

تأثیر باکتری باسیلوس سابتیلیس بر خودترمیم شوندگی بتن‌های حاوی زئولیت

محمدرضا برادران^{۱*}، محمود صادق پور^۲، صدیقه افشاری پور^۳

۱. گروه مهندسی عمران، مرکز میمند، واحد فیروزآباد، دانشگاه آزاد اسلامی، فیروزآباد، ایران

۲. گروه مهندسی عمران، دانشکده مهندسی، دانشگاه فنی و حرفه ای، تهران، ایران

۳. گروه میکروبیولوژی، واحد فیروزآباد، دانشگاه آزاد اسلامی، فیروزآباد، ایران

*mr.baradaran@iau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۹/۱۰/۲۰۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۶/۰۶

چکیده

امروزه بتن یکی از مصالح پرکاربرد در دنیا محسوب می‌شود. با پیشرفت علم و استفاده از افزودنی‌های مختلف، کاربرد بتن روز به روز افزایش می‌یابد. با توسعه علم میکروبیولوژی و کاربرد آن در صنایع مختلف، استفاده از افزودنی‌های زیستی از جمله باکتری‌ها برای بهبود خواص بتن مورد توجه پژوهشگران مختلف قرار گرفته است. یکی از نقاط ضعف بتن، مقاومت کششی آن است. این نقطه ضعف منجر به ایجاد و توسعه ترک‌ها در بتن می‌شود. با توجه به تولید کربنات کلسیم توسط باکتری‌های خانواده باسیلوس و پر شدن ترک‌ها با تولید کربنات کلسیم می‌توان گفت یکی از روش‌های موثر در خود ترمیم شوندگی بتن استفاده از باکتری است. در مقاله حاضر تأثیر باکتری باسیلوس سابتیلیس با غلظت‌های $10^6 \times 2.8$ ، $10^7 \times 2.8$ ، $10^8 \times 2.8$ و $10^9 \times 2.8$ روی بتن‌های حاوی زئولیت مورد بررسی قرار گرفته است. باکتری مذکور در آزمایشگاه و از ساقه و برگ یونجه تولید و به طرح اختلاط بتن اضافه شد. در طرح اختلاط نمونه‌ها از زئولیت معادل ۲۰ درصد وزنی سیمان استفاده شده است. برای ارزیابی تأثیر باکتری باسیلوس سابتیلیس و کنترل نمونه‌ها از آزمایش‌های مخرب و غیرمخرب از جمله آزمایش نفوذ ناپذیری و جذب آب در سن ۲۸ روزه، آزمایش مقاومت فشاری در سن ۷ و ۲۸ روزه و آزمایش اولتراسونیک در سن ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۸ روزه استفاده شده است. همچنین برای ارزیابی تأثیر باکتری روی خودترمیمی ترک‌های بتن، ترک‌هایی در سن سه روزه تحت بار معادل ۳۰ درصد بار گسیختگی روی نمونه‌ها ایجاد شدند. همچنین با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM و میکروسکوپ نوری روند ترمیم شدن ترک‌ها در سنین مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمون مقاومت فشاری نشان داد، نمونه‌های حاوی زئولیت با غلظت $10^8 \times 2.8$ سلول بر میلی لیتر منجر به افزایش ۱۶/۷۶ درصدی مقاومت فشاری و نمونه‌های بدون زئولیت ۱۳/۵۱ درصد مقاومت فشاری بتن را افزایش دادند. که نشان دهنده تأثیر مثبت باکتری بر روی نمونه‌های دارای زئولیت می‌باشد. نتایج حاصل نشان داد غلظت بهینه باکتری باسیلوس سابتیلیس برای تولید کلسیت و پر شدن خلل و فرج‌های بتن و ترمیم ترک‌ها غلظت $10^8 \times 2.8$ است و افزایش غلظت باکتری بیشتر از غلظت یاد شده، منجر به افزایش مقاومت فشاری نخواهد شد. نتایج حاصل از آزمایش جذب آب نشان داد وجود باکتری با غلظت $10^8 \times 2.8$ در طرح اختلاط منجر به کاهش حدوداً ۱۵ درصدی جذب آب نمونه‌های بدون زئولیت و کاهش ۳۰ درصدی جذب آب نمونه‌های دارای زئولیت شد. بر اساس نتایج آزمایش‌های انجام شده مناسب‌ترین غلظت، برای بهبود همزمان پارامترهای مقاومتی و دوام از بین غلظت‌های مختلف باکتری باسیلوس سابتیلیس، غلظت $10^8 \times 2.8$ سلول بر میلی لیتر پیشنهاد می‌شود. نتایج آزمایش SEM و مشاهده میکروسکوپ نوری، رسوب کربنات کلسیم در ترک‌ها و خلل و فرج بتن را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز EDS مواد تشکیل شده در اثر فرآیند هیدراتاسیون سیمان و همچنین کلسیت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌ها را نشان می‌دهد.

کلید واژه: باسیلوس سابتیلیس، زئولیت، بتن خودترمیم‌شونده، باکتری

۱- مقدمه

بتن به دلیل ویژگی‌های مطلوب آن، یکی از مصالح ساختمانی پرکاربرد در صنعت ساختمان است [1]. اما ضعف کشش این ماده منجر به تشکیل و توسعه ترک در اعضای بتنی می‌شود. یکی از مهمترین علل تخریب سازه‌های بتنی ایجاد ترک‌ها و نفوذ مواد مضر و آب به درون بتن و خوردگی آرماتورها است. بنابراین می‌توان بیان داشت ترک‌های ایجاد شده در اعضای بتنی یکی از عوامل بسیار مهم در تخریب سازه‌های بتنی محسوب می‌شوند [2-4]. روش‌های مختلفی برای ترمیم ترک‌ها و بهسازی سازه‌های بتنی وجود دارد اما اغلب از مواد شیمیایی و پلیمرها برای ترمیم و بهبود ترک‌ها استفاده می‌شود که علاوه بر مشکلات اجرایی مانند عدم دسترسی برای لایه‌برداری و تزریق مواد و ناسازگاری این مواد با بتن به علت اختلاف در خواص مکانیکی، منجر به تخریب محیط زیست می‌شوند و تنها برای یک دوره زمانی کوتاه مدت موثر هستند [5-8]. بنابراین تولید بتن‌های با کیفیت و ماندگار می‌تواند نقش به‌سزایی در جلوگیری از اتلاف منابع معدنی و کاهش آلودگی محیط زیست داشته باشد [9]. پژوهشگران مختلف با اضافه کردن افزودنی‌های متفاوت همواره به دنبال افزایش دوام و بهبود خواص بتن هستند. استفاده از بتن‌های خودترمیم شونده گامی مهم در سازه‌های بتنی محسوب می‌شود. همچنین استفاده از بتن‌های خودترمیم شونده حاوی میکروارگانیزم در سازه‌های بتنی علاوه بر حفظ محیط زیست منجر به افزایش طول عمر مفید سازه می‌شود و می‌تواند جایگزین قدرتمندی برای روش‌های شیمیایی مرسوم باشد [10].

در سال‌های اخیر استفاده از مواد و افزودنی‌های مختلف از جمله مواد افزودنی کریستال شونده برای ترمیم و بهبود ترک‌های بتن مورد توجه قرار گرفته است [11].

بتن خودترمیم شونده بتنی است که در صورت ایجاد ترک‌های ذاتی و یا ترک‌های ناشی از بارگذاری یا عوامل محیطی در اعضای بتنی، توانایی ترمیم کردن ترک‌های مذکور را داشته باشد. در سال‌های اخیر پژوهشگران بسیاری روی بتن‌های خود-

ترمیم شونده تحقیق نموده‌اند و روش‌ها و راهکارهای مختلفی را برای تولید بتن‌های خودترمیمی [12-15] ارائه داده‌اند. استفاده از مواد میکروبیولوژیکی در بتن می‌باشد [16-18] پژوهشگران مختلف باکتری‌های مختلف و متنوعی را جهت تولید بتن‌های خودترمیم‌شونده مورد ارزیابی قرار داده‌اند. از جمله باکتری‌های تأثیرگذار در ترمیم ترک‌های بتن، می‌توان به باکتری‌های باسیلیس سابیتلیس، مگاتریوم، اسپوروسارسینا و ... اشاره کرد [19-21].

