تحقیقات بتن
سال پانزدهم، شمارهٔ سوم
پائیز ۱۴۰۱
ص ۶۸ – ۵۷
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۷

بررسی مشخصات مکانیکی و دوام بتن خود ترمیم‌شونده حاوی باکتری رسوب‌دهنده کربنات کلسیم ایموبلایز شده در پرلیت

مطهره نظافت طبالوندانی
گروه میکروبیولوژی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
مهدی اسفندی سرافراز *
گروه مهندسی عمران، واحد تهران غرب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
مریم تاج آبادی ابراهیمی
گروه میکروبیولوژی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
عباس اخوان سپهی
گروه میکروبیولوژی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

امروزه ترکیبات خود ترمیم‌کننده به‌عنوان مصالح هوشمند در بهبود خصوصیات مواد، در بسیاری از صنایع مورد استفاده قرار می‌گیرند. یکی از روش‌های خود ترمیمی بتن، استفاده از مکانیسم رسوب کربنات کلسیم ناشی از فعالیت میکروبی می‌باشد. این مقاله به بررسی تأثیر استفاده از باکتری *اسپوروسارسینا* در بهبود مشخصات مکانیکی و دوام بتن پرداخته است. به این منظور از سنگ‌دانه پرلیت به‌عنوان حامل استفاده شده و باکتری در آن ایموبلایز شده است. باکتری *اسپوروسارسینا* در پنج غلظت مختلف (۴×۱۰^{۹} ، ۵/۲×۱۰^{۹} و ۶/۷×۱۰^{۹} cfu/ml ، ۲/۶×۱۰^{۹} ، ۱/۵×۱۰^{۹}) در بتن مورد استفاده قرار گرفته و با آزمونه شاهد فاقد باکتری مقایسه شده است. بعد از ساخت و عمل‌آوری، پارامترهای مختلف از قبیل مقاومت فشاری، مقاومت کششی، میزان نفوذپذیری در برابر آب و یون کلر در آزمونه‌ها در سه سن ۷، ۲۸ و ۹۰ روزه مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین ریزساختار تعدادی از مخلوط‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی بررسی شد. نتایج آزمایش‌های انجام شده نشان داد که مقاومت فشاری و مقاومت کششی آزمونه‌های حاوی باکتری به علت فعالیت میکروبی با افزایش روبرو شده و میزان نفوذپذیری آن کاهش می‌یابد. میزان افزایش مقاومت فشاری در نمونه حاوی باکتری با غلظت ۲/۶×۱۰^{۹} cfu/ml حدود بیست و سه درصد اندازه‌گیری گردید.

واژه‌های کلیدی: **بتن خود ترمیم‌شونده، باکتری، رسوب کربنات کلسیم، مقاومت فشاری، دوام.**

* نویسنده مسئول: sarafraz.m@wtiau.ac.ir

۱- مقدمه

بتن، پرمصرف‌ترین و ارزان‌ترین ماده ساختمانی مورد استفاده در دنیا می‌باشد. خصوصیاتی از قبیل مقاومت فشاری بالا، قیمت مناسب، در دسترس بودن مصالح، امکان ترکیب آن با میلگرد و مقاومت بالا در برابر آتش‌سوزی بتن را به ماده‌ای ایده‌آل در دنیا تبدیل کرده است. نفوذ هوا، رطوبت و اسیدها در حفرات موجود در بتن باعث ایجاد و رشد ترک در بتن شده و درنهایت منجر به خرابی بتن و خوردگی میلگردها می‌گردد. با توجه به اثرات مخرب زیست محیطی و آلایندگی زیاد فرایند تولید سیمان، لزوم افزایش عمر سازه‌های بتنی و جلوگیری از تخریب زودرس آنها از اهمیت زیادی برخوردار است.

در چند سال گذشته تحقیقات زیادی بر روی استفاده از مواد خود ترمیم‌شونده در بهبود خصوصیات مکانیکی و دوام بتن انجام گرفته است [۱]. یکی از روشهای مناسب در خود ترمیمی بتن استفاده از مکانیسم باکتری‌های رسوب‌دهنده کربنات کلسیم (MICP)[1] می‌باشد. در این روش باکتری مناسب به همراه منبع تغذیه و اوره به بتن افزوده می‌شود. این باکتری‌ها مطابق روابط ۱ تا ۳ با تولید آنزیم اوره‌آز[2] و شکستن اوره به اجزای تشکیل دهنده‌اش، باعث رسوب کربنات کلسیم در سطح دیواره خود می‌شوند [۲].

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O \rightarrow 2NH_4^+ + CO_3^{2-} \quad (۱)$$

$$Ca^{2+} + Cell \rightarrow Cell - Ca^{2+} \quad (۲)$$

$$CO_3^{2-} + Cell - Ca^{2+} \rightarrow Cell - CaCO_3 \quad (۳)$$

در این روش عمدتاً از نمکهای کلسیم به‌عنوان منبع کلسیم استفاده می شود [۷-۳]. در مجاورت منبع کلسیم، تجزیه اوره باعث رسوب کربنات کلسیم جامد در محیط بتن شده [۸] که این رسوب کربنات کلسیم باعث بهبود مشخصات مکانیکی و دوام بتن می‌شود [۶-۳]. بنگ[3] و همکاران نشان دادند در صورتی‌که *باسیلوس‌ها*[4] در پلی یورتان[5] ایموبلایز[6] شوند، مقاومت فشاری بتن افزیش می‌یابد [۹]. چاهال[7] و همکاران نشان دادند که افزودن باکتری به بتن حاوی خاکستر بادی[8] باعث افزایش مقاومت فشاری بتن به مقدار بیش از ۲۲ درصد می گردد. همچنین در این نمونه‌ها میزان جذب آب بتن کاهش یافته و مقاومت بتن در برابر نفوذ یون کلر بهبود می‌یابد [۱۰]. سیدیک[9] و همکاران نشان دادند که در صورت افزودن باکتری رسوب‌دهنده کلسیم به بتن حاوی خاکستر پوسته برنج[10]، مقاومت فشاری بتن از ۳۶ مگاپاسکال به ۴۰ مگاپاسکال افزایش می‌یابد [۱۱]. واشیشت[11] و همکاران نشان دادند که در صورت اضافه کردن *لا یزنی باسیلوس*[12] استحصال شده از خاک، مقاومت فشاری بتن افزایش می‌یابد [۱۲]. سیفیان[13] و همکاران، باکتری *باسیلوس اسفریکوس*[14] و باکتری *لچنی فورمیس*[15] را در نانو ذرات اکسید آهن ایموبلایز کرده و به بتن اضافه نمودند. نتیجه تحقیقات نشان داد که با افزودن این باکتریها مقاومت فشاری بتن افزایش می‌یابد [۱۴-۱۳]. پرستگاری و همکاران نشان دادند که افزودن باکتری باعث افزایش مقاومت الکتریکی و کاهش نفوذپذیری در مقابل یون کلر می گردد [۱۵].

