# استخدام البكتريا المكونة للسبورات لإنتاج مواد لها القابلية على إصلاح الكونكريت المتأثر بالظروف البيئية

أمل عبد النبي حالوب، سعد حسين خضير ، سهير كاظم عبد*، أمينة غازي عبد، رنا فوزي توفيق،هشام كاظم عودة، سناء خواش مايد

وزارة العلوم والتكنولوجيا
*وزارة الأعمار والإسكان

# Use of spores forming bacteria to produce material that have ability to repair cracked concrete effected by environmental conditions

Amal A.Halob, Saad H.Khudhair, Suhair K.Abid*, Ameena G .Abid, Rana F.Twafeeq, Hisham k. Auda , Saana K.Maid

Ministry of Science of Technology
*Ministry of Construction and Housing

## Abstract

The aim of project to develop and test specific types of self –healing concrete, these achieved by isolated specific local types of bacteria, and test its ability to repair cracks which found in concrete according to bacterial ability to enhance metabolism for precipitate calcium carbonate and repair the concrete cracks. We obtained four local alkalophilc spore forming isolated bacteria. Self healing ability was tested for isolates , Results show increase in compressive strength values for treated cement sample with AC1 isolate in comparison with other isolates and control .The treated sample with AC1 isolate was increase 9.2% if compared with reference cement mortar ,also we examined the treated cement samples with ESEM (environmental scanning electron microscope).Results indicated that the AC1 isolate showed high variation in comparison with control and other isolates, that the pores and internal space became very few ,also the surfaces were smooth .The isolates were identified and diagnosed as *Bacillus subtilis* .

**Key words: Bacteria, self healing, concrete.**

**المستخلص**

يهدف البحث إلى تطوير واختبار أنواع مختلفة من الكونكريت القابل للتصليح ذاتيا من خلال إمكانية عزل أنواع مختلفة من العزلات البكتيرية المحلية واختبار قابليتها على إصلاح التشققات الحاصلة في الكونكريت واعتمادا على قابلية العزلات البكتيرية على تحفيز العمليات الأيضية لترسيب مادة كربونات الكالسيوم وبالتالي إصلاح الضرر الحاصل حيث تم عزل أنواع بكتيرية محبة للقاعدية ومكونة للسبورات و تم الحصول على أربعة

عزلات محلية بعدها أجريت غربلة لاختبار قدرة العزلات على معالجة التشققات وأظهرت النتائج إن العزلة AC1 أبدت ارتفاع في قيمة قابلية الانضغاط وهي بنسبة زيادة مقدارها 9.2% عن الخليط الأسمنتي لنموذج السيطرة (control).أيضا تم أجراء فحوصات لشرائح من الاسمنت المعالج باستخدام جهازESEM (مجهر المسح الالكتروني البيئي)وأظهرت النتائج تغايرا كبيرا للنموذج المعالج مع نموذج السيطرة(control ) وبقية العزلات حيث انخفضت إلى حد كبير المسامات والمسافات البينية وظهور السطوح الصقيلة.شخصت العزلة المحلية المنتخبة وكانت *Bacillus subtilis*.

