مهندسی عمران شریف (زمستان ۱۴۰۰)
دوره‌ی ۲ - ۳۷، شماره‌ی ۴/۱، ص. ۱۲۱-۱۳۳، (مروری)

Review Article

مروری بر پتانسیل استفاده از رسوب‌های باکتریایی در خودترمیمی، بهبود دوام و خواص بتن

پریا دیناروند (دانشجوی کارشناسی ارشد)
علیرضا رشنو* (استادیار)
دانشکده‌ی مهندسی عمران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد

بتن به‌دلایل مختلفی مستعد ترک‌خوردگی است و رویکردهای خودترمیمی در بتن، راهکاری مناسب برای رفع آن به‌نظر می‌رسند. در میان روش‌های مختلف خودترمیمی که اساس شیمیایی دارند، رسوب کلسیم‌کربنات ناشی از فعالیت متابولیک میکروارگانیسم‌ها، رویکردی دوست‌دار محیط‌زیست است. در نوشتار حاضر، با هدف ایجاد بینشی مؤثر و در راستای حفظ محیط‌زیست، به ارزیابی رویکردهای مختلف استفاده از باکتری در بتن، پتانسیل باکتری برای ترمیم ترک‌ها و تأثیر باکتری‌های مختلف در ویژگی‌های مهندسی بتن پرداخته شده است. تصاویر به دست آمده از ریزساختار بتن، نشان‌دهنده‌ی تشکیل بلورهای کلسیم‌کربنات در نمونه‌ها و تأییدی بر عملکرد امیدبخش باکتری در کاهش خلل‌وفرج، ترمیم ترک‌ها و بهبود خواص مهندسی بتن است. مشارکت باکتریایی در غلظت‌های ($10^5 - 10^7$ Cells/ml) منجر به افزایش مقاومت فشاری تا ۴۹٪ و کاهش نفوذ یون کلر و جذب آب به ترتیب تا ۶۹ و ۹۴ درصد شده است. همچنین در غلظت‌های ($10^7 - 10^9$ Cells/ml)، بیشینه‌ی عرض ترمیم ترک ۱٫۲mm بوده است.

واژگان کلیدی: خودترمیمی، رسوب کلسیم کربنات، باکتری، بهبود دوام، ترمیم ترک.

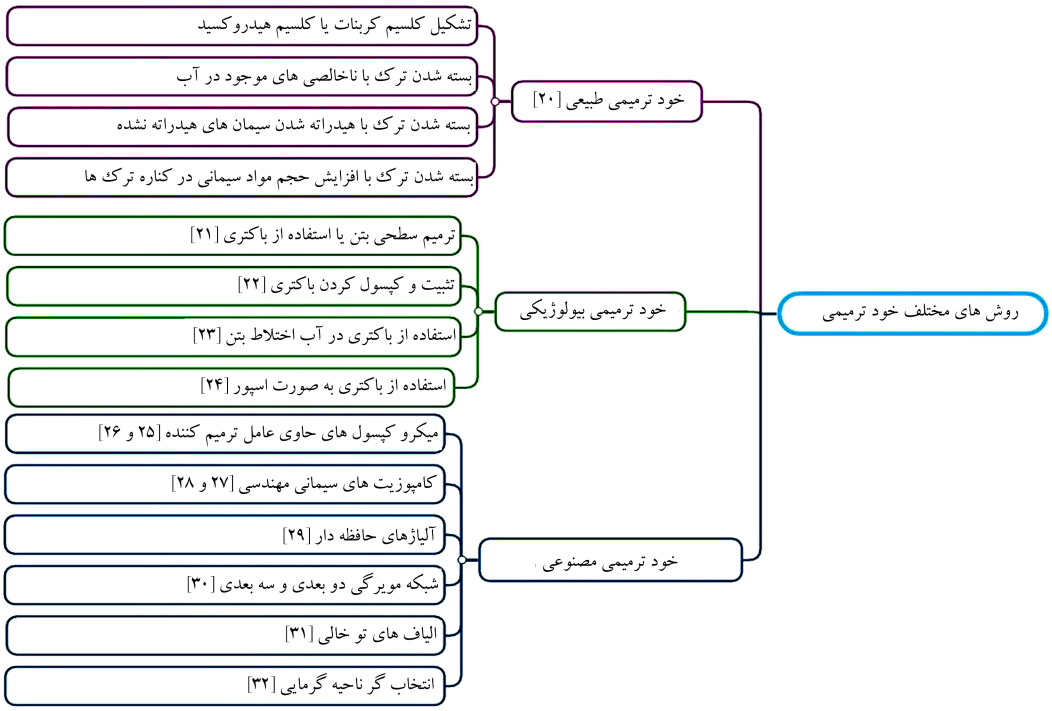
dinarvandparya@gmail.com
al.rashno@iaub.ac.ir

۱. مقدمه

امروزه با پیشرفت روزافزون تکنولوژی، بتن به‌عنوان یکی از پرکاربردترین مصالح برای ساخت‌وساز توجه پژوهش‌گران را به‌خود جلب کرده است. در دسترس بودن مصالح تشکیل‌دهنده، شکل‌پذیری بالا، مقاومت بالا در برابر بارهای استاتیکی، دینامیکی و آتش‌سوزی از جمله فواید سودمندی است که باعث تثبیت موقعیت بتن شده است. با وجود این، عوامل مؤثری، مانند: بارهای خارجی، تغییرات دما، نشست تکیه‌گاهی و انقباض ممکن است منجر به ایجاد تنش‌های بزرگی درون بتن شوند، که نتیجه‌ی آن تشکیل ترک در بتن است.[۱] تشکیل ترک از معایب اجتناب‌ناپذیر بتن است. با توسعه و به‌هم پیوستن ترک‌های کوچک، یک شبکه‌ی پیوسته از ترک درون بتن شکل می‌گیرد.[۲] ترک‌ها نفوذپذیری را افزایش می‌دهند و مقاومت بتن را در برابر رطوبت و عناصر مهاجم، از جمله: یون‌های کلراید، سولفات و اسیدها کاهش می‌دهند. این عوامل دوام سازه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و موجب خوردگی آرماتورها و تخریب ماتریس بتن می‌شود.[۳] بنابراین بهبود دوام بتن، اهمیت زیادی دارد. برای افزایش عمر خدمت‌رسانی سازه‌های بتنی، روش‌های مختلف تعمیر و ترمیم ترک‌ها توسط پژوهش‌گران بسیاری توسعه داده شده‌اند، که به‌طور عمده سه مرحله‌ی نظارت، شناسایی و ترمیم را دنبال می‌کنند. روش‌های مذکور برای ترمیم شکاف‌های بزرگ قابل اجرا هستند و ممکن است به‌دلیل محدود بودن عمق نفوذ عامل ترمیم‌کننده، ترک‌های عمیق ترمیم نشوند. همچنین ترمیم ترک‌ها و کاهش خلل‌وفرج با روش‌های رایج سنتی، هزینه‌ی عملیاتی بسیار بالایی دارد.[۴] با توجه به مطالب بیان شده، اهمیت ترمیم به‌موقع سازه‌های بتنی مشخص است. روش‌های ترمیم عمومی اغلب مستلزم بازرسی و نگهداری دوره‌یی و مداوم، به‌ویژه در مورد سازه‌های بتنی زیرزمینی، سازه‌های بزرگ، و زیرساخت‌ها هستند.[۵] از طرفی، باتوجه به بالا بودن استفاده‌ی جهانی از بتن به دلیل مزایای فراوان، توجه به این نکته ضروری است که تولید انبوه بتن خالی از اشکال نیست و آثار منفی در محیط‌زیست دارد. صنعت تولید سیمان به‌تنهایی ۷٪ از انتشار جهانی گاز دی‌اکسیدکربن را تشکیل می‌دهد.[۶] بنابراین نیاز به تقویت بتن با استفاده از مکانیزمی که نه فقط پایداری و دوام ساختاری بتن را افزایش دهد، بلکه از نقطه‌نظر نگرانی‌های زیست‌محیطی نیز مناسب باشد و شرایط خودترمیمی در بتن را فراهم کند، بسیار حائز اهمیت است.[۷]

امروزه به‌کارگیری باکتری‌هایی که رسوب‌های معدنی تولید می‌کنند، برای رسیدن به اهداف زیست‌محیطی مانند حذف مواد شیمیایی از جریان فاضلاب،[۸] اصلاح بیولوژیکی خاک‌های آلوده،[۹] حذف گازهای گلخانه‌یی از محل دفن زباله[۱۰] و برای اهداف مهندسی نظیر کاربرد باکتری برای تحکیم ماسه و مرمت بناهای تاریخی،[۱۱] ترمیم ترک‌ها[۱۲] و بهبود عملکرد بتن،[۱۳] به‌سرعت در حال فراگیر شدن است. استفاده از عوامل بیولوژیکی مانند باکتری، روشی امیدبخش و نوآورانه برای ترمیم ترک‌های بتن است.[۱۴] در روش اخیر، برای ترمیم سازه‌های آسیب دیده از باکتری، منبع کلسیم و اوره استفاده می‌شود، که فعالیت متابولیک آن‌ها منجر به تشکیل

* نویسنده مسئول
تاریخ: دریافت ۱۳۹۹/۱۱/۱۱، اصلاحیه ۱۴۰۰/۲/۱۱، پذیرش ۱۴۰۰/۲/۱۸.
DOI:10.24200/J30.2021.57397.2906



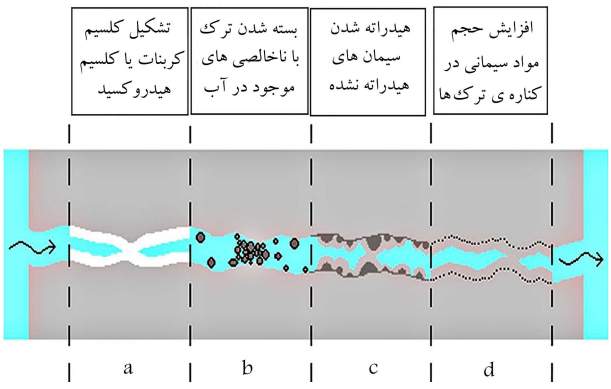
شکل ۱. روش‌های مختلف خودترمیمی در مصالح.