در این پژوهش از باکتری *اسپوروسارسینا پاستوری*[16] برای بهبود مشخصات مکانیکی و دوام بتن استفاده می‌شود. از آنجا که نتیجه تحقیقات گذشته نشان داده است در صورتی‌که باکتری به‌صورت مستقیم به طرح اختلاط بتن اضافه شود و بر روی حامل[17] باکتری قرار نگیرد، تأثیر اندکی بر بهبود مشخصات مکانیکی و دوام بتن دارد [۱۶]، لذا باکتری در دانه‌های پرلیت ایموبلایز شده است. به این منظور باکتری پس از رشد و تبدیل به فرم مقاوم[18] در غلظت‌های مختلف بر روی دانه‌های پرلیت بارگذاری شده و به همراه منبع تغذیه به بتن اضافه گردیده است. نتایج تحقیق نشان دهنده بهبود چشمگیر مشخصات مکانیکی و دوام بتن حاوی باکتری می‌باشد.

۲- مواد و آزمایش‌ها

۲-۱- مصالح مصرفی

سیمان مورد استفاده در این تحقیق از نوع سیمان پرتلند ساخت

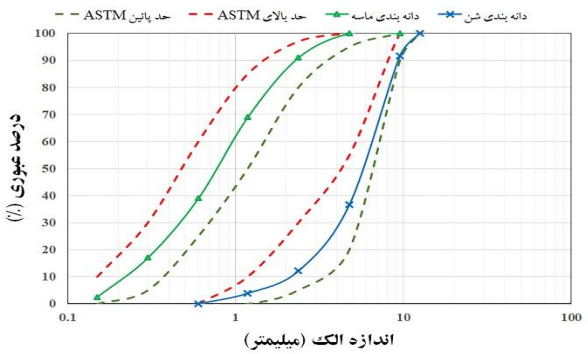
[1] Microbiologically Induced Calcite Precipitation
[2] Urease enzyme
[3] Bang
[4] *Bacillus Pasteurii*
[5] Polyurethane
[6] Immobilize
[7] Chahal
[8] Fly ash
[9] Siddique
[10] Rice husk ash concrete
[11] Vashisht
[12] *Lysinibacillus*
[13] Seifian
[14] *Bacillus Sphaericus*
[15] *Licheniformis*
[16] *Sporosarcina Pasteurii*
[17] Carrier
[18] Spore formation

کارخانه سیمان تهران بوده که ترکیبات شیمیایی و مشخصات فیزیکی آن در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی و مشخصات فیزیکی سیمان

ترکیب شیمیایی (٪)	سیمان
SiO_2	۲۱/۷۲
Al_2O_3	۴/۹۷
Fe_2O_3	۳/۹۷
Cao	۶۳/۱۰
MgO	۱/۶۴
SO_3	۲/۳۱
Na_2O	۰/۴۹
K_2O	۰/۶۹
Others	۱/۱۱
مشخصات فیزیکی	
سطح ویژه(m^2/kg)	۲۹۷
چگالی (g/cm^3)	۳/۱

ماسه مورد استفاده دارای وزن مخصوص gr/cm^3 ۲/۵۵ و میزان جذب آب ۲/۱ درصد و شن مورد استفاده نیز از نوع شکسته با وزن مخصوص gr/cm^3 ۲/۶۱ و میزان جذب آب ۰/۹ درصد می‌باشد. وزن مخصوص و میزان جذب آب سنگ‌دانه‌ها بر اساس استاندارد ASTM C127 تعیین شد. منحنی دانه‌بندی درشت‌دانه و ریزدانه مورد استفاده بر اساس استاندارد ASTM C33 در شکل ۱ نمایش داده شده است.



شکل ۱- منحنی دانه‌بندی سنگ‌دانه‌های مورد استفاده

جهت رسیدن به اسلامپ مورد نظر، افزایش کارایی و کاهش آب مصرفی از فوق روان‌کننده پایه پلی‌کربوکسیلات اتر با نام تجاری FARCO PLAST P10N محصول شرکت شیمی ساختمان استفاده شده است. این فوق روان کننده به‌صورت مایع و با وزن مخصوص gr/cm^3 ۱/۱ می‌باشد.

۲-۲-میکرو ارگانیسم و محیط کشت

در این تحقیق از باکتری خانواده *باسیلوس‌ها* با نام علمی *اسپوروسارسینا پاستوری* استفاده شده است. سویه[1] این باکتری از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران با کد شنایی PTCC 1645 بصورت پودر لیوفیلیزه[2] تهیه شد. این باکتری در آزمایشگاه در داخل محیط کشت غنی BHI Broth[3] در دمای ۳۷ درجه به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفت و بعد از مشاهده کدورت، محیط کشت از انکوباتور خارج گردید. برای اطمینان از تولید آنزیم اوره، باکتری در محیط اوره آگار کشت داده شد. مشاهده گردید که رنگ محیط به صورتی تغییر یافت که این تغییر رنگ به معنای اوره‌آز مثبت بودن باکتری است. در شکل ۲-الف نحوه تغییر رنگ محیط کشت مشاهده می‌گردد.

در ادامه باکتری وارد محیط کشت شامل نوترینت براث[4] (به میزان ۱۳ گرم بر لیتر) ، اوره (به میزان ۲۰ گرم بر لیتر) و کلرید کلسیم (به میزان ۲/۴ گرم بر لیتر) شد و به مدت ۶ روز در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور قرار گرفت. پس از شش روز در پایین لوله‌های فالکون رسوب مشاهده گردید.

(ب) (الف)

شکل ۲- فرایند کشت باکتری، الف: تغییر رنگ محیط کشت، ب: کلونی باکتری ها

برای ایجاد رسوب کربنات کلسیم در بتن وجود مواد غذایی، منبع

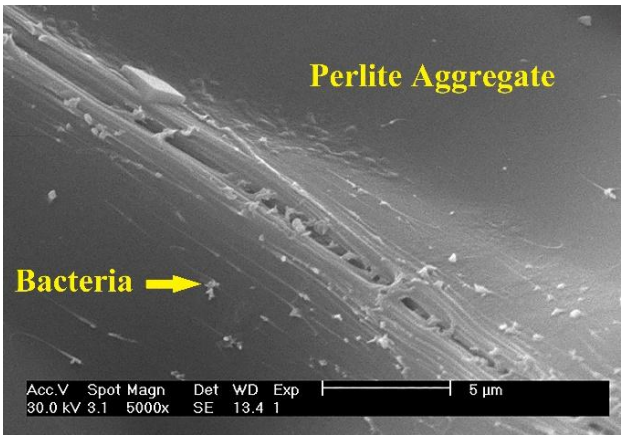
[1] Strain
[2] Lyophilized
[3] Brain heart infusion
[4] Nutrient broth

