایی قرار گرفته پس از خشک شدن نمونه‌های تزریق شده و پس از زمان عمل‌آوری ۳ روز، ۷ روز، ۱۴ روز و ۲۸ روز، تحت آزمایش مقاومت فشاری تک‌محوری قرار گرفتند (شکل ۶).

۴-۴-آزمایش نفوذ استاندارد به صورت کیفی

در این آزمایش یک وزنه مخروطی شکل ۲۵۰ گرمی با سطح قاعده ۱۹/۳۱ cm2 و ارتفاع ۷/۴۹ cm و زاویه نوک ۴۰ درجه و با جنس استیل، از فاصله نیم متری بر سطح نمونه‌ها رها می‌شود. برای بررسی میزان کارایی این روش لایه ماسه به منظور شبیه‌سازی شرایط واقعی در حفره‌ای به عمق ۲۵ cm و سطح حدوداً یک مترمربع در شیب طبیعی در سطح زمین، ریخته شد تا علاوه بر وجود تابش مستقیم نور خورشید و گرمای هوا که بعضاً تا ۴۰°C نیز می‌رسد، نمونه تحت تأثیر جریان هوا و زهکشی طبیعی از سوی زمین قرار گیرد. بعد از پاشش این ماده‌ی بهساز بر سطح، رهاسازی باکتری و مواد واکنشگر به صورت مداوم و در طی زمان در ماسه صورت پذیرد. بنتونیت مانند یک اسفنج، مواد بهساز و واکنشگر را در طی عمل‌آوری دوغاب مکیده و به مرور زمان و به کندی رها می‌کند. این آزمایش به منظور مقایسه میزان سخت شدگی ماسه بهسازی شده و ماسه معمولی صرفاً به جهت مقایسه کیفی نمونه‌ها طراحی و ارائه شده است.

۴-۵- آزمایش عمق نفوذ ماده تثبیت‌کننده

در این آزمایش به منظور دستیابی به عمق نفوذ محلول تثبیت‌کننده و بهساز و عمق بهسازی ماسه توسط باکتری یک لوله PVC به قطر ۱۱cm و ارتفاع ۱۰۰ cm در طول خود شکافته شد سپس درز ایجاد شده با سیلیکون گریس آب‌بندی گردید. فرایند پاشش و تزریق ماده بهساز طی سه مرحله روی نمونه انجام شد به گونه‌ای که مواد بهساز روی ماسه را بپوشاند بعد از این عمل نمونه به حال خود رها گشت تا سطح ماسه خشک گردد. پس از ۳ روز لوله PVC در طول خود شکافته شد تا بتوان نتایج حاصل را مشاهده نمود.

۵- نتایج و بحث

۵-۱- مقاومت فشاری تک‌محوره

نتایج حاصل از مقاومت فشاری تک‌محوره حاکی از شکست ناگهانی تمام نمونه‌ها به‌صورت شکست‌هایی در دو انتهای نمونه بود. بیشترین مقدار کرنش محوری در

این آزمایش‌ها ۲٪ بوده که نشان دهنده ارتباط مقاومت نمونه‌ها با افزایش زمان عمل‌آوری بوده به نحوی که هر چه زمان عمل‌آوری بیشتر می‌شود مقاومت نمونه‌ها افزایش پیدا می‌کند و به بیشترین مقدار در زمان عمل‌آوری ۲۸ روز می‌رسد. نمونه پس از طی این دوره به‌طور میانگین مقاومت فشاری تک‌محوره ۶۶۳ KPa را نشان می‌دهد که این مقدار نسبت به ماسه بهسازی نشده که هیچ مقاومتی ندارد بسیار چشمگیر است.

