



## Investigate of the Potential Use of Microbial Precipitation for Repair of Concrete and Carbon Sequestration

### ARTICLE INFO

#### Article Type

Analytical Review

#### Authors

Emami S.<sup>1</sup> PhD,

Alikhani H.A.\*<sup>1</sup> PhD

#### How to cite this article

Emami S, Alikhani H.A. Investigate of the Potential Use of Microbial Precipitation for Repair of Concrete and Carbon Sequestration. Modares Journal of Biotechnology. 2019; 10(3):381-390.

<sup>1</sup>Soil Science Engineering Department, Agricultural Engineering & Technology Campus, University of Tehran, Tehran, Iran

#### \*Correspondence

Address: Soil Science Engineering Department, Agricultural Engineering & Technology Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran. Postal Code: 3158777871

Phone: +98 (26) 32231787

Fax: +98 (26) 32231787

halikhan@ut.ac.ir

#### Article History

Received: August 9, 2017

Accepted: March 3, 2018

ePublished: September 21, 2019

### ABSTRACT

With urbanization expansion, application of concrete and construction materials is widely increasing throughout the world. Therefore, the use of a mechanism that can effectively extend the life of concrete structures is essential. Durable reinforced concrete structures are generally affected by the crack. Cracks in concrete are caused due to various reasons such as an environmental attack, overloading or accidental damage. Surface cracks in concrete facilitate the penetration of chemicals and corrosive chlorine, so as a result of these factors steel rebars corroded and caused the destruction of concrete structures. Calcium carbonate precipitates have proved their ability as a microbial sealant to fill the cracks and the gaps in Granites and sand. In this method, urea is hydrolyzed by the urease secreting bacteria and calcium carbonate is formed in the presence of calcium ion, which improves the stability and properties of concrete in the long term. Therefore, the use of microbial precipitation in concrete restoration can be considered as a natural and environmentally friendly strategy. This paper reviews current progress and potential of this technology.

**Keywords** Biocement; Strength; Durability; Carbon sequestration

### CITATION LINKS

[1] Sustainable cement production - present ... [2] Behaviour of cement concrete ... [3] Study on the expansion of concrete ... [4] Chemo-mechanical analysis of ... [5] Behavior of air-entrained concrete under ... [6] Corrosion monitoring of reinforced concrete structures ... [7] The use of thermodynamic analysis in assessing ... [8] Carbonation in concrete infrastructure in the context ... [9] A study on the performance of the bacterial ... [10] Repair evaluation of concrete cracks using ... [11] Longitudinal waves for evaluation of large ... [12] Biological materials: functional adaptations ... [13] Characterization of microbe cementitious ... [14] Bioremediation of Pb-contaminated soil based ... [15] Microbial carbonate precipitation as a soil ... [16] Conservation of ornamental stone by Myxococcus xanthus-induced ... [17] Molecular biochemical and ecological characterisation of a bio- ... [18] Strain improvement of Sporosarcina pasteurii for enhanced ... [19] Remediation of concrete using ... [20] Bacterial carbonate precipitation as an alternative ... [21] Bacterial ureases in infectitious ... [22] State-of-the-art review of biocementation by microbially induced calcite ... [23] Biomineralization and evolutionary ... [24] Microbial ureases: significance, regulation, and molecular ... [25] HMicrobial healing of cracks in concrete: a ... [26] Cementation of sand soil by microbially induced calcite ... [27] Bacterial calcification for enhancing performance of low ... [28] Bacterial bio-mediated calcite precipitation for monumental ... [29] Microbially mediated plugging of porous media and the impact of ... [30] Effect of calcifying bacteria on permeation properties ... [31] Potential CO<sub>2</sub> leakage reduction through biofilm ... [32] Bio-deposition of a calcium carbonate layer on degraded ... [33] Influence of urea and calcium dosage on the effectiveness of ... [34] Bacterial carbonate precipitation improves the ... [35] Carbonate stone: chemical behaviour, durability, and ... [36] Bioremediation of weathered-building stone ... [37] Use of silica gel or polyurethane immobilized bacteria for ... [38] Bacteria protect and heal concrete and ... [39] SEM investigation of microbial calcite precipitation in ... [40] Use of microorganism to improve the strength of cement ... [41] Crack repair by concrete immobilized ... [42] Development of a bacteria-based self-healing ... [43] Properties of ... [44] Application of bacteria as self-healing agent ... [45] Non-ureolytic bacterial carbonate precipitation as a surface treatment ... [46] Influence of calcium sources on microbially induced ... [47] CO<sub>2</sub> disposal by means of ... [48] A Bacillus subtilis cell fraction (BCF) inducing ... [49] Bio-mediated ground improvement: from ... [50] Nuisance foam events and Phaeocystis ...

## بررسی پتانسیل استفاده از رسوبات میکروبی در بازسازی بتن و ترسیب کربن

سمیه امامی\* PhD

گروه بیولوژی و بیوتکنولوژی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

حسینعلی علیخانی PhD

گروه بیولوژی و بیوتکنولوژی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

### چکیده

با گسترش شهرنشینی، کاربرد بتن و مصالح ساختمانی به صورت گسترده در سراسر دنیا در حال افزایش است. بنابراین استفاده از مکانیزمی که بتواند در افزایش طول عمر سازه‌های بتنی موثر باشد، ضروری است. دوام سازه‌های بتن آرمه عموماً تحت تاثیر ترک قرار دارد. ترک در بتن به علت‌های مختلف مثل حملات زیست محیطی، اضافه بار، دوره‌های یخ ذوب، یا آسیب‌های تصادفی ایجاد می‌شود. ترک‌های سطحی بتن، ورود مواد شیمیایی و خوردن مثل کلر را فراهم کرده که در اثر این عوامل، آرماتورهای داخل سازه‌های بتن آرمه خورده شده و موجب از بین رفتن سازه‌های بتنی می‌شود. رسوبات آهکی میکروبی به عنوان یک درزگیر، توانمندی بالایی در پرکردن ترک‌ها و شکاف‌های ریز در گرانیت، سنگ و ماسه دارد. در این روش اوره توسط آنزیم اوره‌آز ترشح شده از باکتری، هیدرولیز شده و کربنات کلسیم در حضور یون کلسیم تشکیل می‌شود و موجب بهبود پایداری و خواص بتن در طولانی مدت می‌شود. بنابراین مبحث استفاده از رسوبات زیستی در ترمیم ترک بتن می‌تواند به عنوان یک روش طبیعی و سازگار با محیط زیست مورد توجه قرار گیرد. این مقاله به بررسی پیشرفت‌های اخیر و پتانسیل بالقوه این فناوری پرداخته است.

**کلیدواژه‌ها:** سیمان زیستی، مقاومت کششی، پایداری، ترسیب کربن

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۵/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۱۲

\*نویسنده مسئول: halikhan@ut.ac.ir

### مقدمه

زیرساخت‌هایی مانند جاده‌ها، پل‌ها و ساختمان‌ها که در طول صد سال گذشته ساخته شده‌اند، نقش عمده‌ای در افزایش رونق اقتصادی جهان بازی می‌کنند. چنین ساخت‌وسازهایی که در اواسط قرن گذشته شکل گرفته‌اند، اکنون با چالش نگهداری و بازسازی روبه‌رو هستند. از سوی دیگر، اقتصادهای در حال ظهور، به سرعت در حال پایه‌ریزی زیرساخت‌های خود هستند که منجر به افزایش مصرف مصالح ساختمانی می‌شود که پیش‌بینی می‌شود همچنان به رشد در آینده ادامه دهد<sup>[1]</sup>. صنعت سیمان با چالش‌هایی مانند کاهش مواد خام اولیه، ذخایر سوختی و نگرانی‌های زیست‌محیطی روزافزون مواجه است. تولید سیمان مسئول حدود ۶٪ از انتشار گاز CO<sub>2</sub> ناشی از فعالیت انسانی در جهان است. برای ایجاد پایداری در صنعت ساخت‌وساز باید اثرات زیست‌محیطی (استفاده از منابع و انرژی)، نگرانی‌های اجتماعی (سلامتی و تندرستی) و بدهی‌های اقتصادی (هزینه ساخت‌وساز) در حد مطلوب مدیریت شود. بنابراین،