کلسیم و اوره در کنار باکتری ضروری است. باکتری بدون حضور ماده غذایی از فرم اسپوری خارج نشده و قادر به ایجاد رسوب کلسیت نمی باشد. به این منظور، ابتدا به ۱۰۰۰ سی سی آب مقطر استریل، ۵ گرم بر لیتر پپتون[1] و ۲ گرم بر لیتر عصاره مخمر[2] اضافه می‌شود. سپس ۲/۴ گرم کلرید کلسیم خشک با آن مخلوط شده و محلول به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه در اتوکلاو استریل شده و در ادامه ۲۰ گرم بر لیتر اوره بعد از فیلتراسیون به آن اضافه می‌کنیم. در انتها این محلول با پرلیت مخلوط شده و در دمای ۴۰ درجه خشک می‌گردد. به این ترتیب پرلیت آغشته به مواد غذایی، اوره و منبع کلسیم تهیه می‌شود. بر اساس پیش مطالعات پژوهش و بررسی تحقیقات گذشته، در طراحی آزمایش بالاترین میزان مواد غذایی برای بالاترین تعداد باکتری در نظر گرفته شد و با کاهش جمعیت باکتری میزان غذا تغییر نکرد تا از طرفی باکتری در بتن دچار عدم دسترسی به مواد غذایی نشود و از طرف دیگر با یکسان بودن مواد اضافه شده به بتن، معیار یکسان برای مقایسه نتایج در آزمونه های مختلف فراهم گردد.

۲-۳ -ایموبلایز کردن باکتری و تهیه ماده غذایی

برای ایموبلایز کردن اولین غلظت باکتری، مقدار ۱۰۰ میلی لیتر آب که حاوی $1/5\times10^9$ cfu/ml باکتری است به ۱۰۰ گرم پرلیت اضافه شده و به مدت ۴۸ ساعت در ۴۰ درجه خشک می‌شود. در ادامه پرلیت حاوی اسپور باکتری با محلول سیلیکات سدیم به غلظت ۲ گرم بر لیتر آغشته شده تا از باکتری محافظت بیشتری بعمل آید. به همین روش نمونه پرلیت با سایر غلظت‌ها (cfu/ml $6/7\times10^9$ و $5/2\times10^9$ ، 4×10^9 ، $2/6\times10^9$) نیز تهیه گردید.

برای تعیین غلظت باکتری‌ها ابتدا رقت سریالی آنها تهیه شده و سپس کشت پور پلیت[3] داده شده و در نهایت با استفاده از کلونی کانتر[4] خوانش انجام شد. در شکل ۲-ب نمایی از کلونی باکتری‌ها مشاهده می‌گردد. جهت بررسی صحت عملیات ایموبلایز کردن باکتری بر روی دانه‌های پرلیت، از از دانه‌های پرلیت تصویر SEM تهیه شده که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد. در این تصویر سطح صاف مربوط به دانه پرلیت بوده و ذرات سفید مشخص شده بر روی آن اسپور باکتری می باشد.



شکل ۳- تصویر SEM از باکتری ایموبلایز شده در پرلیت

۲-۴- طرح اختلاط

طرح اختلاط این تحقیق بر اساس روش وزنی استاندارد ACI 211.1 و بر مبنای مقاومت فشاری ۲۸ روزه برابر با ۳۵ مگاپاسکال تعیین گردید. مقدار رطوبت و جذب آب سنگ‌دانه‌ها در طرح اختلاط لحاظ شده است. از آنجا که که اسپور باکتری در غلظت‌های مختلف در ۱۰۰ گرم پرلیت ایموبلایز شده و منبع تغذیه به همراه کلسیم و اوره نیز در ۱۰۰ گرم پرلیت دیگر ایموبلایز شده و همراه با باکتری به بتن اضافه می‌شود، جهت سهولت در مقایسه آزمونه‌ها، به آزمونه شاهد که فاقد باکتری می‌باشد نیز ۲۰۰ گرم پرلیت اضافه شده است. در مجموع شش آزمونه بتنی شامل یک آزمونه بدون باکتری (آزمونه شاهد) تهیه شد. در جدول ۲ جزئیات طرح اختلاط آزمونه‌ها ارائه شده است.

۲-۵- ساخت آزمونه‌ها

در ابتدا نصف مقدار مورد نیاز درشت‌دانه و ریزدانه پس از توزین، بصورت خشک به مدت ۶۰ ثانیه با هم مخلوط شده و بخشی از آب لازم در طرح به آن اضافه می‌شود. سپس الباقی شن و ماسه به مخلوط اضافه شده و دو دقیقه عملیات اختلاط ادامه می‌یابد. در ادامه سیمان مورد نیاز به همراه بخشی از آب و فوق روان کننده در دو مرحله به سنگ‌دانه‌ها اضافه می‌گردد. سپس پرلیت حاوی اسپور باکتری و منبع تغذیه با هم مخلوط شده و در دو مرحله به مخلوط‌کن اضافه می‌شود. در انتها مخلوط بتن حدود پنج دقیقه با سرعت کم با هم ترکیب می‌گردد. پس از پایان عملیات اختلاط،

[1] Peptone
[2] Yeast extract
[3] Pour plate
[4] Colony counter

اسلامپ بتن بر مبنای استاندارد ASTM C143 اندازه‌گیری و آزمونه‌ها قالب‌گیری و متراکم شدند. مقادیر اسلامپ اندازه گیری شده آزمونه ها در جدول ۲ ارائه شده است. آزمونه‌ها ۲۴ ساعت در قالب در شرایط مرطوب نگهداری شده و پس از باز کردن قالب، آزمونه‌ها تا سن مورد نظر جهت آزمایش در داخل حوضچه آب قرار گرفتند.

جدول ۲- جزئیات طرح اختلاط

کد آزمونه	نسبت اختلاط (kg/m^3)						غلظت باکتری cfu/ml	اسلامپ (mm)
	سیمان	آب	ریزدانه	درشت‌دانه	پرلیت	فوق روان کننده		
Control	۴۰۰	۱۸۰	۹۴۳	۷۶۳	۴	۱/۱	۰	۷۸
S1	۴۰۰	۱۸۰	۹۴۳	۷۶۳	۴	۱/۱	$۱/۵\times۱۰^۹$	۷۵
S2	۴۰۰	۱۸۰	۹۴۳	۷۶۳	۴	۱/۱	$۲/۶\times۱۰^۹$	۸۰
S3	۴۰۰	۱۸۰	۹۴۳	۷۶۳	۴	۱/۱	۴×۱۰^۹	۷۸
S4	۴۰۰	۱۸۰	۹۴۳	۷۶۳	۴	۱/۱	$۵/۲\times۱۰^۹$	۷۹
S5	۴۰۰	۱۸۰	۹۴۳	۷۶۳	۴	۱/۱	$۶/۷\times۱۰^۹$	۸۱

۲-۶- آزمایش‌ها

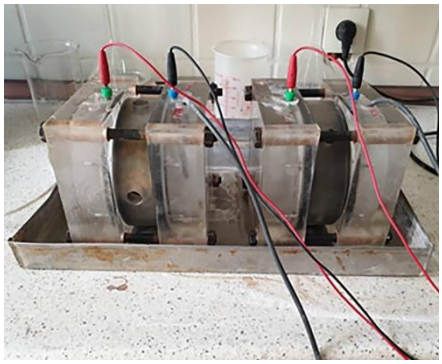
مقاومت فشاری آزمونه‌ها با استفاده از نمونه مکعبی ۱۵×۱۵×۱۵ سانتیمتری و بر اساس استاندارد BS EN 12390-3 در سنین ۷، ۲۸ و ۹۰ روزه اندازه‌گیری می گردد [۱۷]. مقاومت کششی آزمونه‌ها با روش غیر مستقیم برزیلی و روی نمونه‌های استوانه‌ای با ابعاد ۱۵۰×۳۰۰ میلیمتری در سنین ۷، ۲۸ و ۹۰ روزه و بر اساس استاندارد ASTM C496 تعیین می‌شود [۱۸].