۵-۲-آزمایش نفوذ استاندارد به صورت کیفی

در این آزمایش وزنه از فاصله ۳۰cm روی نمونه رها می‌شود و مقدار نفوذ آن در نمونه‌ها اندازه‌گیری می‌شود. مقدار نفوذ این سنبه مبین متراکم بودن نمونه خاک و سفت بودن سطح نمونه است. با توجه به شتاب گرانش و ارتفاع رهاسازی و وزن سنبه میزان انرژی وارده برابر $U=0.735$ ژول است. همچنین با توجه به اصل بقای انرژی سرعت، سنبه در حین برخورد با سطح برابر با ۲/۴۲m/s بوده و میزان ضربه وارد آمده بر سطح به میزان $P=mv= 0.6$ است. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، ملاحظه گشت ماسه بهسازی نشده بدون هیچ مقاومتی در مقابل نفوذ سنبه اجازه داد تا دو سوم از ارتفاع سمبه کاملاً در ماسه فرو رود. در آزمایش بر روی نمونه‌های بهسازی شده همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود در اثر سقوط این وزنه تنها در محل اصابت سر وزنه با سطح نمونه، به خاطر تیز بودن سر وزنه یک سوراخ بسیار کوچک پدید آمد اما سطح نمونه به‌خوبی در مقابل ضربه ایجاد شده در اثر سقوط این وزنه مقاومت نمود. شکل ۷ سمت راست نفوذ دو سوم از ارتفاع سمبه در ماسه تثبیت نشده، در وسط تصویر نحوه انجام آزمایش، سمت چپ عدم نفوذ گوه در ماسه بهسازی شده و ایجاد تنها یک سوراخ در محل اصابت سمبه با ماسه را نشان می‌دهد.

۵-۳- آزمایش عمق نفوذ ماده تثبیت‌کننده و بهساز

نتایج نشان داد باکتری و ماده بهساز توانسته یک ستون ماسه‌ای تا عمق پنجاه سانتی‌متری ایجاد کند. از این ستون ۵۰cm تا عمق حدوداً ۳۰ cm ماسه به‌خوبی بهسازی و محکم شده است. این امر مبین آن است که در اثر پاشش ماده بهساز بر روی سطح ماسه می‌توان تا عمق میانگین ۱۵cm الی ۲۵ cm دانه‌های ماسه را به یکدیگر چسبانده و به صورت یکپارچه درآورد. این امر خود گواهی است که ماسه از حالت روان به حالت تثبیت شده تغییر ماهیت داده است (شکل ۸).

۶-نتیجه‌گیری و پیشنهادها

حفاظت شهرها و روستاهای کشور در مناطق کویری در مقابله با توفان‌های روان ماسه ضرورت جدی برنامه‌های حفاظت از محیط‌زیست انسانی است در همین راستا استفاده از روش‌های مناسب و توسعه روش‌های جدید کارآمد که بتوانند در مقابله با این بلایای طبیعی از زیست‌بوم مناطق کویری حفاظت کنند رسالت علمی دانشگاه‌های کشور است. ازآنجاکه در مناطق کویری

شکل ۷: به ترتیب از راست: نفوذ سمبه در ماسه تثبیت نشده، رهاسازی سمبه از فاصله ۳۰ cm، ناتوانی گوه در نفوذ به ماسه تثبیت شده با بایوتکنولوژی

شکل ۸: تصویر ستون تزریق‌شده در دو تکرار آزمایش تثبیت بیولوژیکی

کشور محوطه‌های باستان‌شناختی زیادی وجود دارد که گه‌گاه مورد کاوش قرار می‌گیرند و حفظ و نگهداری از بقایای آن‌ها برای حفظ جنبه‌های هویتی و اقتصادی اهمیت دارد. باید بتوان از روش‌هایی مقتضی استفاده کرد که در ضمن حفاظت جنبه‌های حیاتی و منظری محیط را نیز چندان تحت تأثیر قرار ندهد. در این راستا در این تحقیق با استفاده از باکتری‌های اوره آز، آزمایش‌هایی در جهت تثبیت روان ماسه‌ها صورت گرفته است یافته‌های حاصل از استفاده از دوغاب زیستی بر روی ماسه‌های روان مرنجاب و خاک ماسه‌ای حاکی از آن است که روش تثبیت ماسه‌های روان در پاسخ به نیاز وافر مناطق کویری و مناطقی که در آماج حمله توفان‌های روان ماسه هستند بخصوص مناطق شهری و محوطه‌های باستانی و حتی بدنه‌های بیرونی ابنیه خشت و گلی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. چرا که با قابلیت چسباندن طولانی‌مدت دانه-های ماسه به یکدیگر و ایجاد مکان مناسب جهت رشد گیاهان سازگار با مناطق بیابانی عمل می‌کند و همچنین این عمل باعث می‌گردد ماسه در مواجه با توفان از جای خود حرکت نکند و در نتیجه از بروز بسیاری از مشکلات اشاره شده علل الخصوص مشکلات انسانی و آسیب به بقایای باستان‌شناسی کاسته گردد.