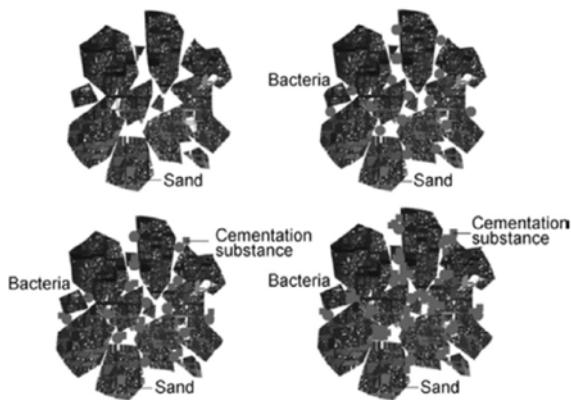
تغییر و تحول در فرآیند تولید مصالح ساختمانی برای دستیابی به پایداری ضروری است. مصالح ساختمانی همواره در معرض نفوذ نمک‌ها<sup>[2]</sup>، حملات کلریدی<sup>[3]</sup>، حملات سولفاتی<sup>[4]</sup>، عمل یخ‌زدگی<sup>[5]</sup>، نمک‌های حاصل از ذوب یخ<sup>[6]</sup>، واکنش قلیایی سنگدانه‌ها<sup>[7]</sup> و کربناسیون<sup>[8]</sup> قرار می‌گیرند که همه این حملات باعث ایجاد ترک در سازه‌ها و کاهش عمر مفید آنها می‌شوند. ترک‌های با پهنای کمتر از ۰/۲ میلی‌متر اگر چه روی خواص استحکامی سازه تاثیرگذار نیستند اما می‌توانند منجر به افزایش تخلخل و نفوذپذیری کلریدها، سولفات‌ها، اسیدها و عوامل خوردنده شده که در طولانی مدت باعث تخریب بنا شوند<sup>[9]</sup>. سازه‌های بتنی یک ظرفیت مشخص برای ترمیم این نوع از ترک‌ها دارند که به ترکیب شیمیایی بتن وابسته است<sup>[10]</sup>. به‌ویژه مخلوط‌های با درصد سیمان بالا خواص خودترمیمی قابل ملاحظه‌ای دارند که ناشی از باقی‌ماندن مقداری از سیمان اولیه به صورت واکنش نکرده (آبگیری نشده) در بتن است که با نفوذ آب، این سیمان آبگیری نشده واکنش داده و ترک‌ها را پر می‌کند. این فرآیند در مورد همه بتن‌های سنتی اتفاق افتاده ولی توان خودترمیمی آن محدود به ترک‌های با عرض کمتر از ۰/۲ میلی‌متر است. همچنین برای انجام این فرآیند شرایطی نیاز است که ایجاد این شرایط در بتن، در هنگام ایجاد ترک دشوار است، به عنوان مثال ذرات ریز سیمان باید در سطح ترک در مواجهه با آب قرار بگیرند که احتمال رخداد آن اندک است یا مخلوط بتن باید حاوی مقادیر بالای سیمان باشد که این موضوع به دلیل قیمت بالای سیمان و کاهش استحکام بتن، کمتر استفاده می‌شود<sup>[11]</sup>. بنابراین برای افزایش مقاومت و طول عمر سازه‌ها بایستی به دنبال ایجاد روش‌های جایگزین مثل بتن زیستی بود. در سال‌های اخیر، معدنی شدن زیستی به موفقیت‌هایی در ساخت مصالح ساختمانی دست یافته است. این مقاله به بررسی پتانسیل بتن زیستی به عنوان یک ترکیب ساختمانی پایدار و کاربرد این تکنولوژی در بهبود ویژگی‌های مواد ساختمانی مختلف از نظر قدرت، نفوذپذیری و دوام می‌پردازد.

### معدنی شدن زیستی

معدنی شدن اغلب در مهندسی عمران استفاده می‌شده که نشان‌دهنده تولیدات معدنی، عمدتاً کربنات‌ها است. در معدنی شدن زیستی، موجودات زنده در روند معدنی شدن شرکت می‌کنند. موجودات زنده ترکیبات معدنی همراه با پلیمرهای زیستی تولید می‌کنند که به سیمانی شدن انتخابی کمک می‌کند<sup>[12]</sup>. این ترکیبات معدنی شده به عنوان مواد سیمانی به کار گرفته می‌شوند و گاهی اوقات به عنوان سیمان زیستی نامیده می‌شوند. سیمان زیستی شامل یک میکروپ قلیادوست، محلول بستره و محلول یون کلسیم است که توجه زیادی به عنوان یک ماده سبز را به خود جلب کرده است<sup>[13]</sup>. استفاده از رسوب کربنات کلسیم میکروبی در پالایش فلزات سنگین<sup>[14]</sup>، تقویت و بهبود خاک<sup>[15]</sup>، بازسازی مواد سنگی<sup>[16]</sup>، تصفیه فاضلاب‌های خانگی<sup>[17]</sup>، تثبیت شن و ماسه<sup>[18]</sup>، استحکام بتن<sup>[19]</sup> و دوام مصالح ساختمانی<sup>[20]</sup> کاربرد دارد. سیمان

### سیمان زیستی

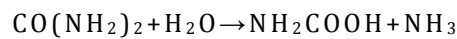
سیمان زیستی توسط رسوبات آهکی میکروبی در فضاهای بین ذرات دانه‌ای از طریق تخلیه سوسپانسیون حاوی باکتری‌های قلیادوست، اوره (به‌عنوان بستره) و یون کلسیم تولید می‌شود [13, 22, 25]. آنزیم اوره‌آز توسط باکتری تولید شده و از هیدرولیز اوره و کلسیم به شکل سیمان زیستی به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کند. پیوندهای سیمانی دانه‌ها با یکدیگر یک توده جامد ایجاد می‌کنند. این فرآیندها برای برنامه‌های کاربردی مانند تثبیت خاک [26]، ساخت‌وساز زمین [27]، بازسازی سنگ‌های مصنوعی [28]، آب‌بندی کانال آب [29] و پالایش آلاینده‌ها [14] مناسب است. در این فرآیند، کربنات بایستی به‌صورت یکنواخت در فضاهای داخلی گرانوله‌ای برای یک اتصال مناسب ته‌نشین شود. نقش اصلی ریزسازواره‌ها در رسوب کربنات عمدتاً به توانایی آنها در ایجاد یک محیط قلیایی (pH بالا و افزایش کربن آلی محلول) از طریق فعالیت‌های فیزیولوژیکی آنها بر می‌گردد. در چنین برنامه‌های کاربردی بایستی میکروبهایی متحمل به pH قلیایی استفاده شوند. سیمانی‌شدن زیستی در اتصال دانه‌های ماسه (شکل ۱) برای ساخت ماسه سنگ زیستی با مقاومت فشاری کافی موثر نشان داده است. آچل و همکاران از سیمانی‌شدن زیستی همراه با سیمان معمولی برای ساخت ملات استفاده کرده‌اند. سلول‌های باکتریایی رشدیافته در محیط مایع به مخلوط ماسه و سیمان، که در آن نسبت کشت باکتریایی ۷۰٪ برای ۷۰/۶ میلی‌متر مکعب سیمان بود، اضافه شدند و فرمول مشابه برای ساخت نمونه‌های بتن با دانه‌بندی درشت به دست آمد. در این نمونه، مقاومت فشاری ۱۷ تا ۳۶٪ و مقاومت در برابر نفوذ آب چهار برابر بهبود یافت [18, 30]. به‌طور کلی سیمانی‌شدن زیستی به سوبه باکتری (فعالیت بالاتر اوره‌آز و ظرفیت بالای کلسیت) و ترکیب محیط کشت (مشخصات تغذیه‌ای با ارزش به نفع رسوب بالای کلسیت) بستگی دارد. سیمانی‌شدن زیستی منجر به رسوب کلسیت در سطح سلول و همچنین در ماتریس ملات سیمان، و در نتیجه افزایش مقاومت فشاری می‌شود.



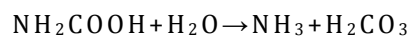
شکل ۱) کلونیزه‌شدن باکتری‌ها روی دانه‌های مجزای شن و تولید رسوبات میکروبی که منجر به اتصال ذرات به هم می‌شود [13]

زیستی در واکنش‌های بیوشیمیایی پیچیده توسط دو آنزیم مهم، یعنی اوره‌آز و کربنیک‌انهیدراز، شرکت می‌کند که توسط میکروبه‌ها تولید شده و از اوره به‌عنوان بستره و منبع کلسیم برای معدنی‌شدن بهره می‌گیرد. در طول فعالیت اوره‌آز، یک‌مول اوره مصرف‌شده تا یک‌مول آمونیاک و یک‌مول از کاربامات تشکیل شود (معادله ۱)، که کاربامات با هیدرولیز خودبه‌خودی به شکل یک‌مول آمونیاک اضافی و کربنیک‌اسید در می‌آید (معادله ۲)، که به‌عنوان فعالیت اوره‌لیتیک شناخته شده است [21, 22]. این محصولات، بی‌کربنات و دومول آمونیوم و یون‌های هیدروکسید را تشکیل می‌دهند (معادله‌های ۳ و ۴). پس از ایجاد تعادل در محیط آبی که موجب افزایش pH و درنهایت تعادل دوره‌ای بی‌کربنات می‌شود، یون‌های کربنات تولید می‌شود (معادله ۵). با توجه به افزایش pH در سلول، غلظت زیاد یون کلسیم و کم پروتون در خارج از سلول برای ترشح یون‌های کربنات مورد نیاز است. شرایط pH بالا به نفع تشکیل  $\text{CO}_3^{2-}$  از  $\text{HCO}_3^-$  است [23]. درنهایت، افزایش غلظت کربنات در سطح فوق اشباع منجر به افزایش رسوب کربنات کلسیم در اطراف سلول و در حضور یون‌های کلسیم محلول می‌شود (معادله‌های ۶ و ۷):

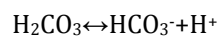
(۱)