آزمایش تعیین عمق نفوذپذیری بتن بر روی نمونه‌های مکعبی ۲۰×۲۰×۲۰ سانتیمتری ۲۸ روزه و بر اساس استاندارد BS-EN-12390-8 انجام می‌گیرد [۱۹]. دستگاه انجام این آزمایش در شکل ۴-الف مشاهده می‌شود. میزان نفوذ یون کلر در آزمونه‌ها با استفاده از روش نفوذ یون کلر تسریع شده (RCPT)[1] و بر اساس استاندارد ASTM C1202 در سن ۲۸ روزه انجام می گیرد [۲۰]. جزئیات انجام آزمایش در شکل ۴-ب مشاهده می‌شود.

ریز ساختار تعدادی از مخلوط‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) در سن ۲۸ روزه مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور پس از خشک شدن نمونه در دمای ۶۰ درجه، نمونه‌ها با پودر طلا روکش شدو در در دستگاه قرار گرفتند.

همچنین به‌منظور بررسی میزان فعالیت باکتری‌ها در ایجاد رسوب کربنات کلسیم، از آزمایش پراش اشعه X (XRD) بر روی پودر حاصل از آسیاب خمیر سیمان در آزمونه‌ها در سن ۲۸ روزه استفاده گردید.

(الف)



(ب)

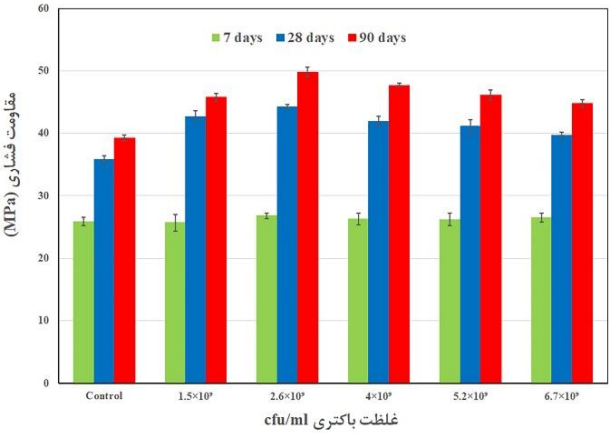
شکل ۴- جزئیات آزمایشات دوام بتن الف: تجهیزات آزمایش نفوذ پذیری، ب: تجهیزات آزمایش RCPT

[1] Rapid Chloride Permeability Test

۳- بررسی نتایج

۳-۱- آزمایش مقاومت فشاری

نتایج حاصل از آزمایش مقاومت فشاری در شکل ۵ ارائه شده است. مقادیر، میانگین مقاومت فشاری سه آزمونه می‌باشد که انحراف معیار آنها در شکل ۵ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۵ مشخص می‌شود که مقاومت فشاری ۷، ۲۸ و ۹۰ روزه مخلوط‌های حاوی باکتری نسبت به آزمونه شاهد افزایش می‌یابد. این افزایش مقاومت در سن ۲۸ روز درآزمونه‌های S1، S2، S3، S4 وS5 به ترتیب معادل ۱۹٪ ، ۲۳٪ ، ۱۷٪، ۱۴٪ و ۱۰٪ اندازه‌گیری شد. به علت رسوب $CaCO_3$ ناشی از عملکرد باکتری در بتن، حفرات ریز داخل بتن پر شده و اتصال بین ذرات بتن افزایش یافته و عملکرد ریزساختار بتن بهبود می‌یابد. رسوب کربنات کلسیم باعث افزایش مقاومت فشاری بتن می‌گردد. نتایج تحقیقات گذشته نیز مؤید این نتیجه است. آچال[1] و همکاران نشان دادند که در صورت استفاده از باکتری *Bacillus sp. CT-5* به غلظت 5×10^7 cell/ml، مقاومت فشاری بتن حدود ۴۰٪ افزایش می‌یابد [۲۱]. خلیق[2] و همکاران از باکتری *باسیلوس سابتلیس*[3] با غلظت $2/8\times10^8$ cell/ml در بتن استفاده نمودند که منجر به افزایش مقاومت فشاری در حدود ۱۱٪ شد [۲۲]. گوش[4] و همکاران نشان دادند در صورتی‌که غلظت باکتری *شوانلا*[5] در آب طرح اختلاط به میزان 10^5 cell/ml باشد، مقاومت فشاری ملات سیمان حدود ۲۵ درصد افزایش می‌یابد [۲۳].



شکل ۵- نتایج آزمایش مقاومت فشاری

با مراجعه به شکل ۵ مشخص می‌شود که با افزایش غلظت باکتری در آزمونه‌ها تا مقدار $2/6\times10^9$ cfu/ml، مقاومت فشاری افزایش یافته و با افزایش غلظت باکتری از این مقدار مقاومت فشاری با کاهش روبرو می‌گردد، بگونه‌ای که در تمام آزمونه‌های حاوی باکتری بیشترین مقاومت فشاری در مخلوط حاوی غلظت $2/6\times10^9$ cfu/mlباکتری و کمترین مقاومت فشاری در در مخلوط حاوی غلظت $6/7\times10^9$ cfu/ml باکتری رخ می‌دهد. علت این موضوع آشفتگی ناشی از غلظت زیاد باکتری و مواد غذایی می‌باشد. از آنجا که باکتری موجود در آزمونه‌ها یک موجود زنده می‌باشد، فرایندهای زیستی آن منجر به تولید متابولیت‌های حد واسط می‌گردد. این متابولیت‌ها که عمدتاً از نوع اسیدهای آلی هستند، همانند وجود یک ماده زائد در بتن عمل کرده و در صورت زیاد بودن باکتری‌ها در بتن، باعث تأثیر منفی بر روی ماهیت بتن شده و ممکن است مقاومت فشاری بتن را مقداری کاهش دهد. عندلیب[6] و همکاران نتیجه‌ای مشابه در بتن حاوی باکتری *باسیلوس مگاتریوم*[7] به‌دست آوردند. نتیجه این تحقیقات نشان داد در صورتی که غلظت باکتری از مقدار $10^5\times30$ spore/ml زیادتر شود، مقاومت فشاری کاهش می یابد [۲۴]. همچنین ممکن است رقابت برای مصرف منبع تغذیه منجر به کاهش مقاومت فشاری آزمونه‌های حاوی غلظت زیاد باکتری گردد.