**الكلمات المفتاحية :البكتريا ,التصليح الذاتي ,الكونكريت**

## المقدمة

تتأثر متانة الكونكريت بشكل مباشر بالتشققات و تحدث بسبب العديد من العوامل البيئية والمؤثرات الميكانيكية كالضغط والانكماش وغيرها من العوامل بحيث تسمح هذه التشققات بدخول الماء والمواد الأخرى الى داخل تركيب الكونكريت مما يؤدي إلى حدوث تآكل غير مرغوب به وتغيير مواصفات الكونكريت المطلوب وعليه فأن إصلاح هذا الخلل يكلف الكثير من الوقت والجهد والكلفة وما يرافق ذلك من عمليات تؤثر على المنشآت التي تحدث فيها هذه الأضرار , علاوة على استهلاك كميات من مادة الاسمنت وما يرافق ذلك من انبعاثات الغازات السامة لتلك الصناعة ( 1) ,لذلك فقد تم اللجوء إلى تطوير طرق بيولوجية يتم من خلال إضافة أنواع محددة من البكتريا ذات مواصفات خاصة والتي تكون متحملة للظروف القاسية ,حيث إن الاسمنت يمتاز بالأس الهيدروجيني العالي والجفاف وانعدام المواد المغذية لذلك فأن البكتريا العادية لا تنمو فيه بل تنمو البكتريا المتحملة للظروف القاسية Extremophilic bacteria والتي تعمل بدورها على بدء عمليات ايضية معقدة تؤدي إلى إصلاح الشقوق والتصدعات في تركيب الكونكريت وبدون عمليات مكلفة. هذه التقنية تعتبر صديقة للبيئة وتدعى التكلس الحيوي Biocalcification حيث تم ملاحظة القليل من الأحياء المجهرية لها القابلية على ترسيب كربونات الكالسيوم وهذا يحدث في حالة نمو البكتريا في وسط ملائم مدعم بالكالسيوم . إن وجود مادة لاكتات الكالسيوم في مزيج الاسمنت والعالق السبوري للعزلات البكتيرية يشجع على إنتاج كربونات الكالسيوم وإضافتها بشكل طبقات ودورها في تقليل النفاذية والمسامية بين دقائق الاسمنت(2). إن ميكانيكية الإصلاح الذاتي للتشققات الحادثة في الكونكريت الناتجة عن إضافة عزلات بكتيرية تعتمد على التحويل الايضي لمواد بسيطة حاوية على الكالسيوم إلى مادة كربونات الكالسيوم .إن وجود السبورات في مزيج الكونكريت يحفز إصلاح أي تشقق يحدث مستقبلا ,وذلك لان هذه السبورات تتحفز وتنمو بوجود الماء والتهوية القليلة المتوفرة في الشق مكونة طبقات من كربونات الكالسيوم(3). يعود تاريخ أنتاج الاسمنت البورتلاندي إلى عام 1840 م , وان

أول من استخدم البكتريا في معالجة تشققات الاسمنت هو العالم Gollapuid وآخرون 1995م, وفي عام 2001 م قام العالم Bang وآخرون باستخدام البكتريا المقيدة في مادة polyurethane للغرض ذاته ,وفي عام 2004م قام العالم Bottcher وآخرون باستخدام مادة Silica gel كأحد طرق تقييد البكتريا لمعالجة تشققات الاسمنت ,وفي عام 2007م استخدم العالم Jonker وآخرون السبورات للغرض ذاته .تعتبر طريقة تقييد سبورات البكتريا من الطرق المهمة والفعالة وفيها يتم تقييد السبورات بدقائق الاسمنت وبوجود مواد مدعمة مثل لاكتات الكالسيوم حيث أجريت العديد من الدراسات لعزل أحياء مجهرية ذات قابلية على معالجة التشققات ومنها *Bacillus pasteurii*, *Bacillus flexus* , *Bacillus sphaericus* ,وأنواع تابعة لجنس *Pseudomonas* و *Shewanella*(4 ) .

## المواد وطرائق العمل

### 1-عزل الإحياء المجهرية

استخدمت نماذج من ترب محلية جمعت من منطقة الجادرية في مدينة بغداد وبواقع 100 غم/ نموذج في شهر تشرين الاول من عام 2013 لعزل الأحياء المجهرية المكونة للسبورات والمحبة

للقاعدية والتي لها القابلية على إصلاح التشققات,حيث استخدم 0.1 مل من عالق التربة لتلقيح 50 مل من وسط الأملاح المعدنية المتكون من غم/لتر ($NH_4Cl$ 0.2 و$KH_2PO_4$ 0.02 و $CaCl_2$ 0.225 , KCl 0.2 و $6H_2O$ 0.2$MgCl_2$ و Yeast extract 0.1 ) وذا الاس الهيدروجيني 9 , حضنت الدوارق بالحاضن الهزاز بسرعة 150دورة \دقيقة وبدرجة حرارة 45 م لمدة 5 أيام. أستخدم 0.5 مللتر من المزرعة السائلة لتلقيح وسط الأملاح الصلب للحصول على عزلات بكتيرية نقية ولتعزيز تكوين السبورات استخدم نفس الوسط السابق والمدعم بواسطة 50mM $NaHCO_3$ و 50 mM $NaCO_3$ و 50 mM $NaHCO_3$ و 20mM Sodium citrate (3).

2-تحضير العالق السبوري

تم أخذ 250 مل الزرع البكتيري السائل لكل عزلة منتخبة ثم رسبت باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 10000 دورة / دقيقة لمدة 20 دقيقة .أخذ الراسب وعلق بالماء المعقم وعمل له طرد مركزي مرة أخرى ثم علق الراسب ب20 مل من ماء الحنفية المعقم لاستخدامه في تحضير خليط الاسمنت واختبار قابليتها في معالجة التشققات.