ژئولیت یکی از افزودنی‌های مناسب بتن برای افزایش دوام و کاهش نفوذپذیری آن می‌باشد [22-26]. استفاده از ژئولیت به عنوان یک پوزولان، منجر به کاهش حرارت هیدراتاسیون بتن می‌شود و در نتیجه باعث کاهش ترک‌های حرارتی و افزایش دوام بتن می‌شود. همچنین تحقیقات انجام شده روی بتن‌های حاوی ژئولیت نشان داده است این افزودنی روند افزایش مقاومتی بتن را به تأخیر انداخته و افزایش مقاومت بعد از هفت روز اتفاق خواهد افتاد. ژئولیت به علت سطح مخصوص بالای ذرات و همچنین وجود منافذ بسیار ریز در ساختار خود در صورت استفاده در بتن باعث کاهش کارایی و افزایش جذب آب بتن می‌شود [27-31]. پژوهشگران مختلف تأثیر باکتری را روی بتن‌های مختلف مورد بررسی قرار داده‌اند، اما تأثیر باکتری بر بتن حاوی ژئولیت کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در اکثر تحقیقات انجام شده روی بتن‌های حاوی ژئولیت به بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ژئولیت و تأثیر نسبت‌های مختلف در طرح اختلاط بتن‌های دارای ژئولیت پرداخته شده است [32-33]. همچنین تأثیر ژئولیت و سایر پوزولان‌ها و افزودنی‌ها برای افزایش مقاومت بتن مورد بررسی قرار گرفته است. سریپاشا و رامانا در سال ۲۰۱۶ تأثیر ژئولیت و همچنین ژئولیت و متاکاؤلین بر ویژگی‌های مقاومتی بتن را مورد بررسی قرار دادند [34]. در مقاله حاضر، تأثیر باکتری باسیلیس سابیتلیس با غلظت‌های مختلف برای ارزیابی خودترمیمی بتن‌های حاوی ژئولیت و مقایسه آن با بتن‌های معمولی مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین نتایج حاصل با نتایج سایر پژوهشگران مقایسه و ارزیابی شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- باکتری

باکتری‌های مختلفی برای تولید کربنات کلسیم و پرکردن ترک-ها در بتن معرفی شده‌اند [13]. در مقاله حاضر از باکتری خانواده باسیلیس و سویه سابتیلیس برای ارزیابی استفاده شده است. باکتری مورد مطالعه از عصاره برگ یونجه در محیط آزمایشگاه تولید شد. غلظت‌های مورد استفاده در شرایط کشت با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط هوازی کشت داده شد. شرایط اختصاصی محیط کشت باکتری‌ها در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱. محیط کشت اختصاصی باکتری

Component	quantity
peptone	5 gr
Meat extract	3 gr
NaCl	5 gr
Agar	15 gr
Distilled Water	1 L

Table 1. Selective culture media used for the bacteria.

نمونه تازه یونجه به مدت دو روز در ظرف آب و دمای اتاق قرار گرفت، سپس دو لوپ از نمونه را در پلیت نوترینت آگار به روش خطی مورد کشت قرار گرفت و در اینکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و از کلونی‌های تشکیل شده در پلیت نوترینت آگار نمونه مشکوک به باسیلوس سابتیلیس کشت خالص در دمای ۳۰ درجه سانتی-گراد به مدت ۲۴ ساعت تهیه شد. از نمونه خالص باسیلوس سابتیلیس، یک کلونی خالص ۲۰ میلی لیتر نوترینت برات تلقیح و در اینکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. محیط کشت باکتری شامل نوترینت برات، نوترینت آگار، کلرید منگنز، کلرید کلسیم، سولفات منیزیم و اوره است برای رنگ‌آمیزی از کیت رنگ آمیزی گرم و اسپور استفاده شد. برای تامین شرایط تولید اسپور از نتایج تحقیقات ردی و همکاران و همچنین دورگا و همکاران استفاده شد [40-41]. کلونی خالص در نوترینت آگار در شکل (۱) نشان داده شده است.

علاوه بر روش مستقیم افزودن باکتری به طرح اختلاط بتن، به منظور حفظ بلند مدت باکتری در شرایط قلیایی و حرارت بالای بتن ناشی از عمل هیدراتاسیون بتن از روش‌های کپسوله کردن و بی‌حرکتی باکتری استفاده می‌شود [35-36]. در روش مستقیم، باکتری‌ها به آب اختلاط اضافه و در هنگام فرآیند اختلاط به مخلوط بتن اضافه می‌شود. تحقیقات مختلف نشان می‌دهد باکتری باسیلیس سابتیلیس می‌تواند در حالت اسپور حداقل ۲۰۰ سال زنده بماند و بدون محافظ حدود دو الی سه ماه می‌تواند فعالیت کنند. در کوتاه مدت بسیاری از باکتری‌ها زنده خواهند ماند و در فرآیند خودترمیم شوندگی بتن شرکت خواهند کرد [37-38]. در مطالعه حاضر با توجه به مطالعه کوتاه مدت اثر باکتری‌ها بر بتن، از روش دوم برای تولید بتن-های خود ترمیم شونده استفاده شده است. به این صورت که چهار غلظت مختلف از باکتری به آب طرح اختلاط اضافه شده و در فرآیند تولید، به بتن اضافه می‌شود. تحقیقات مختلف نشان می‌دهد اگر چه سرعت افزایش مقاومت در بتن‌های دارای ژئولیت نسبت به بتن‌های معمولی کمتر است، استفاده از ژئولیت منجر به بهبود پارامترهای مقاومتی و دوام بتن می‌شود. بافت متخلخل ژئولیت فضایی مناسب برای زنده ماندن باکتری‌ها و ادامه فعالیت آن‌ها است [39]. در مقاله حاضر تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری روی بتن‌های معمولی و بتن‌های حاوی ژئولیت مورد مطالعه قرار گرفته است. برای مقایسه و ارزیابی کمی، پارامترهای مختلف از جمله مقاومت فشاری، نفوذپذیری، جذب آب مورد مطالعه قرار گرفته است. همچنین از آزمایش غیر مخرب اولتراسونیک برای کنترل وضعیت بهبود آزمون‌ها در سنین مختلف استفاده شده است. برای ارزیابی کیفی و روند بهبود ترک‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی و همچنین میکروسکوپ نوری استفاده شده است. با توجه به بافت متخلخل ژئولیت، این ماده می‌تواند به عنوان حامل باکتری عمل نماید و وجود ژئولیت، فضایی مناسب برای زنده ماندن باکتری‌ها و ادامه فعالیت آن‌ها است.

شکل ۱. کلونی خالص باکتری باسیلیس سابیتیلیس

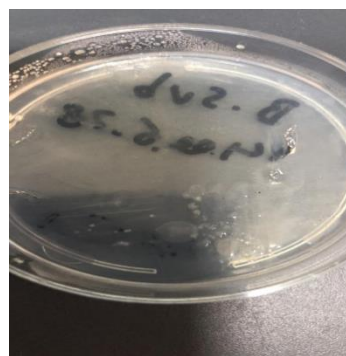


Fig. 1. Pure colonies of Bacillus Subtilis

برای کشت ابتدا ۲۰ میلی لیتر سوسپانسیون تهیه شده به ۱۰۰ میلی لیتر محیط نوترینت برات حاوی القا کننده اسپور اضافه شد و در اینکوباتور شیکردار با سرعت ۲۰۰rpm و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ تا ۹۶ ساعت قرار داده شد.

پس از رشد کامل، ۱۰۰ میلی لیتر سوسپانسیون باکتری به ۱/۵ لیتر محیط جدید اضافه و تحت شرایط مشابه در اینکوباتور شیکردار قرار داده شد تا رشد کامل و کدورت مناسب حاصل شود. مشخصات رقت‌های مختلف مورد آزمایش و همچنین چگالی نوری (OD_{600}) که مخفف میزان چگالی نوری یک نمونه اندازه‌گیری شده در طول موج ۶۰۰ نانومتر است در جدول شماره (۲) نشان داده شده است. مقدار OD_{600} معمولاً در اسپکتروفتومتری برای تخمین غلظت باکتری‌ها یا سلول‌های دیگر در مایعات استفاده می‌شود.

جدول ۲. تعداد کلنی در رقت‌های متوالی باکتری باسیلیس سابیتیلیس

Dilution	OD_{600}	Colony ($\times 10^8$) (Cell/ml)
10^{-1}	0.659	16.36
10^{-2}	0.535	13.26
10^{-3}	0.470	11.65
10^{-4}	0.353	8.75
10^{-5}	0.244	6.05
10^{-6}	0.065	1.61

Table 2. Number of colonies in different dilutions of bacteria.

با توجه به جدول (۲) رابطه میان چگالی نوری و تعداد باکتری، پس از شمارش تعداد کلنی‌های تشکیل شده در هر

پلیت و داشتن میزان جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر مشخص می‌شود. منحنی استاندارد باکتری مطابق شکل (۲) ترسیم شده است.