همچنین بر اساس شکل ۵ مشاهده می‌شود که تفاوت معناداری بین مقاومت فشاری ۷ روزه آزمونه‌های دارای باکتری و آزمونه شاهد مشاهده نمی‌گردد. این نتیجه به این معنا است که فرایند رسوب کربنات کلسیم توسط باکتری در ۷ روزه اولیه گیرش بتن از مقدار قابل توجهی برخوردار نبوده و افزودن باکتری بر مقاومت کوتاه مدت بی تأثیر است.

نکتهٔ دیگری که از شکل ۵ مشخص می‌شود روند فعالیت باکتری در بلند مدت است. در آزمونه کنترل مقاومت فشاری ۹۰ روزه نسبت به مقاومت فشاری ۲۸ روزه به‌صورت میانگین حدود ۹٪ افزایش داشته است، اما در آزمونه‌های حاوی باکتری این نسبت بصورت میانگین به ۱۲٪ می رسد که نشان‌دهنده روند افزایش

[1] Achal
[2] Khaliq
[3] *Bacillus Subtilis*
[4] Ghosh
[5] *Shewanella*
[6] Andalib
[7] *Bacillus Megaterium*

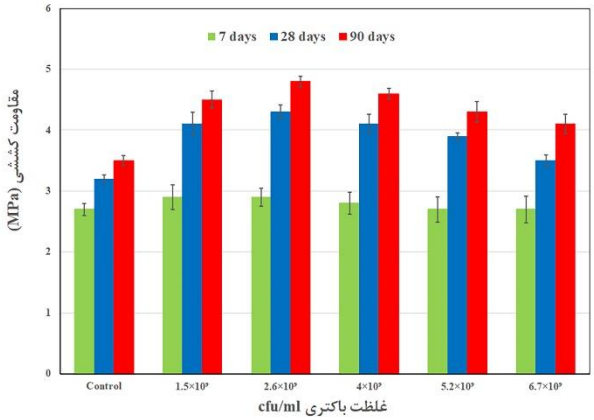
مقاومت ۹۰ روزه و رشد رسوب باکتری در طول زمان در آزمونه‌های حاوی باکتری می‌باشد. این نسبت در آزمونه با غلظت باکتری cfu/ml ۲/۶×۱۰۹ به حدود ۱۳٪ می رسد.

۳-۲- آزمایش مقاومت کششی

مقاومت کششی آزمونه‌ها بر اساس روش غیر مستقیم برزیلی تعیین می‌گردد. نتایج آزمایش مقاومت کششی در شکل ۶ ارائه شده است. با توجه به شکل ۶ مشاهده می‌شود که مشابه مقاومت فشاری، مقاومت کششی ۲۸ روزه در آزمونه‌های دارای باکتری نسبت به آزمونه شاهد با افزایش روبرو شده است. این مقدار افزایش در مخلوط S2 با میزان غلظت cfu/ml ۲/۶×۱۰۹ حدود ۳۰٪ می‌باشد. علت افزایش مقاومت کششی، رسوب $CaCO_3$ ناشی از عملکرد باکتری بوده که منجر به پر کردن خلل و فرج داخل ساختار بتن می گردد. تحقیقات انجام شده توسط سایر محققان نیز همین نتیجه را تایید می‌کند. دورگا[1] و همکاران نشان دادند که مقاومت کششی ۲۸ روزه بتن حاوی باکتری *باسیلوس سابتلیس*[2] حدود ۱۸ درصد افزایش می یابد [۲۵].

عملکرد مخلوط‌های حاوی باکتری در کشش و فشار بسیار شبیه هم است. مشابه مقاومت فشاری، با افزایش غلظت باکتری تا مقدار cfu/ml ۲/۶×۱۰۹ مقاومت کششی افزایش یافته و با تجاوز غلظت باکتری از این مقدار، مقاومت کششی کم می‌شود، بگونه‌ای که در تمام آزمونه‌های حاوی باکتری بیشترین مقاومت کششی در مخلوط حاوی غلظت cfu/ml ۲/۶×۱۰۹ باکتری و کمترین مقاومت کششی در مخلوط حاوی غلظت cfu/ml ۶/۷×۱۰۹ باکتری رخ می‌دهد. علت این موضوع جمعیت زیاد باکتریها و تولید متابولیت‌های حد واسط و رقابت باکتریها برای غذا می‌باشد. نتایج مشابهی در تحقیقات سایر پژوهشگران نیز مشاهده شده است [۲۴]. همچنین با توجه به شکل ۶ مشاهده می گردد که روند فعالیت متابولیکی باکتری در سن ۹۰ روزه هم مشابه مقاومت فشاری، باعث افزایش روند کسب مقاومت کششی می‌گردد.

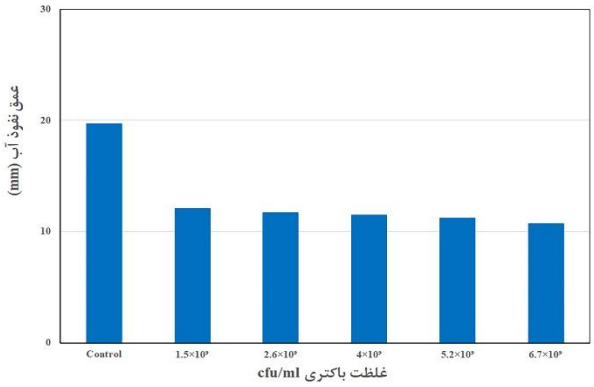
مشابه نتایج آزمون مقاومت فشاری بر اساس شکل ۶ مشخص می‌شود که تفاوت معناداری بین مقاومت کششی ۷ روزه آزمونه‌های دارای باکتری و آزمونه شاهد مشاهده نمی‌گردد. این نتیجه به این معنا است که فرآیند رسوب کربنات کلسیم توسط باکتری در ۷ روزه اولیه گیرش بتن از مقدار قابل‌توجهی برخوردار نبوده و افزودن باکتری بر مقاومت کوتاه مدت بی‌تأثیر است.



شکل ۶- نتایج آزمایش مقاومت کششی

۳-۳- آزمایش نفوذپذیری در برابر آب

نفوذ هوا، رطوبت و املاح مهم‌ترین عامل تخریب بتن می‌باشد. هر چه نفوذپذیری بتن کمتر باشد، عمر مفید سازه بتنی افزایش می‌یابد. علت اصلی نفوذپذیری بتن تخلخل ساختار و ماتریس بتن می‌باشد. نتایج آزمایش مقاومت میزان نفوذ پذیری در شکل ۷ ارائه شده است.