3- تحضير الخلطات الأسمنتية

تم تحضير قوالب لخليط إسمنتي بأبعاد (5×5×5) سم, بإضافة 100غم من الماء إلى 200 غم من الاسمنت بنسبة (2:1) ,تم تحضير6 قوالب من الخليط الأسمنتي شكل رقم (1) , وكما مبين ادناه :

**الشكل (1): يبين نماذج قوالب الخلطات الاسمنتية بدون ومع المضافات البكتيرية**

A: خليط أسمنتي نموذج السيطرة، B: قالب خليط أسمنتي وبإضافة 0.5 %من مادة لاكتات الكالسيوم (Calcium lactate)، C: قالب خليط أسمنتي وبإضافة 0.5 %من مادة لاكتات الكالسيوم و0.1 مل من العالق السبوري للعزلة البكتيرية AC1 ، D: قالب خليط أسمنتي وبإضافة 0.5 %من مادة لاكتات الكالسيوم و0.1 مل من العالق السبوري للعزلة البكتيرية AC2، E: قالب خليط أسمنتي وبإضافة 0.5% من مادة لاكتات الكالسيوم و 0.1 مل من العالق السبوري للعزلة البكتيرية AC3، F: قالب خليط أسمنتي وبإضافة 0.5% من مادة لاكتات الكالسيوم و0.1 مل من العالق السبوري للعزلة البكتيرية AC4.

حضنت النماذج لمدة 7 أيام في وعاء زجاجي مغلق بأحكام بعد ذلك عملت شرائح بسمك 1 سم وفحصت بواسطة مجهر المسح الالكتروني البيئي Environmental scanning ) ESEM electron microscope ). كما واستخدمت نفس مواصفات قوالب الخليط السابق لإجراء فحص مقاومة الانضغاط (Compressive strength) . (5)

## النتائج والمناقشة

1-عزل الاحياء المجهرية

عزلت 4 عزلات بكتيرية من نماذج التربة المحلية ,و نميت على وسط الاختبار الصلب ,تم عمل عالق سبوري لكل من السلالات البكتيرية , بعدها أجريت عملية المعالجة البيولوجية للنماذج المحضرة.

2 - فحص مقاومة الانضغاط:

أظهرت النتائج إن النموذج المعامل بالعزلة AC1 أظهر ارتفاعا ملحوظا في مقاومة الانضغاط مقارنة مع النماذج الأخرى جدول (1) . وفي دراسة تم اختبار كفاءة ثلاث عزلات على مقاومة الانضغاط ،بينت النتائج إن العزلة *Bacillus subtilis* أعطت أفضل النتائج في مقاومة الانضغاط (6), وفي دراسة أخرى (7) تم اختبار أنواع مختلفة من جنس بكتريا *Bacillus* وأظهرت النتائج إن النوع *Bacillus subtilis* أعطى الفعالية الأفضل على مقاومة الانضغاط.

3-الفحص بمجهر المسح الالكتروني البيئي( ESEM )

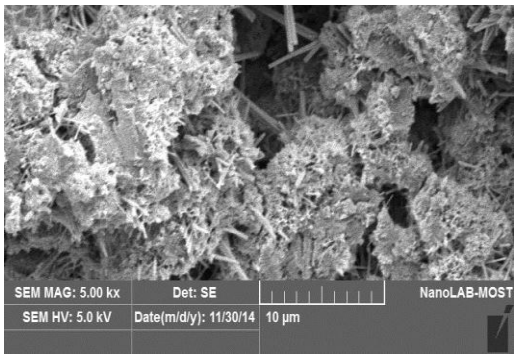
فحصت ست شرائح من نماذج الأسمنت آنف الذكر في وزارة العلوم والتكنولوجيا /دائرة بحوث المواد /مركز المواد المتقدمة , أظهر الفحص ايجابية المعالجة الذاتية الكامنة للبكتريا المقيدة للعزلة AC1 في دقائق الأسمنت حيث أظهر نموذج (السيطرة) وجود مسافات بينية وفتحات كما مبين في الشكل (2A) ,وهذا هو بنية الخليط الاسمنتي (2) بينما أظهر النموذج B زيادة في خيوط الاترنكايت ettringite ويعزى ذلك إلى وجود مادة لاكتات الكالسيوم التي تعمل على تشجيع تكوين خيوط الاترنكايت وعدم أضافة أي نوع من العزلات البكتيرية الشكل (2B ) وهذا يتطابق مع (7) أما النموذج C فقد لوحظ فيه اختفاء خيوط الاترنكايت وقلة المسافات البينية واضمحلال الثقوب Pores ضمن بنية الخليط الأسمنتي وظهور سطوح صقيلة وهذا يعزى إلى إضافة العزلة البكتيريةAC1 التي تمتلك قابلية كامنة في التصليح الذاتي لنموذج الأسمنت حيث تقوم من خلال الايض الحيوي إلى اضافة طبقات من كاربونات الكالسيوم الحيوي تعمل على تقليص المسافات البينية وملأ الفتحات وبالتالي ظهور السطوح الصقيلة( الشكل 2C) وهذا يتطابق مع (6), أما النماذج D,E,F فلم تظهر تغييرات فعلية بسبب عدم امتلاك العزلات AC2,AC3,AC4 لقابلية الإصلاح الذاتي لنماذج الأسمنت قيد الدراسة مقارنة مع نموذج AC1 حيث كانت النتائج مشابهة لنموذج السيطرة control وكما موضح في الأشكال (2D,2E ,2F) على التوالي.