رسوب کلسیم‌کربنات به شکل کلسیت می‌شود.[۱۵] در مقایسه با سایر روش‌های ترمیم، که اغلب اساس شیمیایی دارند و برای محیط‌زیست و سلامتی مضر هستند، القای رسوب کلسیت میکروبی سازگار با ترکیب‌های بتن و دوست‌دار محیط‌زیست تلقی می‌شود.[۱۶] به‌نظر می‌رسد که بیشتر باکتری‌ها، توانایی تولید کلسیم‌کربنات را دارند.[۱۷] با وجود این، نتایج آزمایش‌هایی که برای تشخیص زنده ماندن باکتری در محیط قلیایی بتن انجام شده است نشان می‌دهد که فقط گروهی از باکتری‌هایی که توانایی تولید اسپور را دارند، می‌توانند در محیط قلیایی بتن زنده بمانند و برای استفاده در بتن مناسب هستند.[۱۸] pH محیط بتن ۱۳ و دمای بتن تازه با توجه به شرایط محیطی که در معرض آن قرار دارد ممکن است تا ۷۰°C بالا رود، بنابراین شناسایی شرایط لازم برای بقای باکتری و حفظ کلونی‌ها تحت شرایط مذکور ضروری است و می‌تواند زمینه‌ی کاربرد عملی استفاده از باکتری در صنعت ساخت‌وساز را فراهم کند.[۱۹]

۲. خودترمیمی در بتن

روش‌های مختلف خودترمیمی، بر اساس آخرین مطالعات انجام شده به‌صورت خلاصه در شکل ۱ مشاهده می‌شوند.

اساس خودترمیمی طبیعی، هیدراتاسیون تکمیلی عناصر سیمانی در بتن است. با تشکیل ترک در بتن، مقداری از سیمان موجود در ماتریس بتن، که واکنش نداده است، هیدراته می‌شود و کلسیم‌هیدروکسید تولید می‌کند. کلسیم‌هیدروکسید تولید شده با دی‌اکسیدکربن محلول در آب، که از طریق ترک در بتن نفوذ کرده است، واکنش می‌دهد و منجر به رسوب کلسیم‌کربنات می‌شود. رسوب کلسیم‌کربنات باعث ترمیم ترک‌هایی با عرض کمتر از ۰٫۲ میلی‌متر می‌شود.[۳۳] بنابراین کاربرد خودترمیمی طبیعی بیشتر برای جلوگیری از توسعه‌ی ترک‌های کوچک است. در صورتی که ترک‌ها



شکل ۲. مکانیسم‌های احتمالی خودترمیمی طبیعی در مواد سیمانی.[۳۴]

کوچک نباشند، دیگر بتن توانایی ترمیم ترک‌ها را ندارد و کلسیم‌هیدروکسید تولید می‌شود، که مشخصه‌ی ارزشمند و منحصر به فرد بتن است و از طریق ترک‌ها در آب نفوذ می‌کند و منجر به کاهش خواص بتن به دلیل کاهش خاصیت قلیایی بتن می‌شود. همچنین با کاهش قلیایی بتن، آرماتورهای فولادی موجود در ماتریس بتن، که به‌واسطه‌ی خاصیت قلیایی بتن محافظت می‌شوند، دچار خوردگی می‌شوند، که این خوردگی آرماتورها با افزایش حجم همراه است. در نتیجه عامل خودترمیمی طبیعی نیز به‌گونه‌یی موجب تخریب شدیدتر و ایجاد ترک‌های جدید در بتن می‌شود. بنابراین برای ترمیم ترک‌های عمیق باید سایر روش‌های ترمیمی را به‌کار گرفت. فرایندهای مختلف خودترمیمی طبیعی به‌صورت شماتیک در شکل ۲ مشاهده می‌شود.[۳۴]

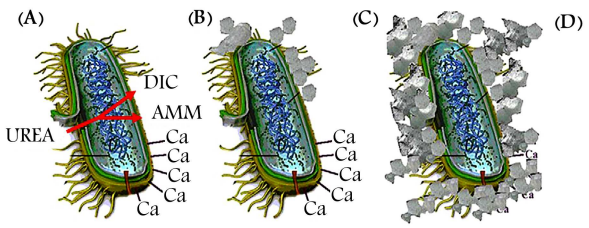
۳. عملکرد باکتری و تشکیل کلسیم‌کربنات

از نظر بیولوژیکی رسوب کلسیم‌کربنات به ترمیم ترک‌های کوچک، پُر شدن خلل‌وفرج

جدول ۱. مکانیسم‌های تشکیل رسوب‌های معدنی توسط باکتری‌ها و شرایط محیطی مناسب برای استفاده در سازه‌های بتن.

فعالیت باکتریایی	مکانیسم رسوب مواد معدنی.[۴۰و۴۳]	شرایط محیطی مناسب.[۴۳]
فتوسنتز	$CO_2 + H_2O \rightarrow (CH_2O) + O_2$ $2HCO_3^- \leftrightarrow CO_2 + CO_3^{2-} + H_2O$ $CO_3^{2-} + H_2O \leftrightarrow HCO_3^- + OH^-$ $Ca^{2+} + HCO_3^- + OH^- + CaCO_3 + 2H_2O$	مناسب برای سازه‌های بتنی در محیط دریایی. وجود نور و CO_2 ضروری است.
کاهش سولفات	$CaSO_4/2H_2O \rightarrow Ca^{2+} + SO_4^{2-} + 2H_2O$ $2(CH_2O) + SO_4^{2-} \rightarrow H_2S^- + 2HCO_3^- + CO_2 + H_2O$	مناسب برای ترمیم سطحی سازه‌های بتنی به دلیل تولید H_2S به عنوان محصول جانبی متابولیسم، برای ماتریس سیمانی داخل بتن در هر محیطی مناسب نیست زیرا منجر به تسریع خوردگی آماتور می‌شود.
هیدرولیز اوره	$CO(NH_2)_2 + H_2O \leftrightarrow NH_2COOH + NH_3$ $NH_2COOH + H_2O \rightarrow H_2CO_3 + NH_3$ $H_2CO_3 \rightarrow HCO_3^- + H^+$ $2NH_3 + 2H_2O \rightarrow 2NH_4^+ + 2OH$ $HCO_3^- + H^+ + 2NH_4^+ + 2OH^- \leftrightarrow CO_3^{2-} + 2NH_4^+ + 2H_2O$ $Ca^{2+} + Cell \rightarrow Cell - Ca^{2+} Cell - Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow Cell - CaCO_3 \downarrow$	مناسب برای سازه‌های بتنی در هر محیطی با محدوده‌ی دمایی ($20 - 35°C$) وجود اوره ضروری است.
نیترات زدایی	$CH_3COO^- + 2/6H^+ + 1/6NO_3^- \rightarrow 2CO_2 + 0/8N_2O + 2/8H_2O$ $CO_2 + H_2O \rightarrow HCO_3^- + H^+$ $Ca^{2+} + HCO_3^- + OH^- \rightarrow CaCO_3 + 2H_2O$	به دلیل در دسترس بودن ترکیب‌های آلی موجود در خاک، برای سازه‌های فرعی مناسب‌تر است.
تبدیل متابولیک ترکیب آلی	$CaC_6H_{10}O_6 + 6O_2 \rightarrow CaCO_3 + 5CO_2 + 5H_2O$	مناسب برای سازه‌های بتنی در هر محیطی با محدوده‌ی دمایی ($20 - 35°C$) وجود ترکیب آلی ضروری است.

و ایجاد پیوستگی بین مصالحی مانند شن و ماسه در بتن کمک می‌کند.[۳۵] عوامل مختلفی، از جمله: غلظت مناسب کربن، pH محیط اطراف، غلظت یون کلسیم و دمای محیط در فرایند رسوب کلسیت توسط باکتری تأثیرگذارند.[۳۶] علاوه‌بر این، سلول‌های باکتری برای ادامه‌ی حیات در بتن و تشکیل رسوبات معدنی به اکسیژن نیاز دارند.[۳۷] نوع محیط کشت و ترکیب‌های آن نیز تأثیر زیادی در شکل کریستال‌های کلسیم کربنات تولید شده دارند.[۲۱] در میان موجودات زنده، باکتری‌ها بزرگ‌ترین مساحت سطح نسبت به حجم را دارند. از طرفی، بسیاری از باکتری‌ها بار خالص منفی دارند. ترکیب سطح زیاد با بار الکتریکی خالص منفی، شرایط ایده‌آلی را برای جذب یون‌های نامحلول فلزی به سطح باکتری ایجاد می‌کند.[۳۸] تاکنون مسیرهای مختلف مربوط به فعالیت متابولیک باکتری‌ها به منظور خودترمیمی بررسی شده است. در جدول ۱، روابط مربوط به فرایند تولید رسوب بیولوژیکی باکتری‌ها از طریق مسیرهای مختلف و شرایط محیطی مناسب و سازگار با مسیرهای مذکور ارائه شده است. در میان روش‌های مذکور، رسوب کلسیم‌کربنات مبتنی بر هیدرولیز آنزیمی اوره، عملکرد بهتر و آسان‌تری دارد. همچنین سرعت واکنش بیوژنیک هیدرولیز اوره، 10^{14} برابر بیشتر از نرخ شیمیایی است.[۳۹] در این مسیر، ابتدا یک مول اوره به یک مول آمونیاک و یک مول کاربامات هیدرولیز می‌شود، سپس طی یک فرایند خود به خودی کاربامات با آب واکنش می‌دهد و به یک مول آمونیاک و یک مول اسید کربونیک هیدرولیز می‌شود. به تعادل رسیدن فرآورده‌های مذکور در آب منجر به تشکیل



شکل ۳. تشکیل کلسیم کربنات بر دیواره‌ی سلول‌های باکتریایی.[۴۲]

بی‌کربنات، دو مول آمونیوم و دو مول یون هیدروکسید می‌شود. یون‌های هیدروکسید ضمن افزایش pH محیط، باعث تغییر در تعادل بی‌کربنات می‌شوند و یون‌های کربنات را تشکیل می‌دهند.[۴۰] در نهایت یون‌های محلول کلسیم به شکل بلور کلسیم‌کربنات رسوب می‌کنند و واکنش کلی اوره و کلسیم برای تشکیل آمونیوم و کلسیم‌کربنات صورت می‌گیرد. بنابراین دیواره‌ی سلول باکتری، که بار منفی دارد، می‌تواند کاتیون‌های Ca^{2+} محیط را جذب کند. واکنش بین Ca^{2+} و CO_3^{2-} منجر به تشکیل رسول کلسیم‌کربنات روی دیواره‌ی سلول می‌شود.[۴۱] در شکل ۳، رسوب کلسیم‌کربنات بر دیواره‌ی سلول باکتری مشاهده می‌شود.[۴۲] اگرچه باکتری‌های اورئولیتیک به‌طور قابل توجهی شرایط ترمیم ترک و بهبود خواص مکانیکی بتن را فراهم می‌کنند، اما در طول فرایند هیدرولیز، اوره‌ی آمونیاک تولید می‌شود، که برای محیط‌زیست مضر است؛