شکل ۷- نتایج آزمایش نفوذپذیری بتن

با توجه به شکل ۷ مشخص است که میزان نفوذپذیری آزمونه‌های حاوی باکتری به میزان قابل‌توجهی نسبت به آزمونه شاهد کاهش می‌یابد، به‌گونه‌ای که در آزمونه S5 با میزان غلظت cfu/ml ۶/۷×۱۰۹ عمق نفوذپذیری نسبت به آزمونه شاهد حدود ۵۰٪

[1] Durga

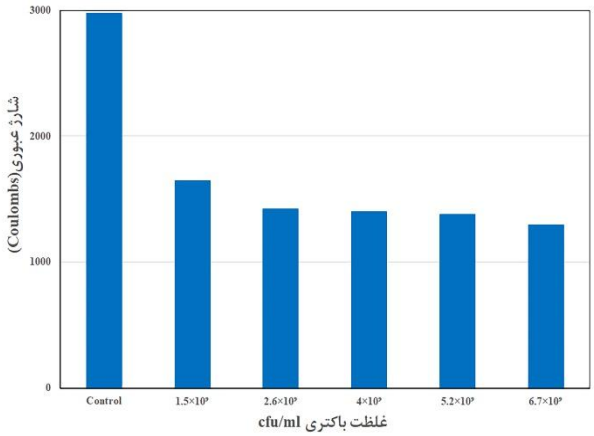
[2] *Bacillus Subtilis*

کاهش می‌یابد. علت این موضوع رسوب $CaCO_3$ ناشی از عملکرد باکتری بوده که منجر به پر کردن خلل و فرج بتن و کاهش جذب آب و نفوذ پذیری بتن می گردد. دی موینک[1] و همکاران در تحقیقات خود اعلام کردند که حدود ۹۰-۶۵ درصد از جذب آب بتن حاوی باکتری کاهش می‌یابد [۳]. تحقیق دیگری نشان داد که عمق نفوذپذیری بتن دارای باکتری *Megaterium ATCC 14581* با غلظت ۵×۱۰^{۷} cfu/ml نسبت به بتن معمولی بیش از سه برابر کاهش می‌یابد [۶]. پژوهش دیگری نیز نشان داد که در بتن حاوی باکتری *باسیلوس اورئوس*[2] به علت رسوب کربنات کلسیم، تخلخل داخل بتن پر شده و میزان نفوذپذیری بتن کاهش می یابد [۱۱].

۳-۴- آزمایش نفوذ یون کلر به روش تسریع شده

یکی از مهم‌ترین آسیب‌ها به سازه‌های بتن مسلح، نفوذ یون کلر به داخل بتن و خوردگی میلگردها می‌باشد. یون کلر به دلیل تخلخل بتن به داخل آن نفوذ کرده و باعث آسیب دیدگی بتن می گردد. هر قدر میزان حفرات ریز بتن بیشتر باشد، آسیب‌پذیری بتن در مقابل یون کلر افزایش می‌یابد. در این پژوهش از روش تسریع شده برای تعیین میزان نفوذپذیری در مقابل یون کلر (RCPT) استفاده می‌شود.

در این روش میزان کل بار عبوری از نمونه بتنی اشباع به قطر ۱۰۰ میلی‌مترو ضخامت ۵۰ میلیمتر تحت اختلاف پتانسیل ۶۰ ولت اندازه‌گیری می‌شود. نتایج این آزمایش در شکل ۸ مشاهده می‌گردد. با توجه به شکل ۸ مشخص است که بار عبوری در آزمونه‌های حاوی باکتری به طرز چشمگیری کاهش یافته است، به‌گونه‌ای که در آزمونه S5 با میزان غلظت $۶/۷\times۱۰^{۹}$ cfu/ml شارژ عبوری نسبت به آزمونه شاهد به میزان ۶۰٪ کاهش می‌یابد. این کاهش عبور جریان به معنای مقاومت بیشتر در برابر نفوذ یون کلر می‌باشد. علت این موضوع رسوب $CaCO_3$ ناشی از فرایند ترسیب باکتری بوده که منجر به پر کردن تخلخل در ماتریس بتن و کاهش نفوذ یون کلر می گردد. نتایج مشابهی در تحقیقات سایر محققین نیز بدست آمده است. صدیق[3] و همکاران نشان دادند که در بتن حاوی باکتری، شارژ عبوری از داخل نمونه در سن ۲۸ روزه نسبت به نمونه فاقد باکتری حدود ۵۰٪ کاهش می یابد [۱۱]. نتایج تحقیق دیگری نشان داد که میانگین شارژ عبوری در نمونه بتن معمولی از مقدار ۳۱۷۷ کولمب در صورت اضافه کردن باکتری به مقدار ۱۰۱۹ کولومب کاهش می‌یابد [۲۶].