در فرآیند این تحقیق مقادیر بهینه جهت رسوب کربنات کلسیم غلظت ۰/۵مولار اوره و کلرید کلسیم، دمای ۲۵°C ، pH محدوده بازی ۷ تا ۹ و درصد حجمی باکتری‌های افزوده شده برابر با ۹٪ حجمی تعیین گردید. همچنین نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهند که وجود یک ماده پایه نگه‌دارنده مانند بنتونیت باعث می‌شود ماده فرآیند انجام واکنش باکتری تثبیت‌کننده در مقابل تابش مستقیم نور خورشید و تبخیر شدید مناطق کویری در امان بوده و خاصیت کند رها کردن مواد مورد نیاز باکتری جهت تولید سیمان کلسیتی و تغذیه مداوم باکتری عمل نماید. همچنین نتایج حاصل از آزمایش‌های عمق نفوذ دوغاب زیستی در تثبیت ماسه که به‌صورت میانگین cm ۱۵ الی cm ۲۵ است مبین مناسب بودن این روش برای جلوگیری از ایجاد گردوغبار و توفان‌های روان ماسه است. از جمله مزیت‌های این روش با توجه به عدم امکان اجرای سیستم‌های زهکشی و تزریق در تپه‌های ماسه‌ای به خاطر شیب زیاد و شرایط خاص حاکم قابلیت این روش برای استفاده در سیستم پاششی بر سطح ماسه است. در ضمن لازم به ذکر است که با توجه به اینکه روش‌های بهسازی با دوغاب زیستی الهام گرفته از فرآیندهای طبیعی موجود در خاک بوده و در این نوع فرایندها از هیچ نوع ماده شیمیایی مضر و آلوده‌کننده محیط‌زیست استفاده نمی‌شود که خود از قابلیت‌های قابل توسعه و ترویج این روش است.

در انتها پیشنهاد می‌گردد از این روش به صورت عملی در مبحث تثبیت نواحی اطراف محوطه‌های و همچنین گورهای باستانی در بسترهای ماسه‌ای استفاده گردد تا قابلیت‌های آن در میدان عمل در رابطه با حفاظت از بقایای باستان‌شناسی و همچنین تثبیت بدنه گورها در زمان کاوش و بعد از کاوش مورد ارزیابی قرار گیرند، چرا که با توجه به عمق نفوذ مناسب در بسترهای ماسه‌ای،

احتمالاً این روش می‌تواند بخصوص در زمینه تثبیت ماسه‌های روان در نواحی تحت کاوش، ترانشه‌ها و گمانه‌های کاوش شده بسیار مثمر باشد. همچنین به نظر می‌رسد این روش بتواند در عملیات نجات بخشی و جابجایی آثار منحصربه‌فردی که برای نجات آن‌ها راهی جز برداشتن و کندن اثر با بستر زیرین آن وجود ندارد ؛مفید باشد اما این حوزه در رابطه با مواردی چون ویژگی‌های مربوط به مبانی حفاظتی و مرمتی از منظر قابلیت تغییر ماهیت ماده اثر و برگشت‌پذیری و درمان مجدد نیازمند مطالعات جدی‌تر و آزمون موارد فوق است.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده مهندسی معدن به سبب در اختیار نهادن تجهیزات و فراهم آوردن شرایط آزمایشگاهی تشکر نمایند. همچنین از جناب آقای وحید پورزرقان حفاظت‌گر و دکتر سید سجادی کاوشگر شهر سوخته جهت اجازه استفاده از تصویری در روند حفاظت از کاوش‌های این محوطه تاریخی سپاسگزاری می‌گردد.