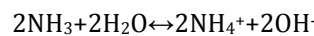
(۲)



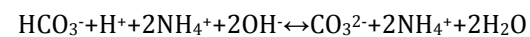
(۳)



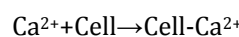
(۴)



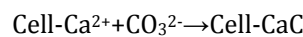
(۵)



(۶)

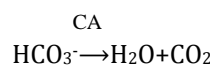


(۷)

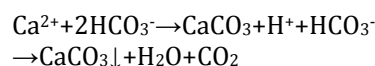


آنزیم دیگری که تبادل بین  $\text{CO}_3^{2-}$  و  $\text{HCO}_3^-$  را تسهیل کرده و رسوب کربنات را شدت می‌بخشد کربنیک‌انهیدراز است. این آنزیم نقش مهمی در تعیین غلظت  $\text{CO}_2$  بازی می‌کند. اگر  $\text{HCO}_3^-$  منبع کربن غیرآلی محلول باشد، کربنیک‌انهیدراز ممکن است تبدیل آن به  $\text{CO}_2$  را کاتالیز کند، و معادله واکنش کلی به‌صورت زیر است [24]:

(۸)



(۹)



به‌طور خلاصه، فرآیند تولید سیمان زیستی بستگی به شش عامل کلیدی شامل فعالیت آنزیم اوره‌آز، کربنیک‌انهیدراز، غلظت کلسیم، غلظت کربن محلول غیرآلی، pH و در دسترس بودن مکان‌های هسته‌ای (آغازگر) دارد.

## رسوب زیستی

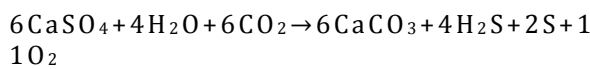
در رسوب زیستی یک لایه از کربنات با منشا زیستی روی یک بستر متخلخل مانند آجر، سیمان یا ملات رسوب می‌کند. رسوب کربنات میکروبی می‌تواند در داخل خلل و فرج سطحی کریستال ته‌نشین شده و از ورود مواد مضر به بستر جلوگیری کند. بنابراین، سطح مواد متخلخل، مانند سنگ آهک، بتن یا آجر را می‌توان از نفوذ آب یا مواد شیمیایی محافظت کرد<sup>[31]</sup>. دیک و همکاران تیمار رسوب زیستی را به منظور تعمیر و محافظت از تخریب سنگ آهک به کار برده بودند<sup>[32]</sup>. در آزمایش‌های آنها، مکعب سنگ آهک با ابعاد ۳۰ میلی‌متر درون شیشه استریل با محیط مایع حاوی نیترات‌برات، سدیم بی‌کربنات، اوره و کلسیم کلرید، تلقیح شده با ۱٪ از سویه‌های مختلف باکتری باسیلوس (پنج گونه از باسیلوس اسفاریکوس *Bacillus sphaericus*) مختلف و یک سویه از باکتری باسیلوس لانتوس (*Bacillus lentus*) انکوبه شدند. لایه‌های متعددی از کلسیت، روی سنگ آهک تخریب‌یافته در طی چهار هفته نهشته شده بود. آنها نتیجه گرفتند که بهترین و همگن‌ترین رسوب زیستی کلسیت در مکعب سنگ آهک توسط باکتری اوره لیتیک با راندمان بالاتر، یعنی، باسیلوس اسفاریکوس ایجاد می‌شود. در مطالعه دیمونک و همکاران نیز از طریق بهینه‌سازی پارامترهای شیمیایی مانند غلظت نمک‌های کلسیم و اوره، بهره‌وری فرآیند تولید رسوب زیستی بهبود داده شد<sup>[33]</sup>. غلظت بهینه کلسیم در حدود ۴/۱۳ میلی‌گرم کلسیم در سانتی‌متر مربع (تیمار رسوب زیستی ۲۰ گرم بر لیتر اوره و ۵۰ گرم بر لیتر کلسیم کلرید) تخمین زده شد. افزایش غلظت اوره و کلسیم در یک سطح خاص و تکرار تیمارها مقاومت سنگ آهک به جذب آب را به‌علت رسوب کربنات میکروبی بهبود داد. دیمونک و همکاران به این نتیجه رسیدند که رسوب یک لایه از کلسیت در سطح نمونه‌ها منجر به کاهش مکش مویرگی و کاهش نفوذ گاز می‌شود<sup>[20]</sup>. علاوه بر این، اثربخشی تیمار رسوب زیستی با کشت‌های میکروبی خالص، به‌منظور ارزیابی مقاومت نمونه‌های ملات و بتن در حال تخریب مورد بررسی قرار گرفت<sup>[34]</sup>. کریستال‌های کربنات کلسیم حاصل از باسیلوس اسفاریکوس جذب آب را از ۶۵٪ تا ۹۰٪ بسته به تخلخل نمونه‌ها کاهش دادند. تیمار رسوب زیستی می‌تواند به‌عنوان یک سیستم پوشش دو جزئی با ویژگی مسدودکردن منافذ در داخل بیوفیلم جذب یون‌های فلزی با بار مثبت موجود در محیط اطراف خود می‌شوند و به‌عنوان مکان‌های هسته‌ای به‌علت بار منفی دیواره سلولی خود عمل می‌کنند<sup>[34]</sup>.

## بازسازی زیستی

سازه‌های خراب به دلایل مختلف مانند حملات زیست محیطی، اضافه بار یا آسیب‌های تصادفی برای ادامه حیات به بازسازی نیاز دارند. استفاده از عوامل مصنوعی مانند پلیمرها برای اصلاح این ساختارها رایج است. با این حال، سازه‌ها یک سیستم متشکل از

مواد مختلف با عملکرد بلندمدت هستند و ممکن است استفاده از پلیمر منجر به ایجاد مشکلات پیچیده‌ای شود. رسوب کربنات زیستی می‌تواند یک ابزار موثر به‌منظور اصلاح سازه‌های تخریب‌یافته باشد. در چنین شرایطی التیام خودبه‌خودی ساختار می‌تواند یک مزیت بزرگ محسوب شود. تحقیقات اولیه توانایی این روش را در بازسازی سازه‌های تخریب‌یافته و بازسازی شکاف‌ها در مواد سیمانی نشان داده است. رسوب کربنات زیستی همچنین در تمیزکردن و ازبین‌بردن سولفات از آثار تاریخی پوشیده از سنگ مرمر استفاده شده است. یک باکتری بی‌هوازی *Desulfovibrio desulfuricans* (DS) برای تبدیل سولفات به کلسیت به‌عنوان محصول سیمان زیستی مورد استفاده قرار گرفته که معادله آن در زیر نشان داده شده است<sup>[35]</sup>:

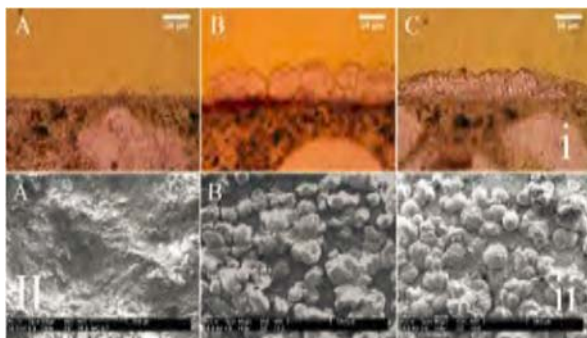
(۱۰)



استفاده از باکتری‌های مولد کربنات زیستی در تعمیر و بازسازی بناهای تاریخی موفقیت‌آمیز بوده است. لایه کلسیت در سطح سنگ بناهای تاریخی به‌عنوان پوشش محافظ عمل می‌کند و در عین حال تقریباً ماهیت سنگ را شبیه‌سازی می‌کند. اما به‌طور کامل منافذ طبیعی ساختار را مسدود نمی‌کند، بنابراین نمک‌های محلول می‌توانند از سنگ انتقال یابند<sup>[36]</sup>. دو راه برای انجام اصلاح زیستی در نمونه‌های بتنی وجود دارد. روش اول استفاده از سلول‌های باکتریایی (همراه با منبع اوره و کلسیم) در ماتریس بتن طی فرآیند ریخته‌گری است؛ و روش دوم کاربرد سطحی رسوبات زیستی بعد از ایجاد شکاف است<sup>[37]</sup>. بازسازی براساس رسوب کربنات میکروبی در نمونه‌های بتن توسط *رماچندران* و همکاران آغاز شد<sup>[19]</sup>. زمانی که شن با سلول‌های *اسپوروسارسینا پاستوری (Sporosarcina pasteurii)* مخلوط و در محل شکاف استفاده شد، مقاومت فشاری ۶۱٪ بهبود یافت. در آزمایش دیگری آنها سلول‌های باکتریایی پلی‌اورتان کپسول‌دار را به‌منظور حفاظت آنها در برابر pH بالای سیمان استفاده نمودند. مقاومت فشاری بتن اصلاح‌شده به میزان ۱۲٪ در ۷ روز افزایش یافت؛ با این حال، در انتهای ۲۸ روز تنها ۳٪ افزایش داشت. ونگ و همکاران کارایی بازسازی زیستی را در بهبود استحکام بازیابی‌شده در منشور ملات (تا ۶۰٪) و کاهش نفوذ آب<sup>(۱۰<sup>-۳</sup> تا ۱۰<sup>-۱۰</sup> متر بر ثانیه)</sup> در سیلندر بتن گزارش کرده‌اند<sup>[37]</sup>. هنگامی که سلول‌های باکتریایی به شکاف اضافه می‌شوند، آنها می‌توانند در حضور رطوبت، آب و اکسیژن رشد کرده و به‌دنبال آن با تولید اوره‌آز و درنهایت رسوب کلسیت شکاف را پر کنند (شکل ۲).