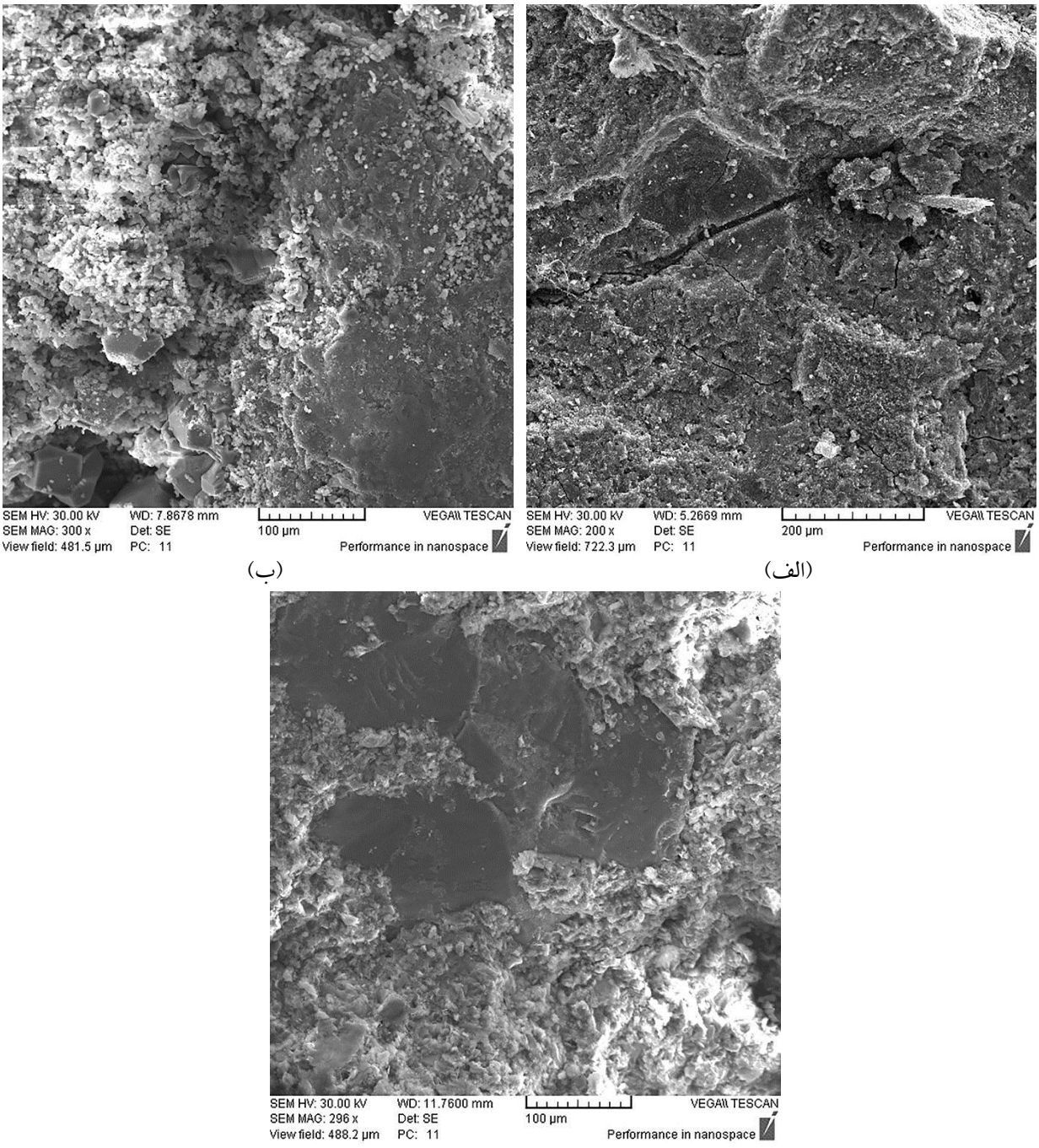
شکل ۸- نتایج آزمایش نفوذ یون کلر در بتن

۳-۵- آزمایش میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

جهت بررسی عملکرد باکتری‌ها، ریز ساختار تعدادی از مخلوط‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت. در شکل ۹ تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داده شده است.

در شکل ۹-الف ریزساختار آزمونه شاهد نشان داده شده است. با مراجعه به این شکل مشاهده می شود که آزمونه شاهد دارای تخلخل و خلل و فرج زیادی می باشد. با توجه به اشکال ۹-ب و ۹-ج مشاهده می‌شود که در آزمونه‌های حاوی باکتری، رسوب کربنات کلسیم در ماتریس بتن افزایش یافته و تخلخل بتن کاهش می‌یابد. وجود لایه‌ای از رسوب کربنات کلسیم مؤید فعالیت ترسیب باکتری می‌باشد. این کاهش تخلخل باعث افزایش مقاومت و کاهش نفوذ پذیری بتن شده که در بخشهای قبل به آن اشاره شد. نتایج تحقیقات گذشته نیز این نتیجه را تایید می کند. صدیق و همکاران نشان دادند که در بتن حاوی باکتری، ژل CSH در بسیاری از حفرات بتن مشاهده می‌گردد [۱۱]. تغییر در اندازه کریستال‌های کربنات کلسیم مشاهده شده ناشی از تفاوت غلظت باکتریها و فرآیند مصرف اوره می‌باشد.

[1] De Muynck
[2] *Bacillus Aerius*
[3] Siddique

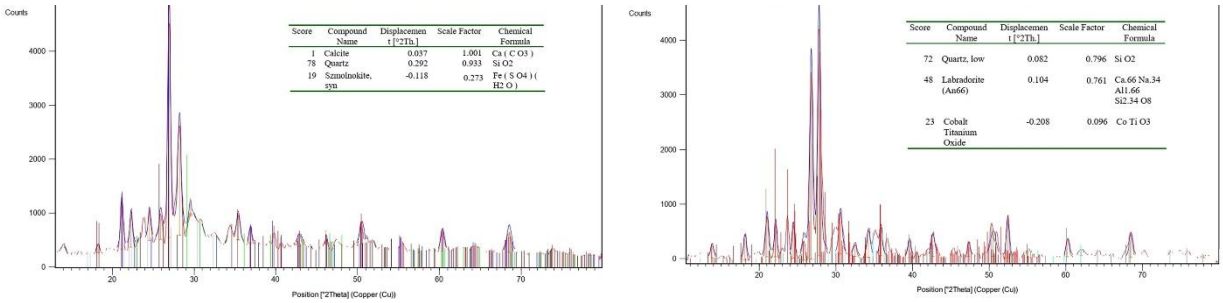


شکل ۹- تصاویر ریز ساختار آزمونه‌ها در سن ۲۸ روز، الف: آزمونه شاهد، ب: آزمونه S2، ب: آزمونه S13

۳-۶- آزمایش پراش اشعه X (XRD)

به منظور بررسی فعالیت باکتری در ایجاد رسوب کربنات کلسیم، تعدادی از آزمونه‌ها تحت آزمایش پراش اشعه X (XRD) مورد بررسی قرار گرفت که شدت طیف‌های حاصل از این آزمایش در شکل ۱۰ ارائه شده است. ترکیبات اصلی آزمونه شاهد شامل کوارتز[1] و لابرادوریت[2] شناسایی شد (شکل ۱۰-الف)، لیکن در آزمونه S2 که دارای باکتری بود ترکیبات اصلی کلسیت[3]($CaCO_3$) و کوارتز شناسایی گردید (شکل ۱۰-ب). وجود کلسیت (کربنات کلسیم) در آزمونه دارای باکتری، نشان دهنده فعالیت میکروبی باکتری است که منجر به رسوب کربنات کلسیم می گردد.

[1] Quartz
[2] Labradorite
[3] Calcite



(ب) (الف)

شکل ۱۰- نمودار پراش اشعه X، الف: آزمونه شاهد، ب: آزمونه S2

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش به بررسی تأثیر استفاده از باکتری *اسپوروسارسینا پاستوری* بر بهبود مشخصات مکانیکی، دوام و ریزساختار بتن پرداخته شده است. به این منظور باکتری پس از رشد در محیط کشت، به همراه اوره و منبع کلسیم بر روی دانه‌های پرلیت ایموبلایز شده و به بتن اضافه می‌گردد. در محدوده آزمایش‌های انجام شده نتایج زیر قابل حصول است:

- مقاومت فشاری مخلوط‌های حاوی باکتری نسبت به آزمونه شاهد افزایش می‌یابد. به علت رسوب $CaCO_3$ ناشی از عملکرد باکتری در بتن، حفرات ریز داخل بتن پر شده و اتصال بین ذرات بتن افزایش یافته و عملکرد ریزساختار بتن بهبود یافته و مقاومت فشاری افزایش می‌یابد.
- تأثیر باکتری در غلظت‌های بیشتر از $۲/۶\times۱۰^{۹}$ cfu/ml بر روی مقاومت فشاری و کششی بتن بصورت کاهشی می‌باشد.
- باکتری تأثیری بر مقاومت و گیرش اولیه بتن در سنین کم ندارد.
- مقاومت کششی ۲۸ روزه در آزمونه‌های دارای باکتری نسبت به آزمونه شاهد با افزایش روبرو شده است. این مقدار افزایش در مخلوط S2 با میزان غلظت $۲/۶\times۱۰^{۹}$ cfu/ml حدود ۳۰٪ می‌باشد.
- میزان نفوذپذیری آزمونه‌های حاوی باکتری در مقابل آب و یون کلر به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. علت این موضوع رسوب $CaCO_3$ ناشی از عملکرد باکتری بوده که منجر به پر کردن خلل و فرج بتن و کاهش جذب آب و نفوذ پذیری بتن می‌گردد.

۵- مراجع

[1] D. G. Bekas, K. Tsirka, D. Baltzis, and A. S. Paipetis, “Self-healing materials: A review of advances in materials, evaluation, characterization and monitoring techniques,” *Composites Part B: Engineering*, vol. 87, pp. 92–119, 2016.