شکل ۲. نمودار نسبت تعداد باکتری باسیلیس سابیتیلیس در رقت‌های متوالی

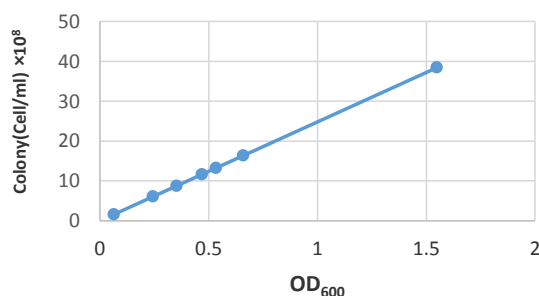


Fig. 2. Plot of the ratio of the number of Bacillus Subtilis bacteria in serial dilutions

با استفاده از این نمودار می‌توان تعداد باکتری متناظر با هر OD را محاسبه کرد. بر اساس نتایج بیان شده غلظت‌های مختلف باکتری برای استفاده در طرح اختلاط تعیین خواهد شد. همان طور که بیان شد برای تعیین غلظت بهینه باکتری مذکور از چهار غلظت مختلف استفاده شده است.

۲-۲- مصالح بتن

در مقاله حاضر از سیمان پرتلند معمولی نوع دو استفاده شده است. مشخصات فیزیکی سیمان مورد استفاده و مشخصات شیمیایی سیمان و ژئولیت استفاده شده در جداول (۳ و ۴) نشان داده شده است. مشخصات فیزیکی سنگدانه‌های مورد استفاده در جدول (۵) نشان داده شده است.

جدول ۳. مشخصات فیزیکی سیمان مورد استفاده

Physical property	Value
Blain (%)	3000
Initial setting time (min)	160
Final setting time (min)	220
Compressive strength (MPa)	
3 days	24
7 days	35.5
28 days	49
Specific gravity	3.1
Standard consistency (%)	30

Table 3. Physical properties of the cement used in the specimens

شکل ۳. مواد و مصالح مورد استفاده



Fig. 3. Materials used in mix designs

طرح اختلاط بتن مطابق جدول شماره (۶) در نظر گرفته شده است [42]. نسبت آب به مواد سیمانی در تمام طرح‌ها ۰,۵ در نظر گرفته شده است. برای ساخت آزمون‌ها ابتدا مواد خشک به مدت ۱ دقیقه با سرعت کم در مخلوط‌کن نشان داده شده در شکل (۴) مخلوط شدند. سپس ۹۰ درصد آب به آرامی به مخلوط خشک اضافه و به مدت ۴ دقیقه اختلاط انجام گرفت. سپس باقیمانده آب که با غلظت‌های مختلف باکتری مخلوط شده بودند اضافه و اختلاط یک دقیقه دیگر برای توزیع یکنواخت باکتری در مخلوط ادامه یافت تا در نهایت بتن مورد انتظار ساخته شود. برای هر سری از طرح اختلاط برای بررسی ویژگی‌های مقاومتی، دوام و خودترمیم شونده ۸ آزمون مکعبی با ابعاد ۱۵ در ۱۵ در ۱۵ سانتی‌متر ساخته شده است. شرایط عمل‌آوری نمونه‌ها بر اساس استاندارد ASTM است [43].

جدول ۴. مشخصات شیمیایی سیمان و زئولیت مورد استفاده

Compound	% By mass	
	Zeolite	Cement
Silicon dioxide	68.92	21
Aluminum oxide	9.72	5
Ferric oxide	1.91	3.12
Potassium + Sodium oxide	1.21 + 0	1
Calcium oxide	3.84	62
Magnesium oxide	1.55	2.44
Sulfur trioxide	0.2	3.12
Titanium dioxide	0.27	-
Manganese oxide	0.07	-
Chlorine	0.98	-

Table 4. Chemical properties of cement and zeolite.

جدول ۵. مشخصات فیزیکی سنگدانه‌های مورد استفاده

Property	Value	
	Fine aggregate	Coarse aggregate
Fineness modulus	2.32	5.62
Unit weight (kg/m ³)	1815	1702

Table 5. Physical properties of fine and coarse aggregate.

۳-۲- طرح اختلاط

برای بررسی ویژگی‌های خودترمیم شونده بتن با استفاده از باکتری باسیلیس سابتیلیس و همچنین تاثیر این باکتری روی آزمون‌های دارای زئولیت، چهار غلظت مختلف باکتری مورد بررسی قرار گرفت. شکل (۳) مصالح مورد استفاده در طرح اختلاط را نشان می‌دهد. در شکل مذکور برای مقایسه، ۱۰۰ میلی لیتر سوسپانسیون پس از رشد با نمونه نوترینت برات استریل نشان داده شده است.

جدول ۶. طرح اختلاط آزمون‌های ارزیابی شده

Specimen code	cement (Kg/m ³)	Zeolite (Kg/m ³)	Water (Kg/m ³)	Fine aggregate (Kg/m ³)	Coarse aggregate (Kg/m ³)	Slump	Bacteria (Cell/ml)
P	413	0	206.5	877.69	926.56	8-10	0
PSU6	413	0	206.5	877.69	926.56	8-10	2.8×10 ⁶
PSU7	413	0	206.5	877.69	926.56	8-10	2.8×10 ⁷
PSU8	413	0	206.5	877.69	926.56	8-10	2.8×10 ⁸
PSU9	330.4	0	206.5	877.69	926.56	8-10	2.8×10 ⁹
PZ	330.4	82.6	206.5	877.69	926.56	8-10	0
PZSU6	330.4	82.6	206.5	877.69	926.56	8-10	2.8×10 ⁶
PZSU7	330.4	82.6	206.5	877.69	926.56	8-10	2.8×10 ⁷
PZSU8	330.4	82.6	206.5	877.69	926.56	8-10	2.8×10 ⁸
PZSU9	330.4	82.6	206.5	877.69	926.56	8-10	2.8×10 ⁹

Table 6. Concrete mix proportions

۴-۲- آماده سازی نمونه ها و آزمایشات

برای بررسی تأثیر باکتری بر توانایی خود ترمیم شونده بتن های حاوی زئولیت، مجموعه ای از آزمایش ها روی نمونه های مکعبی با ابعاد $15 \times 15 \times 15$ سانتی متر انجام شده است. برای بررسی تأثیر باکتری بر توانایی خود ترمیم شونده بتن های حاوی زئولیت، آزمایش های مقاومت فشاری، جذب آب و نفوذپذیری انجام گرفته است. همچنین با تعیین مدت زمان عبور امواجอัลتراسونیک در سنین مختلف تأثیر ترمیم ترک ها و خلل و فرج های بتن ناشی از فعالیت باکتری ها مورد ارزیابی قرار گرفته است. در تمام نمونه ها نسبت آب به مواد سیمانی 0.5 ، در نظر گرفته شده است. شرایط عمل آوری نمونه ها یکسان و دمای حوضچه عمل آوری بین 18 تا 23 درجه سانتیگراد محدود شد. همچنین اسلایپ نمونه ها در محدوده 8 تا 10 سانتی متر قرار گرفته اند. نتایج حاصل از آزمایشات بتن تازه در جدول (۷) نشان داده شده است.

برای نام گذاری آزمونه ها از حرف P برای نمونه های ساده (فاقد باکتری و زئولیت)، از حرف Z برای آزمونه های حاوی زئولیت و حروف SU برای نمونه های دارای باکتری استفاده شده است. همچنین عدد انتهایی در کد آزمونه ها، وجه تمایز غلظت باکتری های مورد استفاده در طرح اختلاط می باشد.

شکل ۴. اختلاط مصالح با مخلوط کن دستی



Fig. 4. Mixing process

جدول ۷. نتایج آزمایشات بتن تازه

Specimen code	Environment temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Fresh concrete temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Specific weight (Kg/m^3)	Slump (Cm)	Bacteria (Cell/ml)
P	26.4	28	2260	8	0
PSU6	27.2	28.6	2263	8.7	2.8×10^6
PSU7	25	26.7	2272	7.8	2.8×10^7
PSU8	26.2	27.4	2268	8.5	2.8×10^8
PSU9	26	27.3	2264	8.9	2.8×10^9
PZ	25.2	27	2273	7.8	0
PZSU6	26.9	28	2280	7.9	2.8×10^6
PZSU7	27.5	28.3	2275	7.2	2.8×10^7
PZSU8	27	28.1	2279	7.6	2.8×10^8
PZSU9	27.9	29	2271	8	2.8×10^9

Table 7. Fresh concrete results

۳- نتایج و بحث

در تحقیق حاضر از زئولیت به عنوان ماده حامل برای محافظت از باکتری ها در محیط با pH بالا که معمولاً در بتن وجود دارد استفاده شده است. برای بررسی نتایج حاصل از تأثیر زئولیت بر بتن های حاوی باکتری، غلظت های مختلف باکتری در هر طرح اختلاط مورد ارزیابی قرار گرفته شده است. تأثیر غلظت-

شکل ۵. نتایج مقاومت فشاری نمونه ها در سن ۲۸ روزه

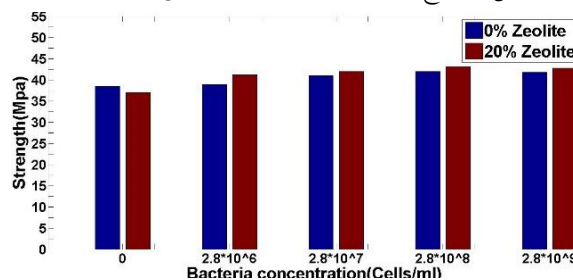


Fig. 5. Results of compressive strength tests.