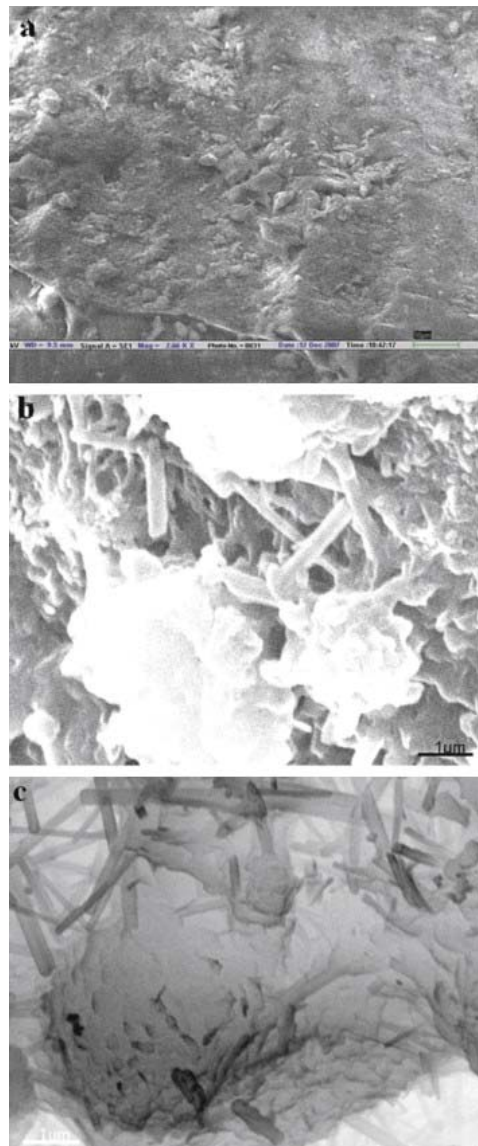
یکی از موانع در طول بستن شکاف نمونه سیمانی، مواجهه با pH بالای بتن است که برای غلبه بر این مشکل، میکروکپسول به‌عنوان حامل باکتری استفاده می‌شود. میکروکپسول‌ها در مسیر شکاف شکسته شده و باکتری‌ها در حضور آب شروع به جوانه‌زدن کرده و کربنات کلسیم رسوب می‌کند. رشد باکتری، فعالیت اوره‌آز و منبع یون کلسیم سه عامل مهم برای اصلاح زیستی شکاف در بتن است.

به وسیله قلیای بتن محافظت می‌شوند. با کاهش قلیای بتن این حفاظت از بین رفته و آرماتورها دچار خوردگی می‌شوند. خوردگی آرماتورها با افزایش حجم همراه بوده و این خود موجب ایجاد ترک‌های جدید در بتن و تخریب شدیدتر آن می‌شود. در شکل ۳ ایجاد این رسوب‌ها در دهانه ترک نمایش داده شده است [38]. وجود باکتری‌ها و ایجاد کربنات کلسیم به دلیل این که این رسوب در داخل ترک ایجاد شده و کلسیم موجود در قلیای بتن را مصرف نمی‌کند، بسیار ارزشمند و کارآمد است. در این فرآیند لاکتات کلسیم یا سایر منابع کلسیم در حضور اکسیژن توسط باکتری‌ها به کلسیم کربنات تبدیل می‌شود. این ماده (لاکتات کلسیم) به عنوان منبع تغذیه باکتری‌ها نیز در فرآیند بستن مجدد ترک وارد می‌شود. این کربن دی‌اکسید با ذرات سیمان واکنش نکرده، واکنش داده و کربنات کلسیم در سطوح داخلی ترک تولید رسوب می‌کند که منجر به ترمیم ترک می‌شود. وجود این رسوب باعث تشدید و تقویت رسوب‌گذاری کربنات کلسیم از طریق باکتری‌ها می‌شود. ادامه تحقیقات با اعمال کلرید کلسیم به عنوان منبع کلسیم انجام شده است. با توجه به طبیعت مخرب یون کلر برای دوام و پایداری آرماتورهای فولادی در محیط بتن انتخاب مواد جایگزین نظیر استات کلسیم نیز مورد توجه قرار گرفته است. در صورت استفاده از کلرید کلسیم مورفولوژی بلورهای تشکیل شده به صورت رومبو هدرال است، در حالی که استفاده از استات کلسیم به عنوان منبع کلسیم بلورهای کروی را به وجود می‌آورد ولی در مجموع از نظر ترمیم ترک هیچ‌گونه تفاوتی در استفاده از منابع متفاوت کلسیم (کلرید کلسیم و استات کلسیم) وجود ندارد. بنابراین به نظر محققین با توجه به این موضوع و سازگاری بهتر استات کلسیم با محیط بتن و آرماتورهای فولادی بهتر است از استات کلسیم به عنوان منبع کلسیم در محیط بتن استفاده شود (شکل ۳).



شکل ۳ تصاویر میکروسکوپ الکترونی مقاطع نمایش‌دهنده لایه‌های کریستال‌های کربنات روی نمونه تیمار شده با باکتری و کلرید کلسیم (B)، با باکتری و استات کلسیم (C) و نمونه تیمار نشده (A)

در آزمایشی دیگر [38] روش ترمیم متداول بتن با روش رسوب باکتریایی مقایسه شده است (شکل ۴). تعدادی از نمونه‌های ترک‌دار برای مقایسه با رزین اپوکسی و تعدادی نیز با باکتری *باسیلوس اسفریکوس* ترمیم شدند. عملیات باکتریایی گوناگونی به منظور



شکل ۴ تصویری از رسوب کلسیت زیستی در محل ترک خوردگی بتن؛ (a) ماتریکس ملات سیمان بدون باکتری، (b) تصویری از سطح ترک اصلاح شده، که نشانگر کریستال‌های کلسیت همراه با باکتری میله‌شکل باسیلوس است و (c) تصویری از قسمت‌های درونی ترک، که نشان‌دهنده رسوب کلسیت همراه با چند حفره میله‌ای شکل است که احتمالاً توسط سلول‌های باکتریایی پر می‌شود [25].

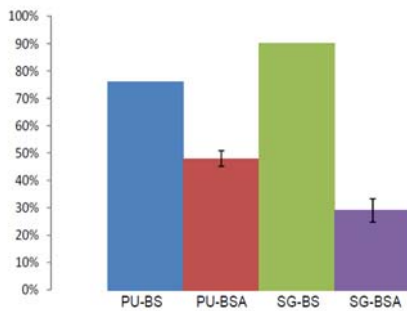
#### آزمایش مقایسه بتن باکتریایی با روش‌های رایج ترمیم ترک

با ایجاد ترک در بتن، باقی‌مانده سیمان واکنش نداده، هیدراته شده و هیدروکسید کلسیم تولید می‌کند. این هیدروکسید کلسیم با کربن دی‌اکسید محلول در آب و گاز نفوذ کرده به بتن واکنش داده و رسوب کربنات کلسیم تولید می‌کند. با ادامه فرآیند، این هیدروکسید کلسیم از درون بتن (از طریق ترک) به بیرون تراوش نموده و رسوب کربنات کلسیم تولید می‌کند. اگر ترک‌ها ریز باشند بتن می‌تواند خود را ترمیم کند. در صورتی که ابعاد ترک‌ها از حد مشخصی بزرگ‌تر باشد، دیگر بتن توانایی ترمیم خود را ندارد و هیدروکسید کلسیم ارزشمند که مشخصه منحصربه‌فرد بتن است به درون آب نفوذ می‌کند و با کاهش قلیای بتن خواص آن از دست می‌رود. در صورت وجود آرماتورهای فولادی در بتن، این آرماتورها