[2] W. De Muynck, N. De Belie, and W. Verstraete, “Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review,” *Ecological Engineering*, vol. 36, no. 2, pp. 118–136, 2010.

[3] W. De Muynck, K. Cox, N. De Belie, and W. Verstraete, “Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete,” *Construction and Building Materials*, vol. 22, no. 5, pp. 875–885, 2008.

[4] W. De Muynck, D. Debrouwer, N. De Belie, and W. Verstraete, “Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials,” *Cement and Concrete Research*, vol. 38, no. 7, pp. 1005–1014, 2008.

[5] V. Wiktor and H. M. Jonkers, “Quantification of crack-healing in novel bacteria-based self-healing concrete,” *Cement and Concrete Composites*, vol. 33, no. 7, pp. 763–770, 2011.

[6] V. Achal, X. Pan, and N. Özyurt, “Improved strength and durability of fly ash-amended concrete by microbial calcite precipitation,” *Ecological Engineering*, vol. 37, no. 4, pp. 554–559, 2011.

[7] F. Pacheco-Torgal and J. A. Labrincha, “Biotech cementitious materials: Some aspects of an innovative approach for concrete with enhanced durability,” *Construction and Building Materials*, vol. 40, pp. 1136–1141, 2013.

[8] R. Siddique and N. K. Chahal, “Effect of ureolytic bacteria on concrete properties,” *Construction and Building Materials*, vol. 25, no. 10, pp. 3791–3801, 2011.

[9] S. S. Bang, J. K. Galinat, and V. Ramakrishnan, “Calcite precipitation induced by polyurethane-immobilized Bacillus pasteurii,” *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 28, no. 4, pp. 404–409, 2001.

[10] N. Chahal, R. Siddique, and A. Rajor, “Influence of bacteria on the compressive strength,

water absorption and rapid chloride permeability of fly ash concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 28, no. 1, pp. 351–356, 2012.
[11] R. Siddique, K. Singh, Kunal, M. Singh, V. Corinaldesi, and A. Rajor, "Properties of bacterial rice husk ash concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 121, pp. 112–119, 2016.
[12] R. Vashisht, S. Attri, D. Sharma, A. Shukla, and G. Goel, "Monitoring biocalcification potential of Lysinibacillus sp. isolated from alluvial soils for improved compressive strength of concrete," *Microbiological Research*, vol. 207, pp. 226–231, 2018.
[13] M. Seifan, A. K. Sarmah, A. K. Samani, A. Ebrahiminezhad, Y. Ghasemi, and A. Berenjian, "Mechanical properties of bio self-healing concrete containing immobilized bacteria with iron oxide nanoparticles," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 102, no. 10, pp. 4489–4498, 2018.
[14] M. Seifan, A. Ebrahiminezhad, Y. Ghasemi, A. K. Samani, and A. Berenjian, "Amine-modified magnetic iron oxide nanoparticle as a promising carrier for application in bio self-healing concrete," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 102, no. 1, pp. 175–184, 2018.
[15] N. Parastegari, D. Mostofinejad, and D. Poursina, "Use of bacteria to improve electrical resistivity and chloride penetration of air-entrained concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 210, pp. 588–595, 2019.
[16] M. Pourfallahi, A. Nohegoo-Shahvari, and M. Salimizadeh, "Effect of direct addition of two different bacteria in concrete as self-healing agent," *Structures*, vol. 28, pp. 2646–2660, 2020.
[17] BS 12390-3:2009, "12390-3 (2009) Testing hardened concrete—part 3: compressive strength of test specimens," *British Standards Institution*, 2009.
[18] ASTM C496M-12, "Standard Test Method for Splitting Tensile Strength of Cylindrical Concrete Specimens," *ASTM International, West Conshohocken, PA*, 2012.
[19] BS 12390-8:2009, "12390-8 (2009) Testing hardened concrete—part 8: Depth of penetration of water under pressure," *British Standards Institution*, 2009.
[20] ASTM C1202-12, "Standard Test Method for Electrical Indication of Concrete's Ability to Resist Chloride Ion Penetration," *ASTM International, West Conshohocken, PA*, 2012.
[21] V. Achal, A. Mukerjee, and M. Sudhakara Reddy, "Biogenic treatment improves the durability and remediates the cracks of concrete structures," *Construction and Building Materials*, vol. 48, pp. 1–5, 2013.
[22] W. Khaliq and M. B. Ehsan, "Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques," *Construction and Building Materials*, vol. 102, pp. 349–357, 2016.
[23] P. Ghosh, S. Mandal, B. D. Chattopadhyay, and S. Pal, "Use of microorganism to improve the strength of cement mortar," *Cement and Concrete Research*, vol. 35, no. 10, pp. 1980–1983, 2005.
[24] R. Andalib *et al.*, "Optimum concentration of Bacillus megaterium for strengthening structural concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 118, pp. 180–193, 2016.
[25] C. Sonali Sri Durga, N. Ruben, M. Sri Rama Chand, and C. Venkatesh, "Performance studies on rate of self healing in bio concrete," *Materials Today: Proceedings*, vol. 27, pp. 158–162, 2020.
[26] V. Achal, A. Mukherjee, and M. S. Reddy, "Effect of calcifying bacteria on permeation properties of concrete structures," *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, vol. 38, no. 9, pp. 1229–1234, Sep. 2011.

Mechanical and durability properties of self-healing concrete containing carbonate precipitation bacteria immobilized in perlite

Motahhareh Nezafat Tabalvandani
Department of Microbiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Mehdi Esfandi Sarafraz *
Department of Civil Engineering, West Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Maryam Tajabadi-Ebrahimi
Department of Microbiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Abbas Akhavan Sepahy
Department of Microbiology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Today, self-healing materials are used as intelligent materials in improving the properties of structures in many industries. One of the methods of self-healing in concrete is the use of calcium carbonate precipitation mechanism due to microbial activities. This research evaluated the effects of a specific strain of Sporosarcina pasteurii bacteria as a new method on the mechanical and durability properties of self-healing concrete. For this purpose, perlite aggregate was used as a carrier, and bacteria were immobilized in it. Five different cell concentrations (1.5×10^9, 2.6×10^9, 4×10^9, 5.2×10^9, 6.7×10^9 cfu /ml) of bacteria were used in the concrete mixtures and compared with a control mixture without bacteria. The compressive strength, tensile strength, water permeability, and chloride ion penetration at the age of 7, 28, and 90 days were tested. Also, the microstructure of some mixtures was investigated by Scanning Electron Microscope. The test results demonstrated that the use of Sporosarcina pasteurii immobilized in perlite improved the compressive and tensile strength, reduced the permeability of concrete. Maximum increase (23%) in compressive strength was measured with 2.6×109 cfu/ml of bacteria.

Keywords: Self-healing concrete, Bacteria, Calcium carbonate precipitation, Compressive strength, Durability.

* Corresponding Author: sarafraz.m@wtiau.ac.ir