

Bê-Tông tự liền vết nứt ứng dụng cơ chế hoạt tính sinh học của vi khuẩn *Bacillus subtilis*

- Nguyễn Ngọc Trí Huỳnh
- Nguyễn Khánh Sơn

Trường Đại học Bách khoa, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 23 tháng 4 năm 2014, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 7 tháng 8 năm 2014)

TÓM TẮT:

Bê-tông tự liền vết nứt hay bê-tông sinh học là những loại bê-tông có biểu hiện đặc tính thông minh, một loại vật liệu sống có khả năng tự liền, tự khắc phục khuyết điểm trong quá trình sử dụng. Gần đây loại vật liệu này đã thu hút được rất nhiều sự quan tâm từ các nhà nghiên cứu nhằm khai thác khả năng tự liền, cải thiện tính bền cho vật liệu bê-tông thường. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành bước tiếp cận khảo sát vai trò của chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* khi được cấy vào trong sản phẩm xi-măng, vữa. Vi khuẩn với mật độ 10^9 và 10^{11} cfu/g được nuôi cấy và cho phát triển trong các môi trường khác nhau bao gồm: trong điều kiện thường (đĩa Petri), trong hỗn hợp hồ xi-măng và phân tán trong sản phẩm vữa xi-măng, mẫu kích thước 40x40x160mm. Sản phẩm tổng hợp

khoáng calcite được phát hiện ở các thời điểm bảo dưỡng khác nhau 7-14-28 ngày dựa trên các phép phân tích thành phần phổ XRD và ảnh chụp vi cấu trúc (kính hiển vi quang học, kính hiển vi điện tử quét SEM). Nhờ sự hiện diện của khoáng calcite, các kết quả khảo sát cơ tính bao gồm tính chịu uốn và chịu nén trên mẫu vữa đều có xu hướng tăng tới 30% so với mẫu chuẩn không chứa vi khuẩn. Hiệu ứng tự liền được khảo sát trên vết đứt gãy rộng 0,5mm của mẫu vữa dạng thanh 40x40x160mm sau 14 ngày dưỡng hộ trong nước. Kết quả thu được và các nhận xét kèm theo là cơ sở để chúng tôi tiếp tục phát triển nghiên cứu tính tự liền trên mẫu bê-tông có kích thước lớn.

Từ khóa: Bê-tông tự liền, bê-tông sinh học, vi khuẩn *Bacillus subtilis*, khoáng calcite.

1. TỔNG QUAN VÀ GIỚI THIỆU CƠ CHẾ TỰ LIỀN NHỜ VI KHUẨN

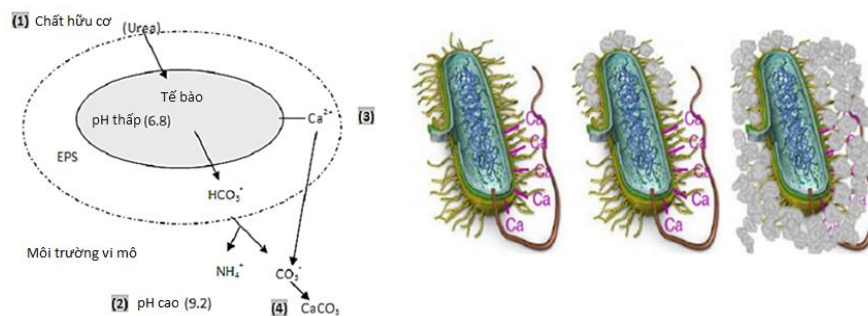
Đối với vật liệu bê-tông, các vết nứt tế vi luôn đi kèm với quá trình đóng rắn và phát triển cường độ. Các vết nứt này đến từ những nguyên nhân không thể bỏ qua như phản ứng thủy hóa, co ngót, bảo dưỡng. Vai trò tác động trong thời gian ngắn của chúng có thể không lớn, tuy nhiên

trong thời gian dài lại mang ý nghĩa quyết định đến tính bền của bê-tông. Theo thời gian, nước cũng như các tác nhân ăn mòn có thể len vào những kẽ nứt, làm xói mòn bê-tông từ bên trong và các tác nhân oxy hóa còn được tạo điều kiện xâm nhập gây ăn mòn, phá hủy cốt thép dẫn đến rò rỉ, nứt vỡ hay bất ngờ phá hủy toàn bộ khối cấu kiện. Quy chuẩn hạn chế đến mức thấp nhất bề rộng các vết nứt, đảm bảo chúng không vượt

quá giới hạn an toàn cho phép. Nếu ta có thể làm cho khối bê-tông tự bản thân nó có khả năng hàn gắn, tự liền các vết nứt (self-healing), điều này sẽ giúp đảm bảo độ bền vững của các công trình bê-tông. Hướng tới triển vọng mơ ước của loài người trong việc chế tạo và ứng dụng các dạng vật liệu “sống” thông minh tự lành, tự khắc phục khuyết điểm.