پی‌نوشت‌ها

۱. بنتونیت (Bentonite)، رسی کلوییدی دارای خاصیت شدید جذب آب با تورم بالاست که به عنوان عامل تعلیق در امولوسیون‌ها کاربرد دارد (فرهنگ، ۱۳۸۲)

۲. کلرید آمونیوم (NH4Cl) یا نِشادُر نمک سفید و بلوری با قابلیت بالای انحلال در آب است، کلرید آمونیوم از واکنش هیدروکلریک اسید و آمونیاک به دست می‌آید (بالازاده، ۱۳۸۶: ذیل واژه [Ammonium chloride]).

۳. کلرید کلسیم (CaCl2)، در فرآیند رسوب‌دهی میکروبی کربنات کلسیم برای تأمین یون‌های کلسیم مورد نیاز برای انجام واکنش استفاده می‌شود. این ماده در آب بسیار محلول است.

۴. اوره (Urea) یا کاربامید یک ترکیب آلی با فرمول شیمیایی CO(NH2)2 است که جهت انجام این پژوهش از اوره با درجه صنعتی تولید شده توسط شرکت پتروشیمی رازی استفاده گردید. این محصول برای مصارف کشاورزی تولید می‌شود.

منابع فارسی

استابز، جان. (۱۳۷۷). *نگهداری و حفاظت بقایای به‌دست‌آمده معماری از حفریات کاوش‌های باستان‌شناختی*. (ترجمه: میر محسن موسوی). چاپ اول. تهران: دانشگاه هنر. (تاریخ انتشار نسخه اصلی ۱۹۸۳).

استانلی پرایس، نیکلاس. (۱۳۷۷). *حفاظت و مرمت در کاوش‌های باستان‌شناختی*. (ترجمه: میرمحسن موسوی). تهران: دانشگاه هنر. (تاریخ انتشار نسخه اصلی ۱۹۸۳).

آقایاری، عیسی. (۱۳۹۱). *بررسی تغییرات خصوصیات بایو دوغاب‌ها (Biogrouts) در مقیاس آزمایشگاهی*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه صنعتی اصفهان. دانشکده مهندسی معدن.

بالا زاده، پرویز. (۱۳۸۶). *فرهنگ توصیفی شیمی انگلیسی-فارسی*. چاپ دوم. تهران: فرهنگ معاصر.

باشگاه خبرنگاران دانشجو. (۱۳۹۳). *شهر سوخته، شگفتی دنیای باستان*، باشگاه خبرنگاران دانشجو، کد خبر :۵۰۸۹۹۶۲، تاریخ انتشار: ۱۴ دی ۱۳۹۳، در دسترس به آدرس:
http://cdn.yjc.ir/files/fa/news/1393/10/14/2855496_253.jpg

جاندرو، آل.، بالدراما، آلوا.، و موکیاری، بیاکو. (۱۳۷۷). مرمت و حفاظت ساختمان‌های خشتی به‌دست‌آمده از کاوش‌های باستان‌شناسی. (ترجمه: میر محسن موسوی). چاپ اول. تهران: دانشگاه هنر. (تاریخ انتشار نسخه اصلی ۱۹۸۳).

خسروی، عباس. (۱۳۸۷). تجزیه و تحلیل بادهای کاشان و به‌کارگیری نتایج آن در امر تثبیت ماسه‌های روان، *مجموعه مقالات پژوهشی در سیمای طبیعی ایران* (دفتر اول) به اهتمام عباس خسروی (۹۷-۱۱۷)، تهران: سازمان جغرافیایی نیروهای مسلح.

رفاهی، حسینقلی. (۱۳۸۵). *فرسایش بادی و کنترل آن*. چاپ چهارم. تهران: انتشارات دانشگاه تهران.