مواد خودترمیم‌کننده استفاده شد. زمانی که به باکتری‌ها مواد مغذی نرسد، آنها از بین می‌روند و بنابراین هیچ‌گونه رسوبی در صورت ایجاد ترک تشکیل نخواهد شد. در یک تحقیق برای حل این مشکل از اسپور به جای میکروارگانیسم زنده استفاده شد. اسپورها زنده بوده اما به صورت سلول نهفته هستند و می‌توانند در این حالت برای سالیان متمادی تا ۵۰ سال حتی در شرایط نامناسب به حیات خود ادامه دهند. این موضوع به دلیل دیواره‌های ضخیم خارجی آنها است. به منظور بررسی این که رسوب کربنات کلسیم توسط اسپور زنده انجام می‌شود از اسپور مرده اتوکلاوی نیز استفاده شد. علاوه بر این به منظور بررسی این که آیا سیلیکاژل نیز می‌تواند به صورت دائم باعث پایداری و ترمیم خودبه‌خود ترک شود یا نه آزمایشاتی با این ماده نیز انجام شد. علاوه بر سیلیکاژل از فوم پلی‌یورتان نیز به عنوان پرکننده ترک استفاده شد. این فوم علاوه بر نقش حفاظت اسپور در برابر محیط قلیایی بتن نقش پرکننده را نیز بر عهده دارد. سیلیکاژل به عنوان ماده تثبیت‌کننده و نگهدارنده باکتری از لوله شیشه‌ای دو بخشی تشکیل شده بود. یک بخش با اسپورهای *باسیلوس اسفریکوس* همراه با لواسیل (Levasil) و بخش دوم با محلول اوره، مخمر و نیترات کلسیم، مانند شکل ۵-A پر شد. هنگام ایجاد یک ترک، لوله مذکور شکسته شده و لواسیل در مجاورت نیترات کلسیم شروع به تشکیل ژل می‌کند. اسپورها در ژل پخش و در تماس با اوره و مخمر قرار می‌گیرند این تماس باعث فعال شدن اسپور شده و نقش تامین غذای باکتری را این مواد به عهده دارند، نیترات کلسیم دو نقش اساسی را بازی می‌کند اول به عنوان منبع تامین کلسیم و دوم به عنوان یک پذیرنده الکترون (به دلیل نبودن اکسیژن و غلظت کم آن در ترک). بنابراین بعد از تماس، فرآیند به صورت خودبه‌خود شروع می‌شود. در صورت استفاده از فوم پلی‌یورتان به عنوان ماده نگهدارنده باکتری، سه لوله شیشه‌ای تهیه می‌شود. لوله اول با محلول اسپورهای *باسیلوس اسفریکوس*، لوله دوم با ترکیب PU-B از پلی‌یورتان و لوله سوم با ترکیب PU-A اوره، مخمر و نیترات کلسیم پر می‌شود. با شکست لوله‌ها و تماس مواد با هم فوم پلی‌یورتان تشکیل می‌شود. با تشکیل این فوم و طبیعت گسترش‌یابنده همراه با افزایش حجم آن، باعث می‌شود که ترک‌ها پر شده و مواد نیز از لوله‌ها بیرون کشیده شوند. باکتری‌های خارج شده از لوله منتشر شده در فوم با مواد مغذی و منبع کلسیم تماس پیدا کرده و می‌توانند رسوب کربنات کلسیم را تشکیل دهند. پس از این که مواد ذکر شده در بالا در لوله‌ها قرار گرفتند انتهای لوله به وسیله چسب بسته و آماده اضافه شدن به محیط بتن شد. نمونه‌های بتنی با نسبت آب به سیمان برابر نیم و ابعاد  $120 \times 60 \times 60$  میلی‌متر تهیه شد. برای پرکردن قالب ابتدا یک لایه به ضخامت ۱۰ میلی‌متر از بتن داخل قالب ریخته شده و سپس کپسول‌های لوله‌ای شکل به صورت دوتایی تا سه‌تایی (بسته به ترکیب) درون این لایه قرار گرفتند. در مراحل بعد نیز لایه‌هایی مشابه مراحل اول قرار گرفت تا قالب پر شود. بعد از ایجاد ترک، نمونه‌ها در شرایط محیط و رطوبت نسبتاً زیاد نگهداری شدند. بعد از یک هفته با فعال شدن

ترمیم ترک روی نمونه انجام شد. بزرگ‌ترین عامل بازدارنده در موقع استفاده از باکتری برای ترمیم بتن مقدار قلیای بالای بتن بود که مانع رشد باکتری می‌شد. بنابراین از ژل سیلیکا در این پژوهش به منظور حفاظت باکتری از اثر قلیایی بتن استفاده شد. پس از آن نمونه‌ها در یک محلول حاوی کلسیم و اوره قرار گرفتند. هدف از این کار تامین مواد اولیه برای فعالیت باکتری‌ها و ایجاد رسوب کلسیم کربنات بود. در تعدادی از نمونه‌ها کلسیم استات به عنوان منبع تامین کلسیم استفاده شد. نمونه‌ها در این پژوهش با دو روش باکتری زنده فعال و با باکتری مرده اتوکلاوی ساخته شدند. این روش برای حصول اطمینان از این که ترک‌ها فقط به وسیله سیلیکاژل و جرم زیستی ترمیم نمی‌شوند و اثبات این که ترمیم ترک ناشی از فعالیت باکتری‌ها است، انجام شد. کارایی هر یک از روش‌ها به وسیله اندازه‌گیری میزان نفوذ آب سنجیده شد. تمام نمونه‌ها به جز نمونه (Bs+CaCl<sub>2</sub>) باعث کاهش نفوذپذیری آب در مقایسه با نمونه اصلاح نشده شدند. در حالتی که باکتری‌ها در برابر قلیای بتن محافظت نشده بودند، قادر به تولید رسوب کافی کربنات کلسیم برای ترمیم و بستن ترک‌ها نبودند. این موضوع تاییدکننده ضرورت حفاظت باکتری‌ها در برابر قلیای بتن با ژل سیلیکا است. اصلاح بتن با Sol-Gel نتایج متوسطی در بر داشت. در حالت استفاده از باکتری در حضور (CaCl<sub>2</sub>=Sol-gel) یا کلسیم استات مقدار کمی آب نفوذ کرد و نتایجی برابر با ترمیم بتن با اپوکسی مشاهده شد. با توجه به خورنده بودن یون کلر و یکسان بودن اثر کلسیم کلرید و کلسیم استات، استفاده از کلسیم استات منطقی‌تر است. در حالت استفاده از باکتری غیرفعال (باکتری مرده) اتوکلاوی با سیلیکا ژل مشاهده شد که نفوذپذیری به مقدار زیادی کاهش یافته است که ناشی از ترمیم و پرکردن ترک توسط ژل سیلیکا است. در حالت استفاده از باکتری زنده و فعال مقدار نفوذپذیری آب به شدت کاهش یافته که نمایانگر تاثیر باکتری است. در حالتی که فقط از سول-ژل استفاده می‌شود مقدار کاهش نفوذپذیری اندکی مشاهده می‌شود. در این حالت وقتی سول-ژل به داخل ترک تزریق می‌شود به دلیل انقباض ژل در حین خشک شدن ترک‌هایی در زمینه ژل ایجاد شده و نفوذ آب افزایش می‌یابد. در صورت استفاده از سیلیکاژل باکتری غیرفعال، به دلیل غوطه‌وری مجدد مخلوط در محلول کلسیم و اوره این ترک‌ها ایجاد نمی‌شوند. کارایی سیلیکاژل در مقایسه با سول-ژل بدون باکتری بیشتر است. باکتری زنده و سیلیکاژل به دلیل ایجاد کلسیم کربنات و بستن ترک‌ها، کارایی بسیار زیادی دارند و نفوذ آب را به شدت کاهش می‌دهند [38].

مکانیزم خودترمیمی، مکانیزمی است که در صورت ایجاد هر گونه ترک در بتن، به صورت خودبه‌خود بدون دخالت عامل خارجی تعمیر و مرمت شود. بنابراین برای داشتن چنین سیستمی لازم است که عامل ترمیم‌کننده در ماتریس بتن وجود داشته باشد و در زمان نیاز آزاد شود. در این تحقیق از شیشه بورو سیلیکات با قطر داخلی ۳ میلی‌متر و طول ۳۰ میلی‌متر به عنوان یک محفظه برای نگهداری



نمودار ۱) تغییرات استحکام ناشی از فرآیند خودترمیمی بتن با پلی‌پورتان سیلیکا ژل، باسیلوس اسفریکوس و باسیلوس اسفریکوس مرده (اتوکلاوی)

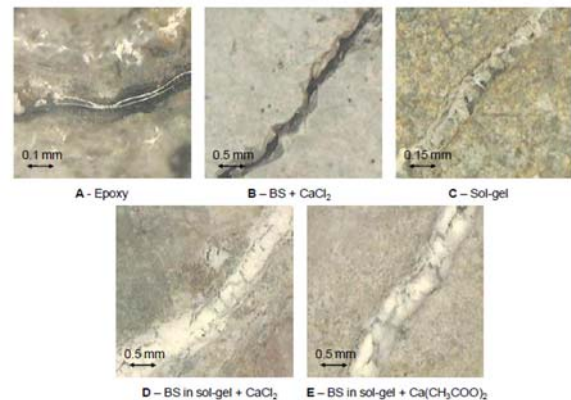
### انواع باکتری‌های استفاده‌شده در بازسازی بتن

انواع باکتری‌هایی که تاکنون در زمینه کاربرد آنها در بتن باکتریایی تحقیق شده، شامل باسیلوس پاستوری، باسیلوس اسفریکوس، اشیریشیا کلی، باسیلوس سوبتیلیس هستند. از این باکتری‌ها، در ساخت بتن باکتریایی استفاده شده است. اکثر آنها در فرآیندی که تولید رسوبات کلسیتی می‌کنند وارد شده و باعث بهبود خواص بتن می‌شوند [6].