**جدول (1): قيم مقاومة الانضغاط لنماذج من الاسمنت**

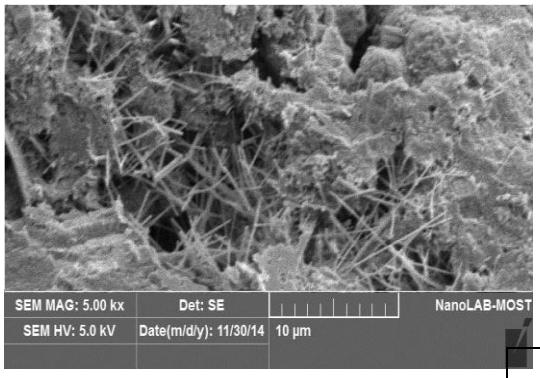
4-تشخيص العزلة الأكفأ في المعالجة

| ت | رمز النموذج ومكوناته | قيمة مقاومة الانضغاط $N\mm^2$ (نيوتن/ملم$^2$) |
|---|---|---|
| 1 | A (خليط أسمنتي نموذج السيطرة)control | 28.2 |
| 2 | B (خليط أسمنتي ومادة لاكتات الكالسيوم ) | 25.6 |
| 3 | C(خليط أسمنتي ومادة لاكتات الكالسيوم وعالق بكتيري للعزلة AC1) | 30.8 |
| 4 | D (خليط أسمنتي ومادة لاكتات الكالسيوم وعالق بكتيري للعزلة AC2) | 28.0 |
| 5 | E (خليط أسمنتي ومادة لاكتات الكالسيوم وعالق بكتيري للعزلة AC3) | 27.9 |
| 6 | F ( خليط أسمنتي ومادة لاكتات الكالسيوم وعالق بكتيري للعزلة AC4) | 27.8 |

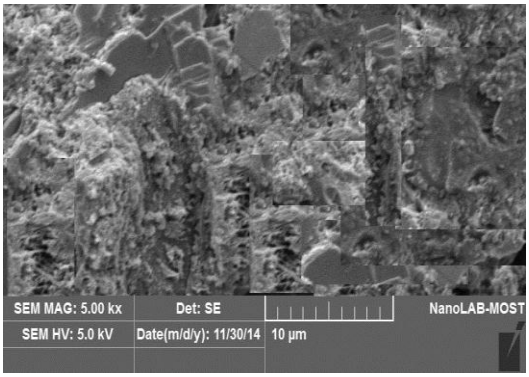
شخصت العزلة المحلية الأنشط وذات القابلية على التصليح الذاتي لنماذج من قوالب أسمنتية في مختبرات قسم التقنيات الإحيائية في مركز معالجة الملوثات وعلى أساس الصفات المظهرية باستخدام المجهر الضوئي والفحوصات الكيموحيوية , واعتمادا على الطرق الخاصة بالتشخيص, وشخصت بأنها تعود إلى بكتريا *Bacillus subtilis* (*8*).



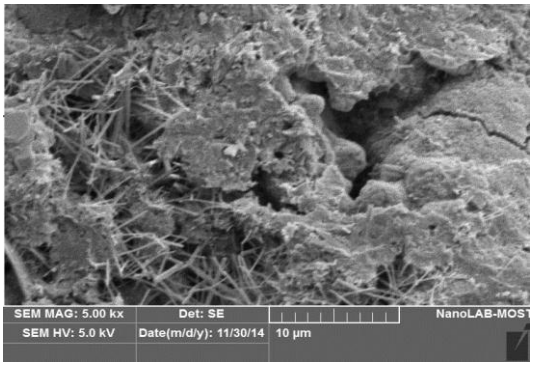

**الشكل (2A): شريحة من نموذج الخليط الأسمنتي ( نموذج السيطرةcontrol ) ويلاحظ فيها وجود الفراغات والمسافات البينية وظهور خيوط الاترنكايت.**