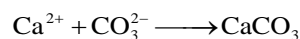
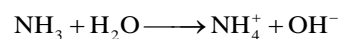
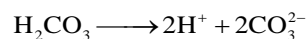
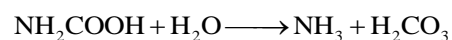
Cơ chế sinh học vi khuẩn căn bản dựa trên quá trình tạo ra các tinh thể calcite (CaCO_3) để làm cầu nối nối liền các vết nứt xuất hiện trên bề mặt bê-tông. Vi khuẩn chuyển hóa các chất dinh dưỡng hòa tan thành CaCO_3 không tan và đóng rắn cứng trên bề mặt các vết nứt [1, 3]. Quá trình này bắt chước quá trình liền xương trong cơ thể người, các tế bào tạo xương sẽ bị khoáng hóa để tạo thành xương và tạo cầu nối làm liền

dần vết xương gãy. Các nhóm vi khuẩn mang tính ureolytic có thể tạo ra CaCO_3 trong môi trường kiềm nhờ vào chuyển hoá urea thành ammonium và carbonate [1]. Sự phân hủy urea làm tăng pH cục bộ và tăng sự lắng đọng của các tinh thể calcite đóng vai trò như thành phần hàn gắn vết nứt. Theo ghi nhận, các vết nứt trong bê-tông với chiều rộng đến 0,2mm có thể tự liền lại [2- 4]. Các vết nứt tế vi đủ lớn để trở thành ống mao dẫn cho phép nước len vào. Nếu có sự kết hợp thủy hóa các hạt xi-măng vi khuẩn có thể giúp làm liền các vết nứt lên đến 0,5mm. Theo phân tích của Al Thawadi [5], quá trình hình thành CaCO_3 có thể được chia ra theo 4 giai đoạn như trên hình 1 (trái): (1) Thủy phân Urea, (2) Sự gia tăng pH của môi trường vi mô, (3) Sự hấp phụ ion Ca^{2+} lên bề mặt, (4) Tạo mầm và phát triển các tinh thể calcite.



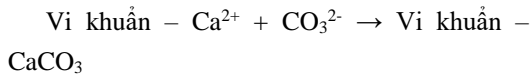
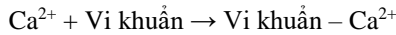
Hình 1. Trái: Quá trình hình thành CaCO_3 theo cơ chế sinh học (vẽ lại ghi chú theo tham khảo [5]). Phải: Mô hình tạo calcite (màu xám) trên thành tế bào vi khuẩn (theo tham khảo [6] với xin phép)

Vi khuẩn *Bacillus subtilis* có tính xúc tác thủy phân urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) thành amonia (NH_4^+) và carbon dioxide (CO_3^{2-}) qua các phản ứng trung gian. Trong đó sự chuyển dịch pH và sự hiện diện của nước thúc đẩy quá trình hòa tan phân ly diễn ra [5].



Từ đó thành tế bào vi khuẩn tích điện, hút các cation từ môi trường, bao gồm ion Ca^{2+} , tích

lũy lên bề mặt thành tế bào vi khuẩn, hình 1 (phải) minh họa quá trình tiếp theo. Các ion Ca^{2+} sau đó phản ứng với các ion CO_3^{2-} , dẫn đến sự hình thành $CaCO_3$ ở bề mặt thành tế bào vi khuẩn theo phản ứng sau [5]:

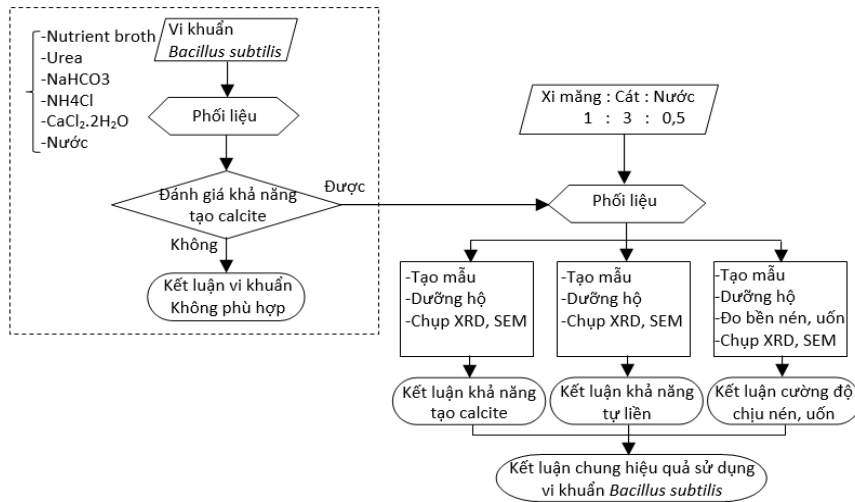


Tiếp theo đây, chúng tôi tiến hành lần lượt các khảo sát từng bước về vai trò của vi khuẩn Gram dương thuộc chủng *Bacillus subtilis* đến tính chất tự liền của mẫu vữa xi-măng. Bao gồm