می‌دهد نمونه‌های دارای باکتری با غلظت 2.8×10^8 بیشترین مقدار مقاومت فشاری رنسبت به سایر نمونه‌ها دارد.

نتایج حاصل از تعیین مقاومت فشاری نشان می‌دهد با اضافه شدن باکتری باسیلوس سابیتیلیس با غلظت 2.8×10^8 به بتن حاوی ۲۰ درصد زئولیت، مقدار مقاومت فشاری ۱۶٫۷۶ درصد نسبت به نمونه حاوی زئولیت و بدون باکتری افزایش داشته است. سریهاشا و رامانا در مطالعات خود بیشترین افزایش مقاومت فشاری برای بتن‌های حاوی ۱۵ درصد زئولیت، ۷٫۳۸ درصد گزارش دادند. همچنین در تحقیقات آنها اضافه کردن ۱۵ درصد زئولیت و ۱۵ درصد متاکائولین به طرح اختلاط منجر به افزایش مقاومت فشاری نمونه‌ها به مقدار ۱۱٫۷۸ درصد شد [34]. نتایج حاصل نشان دهنده بهبود پارامترهای مقاومتی در بتن‌های خودترمیم شونده حاوی زئولیت می‌باشند. نتایج حاصل از سایر تحقیقات انجام شده و تحقیق حاضر در جدول (۹) نشان داده شده است.

جدول ۹. مقایسه نتایج حاصل با سایر تحقیقات انجام شده

Reference	Material	Increased compressive strength (%)
Present research	Zeolite, Bacteria	16.76
Ahmadi etc [45]	Zeolite	14
Pi etc [46]	Bacteria	15.6
Sreeharsha [34]	Zeolite, metakaolin	11.78

Table 9. The results have been compared with other researches

نتایج حاصل نشان داد افزایش غلظت باکتری بیشتر از غلظت بهینه، منجر به افزایش مقاومت فشاری نخواهد شد و درصد بهینه استفاده از باکتری باسیلیس سابیتیلیس در طرح اختلاط، غلظت 2.8×10^8 است. علت اصلی افزایش مقاومت پر شدن حفرات خالی با کلسیت ایجاد شده در اثر فعالیت باکتری‌ها می‌باشد. با توجه به ماهیت متخلخل بودن زئولیت، نتایج حاصل نشان داد اضافه کردن باکتری به طرح اختلاط بتن‌های حاوی زئولیت، منجر به افزایش بیشتر مقاومت فشاری بتن نسبت به نمونه‌های بدون زئولیت می‌شود. که نشان دهنده تاثیر

های مختلف باکتری‌ها بر توانایی خودترمیمی بتن با انجام آزمایش‌های مقاومت فشاری، نفوذپذیری، جذب آب ارزیابی شده است. همچنین برای کنترل و ارزیابی میزان خودترمیم شونده گی بتن و تاثیر باکتری روی بتن ساده و بتن حاوی زئولیت مدت زمان عبور امواج التراسونیک درون نمونه‌ها تعیین و با یکدیگر مقایسه شده است. با تعیین مدت زمان عبور امواج التراسونیک در سنین مختلف و نمونه‌های مختلف تاثیر فعالیت باکتری‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است.

۳-۱ آزمایش مقاومت فشاری

برای بررسی تاثیر باکتری بر توانایی خودترمیم شونده گی بتن‌های حاوی زئولیت، مقاومت فشاری آزمونه‌های ساخته شده در سنین ۷ و ۲۸ روزه تعیین شد. نتایج حاصل از مقاومت فشاری آزمونه‌ها در جدول (۸) نشان داده شده است. برای ارزیابی و بررسی مقاومت فشاری آزمونه‌ها، یک آزمونه در سن ۷ روزه و سه آزمونه در سن ۲۸ روزه مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج مقاومت فشاری ۲۸ روزه در جدول (۷) میانگین سه آزمونه شکسته شده در این سن هستند. برای کاهش خطا، آزمونه‌هایی که بیشتر از ۵ درصد نسبت به میانگین نتایج اختلاف داشته است حذف شده‌اند. [44]. شکل (۵) مقاومت فشاری نمونه‌های مورد ارزیابی را در سن ۲۸ روزه برای آزمونه‌های مکعبی نشان می‌دهد.

جدول ۸. نتایج مقاومت فشاری نمونه‌ها

Specimen No	7 days (Mpa)	28 days (Mpa)	Reduction percentage
P	25.4	38.5	4.05
PZ	23.8	37	Control
PSU6	25.8	38.9	5.13
PZSU6	24	41.2	11.35
PSU7	26	41	10.81
PZSU7	25.2	42	13.51
PSU8	27.8	42	13.51
PZSU8	26.3	43.2	16.76
PSU9	27	41.8	12.97
PZSU9	25.4	42.8	15.7

Table 8. Effect of bacteria on compressive strength

نتایج حاصل نشان دهنده افزایش مقاومت فشاری آزمونه‌ها با اضافه شدن باکتری به طرح اختلاط است. نتایج حاصل نشان

همچنین نتایج حاصل نشان داد کمترین درصد جذب آب مربوط به آزمون PZSU8 می‌باشد. درصد تغییرات جذب آب از هر دو استاندارد، جزئی (کمتر از پنج درصد) و قابل چشم پوشی است. شکل (۶) نشان می‌دهد.

شکل ۶. نمودار جذب آب آزمون‌های ۲۸ روزه

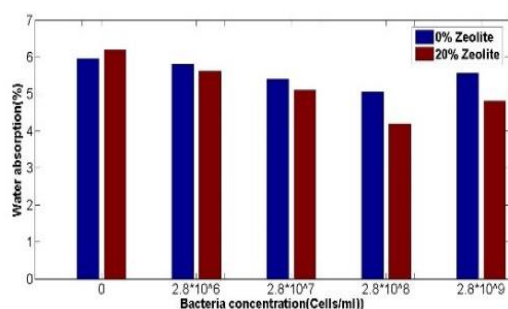


Fig. 6. Water absorption plot of the specimen

درصد جذب آب آزمون با غلظت 2.8×10^8 نسبت به سایر غلظت‌ها برای نمونه‌های دارای ژئولیت حدود ۳۰ درصد و برای نمونه‌های بدون ژئولیت حدود ۱۵ درصد کمتر است. همچنین غلظت مذکور نسبت به سایر غلظت‌ها در تولید محصولات هیدراته ترکیبات کلسیم و سیلیکات و پر شدن خلل و فرج‌ها نقش بیشتری دارد. مشابه آزمایش مقاومت فشاری که در بخش قبل بررسی شد، در آزمایش جذب آب نیز با افزایش بیشتر غلظت باکتری تغییرات محسوسی در درصد جذب آب نمونه‌ها مشاهده نشد. نتایج حاصل نشان داد با توجه به وجود منافذ و خلل و فرج‌های بیشتر در بتن‌های دارای ژئولیت، اضافه شدن باکتری در بتن‌های حاوی ژئولیت منجر به کاهش درصد جذب آب می‌شود.

۳-۳- نفوذ پذیری

آزمایش نفوذپذیری یکی از آزمایش‌های دوام محسوب می‌شود. هدف از انجام این آزمایش تعیین عمق نفوذ آب تحت فشار در بتن می‌باشد [49]. هرچه قدر بتن دارای خلل و فرج کمتری باشد عمق نفوذ آب کمتر است. این آزمایش بر اساس استاندارد BS EN 12390-8 انجام گرفته است [50]. برای انجام

بیشتر باکتری روی افزایش مقاومت فشاری آزمون‌های دارای ژئولیت نسبت به آزمون‌های بدون ژئولیت است. درصد افزایش مقاومت در سن ۲۸ روزه برای نمونه‌های بدون ژئولیت نسبت به نمونه شاهد (با کد P) و برای نمونه‌های دارای ژئولیت نسبت به نمونه شاهد دارای ژئولیت (کد PZ) برای غلظت‌های مختلف باکتری در جدول (۷) نشان داده شده است.