بنابراین مسیرهای متابولیکی که منجر به ایجاد شرایط مطلوبی برای تشکیل رسوب کلسیم‌کربنات می‌شوند، مانند تبدیل متابولیک ترکیب‌های آلی، گزینه‌ی مناسبی برای غلبه بر مشکلات زیست‌محیطی مکانیسم هیدرولیز آنزیمی اوره است. در این مسیر، باکتری‌ها مستقیماً از مواد آلی برای متابولیسم خود استفاده می‌کنند و $CaCO_3$ به‌عنوان محصول جانبی تولید می‌شود.[۴۳]

۴. روش‌های استفاده از باکتری در بتن

۱.۴. استفاده از باکتری در آب اختلاط بتن

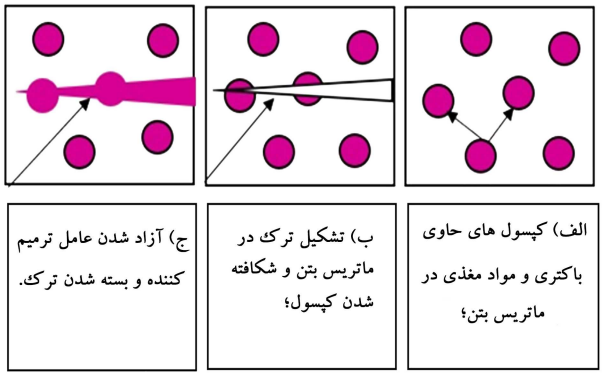
در روش استفاده از باکتری در آب اختلاط بتن، سوسپانسیون باکتری در غلظتی مشخص به آب اختلاط بتن افزوده می‌شود. افزایش مقاومت فشاری، کاهش جذب آب و کاهش نفوذپذیری یون کلر در نمونه‌های حاوی باکتری از جمله موارد گزارش شده است.[۴۴] با این حال، استفاده از روش ذکر شده معایبی دارد. نیروهای مکانیکی در طول اختلاط می‌توانند به باکتری آسیب برسانند.[۴۵] زمانی که باکتری‌ها مستقیم به ماتریس بتن اضافه می‌شوند، عمرشان کمتر از ۴ ماه است. کاهش عمر باکتری می‌تواند به دلیل هیدراتاسیون سیمان باشد، که نتیجه‌ی آن کاهش مداوم قطر حفره‌ها در بتن است. بنابراین ممکن است باکتری‌ها خرد شوند. نتایج آزمایش‌های انجام شده نشان داده است که تعداد باکتری‌های زیست‌پذیر، که مستقیماً به ماتریس بتن افزوده شده‌اند، در ۲۲ روز ۷۵٪ کاهش یافته و در ۱۳۵ روز هیچ سلول زنده‌یی در بتن مشاهده نشده است.[۴۶] علاوه‌بر این، افزودن مستقیم مواد مغذی به بتن ممکن است واکنش هیدراتاسیون سیمان را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار دهد و در خواص مکانیکی بتن تأثیر منفی بگذارد.[۵]

۲.۴. ترمیم سطحی توسط باکتری

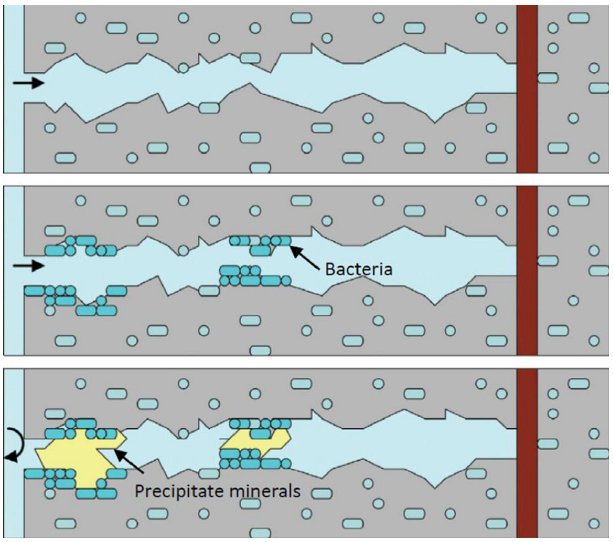
در روش ترمیم سطحی باکتری، ابتدا نمونه‌های بتنی ساخته و سپس در محلول باکتریایی همراه با منبع کلسیم عمل‌آوری می‌شوند. با نفوذ باکتری روی سطح بتن، رسوبات کلسیت تولید می‌شوند، که نتیجه‌ی آن بهبود خواص بتن تولید شده است.[۲۱و۴۷] عوامل مختلفی مانند میزان چسبندگی باکتری به شبکه‌ی معدنی بتن، ساختار خلل‌وفرج و نسبت اندازه‌ی باکتری به اندازه‌ی خلل‌وفرج از عوامل تأثیرگذار در میزان عمق نفوذ باکتری در سطح بتن در روش ترمیم سطحی است. اگرچه استفاده از باکتری در ماتریس بتن برای ساخت بتنی با دوام و پایدار، بسیار مناسب به‌نظر می‌رسد، اما متأسفانه روش اخیر به افزایش دوام سازه‌های موجود کمکی نمی‌کند. با توجه به هزینه‌ی بسیار بالای تخریب و ساخت دوباره‌ی سازه‌های در حال بهره‌برداری، استفاده از ترمیم سطحی پیشنهاد مناسبی برای بهبود عملکرد و افزایش پایایی سازه‌های مذکور است.[۴۸]

۳.۴. آغشته کردن سنگ‌دانه‌ها به باکتری

در روش آغشته کردن سنگ‌دانه‌ها به باکتری، در ساخت بتن از سنگ‌دانه‌هایی استفاده می‌شود که به مدت چند روز در محلول باکتریایی و مواد واکنش‌دهنده مستغرق شده باشند. بعد از آغشته‌سازی و عمل‌آوری سنگ‌دانه‌ها، رسوبات کلسیم‌کربنات تولید شده توسط باکتری، باعث پُر شدن خلل‌وفرج و کاهش جذب آب می‌شوند.[۴۹]



شکل ۴. نمایی شماتیک از عملکرد میکروکپسول‌ها در بتن.



شکل ۵. فرایند خودترمیمی بتن با باکتری تثبیت شده.[۵۲]

۴.۴. استفاده از باکتری به روش کپسول کردن

کپسول کردن باکتری‌ها باعث افزایش پایداری و زیست‌پذیری آن‌ها می‌شود و به این ترتیب می‌توان از آن‌ها در شرایط حاد محیطی نیز استفاده کرد. روش مذکور، فرایندی نوآورانه را جهت تثبیت باکتری فراهم می‌کند و به‌منظور افزایش عملکرد و طول عمر باکتری در بتن استفاده می‌شود.[۵۰] در شکل ۴، نمایی شماتیک از نحوه‌ی ترمیم ترک با استفاده از باکتری کپسول شده مشاهده می‌شود.

۵.۴. استفاده از باکتری به‌صورت اسپور

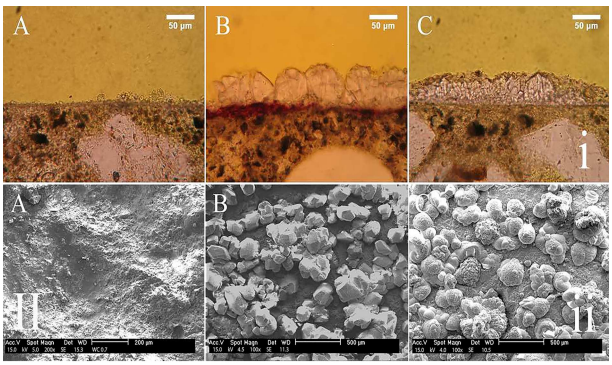
تثبیت باکتری باعث حفظ ظرفیت تولید مواد معدنی در طول یک دوره‌ی زمانی می‌شود. در روش اخیر، اسپور باکتری به همراه مواد مغذی لازم در حین ساخت به بتن اضافه می‌شود. باکتری‌ها تا زمان شکل‌گیری ترک در بتن به‌صورت راکد باقی می‌مانند. در واقع اسپورها با ورود آب از طریق ترک فعال می‌شوند و مقدار زیادی ماده‌ی معدنی بر پایه‌ی کلسیم‌کربنات تولید می‌کنند و باعث ترمیم ترک‌ها می‌شوند. هنگامی که ترک‌ها با رسوب‌های اخیر بسته شدند، باکتری مجدد به حالت راکد (اصطلاحاً خواب) باز می‌گردد.[۲۴و۵۱] فرایند ترمیم ترک با استفاده از باکتری‌های تثبیت شده در شکل ۵ مشاهده می‌شود.[۵۲] در مطالعات مختلف نشان داده شده است که افزودن مواد مغذی همراه با اسپور

در ماتریس ملات ممکن است در خواص آن تأثیرگذار باشد. گزارش شده است که کلسیم‌نیترات و کلسیم‌فرمات منجر به افزایش زمان گیرش سیمان در ملات می‌شوند، در حالی که کلسیم‌لاکتات، زمان گیرش سیمان در ملات را به تأخیر می‌اندازد.[۵۳و۵۴]