رمضانی فر، فرشاد. (۱۳۹۲). *استفاده از بایو دوغاب‌ها جهت تحکیم و بهسازی زمین در مقیاس آزمایشگاهی و عملی با تکیه بر تثبیت شن‌های روان*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی معدن- مکانیک سنگ. دانشکده مهندسی معدن. دانشگاه صنعتی اصفهان.

فرهنگ، پرویز. (۱۳۸۲). *فرهنگ بزرگ مواد (انگلیسی به فارسی فارسی به انگلیسی)*. چاپ دوم. تهران: سپیده سحر.

فیلدن، برنارد.م.، و یوکیلتو، یوکا. (۱۳۸۶). *راهنمای مدیریت در محوطه‌های میراث جهانی*. (ترجمه و افزوده: پیروز حناچی). تهران: موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. (تاریخ انتشار نسخه اصلی ۱۹۹۸).

محمدی، احسان. (۱۳۹۲). *مطالعه و ارزیابی مشخصات سنگ‌های بهسازی شده جهت استفاده در موج‌شکن‌ها و تصحیح معیار انتخاب سنگ*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی معدن- مکانیک سنگ. دانشکده مهندسی معدن. دانشگاه صنعتی اصفهان.

نگهبان، عزت‌الله. (۱۳۷۶). *مروری بر پنجاه سال باستان-شناسی در ایران*. تهران: سازمان میراث فرهنگی.

یونسکو. (۱۳۸۳). توصیه‌نامه اصول بین‌المللی قابل اجرا در حفاری‌های باستان‌شناسی، (ترجمه: فریبا مجیدی)، *دانش مرمت و میراث فرهنگی*، سال اول، ش. ۱: ۵۴-۶۱

منابع لاتین

DeJong, J. T., Fritzges, M. B., & Nüsslein, K. (2006). Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 132(11), 1381-1392.

DeJong, J. T., Mortensen, B. M., Martinez, B. C., & Nelson, D. C. (2010). Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36(2), 197-210.

Ferris, F. G., Stehmeier, L. G., Kantzas, A., & Mourits, F. M. (1997). Bacteriogenic mineral plugging. *Journal of Canadian Petroleum Technology*, 36(09).

Gollapudi, U. K., Knutson, C. L., Bang, S. S., & Islam, M. R. (1995). A new method for controlling leaching through permeable channels. *Chemosphere*, 30(4), 695-705.

Hammes, F., Seka, A., Van Hege, K., Van de Wiele, T., Vanderdeelen, J., Siciliano, S. D., & Verstraete, W. (2003). Calcium removal from industrial wastewater by bio-catalytic CaCO3 precipitation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 78(6), 670-677.

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.

Jonkers, H. M., Thijssen, A., Muyzer, G., Copuroglu, O., & Schlangen, E. (2010). Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. *Ecological engineering*, 36(2), 230-235.

Le Metayer-Levrel, G., Castanier, S., Orial, G., Loubiere, J. F., & Perthuisot, J. P. (1999). Applications of bacterial carbonatogenesis to the protection and regeneration of limestones in buildings and historic patrimony. *Sedimentary geology*, *126*(1), 25-34.

Mitchell, A. C., & Ferris, F. G. (2005). The coprecipitation of Sr into calcite precipitates induced by bacterial ureolysis in artificial groundwater: temperature and kinetic dependence. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, *69*(17), 4199-4210.

Ozdogan, A. (2010). *A study on the triaxial shear behavior and microstructure of biologically treated sand specimens* (Doctoral dissertation, University of Delaware).

Ramachandran, S. K., Ramakrishnan, V., & Bang, S. S. (2001). Remediation of concrete using micro-organisms *ACI Materials journal*, *98*(1), 3-9.

Reuben, R. (2003). Chemical grouting and soil stabilization. Rutgers University, Marcel Dekker Inc., New Jersey, 558.

Van Paassen, L. A., van Loosdrecht, M. C. M., Pieron, M., Mulder, A., Ngan-Tillard, D. J. M., & Van der Linden, T. J. M. (2009, January). Strength and deformation of biologically cemented sandstone. In *ISRM Regional Symposium-EUROCK 2009*. International Society for Rock Mechanics.