۳-۲- جذب آب

میزان جذب آب بتن رابطه مستقیم با میزان خلل و فرج‌های داخلی بتن دارد. برای تعیین درصد جذب آب بتن سه آزمون مکعبی با ابعاد $15 \times 15 \times 15$ سانتی‌متر ارزیابی شدند. این آزمایش بر اساس استاندارد BS EN 12390-7 و ASTM C642 انجام شده است [47-48]. درصد جذب آب آزمون‌ها در شکل (۶) و جدول (۱۰) نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد درصد جذب آب در آزمون‌های دارای ژئولیت بدون اضافه شدن باکتری به طرح اختلاط از درصد جذب آب نمونه‌های بدون ژئولیت بیشتر می‌باشد که نشان دهنده ویژگی‌های متخلخل ژئولیت است.

نتایج حاصل نشان داد اضافه شدن باکتری به طرح اختلاط منجر به کاهش جذب آب آزمون‌ها می‌شود. کاهش جذب آب آزمون‌ها نشان دهنده تاثیر مثبت باکتری بر پر شدن خلل و فرج‌های بتن‌های دارای ژئولیت و تولید محصولات هیدراته ترکیبات کلسیم و سیلیکات ناشی از فعالیت باکتری‌ها می‌باشد.

جدول ۱۰. درصد جذب آب آزمون‌ها در سن ۲۸ روزه

Specimen No	BS	ASTM
P	5.95	6.2
PZ	6.2	6.4
PSU6	5.8	6
PZSU6	5.62	5.9
PSU7	5.4	5.82
PZSU7	5.1	5.35
PSU8	5.06	5.17
PZSU8	4.2	4.5
PSU9	5.56	5.7
PZSU9	4.8	5.1

Table 10. Effect of bacteria on water absorption (28 Days)

نتایج حاصل از عمق نفوذ آب برای آزمون‌های نشان داده شده در شکل (۷-ب)، در شکل (۸) نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان داد عمق نفوذ آب در نمونه‌های دارای باکتری نسبت به نمونه‌های بدون باکتری کمتر است که نشان دهنده تأثیر نفوذ ناپذیر شدن آزمون‌های دارای باکتری باسیلیس سابیتیلیس می‌باشد. همچنین غلظت 2.8×10^8 نسبت به سایر غلظت‌ها عمق نفوذ آب کمتری در بین نمونه‌های دارای زئولیت و هم در بین نمونه‌های بدون زئولیت از خود نشان داده است. نتایج حاصل نشان داد با افزایش غلظت باکتری، عمق نفوذ آب در نمونه‌های بدون زئولیت نسبت به نمونه‌های دارای زئولیت کاهش یافته است.

۴-۳ آزمایش اولتراسونیک

آزمایش اولتراسونیک از جمله آزمایش‌های غیرمخرب بتن می‌باشد. جهت ارزیابی کیفیت بتن، آزمون‌های ترک خورده و آزمون‌های غیر ترک خورده بر اساس مدت زمان عبور امواج اولتراسونیک با یکدیگر مقایسه شده‌اند [51]. برای انجام آزمایش اولتراسونیک از دستگاه اولتراسونیک کنترلر مدل E4800-58 استفاده شده است. برای انجام این آزمایش، پروب‌های دستگاه در دو سمت آزمون‌ها مطابق شکل (۹) قرار داده شده و مدت زمان عبور امواج تعیین می‌شود.

شکل ۹. آزمایش اولتراسونیک بتن



Fig. 9. Ultrasonic testing of the specimens

برای بررسی میزان تأثیر باکتری‌ها بر خودترمیم شوندگی بتن، ترک‌هایی در سن ۳ روزه با اعمال بار فشاری به میزان حدود سی درصد بار گسیختگی در آزمون‌ها ایجاد شد. برای ارزیابی کیفیت خودترمیمی ترک‌ها، مدت زمان عبور امواج اولتراسونیک در آزمون‌ها، قبل از ایجاد ترک و بعد از ایجاد

این آزمایش از دستگاه تست نفوذپذیری مطابق شکل (۷-الف) استفاده شده است. آزمون‌ها بعد از ۲۸ روز عمل‌آوری در دستگاه آزمایش نفوذپذیری قرار گرفتند و طبق استاندارد BS به مدت ۷۲ ساعت تحت فشار ۵ بار قرار داده شدند. پس از گذشت ۷۲ ساعت آزمون‌ها توسط جک بتن شکن به دو قسمت از محل نفوذ آب شکسته (شکل ۷-ب) و عمق نفوذ آب تعیین شد.

شکل ۷. آزمایش نفوذپذیری الف: دستگاه آزمایش ب: آزمون‌ها



(الف)



(ب)

Fig. 7. Permeability testing machine

شکل ۸. نمودار عمق نفوذ آب در نمونه‌ها پس از ۲۸ روز

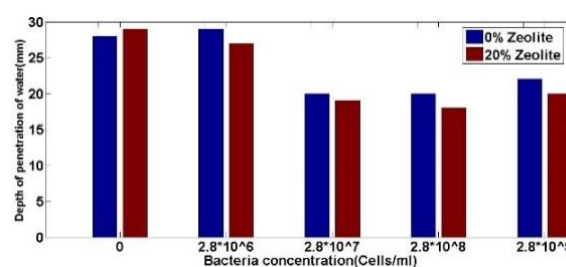


Fig. 8. Depth of penetration of water into the specimens under pressure

برای تعیین تاثیر باکتری روی نمونه‌های دارای باکتری و نمونه‌های بدون باکتری، سرعت عبور امواج اولتراسونیک برای نمونه‌های دارای زئولیت و باکتری با نمونه شاهد خود یعنی نمونه دارای زئولیت بدون باکتری با نمونه شاهد خود یعنی نمونه ساده بدون باکتری (با کد P) سنجیده شده‌اند. با توجه به شکل (۶)، تغییرات سرعت موج اولتراسونیک در آزمون PZSU8 نسبت به سایر آزمون‌ها محسوس‌تر می‌باشد که نشان دهنده تاثیر بیشتر باکتری با غلظت 2.8×10^8 نسبت به سایر غلظت‌ها است. این تغییر محسوس ناشی از فعالیت باکتری‌ها بعد از ایجاد ترک و تولید کلسیت و پر شدن خلل و فرج‌ها می‌باشد.

ترک در سنین ۱، ۷، ۱۴ و ۲۸ روزه تعیین شد. نتایج حاصل از مدت زمان عبور امواج اولتراسونیک در شکل (۱۰) نشان داده شده است. رنگ خاکستری در شکل (۱۲) نشان دهنده بتن‌های حاوی زئولیت و سایر رنگ‌ها مشخص کننده سن نمونه‌ها می‌باشد. آزمون‌های حاوی زئولیت و همچنین آزمون‌های بدون زئولیت در سنین ۱ روزه، ۳ روزه قبل و بعد از ترک، ۷ روزه، ۱۴ روزه و ۲۸ روزه ارزیابی شده‌اند.

نتایج حاصل نشان داد آزمون‌های حاوی باکتری در مقایسه با آزمون‌های ساده تغییرات بسیار محسوسی در سن سه روزگی پس از ترک خوردن داشته‌اند.

شکل ۱۰. نمودار تغییرات سرعت امواج اولتراسونیک

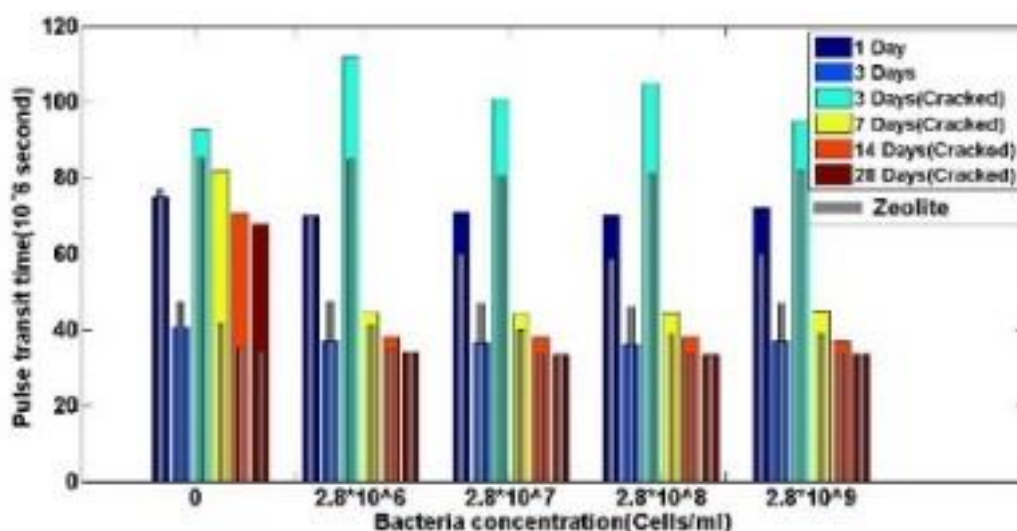


Fig. 10. Variations of ultrasonic pulse transit times

ترمیم قابل توجه ترک در آزمون با کد P بعد از گذشت زمان می‌باشد. در آزمون مذکور تنها درون عمق ترک تا حدودی محصولات هیدراته ترکیبات کلسیم تولید شده است. محصولات بیان شده در اثر فرآیند هیدراته شدن سیمان تولید می‌شوند. همچنین آزمون دارای زئولیت با کد PZ پس از گذشت زمان درون ترک تا حدودی با محصولات هیدراته ترکیبات کلسیم تولید شده، پر شده است اما کل خلل و فرج‌ها ترمیم نیافته است.