۵. ترمیم ترک در بتن

یافتن روش مناسب برای استفاده از باکتری در بتن و ساخت بتنی که بتواند با کمینه‌ی نیاز به محیط بیرونی، ترک‌های خود را ترمیم کند، بسیار حائز اهمیت است. خودترمیمی در بتن به تعدادی از عوامل، مانند: نوع باکتری، غلظت باکتری، ترکیب حامل، زیست‌پذیری باکتری، مواد مغذی و روش استفاده از باکتری بستگی دارد.[۵۵] در جدول ۲، بیشینه‌ی عرض ترمیم ترک با استفاده از باکتری‌های مختلف درج شده است. یکی از مشکلات عمده برای استفاده از باکتری در بتن، زنده ماندن باکتری در محیط قلیایی بتن است. نیروهای مکانیکی در طول اختلاط می‌توانند به باکتری آسیب برسانند. علاوه‌براین، ممکن است با توجه به کاهش مداوم قطر منافذ ماتریس بتن در طول هیدراتاسیون، باکتری‌ها خرد شوند. بنابراین تثبیت باکتری در حامل محافظ، راه‌حل مناسبی برای افزایش زیست‌پذیری باکتری در بتن است.[۵۶] حامل‌ها می‌توانند به‌عنوان یک پوسته‌ی محافظ برای باکتری عمل کنند.[۴۵] اسپور باکتری در حامل‌هایی مانند پرلیت و رس منبسط شده تثبیت شده است. حجم زیادی از حفره‌ها با اندازه‌ی ۱۰۰ mm در ذرات پرلیت مشاهده شده است. حفره‌های مذکور می‌توانند پوشش کافی و اکسیژن را برای باکتری فراهم کنند. علاوه‌براین، هنگامی که ترک‌ها در ماتریس بتن شکل می‌گیرند، باکتری در تماس با آب کافی قرار می‌گیرد. تأثیر ذرات پرلیت در ترمیم ترک‌ها بیشتر از رس منبسط شده گزارش شده است.[۵۷] اثربخشی باسیلوس اسفریکوس در ترمیم ترک با استفاده از دو روش اضافه کردن مستقیم باکتری به بتن و تثبیت باکتری در بیوچار مقایسه شده است. استفاده از بیوچار به‌عنوان حامل برای باکتری باعث کاهش نفوذپذیری و افزایش ظرفیت ترمیم ترک نسبت به روش مستقیم شده است. دلیل کاهش ظرفیت ترمیم در روش مستقیم را می‌توان به از دست رفتن زیست‌پذیری باکتری در بتن نسبت داد.[۵۸] همچنین تأثیر استفاده از سنگ‌دانه‌های سبک و نانوگرافیت برای تثبیت باکتری و اضافه کردن مستقیم باکتری در خودترمیمی بتن بررسی شده است. استفاده‌ی مستقیم باکتری، تأثیر بسیار اندکی در ترمیم ترک‌ها داشته است. همچنین استفاده از باکتری تثبیت شده در سنگ‌دانه‌های سبک، باعث ترمیم بیشتر ترک‌ها نسبت به تثبیت باکتری در نانوگرافیت شده است.[۵۵] علاوه‌براین، برای کاهش تأثیر منفی مواد مغذی در عملکرد مهندسی بتن، کپسول کردن باکتری و مواد مغذی پیشنهاد شده است.[۵۹] بهترین گزینه برای مهندسی کردن ظرفیت خودترمیمی با استفاده از باکتری، کپسول کردن اسپورهاست، که رویش اسپورها را تحت شرایط مناسب (رطوبت بالا و اکسیژن) تسهیل می‌کند.[۵] با استفاده از هیدروژل برای کپسول کردن باکتری، اسپور می‌تواند در ماتریس سیمانی خفته بماند، لذا رسوب میکروبی قبل از ایجاد ترک صورت نخواهد گرفت.[۴۵]

یکی دیگر از عوامل تأثیرگذار در فرایند خودترمیمی بیولوژیکی، منبع کلسیم است. نوع منبع کلسیم تأثیر عمیقی در فرایند بیوشیمیایی، شکل و اندازه‌ی کریستال‌های معدنی دارد. کلسیم‌کلرید، که به‌عنوان منبع کلسیم برای باکتری استفاده می‌شود، حاوی یون کلراید است. از آن‌جا که یون‌های کلراید برای تقویت سازه‌های بتنی مضر هستند، استفاده از کلسیم‌استات به‌عنوان منبع جایگزین کلسیم بررسی شده است. با توجه به این‌که هیچ تفاوتی با استفاده از منابع کلسیم مختلف از نظر ترمیم ترک ملاحظه نشده



A) نمونه ی مرجع بدون منبع کلسیم؛
B) نمونه با باکتری و کلسیم کلرید؛
C) نمونه با باکتری و کلسیم استات.

شکل ۶. تأثیر منابع مختلف کلسیم بر تشکیل رسوب کلسیم کربنات.

است و همچنین به‌دلیل ماهیت سازگار کلسیم‌استات با بتن و آرماتورهای فولادی، بهتر است از کلسیم‌استات به‌عنوان منبع کلسیم استفاده شود (شکل ۶).[۶۳]

تأثیر استفاده از باکتری باسیلوس اسفریکوس و منابع مختلف کلسیم، شامل: کلسیم کلرید، کلسیم اکسید، کلسیم‌استات و کلسیم‌نیترات در تشکیل رسوب‌های معدنی بررسی شده است. نتایج بررسی اخیر نشان داد که بیشینه‌ی رسوب ایجاد شده با استفاده کلسیم‌کلرید است.[۶۴] همچنین توانایی باکتری باسیلوس کهنی در تشکیل رسوب‌های معدنی با استفاده از کلسیم‌لاکتات و کلسیم‌گلوتامات بررسی و ملاحظه شده است که ضخامت لایه‌ی رسوب یافته با استفاده از کلسیم‌گلوتامات بیشتر از کلسیم‌لاکتات است.[۶۵]

تأثیر غلظت باکتری در خودترمیمی نیز بررسی شده است. بیشینه‌ی عرض ترمیم ترک با استفاده از باکتری باسیلوس سوبتلیس در غلظت های ($۱۰^{۳}$cells/ml, $۱۰^{۵}$و $۱۰^{۷}$) به ترتیب (mm ۰٫۹, ۰٫۶ و ۱/۲) بوده است. نتایج اخیر نشان می‌دهند استفاده از غلظت بالاتر باکتری منجر به رسوب بیشتر کلسیم‌کربنات می‌شود؛ بنابراین استفاده از باکتری در غلظت بالاتر، کارایی بیشتری برای ترمیم ترک‌ها دارد. سرعت ترمیم ترک در غلظت‌های بالا ابتدا بسیار سریع است، اما با گذشت زمان سرعت ترمیم نسبت به غلظت‌های پایین‌تر کاهش یافته است. دلیل این امر افزایش رسوب‌ها و در دسترس بودن کمتر فضا در ناحیه‌ی ترک است.[۲۳]

به‌طورکلی بررسی نتایج درج شده در جدول ۲ نشان می‌دهد که تأثیر خودترمیمی نمونه‌ها با باکتری تثبیت شده بیشتر از اضافه کردن مستقیم باکتری به مخلوط بتن است. مواد حفاظتی مختلف تأثیر متفاوتی در نمونه‌ها داشته‌اند. همچنین کپسول کردن باکتری‌ها باعث افزایش اطمینان از زیست‌پذیری باکتری پایداری سیستم میکروبی می‌شود و کاربرد آن را تحت شرایط محیطی مختلف فراهم می‌کند.

۶. تأثیر باکتری در مقاومت فشاری بتن

تأثیر استفاده از باکتری‌های مختلف در تغییرات مقاومت فشاری بتن در مطالعات تجربی گسترده‌یی بررسی شده است، که در جدول ۳، نتایج برخی از آن‌ها ارائه شده است. بررسی نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد استفاده از باکتری تأثیر مثبتی در افزایش مقاومت فشاری نمونه‌ها داشته است. افزایش مقاومت فشاری عمدتاً به‌دلیل تشکیل رسوب کلسیم کربنات و پُر شدن منافذ داخل بتن و کاهش اندازی

جدول ۲. بیشینه‌ی عرض ترمیم ترک با استفاده از روش‌های مختلف باکتریایی.

باکتری	غلظت	ماده‌ی مغذی	روش استفاده از باکتری	ترمیم ترک	رفرنس
باسیلوس کهنی	$۳/۶ \times ۱۰^{۹}$Cells/ml	کلسیم لاکتات و عصاره‌ی مخمر	تثبیت در پرلیت تثبیت در رس منبسط شده مستقیم	$۰/۷۹mm$ $۰/۴۵mm$ $۰/۲۵mm$	[۵۷]
باسیلوس اسفریکوس	$۱۰^{۹}$Cells/ml	کلسیم نیترات، عصاره‌ی مخمر و اوره	کپسول کردن در هیدروژل	$۰/۵mm$	[۵۲]
باسیلوس سوبتلیس	$۲/۸ \times ۱۰^{۸}$Cells/ml	کلسیم لاکتات	تثبیت در نانوگرافیت تثبیت در سنگ‌دانه‌ی سبک مستقیم	$۰/۳۸\mu m$ $۰/۵۲\mu m$ $۰/۱۵\,\mu m$	[۵۵]
اسپورسارسینا پاستوری	$۲/۸ \times ۱۰^{۹}$Cells/ml	کلسیم لاکتات	تثبیت در سنگدانه‌ی بازیافتی تثبیت در پرلیت تثبیت در خاک دیاموته	$۰/۲۸mm$ $۰/۳۲mm$ $۰/۱۴mm$	[۶۰]
باسیلوس سرئوس	$۳/۵ \times ۱۰^{۷}$Cells/ml	کلسیم لاکتات، عصاره‌ی مخمر و اوره	مستقیم	$۸۰۰ - ۱۰۰$ μm	[۶۱]
باسیلوس سوبتلیس	$۲/۸ \times ۱۰^{۸}$Cells/cm^{۳}	کلسیم لاکتات	تثبیت در ذرات اکسید آهن تثبیت در بتونیت مستقیم	$۱/۲mm$ $۰/۲mm$ $۰/۴۵mm$	[۶۲]
باسیلوس اسفریکوس	$۱۰^{۱۰}$Cfu/ml	کلسیم نیترات عصاره‌ی مخمر و اوره	تثبیت در بیوچار مستقیم	$۵۰۰ - ۷۰۰\mu m$ $۴۰۰ - ۷۰۰\mu m$	[۵۸]

حفره‌هاست.[۶۶-۶۹] افزایش مقاومت فشاری و روند کلی تغییرات در نمونه‌ها به شدت وابسته به نوع باکتری، غلظت باکتری و مواد مغذی استفاده شده است. استفاده از باکتری در غلظت بهینه منجر به افزایش ژل کلسیم‌سیلیکات هیدرات (CSH) و در نتیجه افزایش مقاومت فشاری می‌شود. استفاده از باکتری در غلظت بالاتر ممکن است به‌دلیل ایجاد اخلال در ماتریس سیمانی، منجر به کاهش مقاومت فشاری شود.[۷۰-۷۳]