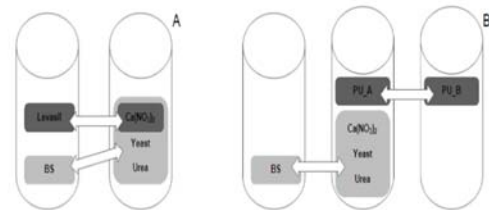
### خصوصیات مصالح ساختمانی

**مقاومت فشاری:** سیمانی‌شدن زیستی منجر به تشکیل بتن در مقاومت فشاری بالاتر نسبت به بتن معمولی می‌شود [39]. گوش و همکاران افزایش ۱۷ و ۲۵٪ در مقاومت فشاری به ترتیب پس از ۷ و ۲۸ روز، در ملات بیولوژیک جنس شوانلا (*Shewanella SP*) اندازه‌گیری کردند [40]. جونگر و اسکلوگن از باکتری اسپوروسارسینا پاستوری برای سیمانی‌شدن زیستی نمونه‌های بتن آرما توریبندی شده استفاده کردند که تفاوت معنی‌داری در مقاومت کششی بین نمونه شاهد (۷/۷ نیوتن بر میلی‌متر مربع) و نمونه‌های باکتریایی (۵/۷ نیوتن بر میلی‌متر مربع) وجود نداشت در حالی که مقاومت فشاری تا حدودی بالاتر بود [41]. علاوه بر این، آنها افزایش ۱۰٪ در مقاومت فشاری بتن در مدت ۲۸ روز با استفاده از یک کنسرسيوم باسیلوس سودوفیرموس (*Bacillus pseudofirmus*) و باسیلوس کهنی (*Bacillus cohnii*) به دست آوردند [42]. هنگامی که سلول‌های باکتریایی به مواد سیمانی اضافه می‌شوند، آنها پس از کسب غذای خود از منافذ مواد سیمانی و اطراف آن شروع به رشد می‌کنند و کرینات کلسیم را در سطح سلول و همچنین در ماتریس ملات سیمان رسوب می‌دهند. هنگامی که منافذ در ماتریس بسته می‌شوند جریان انتقال مواد مغذی و اکسیژن به سلول‌های باکتریایی محدود می‌شود. در نهایت، سلول‌ها از بین رفته یا به حالت اندوسپور تبدیل می‌شوند و به عنوان الیاف آلی عمل می‌کنند. بنابراین، علاوه بر رسوب کرینات میکروبی افزایش نهایی مقاومت در ماتریس ناشی از زیست‌توده میکروبی نیز است.

**نوذپذیری آب:** به عنوان یکی از پارامترهای اساسی برای توصیف



شکل ۴) A: یک ترک ترمیم‌شده با اپوکسی را نشان می‌دهد که با اپوکسی کاملاً پر شده است، B: یک ترک با  $BS + CaCl_2$  ترمیم‌شده را نشان می‌دهد، در این حالت چون باکتری در برابر قلیایی بالای بتن محافظت نشده‌اند، رسوبات کلسیم کرینات باکتریایی تولید نشده است. در شکل D-۴ و E-۴ باکتری همراه با سیلیکاژل استفاده شده و ترک‌ها ترمیم و پر شده‌اند. در شکل C-۴ حالتی که فقط سولژل استفاده شود در حین خشک‌شدن ترک‌هایی ایجاد می‌شود که حفاظت کامل نمی‌تواند ایجاد کند. در شکل D-۴ و E-۴ که سول ژل و کلسیم کرینات یا کلسیم استات استفاده شود و در محلول اوره- کلسیم بعد از پرکردن ترک‌ها توسط ژل و باکتری غوطه‌ور شود، در این حالت رسوب کلسیم کرینات به وسیله باکتری ایجاد شده و ترک‌ها کاملاً پر می‌شوند.



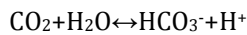
شکل ۵) کیپسول‌های حاوی مواد متفاوت (A) سیلیکاژل، فوم پلی‌پورتان استفاده‌شده برای غیرمتحرک کردن مواد باکتریایی پرکننده ترک

به منظور ارزیابی کارایی و راندمان هر کدام از فرآیندهای بالا، تغییرات استحکام به عنوان پارامتر سنجش در نظر گرفته شد. استحکام نمونه‌ها قبل و بعد از خودترمیمی با هم مقایسه شد. نمودار ۱ نشان می‌دهد که یک تفاوت فاحش در تغییرات استحکام خمشی بین نمونه‌های حاوی اسپور زنده و مرده وجود دارد. در حالی که اگر از اسپور مرده همراه با فوم پلی‌پورتان استفاده شود، بازگشت استحکام خمشی به میزان ۵۰٪ حالت اولیه مشاهده می‌شود، اما اگر از اسپور زنده در همین شرایط استفاده شود، بازگشت استحکامی در حد ۷۶٪ استحکام اولیه به دست می‌آید که این ناشی از رسوب کرینات کلسیم و بنابراین ترمیم ترک‌ها است که موجب افزایش ۳۲٪ در استحکام خمشی می‌شود. این فناوری بسیار برتر از کاربرد باکتری تنها یا ژل است. در صورت استفاده از باکتری بدون تثبیت در ژل سیلیکا، تشکیل رسوب کرینات کلسیم بسیار محدود و اندک بود و در عمل نیز تشکیل رسوب مشاهده نشد. در صورت استفاده از ژل سیلیکا به تنهایی نیز این ژل ترک‌خورده و قابلیت ترمیم مناسب

کلسیت باکتریایی در سطح نمونه ملات که منجر به کاهش جذب آب کاپیلاری و نفوذپذیری نسبت به گاز می‌شود را گزارش نمودند. آنها کار خود را به مطالعه دیگر خواص نفوذپذیری گسترش داده‌اند. حضور زیست‌توده تا حد زیادی به کاهش کلی نفوذپذیری گاز در ملات سیمان کمک می‌کند، که منجر به افزایش مقاومت در جهت کربناتی‌شدن می‌شود. بهبود استحکام کربنات به‌علت لایه ضخیم کربنات (۳۰-۵۰ میکرومتر) است. آنها پیشنهاد کردند که اثر حفاظتی تیمار رسوب زیستی در جهت کربناتی‌شدن می‌تواند با تیمارهای افزودنی با باکتری‌ها و یک منبع کلسیم یا افزایش غلظت یون‌های کلسیم بهبود یابد. دموییک و همکاران مقاومت نمونه‌های تیمار شده با رسوبات زیستی را نسبت به نفوذ کلرید با استفاده از تست تحرک شتاب‌دهنده اندازه‌گیری کردند که تیمار رسوبات زیستی تاثیر معنی‌داری در کاهش ضریب تحرک کلرید (۱۰ تا ۴۰٪) نسبت به نمونه شاهد داشت [20].

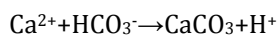
**ترسیب دی‌اکسیدکربن:** سیمان زیستی یک تکنولوژی بالقوه برای ذخیره‌سازی طولانی‌مدت دی‌اکسیدکربن اتمسفری در قالب مواد معدنی کربناتی مانند کلسیت، مگنیت، دولومیت و غیره است [47]. برای تبدیل دی‌اکسیدکربن به کربنات‌ها، مرحله آبیگری دی‌اکسیدکربن محدودکننده سرعت است، که دارای یک ثابت واکنش پیش‌رونده  $2 \times 10^{-7}$  ثانیه در  $25^\circ\text{C}$  است. اما، کاتالیزور زیستی کربنیک‌انهدراز با نقش اصلی خود در کلسیفیکاسیون مهنداران دریایی (نرم‌تنان)، ماهی اتولیت، مرجان‌ها و بافت‌های سخت مهره‌داران توجه محققان را جلب کرده است. این آزمون آبیگری دی‌اکسیدکربن و آبیگری بی‌کربنات را به‌صورت زیر تسریع می‌کند:

(۱۱)



درنهایت رسوب کربنات کلسیم به شکل زیر حاصل می‌شود:

(۱۲)



رسوب کربنات میکروبی از طریق کربنیک‌انهدراز امکان به دام‌انداختن دی‌اکسیدکربن در مخازن کربناته ایمن، پایدار و سازگار با محیط زیست را فراهم کرده و یک روش دائمی برای دفع کردن دی‌اکسیدکربن ارایه نموده است.