۳-۵- عکس‌ها

برای ارزیابی آزمون‌ها و همچنین تاثیر باکتری روی ترمیم ترک‌ها عکس‌هایی با میکروسکوپ نوری و همچنین عکس‌هایی با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از آزمون‌ها گرفته شده است. شکل (۱۱) عکس‌های گرفته شده توسط میکروسکوپ نوری را نشان می‌دهد. بعد از ایجاد ترک در سن سه روزه و همچنین بعد از گذشت ۲۸ روز عکس‌هایی برای ارزیابی گرفته شده است که به ترتیب با پسوند 3D و 28D در شکل (۱۱) نشان داده شده است. تصاویر نشان دهنده عدم

می‌باشد. اما در آزمون با کد PZSU8 این قسمت‌ها به مراتب بیشتر شده‌اند. گستردگی تولید کلسیت‌ها در آزمون با کد PZSU8 نشان دهنده تولید محصولات با دوام‌تر توسط ژئولیت می‌باشد. همچنین نتایج حاصل نشان دهنده تاثیر باکتری باسیلیس سابیتیلیس با غلظت 2.8×10^8 در تولید کلسیت است. برای آنالیز آزمون‌ها طیف سنجی انرژی پراکندگی پرتو اشعه ایکس (EDS) نیز انجام شده است. طیف‌سنجی مواد نشان دهنده مواد تشکیل شده در اثر فرآیند هیدراتاسیون سیمان و همچنین کلسیت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌ها می‌باشد. نتایج EDS نشان دهنده مقدار مواد تولید شده در فرآیند هیدراتاسیون می‌باشد.

شکل ۱۲. عکس‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM

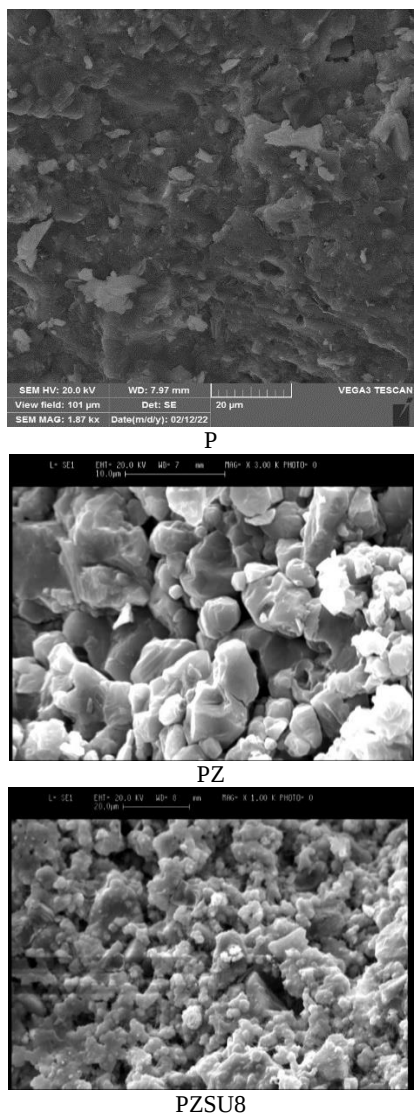


Fig. 12. SEM images

شکل ۱۱. تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ نوری

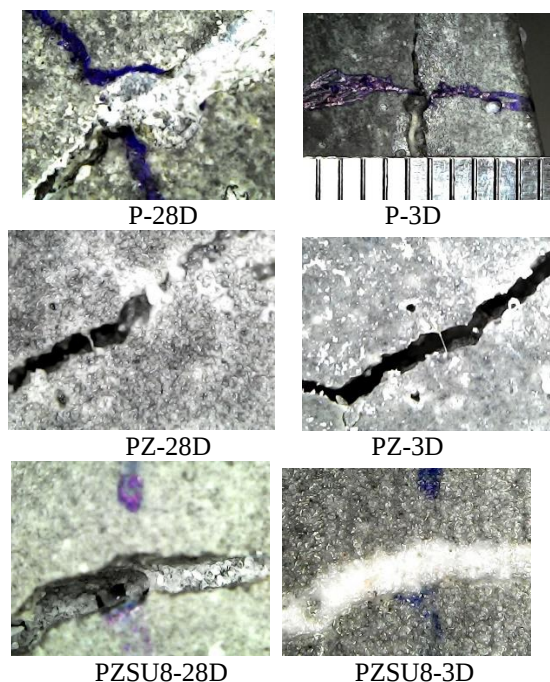


Fig. 11. Examples of cracks after 28 days of healing (left) and cracks at day 3 (right).

بررسی آزمون‌های حاوی باکتری با غلظت‌های مختلف نشان داد غلظت 2.8×10^8 نسبت به سایر غلظت‌ها عملکرد مناسب‌تری در ترمیم ترک‌ها داشته است. آزمون‌های دارای این غلظت با کد PZSU8 در شکل (۱۱) نشان داده شده‌اند. تصاویر شکل (۱۴) تایید کننده این موضوع هستند که ترک‌های ایجاد شده در آزمون‌های دارای باکتری نسبت به ترک‌های آزمون‌های بدون باکتری بیشتر ترمیم یافته‌اند که نشان دهنده فعالیت باکتری‌ها و تولید محصولات هیدراته شده است. به بیان دیگر در اثر فعالیت باکتری‌ها، کلسیت بیشتری در نمونه‌های دارای باکتری نسبت به نمونه‌های بدون باکتری تولید شده است که منجر به پر شدن ترک‌ها و خلل و فرج‌ها شده است. تصاویر گرفته شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان دهنده این موضوع هستند. نواحی سفید رنگ در شکل (۱۲) بیانگر تولید کلسیت در آزمون‌ها می‌باشد. همان‌گونه که در شکل (۱۲) نشان داده شده است، اطراف کریستال‌های هگزاگون در آزمون با کد PZSU8 نسبت به آزمون با کد PZ محصولات ناشی از ترکیبات کلسیم آشکارتر است. همچنین آزمون با کد P در چند قسمت خاص دارای هیدرات‌های اترینگیت و محصولات هیدراته ترکیبات کلسیم و سیلیکات

شدن خلل و فرج‌های بتن توسط محصولات هیدراته ترکیبات کلسیم و سیلیکات می‌باشد. نتایج حاصل نشان داد اضافه شدن باکتری به طرح اختلاط بتن، منجر به کاهش نفوذپذیری بتن شده است. نتایج حاصل از آزمون مقاومت فشاری نشان داد، نمونه‌های حاوی ژئولیت با غلظت $2/8 \times 10^8$ سلول بر میلی لیتر منجر به افزایش ۱۶۷۶ درصدی مقاومت فشاری و نمونه‌های بدون ژئولیت ۱۳/۵۱ درصد مقاومت فشاری را افزایش دادند. همچنین افزایش غلظت باکتری بیشتر از غلظت یاد شده، منجر به افزایش مقاومت فشاری نشد. آزمایش جذب آب نمونه‌ها نشان دهنده کاهش جذب آب نمونه‌های حاوی باکتری می‌باشد. کمترین درصد جذب آب در بین نمونه‌های ارزیابی شده، نمونه‌های با غلظت $2/8 \times 10^8$ است. همچنین وجود باکتری در طرح اختلاط منجر به کاهش حدوداً ۱۵ درصدی جذب آب نمونه‌های ساده و ۳۰ درصدی نمونه‌های دارای ژئولیت شد. ارزیابی سرعت عبور امواج اولتراسونیک نمونه‌ها در سنین مختلف نشان داد غلظت $2/8 \times 10^8$ سلول بر میلی لیتر نسبت به سایر غلظت‌ها بیشترین کاهش مدت زمان عبور امواج اولتراسونیک را دارد. ارزیابی عکس‌های SEM تولید محصولات هیدراته ترکیبات کلسیم را در آزمون‌های حاوی باکتری را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج آزمایشات مقاومتی و دوام، مناسب‌ترین غلظت، برای بهبود همزمان پارامترهای مقاومتی و دوام از بین غلظت‌های مختلف باکتری باسیلیس سابیتلیس، غلظت $2/8 \times 10^8$ پیشنهاد می‌شود.