به‌نظر می‌رسد در بتن میکروبی، جایگزینی بخشی از سیمان با پوزولان‌های مختلف، مانند: فوم سیلیکا، خاکستر بادی، خاکستر پوسته‌ی برنج و گردوغبار کوره‌ی سیمان تأثیر به‌سزایی در افزایش مقاومت فشاری نمونه‌ها داشته است. مقدار بهینه‌ی استفاده از پوزولان‌های مذکور، ۱۰٪ گزارش شده است. افزایش درصد استفاده از پوزولان‌ها در بتن به‌دلیل کاهش سیمان باعث کاهش هیدراتاسیون و تشکیل ژل CSH شده است. بنابراین ممکن است تأثیر منفی در مقاومت فشاری نمونه‌ها داشته باشد.[۷۴-۷۷] همچنین گزارش شده است که اضافه کردن مستقیم مواد مغذی به بتن، واکنش هیدراتاسیون سیمان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و تأثیر منفی در مقاومت فشاری نمونه‌ها دارد. موادی نظیر پپتون و کلسیم‌استات باعث کاهش مقاومت فشاری بتن شده‌اند.[۴۶و۷۸]

۷. نفوذپذیری آب

آزمایش نفوذپذیری آب، برای تعیین نفوذ آب در بتن بر اساس زمان و فشار معین صورت می‌گیرد. نفوذپذیری یکی از ویژگی‌های اساسی برای بررسی دوام بتن است، زیرا میزان نفوذ عناصر مهاجم، که منجر به تخریب بتن می‌شوند را تعیین می‌کند.[۸۱] استفاده از باکتری باسیلوس سوبتلیس در سه غلظت ($۱۰^{۳}$, $۱۰^{۵}$ و $۱۰^{۷}$Cells/ml) به ترتیب منجر به کاهش ۲۳، ۳۰ و ۵۳ درصد نفوذپذیری آب شده است. غلظت بالاتر باکتری منجر به رسوب بیشتر کلسیم‌کربنات در سطح بتن شده است؛ در نتیجه، در غلظت بالاتر، نفوذپذیری کاهش یافته است.[۲۳] میانگین کاهش نفوذپذیری آب با استفاده از باکتری باسیلوس سوبتلیس ۲۴٪ بیشتر از نمونه‌ی کنترل است.[۵۶] همچنین از باکتری باسیلوس سوبتلیس با غلظت $۱۰^{۷}$Cells/ml در نمونه‌های بتنی تقویت شده با

جدول ۳. درصد افزایش مقاومت فشاری با استفاده از باکتری‌های مختلف.

باکتری	غلظت	ماده‌ی مغذی	افزایش مقاومت فشاری	استاندارد	رفرنس
باسیلوس سرئوس	10^6Cells/ml	کلسیم کلرید و اوره	٪۳۸	-	[۶۶]
باسیلوس مگاتریوم	30×10^5Cfu/ml	کلسیم لاکتات و اوره	٪۲۴	BS ۱۸۸۱ – ۱۱۶ : ۱۹۸۳	[۷۹]
باسیلوس سوبتلیس	$10^7, 10^6, 10^5, 10^4$Cells/ml	عصاره‌ی مخمر	٪۲۸ افزایش در غلظت 10^6Cells/ml	BS EN ۱۲۳۹۰ – ۳ : ۲۰۰۰	[۷۰]
باسیلوس اسفریکوس	$10^8, 10^7, 10^6, 10^5$Cfu/ml	بافراستات، کلسیم کلرید و اوره	٪۲۳ افزایش در غلظت 10^7cfu/ml	IS : ۵۱۶ – ۱۹۵۹	[۷۱]
باسیلوس فلکسوس	-	کلسیم نیترات، کلسیم کلرید و اوره	٪۱۸	IS : ۵۱۶ – ۱۹۵۹	[۶۸]
باسیلوس کهنی	$10^7, 10^6, 10^5$Cfu/ml	کلسیم کلرید	٪۴۹ افزایش در غلظت 10^7cfu/ml	-	[۷۳]
باسیلوس هالودورانس	10^8Cells/ml	کلسیم کلرید	٪۷٫۱۵	-	[۷۶]
انتروکوکوس	-	کلسیم هیدروکسید و اوره	٪۴۵	IS : ۸۱۱۲ – ۱۹۸۹	[۸۰]
انتروباکتر	-	کلسیم هیدروکسید، کلسیم استات کلسیم کلرید، کلسیم اکسید	٪۴۴	-	[۶۹]
شوانلا	$10^3, 10^2, 10$Cells/ml $10^4, 10^5, 10^6$و10^7	-	٪۲۵٫۲۹ افزایش در غلظت 10^5cfu/ml	-	[۷۲]
اسپورسار سیناپاستوری	$10^7, 10^5, 10^3$Cells/ml	-	٪۲۳ افزایش در غلظت 10^5cells/ml	-	[۷۴]

الیاف‌های مختلف فولادی، پلی‌پروپیلن و بارچیپ استفاده شده و آزمایش نفوذپذیری آب مطابق با استاندارد EN ۱۲۳۹۰ – ۸ بر روی نمونه‌ها انجام شده است. بیشترین کاهش در نفوذپذیری آب با الیاف بارچیپ و عمل‌آوری نمونه‌ها در محیط غنی ازکلسیم به‌دست آمده است، که ٪۵۰ کمتر از نمونه‌ی کنترل بوده است.[۸۲] ایجاد یک لایه رسوب کلسیت توسط باکتری باسیلوس مگاتریوم، عمق نفوذپذیری آب را در نمونه‌های بتنی که در ساخت آن‌ها از درصدهای مختلف خاکستر بادی استفاده شده بود، به‌طور قابل توجهی کاهش داده است.[۸۳] در ساخت نمونه‌های بتنی از یک نوع باکتری کاهنده‌ی سولفات (SRB) در درصدهای مختلف ۵،۳ و ۷ درصد استفاده شده است. بیشترین کاهش در عمق نفوذپذیری آب در ۲۸ روز با ٪۷ باکتری ۱۰٫۶٪ بوده است.[۸۴]

۸. نفوذ پذیری یون کلراید

به جز نقش باکتری در بهبود خواص مکانیکی بتن، به استفاده از آن برای افزایش دوام در محیط‌های مخرب نیز همواره توجه شده است. یکی از دلایل اصلی شکست سازه‌های بتنی، خوردگی آرماتور به ویژه در سازه‌های آبی است. نرخ نفوذ یون کلر به ساختار درونی بتن بستگی دارد. رسوب کلسیت میکروبی سبب کاهش نفوذپذیری بتن در برابر نفوذ کلر می‌شود.[۱۶] نتایج تأثیر باکتری‌های مختلف در مقاومت بتن در برابر یون کلراید در جدول ۴ ارائه شده است. در پژوهش‌های مختلف، آزمایش تعیین نفوذپذیری نمونه‌ها در برابر یون کلراید مطابق با استاندارد

جدول ۴. تأثیر باکتری‌های مختلف در نفوذ یون کلر در بتن.

باکتری	غلظت	ماده‌ی مغذی	کاهش نفوذ یون کلر	رفرنس
اسپورسارسینا پاستوری	10^7Cells/ml	کلسیم لاکتات و اوره	٪۳۷	[۳۷]
باسیلوس اسفریکوس	5×10^7Cells/ml	کلسیم کلرید و اوره	٪۶۹٫۳	[۸۶]
باسیلوس سوبتلیس	10^7Cells/ml	کلسیم لاکتات و اوره	٪۲۰٫۵	[۱۳]
باسیلوس سرئوس	$3{,}52 \times 10^7$Cells/ml	عصاره‌ی مخمر، کلسیم لاکتات و اوره	٪۱۰٫۹	[۶۱]
باسیلوس سوبتلیس	$4{,}9 \times 10^5$Cells/ml	کلسیم کلرید و اوره	٪۱۲٫۱۵	[۸۵]

جدول ۵. تأثیر باکتری‌های مختلف در جذب آب بتن.

باکتری	غلظت	ماده‌ی مغذی	کاهش جذب آب	استاندارد	رفرنس
باسیلوس سرئوس	$3{,}52 \times 10^7$Cells/ml	عصاره‌ی مخمر،کلسیم‌لاکتات و اوره	٪۱۲	-	[۶۱]
باسیلوس کهنی	$1{,}1 \times 10^9$Cells/ml	کلسیم‌لاکتات و عصاره‌ی مخمر	٪۹۴	-	[۸۹]
اسپورسارسینا پاستوری	10^7Cells/ml	کلسیم‌لاکتات، کلسیم‌کلرید و اوره	٪۳۷	ASTM C۶۴۲	[۸۸]
باسیلوس هالودورانس	10^8Cells/ml	کلسیم‌کلرید	٪۲۰	ASTM C۶۴۲	[۷۶]
باسیلوس اسفریکوس	10^9 Cells/ml	عصاره‌ی مخمر و اوره	٪۷۰	ASTM C۱۵۸۵	[۸۷]
باسیلوس مگاتریوم	10^6Cells/ml	-	٪۴۶	-	[۳۵]

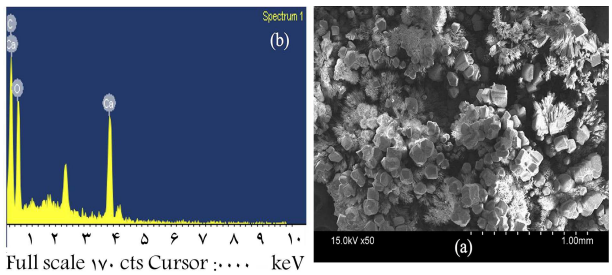
ASTM C۱۲۰۲ انجام شده است. القای کلسیت میکروبی، گزینه‌ی مناسبی برای بهبود دوام سازه‌های بتنی با کنترل تخلخل از طریق رسوب کلسیم‌کربنات است. بررسی نتایج آزمایشگاهی مطالعات پیشین نشان می‌دهد که رسوب کلسیم‌کربنات، مقاومت بتن در برابر نفوذ یون کلر را افزایش می‌دهد. نفوذپذیری کم کلر در نمونه‌های حاوی باکتری ناشی از ریزساختار متراکم‌تر بتن و ملات است. واکنش باکتریایی ممکن است باعث کاهش منافذ مویینه و بسته شدن منافذ شود، که این موضوع انتقال یون کلر را کاهش می‌دهد.[۱۳،۶۱،۸۵] استفاده از باکتری و منبع کلسیم منجر به ضریب انتقال کمتر یون کلراید در مقایسه با نمونه‌های فرآوری نشده، شده است. تفاوت زیادی در مقاومت یون کلر با استفاده از منابع کلسیم مختلف مشاهده نشده است. بنابراین به‌منظور جلوگیری از آثار مضر احتمالی کلسیم‌کلرید در بتن، استفاده از کلسیم‌استات پیشنهاد شده است. کلسیم‌کلرید که به‌عنوان منبع کلسیم برای باکتری استفاده می‌شود، منجر به تولید گسترده‌ی آمونیاک و افزایش خوردگی آرماتور می‌شود. بنابراین استفاده از سایر منابع کلسیم، مانند کلسیم‌استات انتخاب مناسب‌تری است.[۸۶]