### کاربردهای میدانی

تاکنون مطالعه همه‌جانبه‌ای در زمینه سیمانی‌شدن از طریق رسوب میکروبی کلسیت در ایران صورت نگرفته است؛ البته استفاده از رسوب میکروبی کلسیت در مقیاس بزرگ در چندین کشور انجام شده و نتایج خوبی نیز گزارش شده است. از جمله در حفظ آثار باستانی در کلیسای سانتا ماریا دی آتجلی در ایتالیا [48]، کاهش جریان آب زیرزمینی آلوده در سازند دولوستونی با درزهای فراوان در انتاریوی جنوبی در کانادا، به‌منظور ارزیابی توانایی هم‌رسوبی فلزات سنگین (استرونتیوم- ۹۰) با کربنات کلسیم و با راهبرد تحریک زیستی رسوب میکروبی کلسیت در آزمایشگاه ملی ایداهو در آمریکا و به‌دنبال آن در کلرادو آمریکا [49]، همچنین در هلند و اتریش

دوام طولانی‌مدت بتن، مقاومت در برابر نفوذ آب بسیار مهم است و تعیین‌کننده میزان نفوذ مواد خورنده مخرب در بتن است. سیمان زیستی توانایی کاهش قابل توجه نفوذپذیری آب در مواد سیمانی و سایر مصالح ساختمانی را نشان داده است. در سال ۱۹۹۳، کلیسای سنت مدارد در تهوراس با استفاده از کربنات کلسیم با منشا میکروبی بازسازی شد که جذب آب از سنگ پنج مرتبه بدون آن که تاثیری بر زیبایی ظاهر آن داشته باشد، کاهش یافت. دی‌موییک و همکاران کاهش ۶۵ تا ۹۰٪ در جذب آب در نمونه‌های ملات، به‌علت رسوب یک لایه از کلسیت در سطح گزارش نموده‌اند [20]. حضور کریستال‌های کربناتی و زیست‌توده در سطح و همچنین در داخل ماتریس متخلخل بتن منجر به کاهش نفوذپذیری می‌شود.

**یون کلرید:** انتشار یون کلرید در بتن‌های آرماتوربندی‌شده می‌تواند به آرماتور آسیب برساند. خوردگی ناشی از کلرید یکی از مکانیزم‌های عمده موثر بر تخریب بلندمدت سازه‌های ساختمانی است. فولاد تعبیه‌شده در بتن در مقابل خوردگی ذاتاً به‌وسیله سطح غیرفعال فولاد که ناشی از قلیابیت بالای بتن است، محافظت می‌شود. با این حال، قلیابیت بتن می‌تواند به‌علت اثرات زیست‌محیطی خنثی شود. در چنین وضعیتی اگر کلریدها به آرماتور فولادی برسند، خطر خوردگی افزایش می‌یابد. هنگامی که سیمان زیستی منافذ را پر می‌کند، پیشرفت یون‌های کلرید مختل می‌شود. با این حال، نمک کلرید کلسیم که به‌عنوان منبع کلسیم در تولید سیمان زیستی استفاده می‌شود، حاوی یون کلرید است که بایستی تاثیر حضور یون‌های کلرید در خوردگی میله‌های فولادی مورد بررسی قرار گیرد. برای جلوگیری از این معضل برخی از محققان جایگزین‌های کلرید کلسیم به‌عنوان منبع کلسیم را ارزیابی کرده‌اند. علاوه بر این، کلرید کلسیم منجر به تولید حجم انبوهی از آمونیاک می‌شود که خطر خوردگی آرماتور را افزایش می‌دهد. نویلی استفاده از لاکتات کلسیم را که به‌علت تبدیلات متابولیکی حجم زیادی از آمونیاک ایجاد نمی‌کند را پیشنهاد داده است [43]. لاکتات کلسیم توسط باسیلوس کهنی مصرف شده که منجر به تولید مقدار فراوان از رسوب کربنات کلسیم به مقدار ۲۰-۸۰ میکرومتر روی سطوح شکاف‌ها می‌شود [44]. ژو و همکاران توانایی لاکتات کلسیم و گلوتامات کلسیم برای رسوب‌دادن کربنات کلسیم توسط باسیلوس کهنی را مقایسه کردند و مشاهده نمودند که ضخامت لایه رسوب‌یافته توسط گلوتامات کلسیم بیشتر از ضخامت لایه رسوب‌یافته توسط لاکتات کلسیم است [45]. اخیراً، اچل و پان [46] تاثیر منابع مختلف کلسیم، شامل کلرید کلسیم، اکسید کلسیم، استات کلسیم و نیترات کلسیم در رسوب‌دادن کلسیت را بررسی نموده و اوره‌آز تولیدشده توسط جنس باسیلوس را اندازه‌گیری نمودند. میزان CR2 با کلرید کلسیم ۱۴۳۲ واحد بر میلی‌لیتر در مقایسه با ۱۴۱۸ واحد بر میلی‌لیتر در نیترات کلسیم، ۱۴۰۱ واحد بر میلی‌لیتر در استات کلسیم و ۱۳۸۹ واحد بر میلی‌لیتر در اکسید کلسیم بود. آنها به حداکثر عملکرد رسوب کلسیت در کاربرد کلرید کلسیم رسیدند [46]. دموییک و همکاران رسوب یک لایه از



**تشکر و قدردانی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.  
**تاییدیه اخلاقی:** این مقاله توسط همه نویسندگان تایید شده است.  
**تعارض منافع:** نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

**سهم نویسندگان:** سمیه امامی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی (۵۰٪)، حسینعلی علیخانی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۵۰٪)  
**منابع مالی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

#### منابع

- Schneider M, Romer M, Tschudin M, Bolio H. Sustainable cement production - present and future. *Cem Concr Res*. 2011;41(7):642-50.
- Kawadkar KG, Krishnamoorthy S. Behaviour of cement concrete under common salt solution both under hydrostatic and atmospheric pressures. *Cem Concr Res*. 1981;11(1):103-13.
- Zhang M, Chen J, Lv Y, Wang D, Ye J. Study on the expansion of concrete under attack of sulfate and sulfate-chloride ions. *Constr Build Mater*. 2013;39:26-32.
- Idiart AE, López CM, Carol I. Chemo-mechanical analysis of concrete cracking and degradation due to external sulfate attack: A meso-scale model. *Cem Concr Comp*. 2011;33(3):411-23.
- Shang HS, Songa Y. Behavior of air-entrained concrete under the compression with constant confined stress after freeze-thaw cycles. *Cem Concr Comp*. 2008;30(9):854-60.
- Song HW, Saraswathy V. Corrosion monitoring of reinforced concrete structures-a review. *Int J Electrochem Sci*. 2007;2:1-28.
- Wang Y, Yu G, Deng M, Tang M, Lu D. The use of thermodynamic analysis in assessing alkali contribution by alkaline minerals in concrete. *Cem Concr Comp*. 2008;30(4):353-9.
- Talukdar S, Banthia N, Grace JR. Carbonation in concrete infrastructure in the context of global climate change - Part 1: Experimental results and model development. *Cem Concr Comp*. 2012;34(8):924-30.
- Sunil Pratap Reddy S. A study on the performance of the bacterial concrete embeded with bacillis subtilis [Dissertation]. Kukatpally, Hyderabad, India: Jawaher lal Nehru Technology University; 2010.
- Aggelis DG, Shiotani T. Repair evaluation of concrete cracks using surface and through transmission wave measurements. *Cem Concr Comp*. 2007;29(9):700-11.
- Aggelis DG, Hadjiyiangu S, Chaic HK, Momokic S, Shiotanid T. Longitudinal waves for evaluation of large concrete blocks after repair. *NDT E Int*. 2011;44(1):61-6.
- Chen PY, McKittrick J, Meyers MA. Biological materials: functional adaptations and bio inspired designs. *Prog Mater Sci*. 2012;57(8):1492-704.
- Rong H, Qian CX. Characterization of microbe cementitious materials. *Chin Sci Bull*. 2012;57(11):1333-8.
- Achal V, Pan X, Zhang D, Fu Q. Bioremediation of Pb-contaminated soil based on microbially induced calcite precipitation. *J Microbiol Biotechnol*. 2012;22(2):244-7.
- Whiffin VS, Van Paassen LA, Harkes MP. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiol J*. 2007;24(5):417-23.
- Rodriguez-Navarro C, Rodriguez-Gallego M, Ben

به‌منظور انسداد زیستی و کاهش تراوش آب از سازه نگهدارنده آب [50] از رسوب میکروبی کلسیت استفاده شده است.

#### چالش‌های پیشرو

فناوری تولید سیمان زیستی دارای پتانسیل زیادی برای بهبود کیفیت مصالح ساختمانی است. با این حال، تا زمانی که برنامه‌های کاربردی در مقیاس صنعتی شروع نشود تاثیرات کامل تکنولوژی نمی‌تواند ارزیابی شود. بزرگ‌ترین چالش تمایل کمتر جامعه مهندسی برای استفاده از فرآیندهای بیولوژیکی به علت تصور اشتباه خطرناک بودن تمام باکتری‌ها برای سلامتی است. بنابراین، مقاومت اصلی، بحث روانی است. در این رابطه تعلیم‌دادن جامعه مهندسی در مورد بیماری‌زایی میکروب‌ها بسیار سودمند است. علاوه بر این، محصولات و عملکرد سیمان زیستی می‌تواند به‌طور گسترده‌ای با توجه به تغییرات جغرافیایی و زیست‌محیطی متغیر باشد. بنابراین، نیاز است که فرآیند تولید سیمان زیستی متناسب با شرایط محلی باشد. برخی نگرانی‌ها نیز در مورد بقای باکتری‌ها در محیط با pH بالا وجود دارد که در این ارتباط نیز برخی سویه‌های باکتری مقاوم به pH‌های بالا جدا شده است. همچنین تکنیک کپسول‌دار شدن باکتری هم امیدبخش است. علاوه بر این جامعه مهندسی ممکن است نگرانی‌هایی در مورد استفاده از کلرید کلسیم در تولید سیمان زیستی داشته باشند. چند پیشنهاد در رابطه با کلرید کلسیم گزارش شده است. با این حال، هنوز هم ممکن است با توجه به بحث هزینه‌ها استفاده از کلرید کلسیم ضروری باشد. استفاده از سویه‌های بومی در محیط طبیعی به دلیل سازگاری سویه‌ها با شرایط محیطی می‌تواند تولید سیمان زیستی را افزایش دهد. از این رو ارزیابی پتانسیل کاربردی باکتری‌های بومی تولیدکننده سیمان زیستی برای افزایش مقاومت و طول عمر سازه‌ها و همچنین ترمیم آثار باستانی پیشنهاد می‌شود.