۵- تقدیر و تشکر

قسمتی از آزمایش‌های این تحقیق در آزمایشگاه بتن دانشکده فنی و مهندسی باهنر شیراز انجام گرفته است. نویسندگان این مقاله بدین وسیله از همکاری عوامل یاد شده تقدیر و تشکر می‌نمایند.

۶- اعلام تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ نوع تعارض منافی وجود ندارد.

این مقادیر در نمودار شکل (۱۵) نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان دهنده وجود محصولات هیدراته اولیه هستند که از مقادیر زیادی اکسیژن (O)، کربن (C)، کلسیم (Ca)، سیلیکون (Si) و مقادیر کمتر سدیم (Na)، آلومینیوم (Al)، منیزیم (Mg)، آهن (Fe) تشکیل شده است. وجود Ca و Si در شکل (۱۳) نشان دهنده پیوندهای C-S-H در طرح اختلاط است.

شکل ۱۳. آنالیز طیف سنجی انرژی پراکندگی پرتو اشعه ایکس در سن ۲۸

روزه

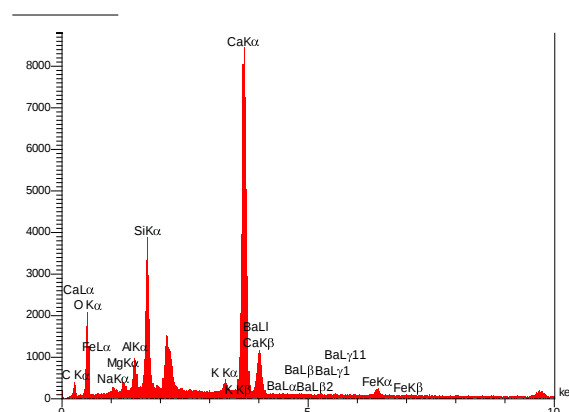


Fig. 13. Quantitative results (EDS analysis)

نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد استفاده از مواد و افزودنی‌های مجاز منجر به بهبود ویژگی‌های مکانیکی و دوام بتن می‌شود. نتایج حاصل از تحقیقات سایر پژوهشگران نشان می‌دهد استفاده از افزودنی‌ها تا حدودی منجر به بهبود این خصوصیات می‌شود اما ترمیم ترک‌ها به صورت خودکار انجام نمی‌شود. نتایج حاصل از عکس‌های گرفته شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی و همچنین آنالیز EDS نشان می‌دهد استفاده از باکتری در بتن‌های حاوی ژئولیت منجر به ترمیم شدن بیشتر بتن، نسبت به استفاده از سایر روش‌ها می‌شود.

۴- نتیجه‌گیری

در مقاله حاضر تأثیر باکتری باسیلیس سابیتلیس در ترمیم ترک‌های بتن‌های حاوی ژئولیت و تأثیر آن بر پارامترهای مقاومتی و دوام مورد ارزیابی قرار گرفت. تصاویر میکروسکوپی نمونه‌های حاوی ژئولیت و باکتری، نشان دهنده تولید کلسیت و پر

7-مراجع

- protection strategies for bacteria. *Construction and Building Materials*, 306, 124950.
- [15] Reddy K. M., Ramesh B. & Macrin. D. 2020 Effect of crystalline admixtures, polymers and fibers on self-healing concrete - a review. *Materials Today: Proceedings*, 33, 763-770.
- [16] Jogi K. P. & Lakshmi T. V. S. 2021 Self-healing concrete based on different bacteria: A review. *Materials Today: Proceedings*, 43, 1246-1252.
- [17] Reddy Y. P. V., Ramesh B. & Prem Kumar L. 2020 Influence of bacteria in self-healing of concrete - a review. *Materials Today: Proceedings*, 33, 4212-4218.
- [18] Sri Durga C. S., Ruben N., Rama Chand M. S., Indira M. & Venkatesh C. 2021 Comprehensive microbiological studies on screening bacteria for self-healing concrete. *Materialia*, 15, 101051.
- [19] Sohail M. G., Disi Z. A., Zouari N., Al Nuaimi N., Kahraman R., Gencturk B., Rodrigues D. F. & Yildirim Y. 2022 Bio self-healing concrete using MICP by an indigenous *Bacillus cereus* strain isolated from Qatari soil. *Construction and Building Materials*, 328, 126943.
- [20] Feng F., Chen B., Sun W. & Wang Y. 2021 Microbial induced calcium carbonate precipitation study using *Bacillus subtilis* with application to self-healing concrete preparation and characterization, *Construction and Building Materials*, 280, 122460.
- [21] Su Y., Zheng T. & Qian C. 2021 Application potential of *Bacillus megaterium* encapsulated by low alkaline sulfoaluminate cement in self-healing concrete. *Construction and Building Materials*, 273, 121740.
- [22] Pradesh H. 2012 Application of Nanotechnology in Building Materials. *International Journal of Engineering Research and Applications (IJERA)*, 2, 1077-1082.
- [23] Li H., Hu L., Song D. & Al-Tabbaa A. 2014 Subsurface transport behavior of micronano bubbles and potential applications for groundwater remediation. *International journal of environmental research and public health*. 11(1), 473-486.
- [24] Yuan H., Zhang Q., Hu X., Wu M., Zhao Y., Feng Y. & Shen D. 2022 Application of zeolite as a bacterial carrier in the self-healing of cement mortar cracks. *Construction and Building Materials*, 331, 127324.
- [25] Ansari A., Siddiqui V., Khan M. & Akram K. 2020 Effect of self-healing on zeolite-immobilized bacterial cementitious mortar composites. In *Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering, Self-Healing Composite Materials*, Woodhead Publishing, 239-257.
- [26] Bhaskar S., Khandaker M., Hossain A., Lachemi M., Wolfaardt G. & Kroukamp M. 2017 Effect of self-healing on strength and durability of zeolite-immobilized bacterial cementitious mortar composites. *Cement and Concrete Composites*, 82, 23-33.
- [27] Hosseini Balam N., Mostofinejad D. & Eftekhari M. 2017 Effects of bacterial remediation on compressive strength, water absorption, and chloride permeability of lightweight aggregate concrete. *Construction and Building Materials*, 145, 107-116.
- [1] Li W., Lin X., Bao D. W. & Xie Y. M. 2022 A review of formwork systems for modern concrete construction. *Structures*, 38, 52-63.
- [2] Aspiotis K., Sotiriadis K., Ntaska A., Macova P., Badogiannis E. & Tsivilis. S. 2021 Durability assessment of self-healing in ordinary Portland cement concrete containing chemical additives. *Construction and Building Materials*, 305, 124754.
- [3] Hassanpour M., Hassanpour. M., Rezaie M., Salajegheh E., Iqbal M. R., Khandaker M. U. & Bradley D. A. 2022 Studies of the mechanical and neutron shielding features of concrete by incorporation of green additive materials: Experimental and numerical study. *Radiation Physics and Chemistry*, 191, 109846.
- [4] Mokhtar M. M., Morsy M., Taha N. A., & Ahmed E. M. 2022 Investigating the mechanical performance of nano additives reinforced high-performance concrete. *Construction and Building Materials*, 320, 125537.
- [5] Zhang W., Zheng Q., Ashour A. & Han B. 2020 Self-healing cement concrete composites for resilient infrastructures: A review. *Composites Part B: Engineering*, 189, 107892.
- [6] Zhang L. V., Nehdi M. L., Suleiman A. R., Mehdizadeh Allaf M, Gan M., Marani A. & Tuyan M. 2021 Crack self-healing in bio-green concrete. *Composites, Engineering*, 227, 109397.
- [7] Algaifi H. A., Abu Bakar S., Alyousef R., Mohd Sam A. R., Wan Ibrahim M. H., Shahidan S., Ibrahim M. & Salami B. A. 2021 Bio-inspired self-healing of concrete cracks using new *B. pseudomycoides* species. *Journal of Materials Research and Technology*, 12, 967-981.
- [8] Peng C., Wu Q., Shen J., Mo R. & Xu J. 2021 Numerical study on the effect of transverse crack self-healing on the corrosion rate of steel bar in concrete. *Journal of Building Engineering*, 41, 102767.
- [9] Mohan M., Rahul A. V., Van Dam B., Zeidan T., Schutter G. D. & Tittelboom K. V. 2022 Performance criteria, environmental impact and cost assessment for 3D printable concrete mixtures. *Resources Conservation and Recycling*, 181, 106255.
- [10] Dehghani H. & Hamzeh R. 2021 Mechanical Properties Evaluation of Self-Healing Concrete Containing Microorganisms. *MCEJ*, 21 (1) :61-71.
- [11] Ghasemzadeh Mosavi Nejad S. & Ramezani Khajeh Ghiyasi., M. 2020 The influence of Crystalline Admixture on the Self-healing Concrete. *Concrete Research*, 13(1), 39-51.
- [12] Shashank B. S., Kumar K. P. & Nagaraja P. S. 2022 Fracture behavior study of self-healing bacterial concrete. *Materials Today: Proceedings*, 60(1), 267-274.
- [13] Khaudivyal S., Rawat A., Kumar Das S. & Garg N. 2021 Bacterial concrete: A review on self-healing properties in the light of sustainability. *Materials Today: Proceedings*. 60(1), 136-143.
- [14] Tang Y. & Xu J. 2021 Application of microbial precipitation in self-healing concrete: A review on the