۹. جذب آب

کاهش تخلخل و جذب آب نمونه‌های بتنی را می‌توان به‌عنوان شاخصی برای افزایش دوام بتن استفاده کرد. نتایج جذب آب نمونه‌های بتنی، که در ساخت آن‌ها از باکتری‌های مختلف استفاده شده است، در جدول ۵ ارائه شده است، که مطابق آن، جذب آب نمونه‌های حاوی باکتری به‌علت ایجاد رسوب کلسیم‌کربنات در منافذ و کاهش خلل و فرج بتن کاهش یافته است.[۸۷-۸۹] انتخاب نوع باکتری در غلظت بهینه، تأثیر مستقیمی در کاهش جذب آب نمونه‌ها دارد. باکتری‌ها می‌توانند در حضور مواد مغذی به‌صورت مداوم یک لایه‌ی کلسیت غیرقابل نفوذ روی سطح بتن ایجاد کنند.[۷۴]

۱۰. ریزساختار بتن

اساس اولیه‌ی بتن خودترمیم باکتریایی، تشکیل رسوب‌های معدنی است. رسوب‌های معدنی می‌توانند ریزساختار بتن را بهبود ببخشند. جهت مشاهده و مقایسه‌ی ساختار میکروسکوپی نمونه‌های حاوی باکتری و بدون باکتری از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شده است. بررسی تصاویر SEM نشان‌دهنده‌ی تفاوت قابل توجه در ساختار نمونه‌های حاوی باکتری و بدون باکتری بوده است. آنالیز انتشار اشعه‌ی ایکس (XRD)، فاز جدیدی از سیلیکات‌ها (گلنیت) را تأیید کرد که با پُر کردن منافذ بسیار ریز بتن باعث افزایش مقاومت ملات شده‌اند.[۹۰] از باکتری اسپور سارسیناپاستوری برای بهسازی ستون‌های ماسه‌یی استفاده شده است. تصاویر SEM و آنالیز XRD نشان داد که بلورهای تشکیل شده‌ی کلسیم‌کربنات از نوع کلسیت هستند و به‌طور تقریبی ٪۳۰ از وزن کل نمونه‌های حاوی باکتری را تشکیل می‌دهند.[۴۱] در پژوهش دیگری از دو باکتری باسیلوس‌اسفریکوس و اسپور سارسیناپاستوری در ساخت بتن استفاده شده است. نتایج نشان داد که باکتری باسیلوس‌اسفریکوس، بلورهای کلسیم‌کربنات متراکم‌تری نسبت به باکتری اسپور سارسیناپاستوری تولید می‌کند.[۹۱] مقایسه‌ی تصاویر SEM نشان داده است که میزان خلل‌وفرج در نمونه‌های بدون باکتری بسیار بیشتر از نمونه‌های حاوی باکتری بوده و بتن باکتریایی ساختار متراکم‌تری را نسبت به نمونه‌ی کنترل داشته است. طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDS) برای تحلیل ساختاری و خصوصیات شیمیایی نمونه‌های باکتریایی استفاده شده است. در آنالیز EDS، هر یک از عنصرها ساختار اتمی منحصر به خود را دارد، که درنهایت مجموعه‌یی از قله‌ها را تشکیل می‌دهند. مطابق شکل ۷، آنالیز EDS از چند قله تشکیل شده است، که نشان‌دهنده‌ی عمده‌ی ترکیب‌های عناصر رسوب‌های تشکیل شده توسط باکتری در بتن است. ترکیب مورفولوژی عناصر رسوب تشکیل شده توسط باکتری باسیلوس‌سوبتلیس نشان می‌دهد عمده‌ی رسوب‌ها از ۳ عنصر: کلسیم (Ca)، کربن (C) و اکسیژن (O) تشکیل شده‌اند. شکل ۷،



a) تصویر؛ b) SEM مورفولوژی ترکیب های رسوب .[۲۳]

شکل ۷. تصویر میکروسکوپ الکترونی از ریز ساختار بتن و مورفولوژی رسوب.

نشان‌دهنده‌ی تصاویر به دست آمده از SEM و مورفولوژی ترکیب‌های رسوب است.[۲۳]

۱۱. کاربردهای عملی

استفاده از سیستم ذکر شده به‌ویژه در سازه‌های نگهدارنده‌ی آب یا انتقال مایعات، سازه‌های زیرزمینی، زیرساخت‌ها و مراکز هسته‌یی، گام مهمی در کمک به افزایش ضریب اطمینان، اقتصاد و توسعه‌ی پایدار خواهد بود. با این حال برای کاربردهای صنعتی در آینده، باید به چند چالش مهم توجه کرد. مطالعات بیشتری باید برای اطمینان از زنده ماندن باکتری در بتن و توسعه‌ی کپسول‌هایی که کمترین تأثیر منفی را در ویژگی‌های بتن دارند، صورت بگیرد. همچنین علی‌رغم نتایج امیدبخش راهبرد مذکور، هنوز استاندارد مشخصی برای طرح اختلاط بتن باکتریایی ارائه نشده است. اجرای روش ذکر شده در مقیاس حجیم، نیازمند برقراری شرایط ویژه است، که هزینه‌ی آن بسیار بالاست؛ بنابراین نیاز به بررسی بیشتری برای بهینه‌سازی هزینه‌های مربوط به باکتری و منابع کلسیم دارد. کارایی روش اخیر در حفاظت از المان‌های بزرگ‌تر نیاز به انجام آزمایش‌های بیشتری در محدوده‌ی دمای غیر ایده‌آل، غلظت بالای نمک، و در سنین بالاتر سازه‌های بتنی دارد. اخیراً از این تکنولوژی در ساخت سقف[۹۲] و راکتور هسته‌یی استفاده شده است.[۹۳] امید است با حل مشکلات ذکر شده بتوان در آینده‌ی نزدیک استفاده از روش مذکور را به‌طور گسترده جایگزین روش‌های مرسوم کرد و ساخت‌وساز مدرن در صنعت و کار خارج از آزمایشگاه مشاهده شود.

۱۲. نتیجه‌گیری

۱. در حال حاضر برای ترمیم ترک در سازه‌های بتنی از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود، که برخی از آن‌ها مشکلاتی مانند ضریب انبساط حرارتی متفاوت از سیمان را دارند؛ در حالی‌که رسوب کلسیم‌کربنات، سازگار با ترکیب‌های بتن است. اگر در ساخت سازه‌ها از تکنولوژی بتن باکتریایی استفاده شود، نیاز به تعمیر سازه‌ها از بین می‌رود و این موضوع باعث کاهش سیمان استفاده شده در بازسازی‌های بعدی می‌شود. همچنین توانایی باکتری در ترمیم ترک‌ها منجر به افزایش طول عمر سازه می‌شود. بنابراین نیاز به تخریب و ساخت مجدد سازه‌ها کاهش می‌یابد، که گامی مؤثر در کاهش تولید سیمان، انتشار دی‌اکسیدکربن و درنهایت کاهش آلودگی محیط‌زیست است؛

۲. غلظت باکتری، نوع و ترکیب‌های محیط کشت در شکل کریستال‌های کلسیم کربنات تأثیرگذارند. استفاده از باکتری در غلظت بهینه، موجب بهبود خواص بتن تولیدی شده است. ژل (CHS) با استفاده از مقدار خاصی باکتری در بتن افزایش می‌یابد. غلظت بالاتر باکتری ممکن است باعث ایجاد اختلال در ماتریس سیمان شود، در نتیجه، مقاومت فشاری بتن را کاهش دهد؛

۳. اگرچه غلظت بالای باکتری منجر به رسوب بیشتر کلسیم‌کربنات و بهبود ترمیم ترک می‌شود، اما افزایش میزان رسوب‌ها در سطح بتن مانع از نفوذ آب به ماتریس داخلی بتن می‌شود، که تأثیر منفی در هیدراتاسیون سیمان دارد. همچنین میزان رسوب در ماتریس بتن در غلظت بالا کمتر است. در نتیجه عوامل ذکر شده ممکن است باعث مختل شدن مقاومت فشاری بتن شوند؛

۴. یکی دیگر از عوامل مؤثر در بهبود عملکرد بتن، نوع باکتری است. در یک غلظت ثابت ممکن است میزان و سرعت رسوب کلسیم‌کربنات توسط یک باکتری بسیار زیاد باشد. در حالی که در همان غلظت، سرعت و میزان رسوب توسط باکتری دیگری اندک باشد. بنابراین، اگر توانایی یک باکتری در تشکیل رسوب‌های معدنی کم باشد، حتی با استفاده از غلظت بالای باکتری مذکور، ممکن است میزان رسوب تشکیل شده برای مسدود کردن کامل منافذ سطح بتن کافی نباشد. در این حالت مانعی برای نفوذ آب درون بتن وجود ندارد، فرایند هیدراتاسیون سیمان تکمیل می‌شود و تخلخل بتن کاهش می‌یابد. در چنین شرایطی می‌توان انتظار افزایش مقاومت فشاری با استفاده از غلظت بالاتر باکتری را نیز داشت؛

۵. استفاده از میکروکپسول‌های حاوی اسپور باکتری و ترکیب‌های مغذی لازم، روش مؤثری برای حفظ بقای باکتری در طولانی‌مدت است. تاکنون مواد مختلفی برای کپسول کردن باکتری‌ها استفاده شده است، که در ظرفیت خودترمیمی باکتری در بتن تأثیرگذارند. بنابراین، باید تأثیر مواد حفاظتی مختلف در حفظ زیست‌پذیری باکتری و سازگاری آن‌ها با ترکیب‌های بتن نیز بیشتر بررسی شود؛

۶. بررسی ویژگی‌های بتن در مقیاس ریزساختار، اهمیت ویژه‌یی دارد. تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ SEM، تشکیل لایه‌یی از رسوب‌های معدنی در ساختار بتن را ثابت کرده است. رسوب‌های معدنی با پُرکردن خلل و فرج ماتریس متخلخل بتن منجر به افزایش خواص مکانیکی و بهبود دوام بتن شده‌اند؛

۷. الگوی رسوب باکتری، نوع باکتری، غلظت باکتری، روش استفاده از باکتری در بتن، ترکیب‌های حامل و مواد مغذی، از پارامترهای تأثیرگذار در تشکیل رسوب‌های کلسیم‌کربنات و ظرفیت خودترمیمی هستند؛

۸. ترکیب مناسبی از مواد اولیه‌ی معدنی باید در بتن گنجانده شود تا یک مکانیسم مستقل برای خودترمیمی ایجاد شود. بیشینه‌ی مقدار مجاز استفاده از مواد معدنی در بتن محدود است. استفاده از مقادیر زیاد مواد معدنی ممکن است تأثیر منفی در دیگر خواص، مانند زمان گیرش سیمان در بتن و مقاومت نهایی داشته باشد. نوع ماده‌ی معدنی نیز از عوامل تأثیرگذار در زمان گیرش سیمان در بتن است. استفاده از اسپور باکتری، با توجه به منبع کلسیمی که برای باکتری استفاده شده است، در زمان گیرش سیمان تأثیرگذار است. به‌عنوان مثال، کلسیم‌لاکتات باعث تأخیر و کلسیم‌نیترات و کلسیم‌فرمات منجر به افزایش زمان گیرش سیمان در بتن می‌شوند؛

۹. اگر مواد مغذی مستقیماً به ماتریس بتن افزوده شوند، هیدراتاسیون سیمان را تحت تأثیر قرار می‌دهند. برای کاهش تأثیر منفی مواد مغذی در خصوصیات مهندسی بتن، کپسول کردن باکتری و مواد مغذی، گزینه‌ی مناسبی است.