#### نتیجه‌گیری

این مقاله، استفاده از سیمان زیستی را برای ساخت مصالح ساختمانی بررسی می‌کند. در این تحقیقات تعداد زیادی باکتری‌های مفید و مقاوم به محیط قلیایی بتن شناسایی و مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند که از این میان سویه‌های باسیلوس از ارزش و اهمیت بالاتری برخوردار هستند. عمده‌ترین مشکل در زمینه کاربرد باکتری برای حفاظت بتن مرتبط با نگهداری باکتری در قلیای بتن است که در این بین استفاده از میکروکپسول‌های حاوی باکتری که حاوی اسپورها و ترکیبات مغذی برای فعالیت مجدد باکتری است، اهمیت بیشتری دارد. سیمان زیستی دارای پتانسیل زیادی به‌عنوان یک تکنولوژی است که شامل استفاده با صرفه از انرژی، ترسیب دی‌اکسید کربن و پتانسیل بازیافتی است. با این حال، این تحقیقات ابتدایی بوده و برنامه‌ریزی به‌منظور محاسبه هزینه‌ها و سودمندی آن در مرحله ساخت و ساز نیاز به تحقیقات بیشتر دارد و برای رسیدن به مقیاس صنعتی از مقیاس تکنولوژی نیاز به روش‌های استاندارد است.

- 34- De Muynck W, Debrouwer D, De Belie N, Verstraete W. Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials. *Cem Concr Res*. 2008;38(7):1005-14.
- 35- Gauri KL, Bandyopadhyay JK. Carbonate stone: chemical behaviour, durability, and conservation. New York: Wiley; 1999.
- 36- Webster A, May E. Bioremediation of weathered-building stone surfaces. *Trends Biotechnol*. 2006;24(6):255-60.
- 37- Wang JY, Van Tittelboom K, De Belie N, Verstraete W. Use of silica gel or polyurethane immobilized bacteria for self-healing concrete. *Constr Build Mater*. 2012;26(1):532-40.
- 38- Van Tittelboom K, De Muynck W, De Belie N, Verstraete W. Bacteria protect and heal concrete and stone. *WTA Schriftenreihe*. 2009;33:439-57.
- 39- Ramakrishnan V, Deo KS, Duke EF, Bang SS. SEM investigation of microbial calcite precipitation in cement. In: *Proc 21st International Conference on Cement Microscopy*. Las Vegas, NV; 1999. 406-14.
- 40- Ghosh P, Mandal S, Chattopadhyay BD, Pal S. Use of microorganism to improve the strength of cement mortar. *Cem Concr Res*. 2005;35(10):1980-3.
- 41- Jonkers HM, Schlangen E. Crack repair by concrete immobilized bacteria. In: Schmetz AJM, van der Zwaag S, editors. *Proceedings of the First International Conference on Self Healing Materials*; 2007 Apr 18-20; Delft University of Technology. Noordwijk Aan Zee, Netherlands. Berlin: Springer; 2007. p. 1-7.
- 42- Jonkers HM, Schlangen E. Development of a bacteria-based self-healing concrete. In: Walraven JC, Stoelhorst D, editors. *Tailor made concrete structures*. London: CRC Press; 2008. p. 425-30.
- 43- Neville AM. *Properties of concrete*. 4<sup>th</sup> Edition. New York: John Wiley & Sons; 1996.
- 44- Jonkers HM, Thijssen A, Muyzer G, Copuroglu O, Schlangen E. Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. *Ecol Eng*. 2010;36(2):230-5.
- 45- Xu J, Yao W, Jiang Z. Non-ureolytic bacterial carbonate precipitation as a surface treatment strategy on cementitious materials. *J Mater Civil Eng*. 2014;26(5):983-91.
- 46- Achal V, Pan X. Influence of calcium sources on microbially induced calcium carbonate precipitation by *Bacillus* sp. CR2. *Appl Biochem Biotechnol*. 2014;174(1):307-17.
- 47- Seifritz W. CO<sub>2</sub> disposal by means of silicates. *Nature*. 1990;345-486.
- 48- Perito B, Marvasi M, Barabesi C, Mastromei G, Bracci S, Vendrell M, Tiano P. A *Bacillus subtilis* cell fraction (BCF) inducing calcium carbonate precipitation: biotechnological perspectives for monumental stone reinforcement. *J Cult Heritage*. 2014;15(4):345-51.
- 49- Van Paassen LA. Bio-mediated ground improvement: from laboratory experiment to pilot applications. In: Han J, Alzamora DA, editors. *Proceeding of Geo-Frontiers; Advances in Geotechnical Engineering*; 2011 May 13- Nov 16; Dallas, USA-Reston. Reston: American Society of Civil Engineers (ASCE); 2011. p. 4099-108.
- 50- Blauw AN, Los FJ, Huisman J, Peperzak L. Nuisance foam events and Phaeocystis globosa blooms in Dutch coastal waters analyzed with fuzzy logic. *J Mar Syst*. 2010;83(3-4):115-26.
- Chekroun K, Gonzalez- Muñoz MT. Conservation of ornamental stone by *Myxococcus xanthus* induced carbonate biomineralization. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69(4):2182-93.
- 17- Hammes F, Boon N, Clement G, de Villiers J, Siciliano SD, Verstraete W. Molecular biochemical and ecological characterisation of a bio-catalytic calcification reactor. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2003;62(2-3):191-201.
- 18- Achal V, Mukherjee A, Basu PC, Reddy MS. Strain improvement of *Sporosarcina pasteurii* for enhanced urease and calcite production. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2009;36(7):981-8.
- 19- Ramachandran SK, Ramakrishnan V, Bang SS. Remediation of concrete using microorganisms. *ACI Mater J*. 2001;98(1):3-9.
- 20- De Muynck W, Cox K, De Belie N, Verstraete W. Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete. *Constr Build Mater*. 2008;22(5):875-85.
- 21- Burne RA, Chen YY. Bacterial ureases in infectitious diseases. *Microbes Infect*. 2000;2(5):533-42.
- 22- Mujah D, Shahin MA, Cheng L. State-of-the-art review of biocementation by microbially induced calcite precipitation (MICP) for soil stabilization. *Geomicrobiol J*. 2017;34(6): 524-37.
- 23- Knoll AH. Biomineralization and evolutionary history. *Rev Mineral Geochem*. 2003;54(1):329-56.
- 24- Mobley HL, Hausinger RP. Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiol Rev*. 1989;53(1):85-108.
- 25- Joshi S, Goyal S, Mukherjee A, Reddy MS. Microbial healing of cracks in concrete: a review. *J Ind Microbiol Biotech*. 2017;44(11):1511-25.
- 26- Cheng L, Cord-Ruwisch R, Shahin MA. Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation. *Can Geotech J*. 2013;50(1):81-90.
- 27- Mukherjee A, Dhami NK, Reddy BVV, Reddy MS. Bacterial calcification for enhancing performance of low embodied energy soil-cement bricks. In: *Third International Conference on Sustainable Construction Materials and Technologies (SCMT3)*; 2013 Aug 18-21; Kyoto Research Park, Kyoto, Japan.
- 28- Tiano P, Biagiotti L, Mastromei G. Bacterial bio-mediated calcite precipitation for monumental stones conservation: methods of evaluation. *J Microbiol Methods*. 1999;36(1-2):139-45.
- 29- Tobler DJ, Maclachlan E, Phoenix VR. Microbially mediated plugging of porous media and the impact of differing injection strategies. *Ecol Eng*. 2012;42:270-8.
- 30- Achal V, Mukherjee A, Reddy MS. Effect of calcifying bacteria on permeation properties of concrete structures. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2011;38(9):1229-34.
- 31- Phillips AJ, Lauchnor E, Eldring J, Esposito R, Mitchell AC, Gerlach R, et al. Potential CO<sub>2</sub> leakage reduction through biofilm-induced calcium carbonate precipitation. *Environ Sci Technol*. 2013;47(1):142-9.
- 32- Dick J, De Windt W, De Graef B, Saveyn H, Van der Meeren P, De Belie N, et al. Bio-deposition of a calcium carbonate layer on degraded limestone by *Bacillus* species. *Biodegradation*. 2006;17(4):357-67.
- 33- De Muynck W, Verbeken K, De Belie N, Verstraete W. Influence of urea and calcium dosage on the effectiveness of bacterially induced carbonate precipitation on limestone. *Ecol Eng*. 2009;36(2):99-111.