- [41] Reddy N. R., Tetzloff R. C., Solomon H. M. & Larkin J. W. 2006 Inactivation of *Clostridium botulinum* nonproteolytic type B spores by high pressure processing at moderate to elevated high temperatures. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7(3), 169-175.
- [42] ACI committee 211, ACI 211. 1-91. 2002 Standard practice for selecting proportions for normal, heavy weight, and mass concrete, farmington Hills, MI, USA.
- [43] BS EN 12390-3: 2019. Testing Hardened Concrete. Compressive Strength of Test Specimens. British Standards Institution, London.
- [44] ASTM C618, standard test method for Compressive strength of cylindrical compressive specimen, ASTM international, west Conshohocken, PA.
- [45] Ahmadi, J., Azizi, H., Koohi, M. 2016 Effect of Zeolite on the Strength and Permeability of Conventional Concrete with Different Content of Cement. *Concrete Research*, 8(2): 5-18.
- [46] Pei R., Liu J., Wang S., Yang M. 2013 Use of bacterial cell walls to improve the mechanical performance of concrete, *Cement and Concrete Composites*, 39, 122-130.
- [47] ASTM C642. 2006 Standard test method for density, absorption, and voids in hardened concrete, ASTM international, west Conshohocken, PA.
- [48] BS EN 12390, Testing hardened concrete Part 122, Method for determination of water absorption.
- [49] ISI 7031. 1998 Concrete hardened-determination of depth of penetration of water under pressure, Ed, 1998.
- [50] BS EN 12390-8. 2009 Depth of penetration of water.
- [51] ASTM C 597 – 02 Standard Test Method for Pulse Velocity Through Concrete.
- [28] Mirshahmohammad M., Rahmani H., Maleki-Kakelar M. & Bahari A. 2022 Effect of sustained service loads on the self-healing and corrosion of bacterial concretes. *Construction and Building Materials*, 322, 126423.
- [29] Cuzman O., Rescic S., Richter K., Wittig L. & Tiano P. 2015 *Sporosarcina pasteurii* use in extreme alkaline conditions for recycling solid industrial wastes. *Journal of Biotechnology*, 214, 49-56.
- [30] Hadi S., Abbas H., Almajed A., Binyahya A. & Al-Salloum Y. 2022 Biocementation by *Sporosarcina pasteurii* ATCC6453 under simulated conditions in sand columns. *Journal of Materials Research and Technology*, 18, 4375-4384.
- [31] Izadifard R. & Abdi Moghadam M. 2020 Evaluation of various content of zeolite on the mechanical and durability properties of concrete at high temperatures. *Amirkabir Journal of Civil Engineering*, 52(9), 2321-2338.
- [32] Esfahani F., Shokri M., Ghorbankhani A. H. & Katebi A. 2019 The effect of changes in water-cement ratio and curing age on the self-healing behavior of concrete containing zeolite, *Civil Engineering, Architecture and Urban Development Iran university of Science and Technology*, Tehran, Iran.
- [33] Sajedi S. & Azhdarizadeh M. 2021 Evaluation of natural zeolite effect on the mechanical properties of concrete containing coarse masonry recycled aggregates, *Amirkabir Journal of Civil Engineering*, 53(4), 1671-1686.
- [34] Sreeharsha, N. & Ramana, K. V. 2016. Study on the strength characteristics of concrete with partial replacement of cement by zeolite and metakaolin. *International journal of innovative research in science, engineering and technology*, 5(12), 20363- 20371.
- [35] Feng J., Dong H., Wang R. & Su Y. A. 2020 Novel capsule by poly (ethylene glycol) granulation for self-healing concrete. *Cement and Concrete Research*, 133, 106053.
- [36] Lv L., Guo P., Liu G., Han N. & Xing F. 2020 Light induced self-healing in concrete using novel cementitious capsules containing UV curable adhesive. *Cement and Concrete Composites*, 105, 103445.
- [37] Pourfallahi M., Nohegoo-Shahvari A. & Salimizadeh M. 2020 Effect of direct addition of two different bacteria in concrete as self-healing agent. *Structures*, 28, 2646-2660.
- [38] Christiansen G. 1986 *General microbiology*, seventh edition: by Hans G. Schlegel, Cambridge University Press, Cambridge.
- [39] Zolghadri A., Ahmadi B. & Taherkhani H. 2022 Influence of natural zeolite on fresh properties, compressive strength, flexural strength, abrasion resistance, Cantabro-loss and microstructure of self-consolidating concrete. *Construction and Building Materials*, 334, 127440.
- [40] Durga P. & Singh R. N. 2017 Climatic, Pathogenic and host conditions for successful induction of *Ustilagoidea virens* causing false smut of rice. *Indian Journal of Ecology*, 44(5), 407-411.

The Effect of Bacillus Subtilis Bacteria on Self-healing of Zeolite Concretes

M. Baradaran^{1*}, M. sadeghpour², S. afsharipour³

1- Department of Civil Engineering, Meymand Center, Firoozabad Branch Islamic Azad University, Firoozabad

2- Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, (TVU)

3- Department of Microbiology, Firoozabad Branch Islamic Azad University, Firoozabad,

Received: 2022/09/07

Accepted: 2023/10/19

mr.baradaran@iau.ac.ir

Abstract:

Today, concrete is one of the most widely used materials in the world. With the progress of science and the use of different additives, the use of concrete is increasing day by day. With the development of the science of microbiology and its application in various industries, the use of biological additives including bacteria to improve the properties of concrete has also attracted the attention of various researchers. In this paper, the effect of Bacillus subtilis bacteria on self-healing concrete with zeolite has been studied. Bacillus subtilis bacteria with four different concentrations were used for evaluation. In concrete with zeolite, zeolite is replaced by 20% by weight of cement of mixing design has been used. In order to evaluate and control the specimen, destructive and non-destructive tests such as ultrasonic, permeability, water absorption and compressive strength have been used. Four different concentrations of Bacillus subtilis bacteria have been used to investigate the effect of self-healing caused by the addition of bacteria to concrete and also to control the resistance parameters and durability of concrete with zeolite. The mentioned bacteria were produced in the laboratory from alfalfa stems and leaves. In order to evaluate and control the samples from destructive and non-destructive tests, including impermeability and water absorption test at the age of 28 days, compressive strength test at the age of 7 and 28 days and ultrasonic test at the age of 1, 3, 7, 14 and 28 days have been used. For visual examination, a set of specimens at three days of age were subjected to a load roughly equivalent to 30% of the fracture load to cause cracking, and the healing process was monitored by light microscopy, Scanning Electron Microscopy (SEM), and Energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS). The results show that the concentration of 2.8×10^8 is the most suitable concentration of Bacillus subtilis for the production of calcite and filling the pores of concrete by products such as calcium carbonate. This concentration of Bacillus subtilis also offered the best improvement in ultrasonic pulse transit velocity and water penetration depth of zeolite concrete specimens. Among the studied different concentrations, Bacillus subtilis with a concentration of 2.8×10^8 was the most effective in improving compressive strength, providing an 13.51% strength improvement in the specimens without zeolite and a 16.76% strength improvement in specimens with zeolite. The results also showed that increasing the bacterial concentration did not cause significant changes in compressive strength, water absorption, impermeability and ultrasonic wave velocity. The results of the water absorption test showed that the lowest percentage of water absorption among the evaluated specimens is the specimens with a concentration of 2.8×10^8 . Also, the presence of Bacillus subtilis bacteria in the mixing design led to a 15% decrease in water absorption of specimens without zeolite and 30% of specimens with zeolite. Based on the results of the experiments, the most suitable concentration, for the simultaneous improvement of the resistance parameters and durability among the different concentrations of Bacillus subtilis bacteria, is suggested to be 2.8×10^8 .

Key word: Bacillus subtilis, Zeolite, Self-healing concrete, Bacteria.