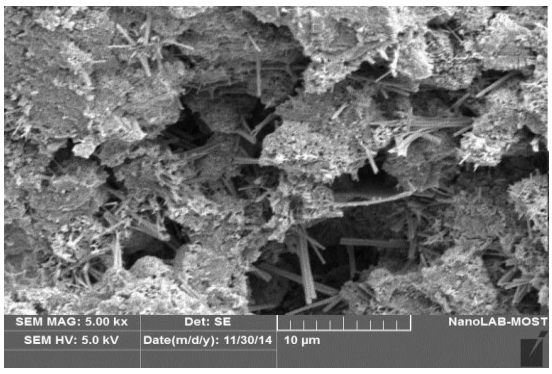

**الشكل (2B) : شريحة من نموذج الخليط الأسمنتي المدعم بمادة لاكتات الكالسيوم ويلاحظ ازدياد خيوط الاترنكايت.**



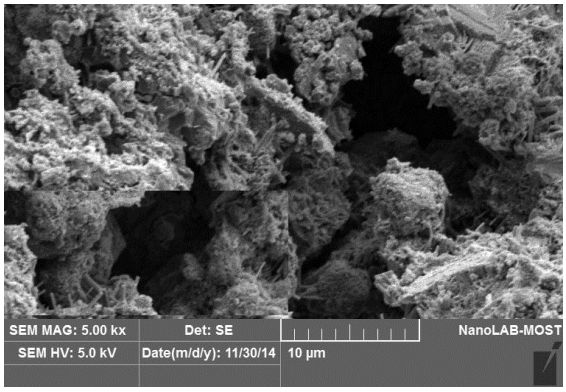

**الشكل( 2C): شريحة من نموذج الخليط الاسمنتي المدعم بمادة لاكتات الكالسيوم والمعامل بالعزلة البكتيرية AC1.**




**الشكل( 2D): شريحة من نموذج الخليط الاسمنتي المدعم بمادة لاكتات الكالسيوم والمعامل بالعزلة البكتيرية AC2**




**الشكل( 2E): شريحة من نموذج الخليط الاسمنتي المدعم بمادة لاكتات الكالسيوم والمعامل بالعزلة البكتيرية** AC3




**الشكل( 2F): شريحة من نموذج الخليط الاسمنتي المدعم بمادة لاكتات الكالسيوم والمعامل بالعزلة البكتيرية AC4**

## References

**1-Jonkers, H. E. and Schlangen E.(2007)**.Crack repair by concrete – immobilized bacteria .Proceeding of the first international conference on self healing materials.18-20 April 2007 Noordwijk aan Zee,The Netherlands:1-7

**2-Rao, M.V.S, Reddy,V.S , Hafsa,M. Veena,P. and Anusha,P. (2013).** Bioengineered concrete-A Sustainable Self-Healing Construction Material Research Journal of Engineering Sciences. 2(6): 45-51.

**3-Ghosh,P. and Mandal,S. (2006).**Development of bioconcrete material using an enrichment culture of novel thermophilic anaerobic bacteria.Indian Journal of Experimental Biology. 44:336-339

**4- Patel, P.R and Patel ,S.K.(2011)** Microbial concrete: pioneering work on repairing concrete International journal of harmaceutical science and research. (IJPSR) 2 (4): 825-828

**5- Jonkers H. E. and Schlangen E.(2008)**.Development of bacteria-based self healing concrete. In: Walraven and Srtoethorst(eds). Tailor Made Concrete Structcure.pp:425-430 Taylor&Francis Group,London.

**6- Vempada S.R. ,Reddy P.S.S, Rao M.V. S and Sasikala Ch. ( 2011)**.Strength enhancement of cement mortar using microorganisms– an experimental study. International journal of earth sciences and engineering 4(6): 933-936

**7-Kumar, J. , Prabhakara, R . and Pushpa, H. (2013)** .Effect of bacterial calcite precipitation on compressive strength of mortar cubes .International journal of engineering and advanced technology (IJEAT) .2 (3):230-235

**8- Sneath P.H.A.(1986)** ,Endospore - forming positive Rods&Cocci .In :Bergys Manual Of Systematic Bacteriology .Eds;Sneath P.H.A;Mair N .S ;Sharpe M. E, and Holt J.G. William &Wilkins 2 :1104-1123