منابع (References)

1. Mindess, S., Young, F. and Darwin, D., *Concrete 2nd Edition*, Technical Documents (2003).
2. Mondal, S., Das, P. and Chakraborty, A.K. "Application of Bacteria in Concrete", *Materialstoday: Proceedings*, **4**(9), pp. 9833-9836 (2017).
3. Şahmaran, M. and Li, V.C. "Engineered cementitious composites, can composites be accepted as crack-free concrete", *Transportation Research Record*, **2164**(1), pp. 1-8 (2010).
4. Wang, J., Tittelboom, K.V., De Belie, N. and et al. "Use of silica gel or polyurethane immobilized bacteria for self-healing concrete", *Construction and Building Materials*, **26**(1), pp. 532-540 (2012).
5. Wang, J.Y., Soens, H., Verstraete, W. and et al. "Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores", *Cement and Concrete Research*, **56**, pp. 139-152 (2014).
6. Worrell, E., Price, L., Martin, N. and et al. "Carbon dioxide emissions from the global cement industry", *Annual Review of Energy and the Environment*, **26**(1), pp. 303-329 (2001).
7. Edvardsen, C. "Water permeability and autogenous healing of cracks in concrete", Innovation in Concrete Structures: Design and Construction, pp. 473-487 (1999).
8. Gross, A., Kaplan, D. and Baker, K. "Removal of chemical and microbiological contaminants from domestic greywater using a recycled vertical flow bioreactor (RVFB)", *Ecological Engineering*, **31**(2), pp. 107-114 (2007).
9. Chaturvedi, S., Chandra, R. and Rai, V. "Isolation and characterization of Phragmites australis (L.) rhizosphere bacteria from contaminated site for bioremediation of colored distillery effluent", *Ecological Engineerin*, **27**(3), pp. 202-207 (2006).
10. Jugnia, L-B., Cabral, A.R. and Greer, C.W. "Biotic methane oxidation within an instrumented experimental landfill cover", *Ecological Engineering*, **33**(2), pp. 102-109 (2008).
11. Dick, J., De Windt, W., De Graef, B. and et al. "Biodeposition of a calcium carbonate layer on degraded limestone by Bacillus species", *Biodegradation*, **17**(4), pp. 357-367 (2006).
12. Feng, J., Su, Y. and Qian, C. "Coupled effect of PP fiber, PVA fiber and bacteria on self-healing efficiency of early-age cracks in concrete", *Construction and Building Materials*, **228**, pp.10-28 (2019).
13. Salmasi, F. and Mostofinejad, D. "Investigating the effects of bacterial activity on compressive strength and durability of natural lightweight aggregate concrete reinforced with steel fibers", *Construction and Building Materials*, **251**, pp.32-44 (2020).
14. Xu, J. and Wang, X. "Self-healing of concrete cracks by use of bacteria-containing low alkali cementitious material", *Construction and Building Materials*, **167**, pp. 1-14 (2018).
15. Chahal, N., Siddique, R. and Rajor, A. "Influence of bacteria on the compressive strength, water absorption and rapid chloride permeability of concrete incorporating silica fume", *Construction and Building Materials*, **3**, pp. 645-651 (2012).
16. Achal, V., Mukherjee, A., Goyal, S. and et al. "Corrosion prevention of reinforced concrete with microbial calcite precipitation", *ACI Materials Journal*, **109**(2), pp. 157-164 (2012).
17. De Belie, N. and Wang, J. "Bacteria-based repair and self-healing of concrete", *Journal of Sustainable Cement-Based Materials*, **5**(1-2), pp. 35-56 (2016).
18. Hammes, F., Boon, N., de Villiers, J. and et al. "Strain-specific ureolytic microbial calcium carbonate precipitation", *Applied and Environmental Microbiology*, **69**(8), pp. 4901-4909 (2003).
19. Radha Kiranmaye, B., Dutta, J.R., Kar, A. and et al. "Optimization of culture parameters of Pseudomonas alcaligenes for crack healing in concrete", *Materials Today: Proceedings*, **28**(Part 2), pp. 713-716 (2020).
20. Muhammad, N.Z., Shafaghat, A., Keyvanfar, A. and et al. "Tests and methods of evaluating the self-healing efficiency of concrete: a review", *Construction and Building Materials*, **112**, pp. 1123-1132 (2016).
21. De Muynck, W., Cox, K., De Belie, N. and et al. "Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete", *Construction and Building Materials*, **22**(5), pp. 875-885 (2008).
22. Shahid, S., Aslam, M.A., Ali, Sh. and et al. "Self-healing of cracks in concrete using bacillus strains encapsulated in sodium alginate beads", *ChemistrySelect*, **5**(1), pp. 312-323 (2020).
23. Mondal, S. and Ghosh, A.D. "Investigation into the optimal bacterial concentration for compressive strength enhancement of microbial concrete", *Construction and Building Materials*, **183**, pp. 202-214 (2018).
24. Jiang, L., Jia, G., Wang, Y. and et al. "Optimization of sporulation and germination conditions of functional bacteria for concrete crack-healing and evaluation of their repair capacity", *ACS Applied Materials & Interfaces*, **12**(9), pp. 10938-10948 (2020).
25. Kessler, M.R., Sottos, N.R. and White, S.R. "Self-healing structural composite materials", *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, **34**(8), pp. 743-753 (2003).
26. Mostavi, E., Asadi, S., Hassan, M.M. and et al. "Evaluation of self-healing mechanisms in concrete with double-walled sodium silicate microcapsules", *Journal of Materials in Civil Engineering*, **27**(12), pp.1-8 (2015).
27. Yang, Y., Lepech, M.D., Yang, E-H. and et al. "Autogenous healing of engineered cementitious composites under wet-dry cycles", *Cement and Concrete Research*, **39**(5), pp. 382-390 (2009).
28. Hung, C-C. and Su, Y-F. "Medium-term self-healing evaluation of Engineered Cementitious Composites with varying amounts of fly ash and exposure durations", *Construction and Building Materials*, **118**, pp. 194-203 (2016).

29. Cohades, A., Hostettler, N., Pauchard, M. and et al. "Stitched shape memory alloy wires enhance damage recovery in self-healing fibre-reinforced polymer composites", *Composites Science and Technology*, **161**, pp. 22-31 (2018).
30. Toohey, K.S., Sottos, N.R., Lewis, J.A. and et al. "Self-healing materials with microvascular networks", *Nature Materials*, **6**(8), pp. 581-585 (2007).
31. Dry, C. "Three designs for the internal release of sealants, adhesives, and waterproofing chemicals into concrete to reduce permeability", *Cement and Concrete Research*, **30**(12), pp. 1969-1977 (2000).
32. Nishiwaki, T., Mihashi, H., Jang, B-K. and et al. "Development of self-healing system for concrete with selective heating around crack", *Journal of Advanced Concrete Technology*, **4**(2), pp. 267-275 (2006).
33. Talaiekhozan, A., Keyvanfar, A., Shafaghat, A. and et al. "A review of self-healing concrete research development", *Journal of Environmental Treatment Techniques*, **2**(1), pp. 1-11 (2014).
34. Schlangen, E. "Fracture mechanics, CT5146 lecture notes, in: Hua X. self-healing of engineered cementitious composites (ECC) in concrete repair system", Master thesis, Delft University of Technology (2010).
35. Dhami, N.K., Reddy, M.S. and Mukherjee, A. "Improvement in strength properties of ash bricks by bacterial calcite", *Ecological Engineering*, **39**, pp. 31-35 (2012).
36. Hammes, F. and Verstraete, W. "Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation", *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, **1**(1), pp. 3-7 (2002).
37. Parastegari, N., Mostofinejad, D. and Poursina, D. "Use of bacteria to improve electrical resistivity and chloride penetration of air-entrained concrete", *Construction and Building Materials*, **210**, pp. 588-595 (2019).
38. Schultze-Lam, S., Fortin, D., Davis, B. and et al. "Mineralization of bacterial surfaces", *Chemical Geology*, **132**(1-4), pp. 171-181 (1996).
39. Tziviloglou, E., Van Tittelboom, K., Palin, D. and et al. "Bio-based self-healing concrete: from research to field application", *Self-healing Materials*, pp. 345-385 (2016).
40. Achal, V. and Mukherjee, A. "A review of microbial precipitation for sustainable construction", *Construction and Building Materials*, **93**, pp. 1224-1235 (2015).
41. Stocks-Fischer, S., Galinat, J.K. and Bang, S.S. "Microbiological precipitation of CaCO3", *Soil Biology and Biochemistry*, **31**(11), pp. 1563-1571 (1999).
42. De Muynck, W., De Belie, N. and Verstraete, W. "Microbial carbonate precipitation in construction materials: a r andview", *Ecological Engineering*, **36**(2), pp. 118-136 (2010).
43. Mondal, S. and Ghosh, A.D. "Review on microbial induced calcite precipitation mechanisms leading to bacterial selection for microbial concrete", *Construction and Building Materials*, **225**, pp. 67-75 (2019).
44. Hosseini Balam, N., Mostofinejad, D. and Eftekhar, M. "Effects of bacterial remediation on compressive strength, water absorption, and chloride permeability of lightweight aggregate concrete", *Construction and Building Materials*, **145**, pp. 107-116 (2017).
45. Wang, J.Y., Snoeck, D., Van Vlierberghe, S. and et al. "Application of hydrogel encapsulated carbonate precipitating bacteria for approaching a realistic self-healing in concrete", *Construction and Building Materials*, **68**, pp. 110-119 (2014).
46. Jonkers, H.M., Thijssen, A., Muyzer, G. and et al. "Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete", *Ecological Engineering*, **36**(2), pp. 230-235 (2010).
47. Tripathi, E., Anand, K., Goyal, S. and et al. "Bacterial based admixed or spray treatment to improve properties of concrete", *Sādhanā*, **44**(1), p. 19 (2019).
48. De Muynck, W., Leuridan, S., Van Loo, D. and et al. "Influence of pore structure on the effectiveness of a biogenic carbonate surface treatment for limestone conservation", *Applied and Environmental Microbiology*, **77**(19), pp. 6808-6820 (2011).
49. Balam, N.H., Mostofinejad, D. and Eftekhar, M. "Use of carbonate precipitating bacteria to reduce water absorption of aggregates", *Construction and Building Materials*, **141**, pp. 565-577 (2017).
50. Wang, J., Mignon, A., Trenson, G. and et al. "A chitosan based pH-responsive hydrogel for encapsulation of bacteria for self-sealing concrete", *Cement and Concrete Composites*, **93**, pp. 309-322 (2018).
51. Wang, J., Dewanckele, J., Cnudde, V. and et al. "X-ray computed tomography proof of bacterial-based self-healing in concrete", *Cement and Concrete Composites*, **53**, pp. 289-304 (2014).
52. Jonkers, H.M. "Self healing concrete: a biological approach", *Self Healing Materials*, **100**, pp. 195-204 (2007).
53. Luo, M. and Qjan, C. "Influences of bacteria based Self-healing agents on cementitious materials hydration kinetics and compressive strength", *Construction and Building Materials*, **4**, pp. 1132-1141 (2016).
54. Zhang, Y., Guo, H.X. and Cheng, X.H. "Role of calcium sources in the strength and microstructure of microbial mortar", *Construction and Building Materials*, pp. 171-177 (2015).
55. Khaliq, W. and Ehsan, MB. "Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques", *Construction and Building Materials*, **102**, pp. 349-357 (2016).
56. Kalhori, H. and Bagherpour, R. "Application of carbonate precipitating bacteria for improving properties and repairing cracks of shotcrete", *Construction and Building Materials*, **148**, pp. 249-260 (2017).
57. Zhang, J., Liu, Y., Feng, T. and et al. "Immobilizing bacteria in expanded perlite for the crack self-healing in concrete", *Construction and Building Materials*, **148**, pp. 610-617 (2017).
58. Kua, H.W., Gupta, S., Aday, A.N. and et al. "Biochar-immobilized bacteria and superabsorbent polymers enable self-healing of fiber-reinforced concrete after multiple damage cycles", *Cement and Concrete Composites*, **100**, pp. 35-52 (2019).
59. De Belie, N. "Application of bacteria in concrete: a critical evaluation of the current status", *Rilem Technical Letters*, **1**, pp. 56-61 (2016).

60. Liu, C., Xu, X., Lv, Z. and et al. "Self-healing of concrete cracks by lmmobilizing microorganisms in recycled aggregate", *Journal of Advanced Concrete Technology*, **18**(4), pp. 168-178 (2020).

61. Wu, M., Hu, X., Zhang, Q. and et al. "Growth environment optimization for inducing bacterial mineralization and its application in concrete healing", *Construction and Building Materials*, **209**, pp. 631-643 (2019).

62. Shaheen, N., Khushnood, R.A., Khaliq, W. and et al. "Synthesis and characterization of bio-immobilized nano/micro inert and reactive additives for feasibility investigation in self-healing concrete", *Construction and Building Materials*, **226**, pp. 492-506 (2019).

63. Van Tittelboom, K., De Muynck, W., De Belie, N. and et al. "Bacteria protect and heal concrete and stone", *WTA Schriftenreihe*, **33**, pp. 439-457 (2009).

64. Achal, V. and Pan, X. "Influence of calcium sources on microbially induced calcium carbonate precipitation by Bacillus sp. CR2", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **173**(1), pp. 307-317 (2014).

65. Xu, J., Yao, W. and Jiang, Z. "Non-ureolytic bacterial carbonate precipitation as a surface treatment strategy on cementitious materials", *Journal of Materials in Civil Engineering*, **26**(5), pp. 983-991 (2014).

66. Maheswaran, S., Dasuru, S., Murthy, A.R.C. and et al. "Strength improvement studies using new type wild strain Bacillus cereus on cement mortar", *Current Science*, pp. 50-57 (2014).

67. Gavimath, C., Mali, B., Hooli, V. and et al. "Potential application of bacteria to improve the strength of cement concrete", *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, **3**(1), pp. 541-544 (2012).

68. Jagadeesha Kumar, B., Prabhakara, R. and Pushpa, H. "Effect of bacterial calcite precipitation on compressive strength of mortar cubes", *Int. J. Eng. Adv. Technol*, **2**(3), pp. 486-491 (2013).

69. Senthilkumar, V., Palanisamy, T. and Vijayakumar, V. "Comparative studies on strength characteristics of microbial cement mortars", *Int. J. Chem. Tech. Res*, **6**(1), pp. 578-590 (2014).

70. Afifudin, H., Hamidah, M.S., Noor Hana, H. and et al. "Microorganism precipitation in enhancing concrete properties", *Applied Mechanics and Materials*, **99-100**, pp. 1157-1165 (2011).

71. Sahoo, K.K., Sathyan, A.K., Sarkar, P. and et al. "Improvement of the mechanical properties of mortar and concrete using ureolytic bacteria", *Proceedings of the Institution of Civil Engineers-Construction Materials*, **171**(5), pp. 179-186 (2018).

72. Ghosh, P., Mandal, S., Chattopadhyay, B. and et al. "Use of microorganism to improve the strength of cement mortar", *Cement and Concrete Research*, **35**(10), pp. 1980-1983 (2005).

73. Kumari, C., Das, B., Jayabalan, R. and et al. "Effect of nonureolytic bacteria on engineering properties of cement mortar", *Journal of Materials in Civil Engineering*, **29**(6), pp.1-9 (2017).

74. Chahal, N. and Siddique, R. "Permeation properties of concrete made with fly ash and silica fume: influence of ureolytic bacteria", *Construction and Building Materials*, **49**, pp. 161-174 (2013).

75. Siddique, R., Jameel, A., Singh, M. and et al. "Effect of bacteria on strength, permeation characteristics and micro-structure of silica fume concrete", *Construction and Building Materials*, **142**, pp. 92-100 (2017).

76. Siddique, R. and Rajor, A. "Influence of bacterial treated cement kiln dust on the properties of concrete", *Construction and Building Materials*, **52**, pp. 42-51 (2014).

77. Siddique, R., Singh, K., Singh, M. and et al. "Properties of bacterial rice husk ash concrete", *Construction and Building Materials*, **121**, pp. 112-119 (2016).

78. Jonkers, H.M. and Schlangen, E. editors. "Development of a bacteria-based self healing concrete", Proc. int. FIB Symposium. (2008).

79. Andalib, R., Abd Majid, M.Z., Hussin, M.W. and et al. "Optimum concentration of Bacillus megaterium for strengthening structural concrete", *Construction and Building Materials*, **118**, pp. 180-193 (2016).

80. Senthilkumar, V., Palanisamy, T. and Vijayakumar, V. "Fortification of compressive strength in enterococcus microorganism incorporated microbial cement mortar", *International Journal of Chem. Tech. Research*, **6**(1), pp. 636-644 (2014).

81. Phung, Q.T., Maes, N., De Schutter, G. and et al. "Determination of water permeability of cementitious materials using a controlled constant flow method", *Construction and Building Materials*, **47**, pp. 1488-1496 (2013).

82. Karimi, N. and Mostofinejad, D. "Bacillus subtilis bacteria used in fiber reinforced concrete and their effects on concrete penetrability", *Construction and Building Materials*, **230**, 117051 (2020).

83. Achal, V., Pan, X. and Özyurt, N. "Improved strength and durability of fly ash-amended concrete by microbial calcite precipitation", *Ecological Engineering*, **37**(4), pp. 554-559 (2011).

84. Irwan, J., Teddy, T., Othman, N. and et al. "Long term effect of strength and durability performance of concrete containing sulphate reduction bacteria under chloride condition", IOP Conference Series: The 2nd Global Congress on Construction, Material and Structural Engineering, **713**(1), pp.1-6(2020).

85. Nosouhian, F., Mostofinejad, D. and Hasheminejad, H. "Influence of biodeposition treatment on concrete durability in a sulphate environment", *Biosystems Engineering*, **133**, pp. 141-152 (2015).

86. Achal, V., Mukerjee, A. and Reddy, M.S. "Biogenic treatment improves the durability and remediates the cracks of concrete structures", *Construction and Building Materials*, **48**, pp. 1-5 (2013).

87. Gupta, S., Kua, H.W. and Dai Pang, S. "Healing cement mortar by immobilization of bacteria in biochar: an integrated approach of self-healing and carbon sequestration", *Cement and Concrete Composites*, **86**, pp. 238-254 (2018).

88. Tayebani, B. and Mostofinejad, D. "Penetrability, corrosion potential, and electrical resistivity of bacterial concrete", *Journal of Materials in Civil Engineering*, **31**(3), pp.1-11 (2019).

89. Jiang, L., Jia, G., Jiang, C. and et al. "Sugar-coated expanded perlite as a bacterial carrier for crack-healing concrete applications", *Construction and Building Materials*, **232**, pp.22-30 (2020).

90. Ghosh, S., Biswas, M., Chattopadhyay, B. and et al. "Microbial activity on the microstructure of bacteria modified mortar", *Cement and Concrete Composites*, **31**(2), pp. 93-98 (2009).

91. Kim, H.-K., Park, S-J., Han, J-I. and et al. "Microbially mediated calcium carbonate precipitation on normal and lightweight concrete", *Construction and Building Materials*, **38**, pp. 1073-1082 (2013).

92. Van Mullem, T., Gruyaert, E., Caspeele, R. and et al. "First large scale application with self-healing concrete in belgium: analysis of the laboratory control tests", *Materials*, **13**(4), 997, (2020).

93. Lors, C., Damidot, D., Petit, L. and et al. "Bioprecipitation of a calcium carbonate-biofilm composite on the surface of concrete for the maintenance of nuclear reactor enclosures", *Construction and Building Materials*, **237**, pp.18-26 (2020).