đặc trưng về mật độ bào tử sử dụng và khả năng tạo khoáng calcite trong môi trường nuôi cấy tự nhiên, cũng như khả năng tồn tại và phát triển các khoáng calcite này trong môi trường thủy hóa hồ xi-măng. Đặc trưng phân tán và ảnh hưởng đến các tính chất cơ lý của sản phẩm hỗn hợp vữa xi-măng và sinh khối vi khuẩn giúp hoàn thiện quá trình khảo sát cho phép tiếp cận các nghiên cứu trên cấp độ mẫu vật liệu bê-tông. Sơ đồ tổng quát được trình bày trên hình 2.

2. THỰC NGHIỆM VÀ NGUYÊN LIỆU

2.1. Phương pháp thực nghiệm



Hình 2. Sơ đồ tổng quát quy trình thực nghiệm

Giai đoạn 1, bào tử vi khuẩn *Bacillus subtilis* được chọn và nuôi cấy trong môi trường có bổ sung các thành phần dinh dưỡng phù hợp nhằm thu được sinh khối để khảo sát khả năng hình thành calcite theo cơ chế sinh học. Vi khuẩn được nuôi trên đĩa Petri trong điều kiện bình thường của phòng thí nghiệm ở nhiệt độ 25°C và độ ẩm 90%. Mật độ bào tử khảo sát trong khoảng 10^9 - 10^{11} cfu/g. Tiến hành kiểm tra sự hoạt động của vi khuẩn thông qua các quan sát mẫu đĩa Petri trên kính hiển vi quang học sau

các mốc thời gian 3, 7, 10 ngày. Sau đó sinh khối được sấy khô và tiến hành phân tích XRD (Model Bruker-D8 Advance, sử dụng cực Cu; quét chậm từ 10° - 50°) nhằm định tính khoáng calcite tạo thành. Theo lý thuyết, vi khuẩn *Bacillus subtilis* được biết đến với đặc tính kháng kiềm mạnh (pH=13). Chúng tôi tiến hành khảo sát vi khuẩn tồn tại và phát huy hoạt tính sinh học của nó trong môi trường hồ xi-măng thủy hóa. Giai đoạn 2, tạo hình mẫu hồ xi-măng với nước trong khuôn kích thước 4x4x16cm

(TCVN 6016:1995) và bảo dưỡng cho phát triển đóng rắn trong nước. Tiến hành các quan sát vi cấu trúc bằng ảnh chụp kính hiển vi điện tử quét SEM, đồng thời tìm kiếm thành phần khoáng calcite qua phân tích XRD sau các mốc thời gian 3, 7 ngày.

Với đặc điểm của quá trình tổng hợp kéo dài, khoáng calcite theo cơ chế sinh học tại các điểm tập trung có thể gây những ra biến dạng thay đổi thể tích nhất định, đặc biệt là khi khung chịu lực khoáng sản phẩm thủy hóa C-S-H của xi-măng đã định hình. Đồng thời, chính sự hiện diện phân tán của calcite theo vị trí các khuyết tật lỗ rỗng mao quản và vết nứt tế vi được cho là có thể giúp cải thiện tính chất chung của vữa xi-măng đóng rắn. Tạo hình mẫu vữa xi-măng-cát-nước trong khuôn kích thước 4x4x16cm và bảo dưỡng trong nước (TCVN 6016:1995). Các đặc trưng về cường độ chịu lực nén, uốn được xác định sau các mốc thời gian 3, 7, 28, 60 ngày (Máy nén Matest C140, tốc độ gia tải 2,4 kN/s), đồng thời tiến hành các phân tích thành phần khoáng XRD và vi cấu trúc SEM. Việc kiểm soát được quá trình hình thành và phát triển tinh thể khoáng calcite trong các không gian trống cho phép tăng cường tính liên kết. Môi trường ẩm đóng vai trò quan trọng cho sự kết tụ và phát triển tinh thể calcite. Các vị trí khe nứt, lỗ rỗng mao quản trong vữa xi-măng đóng vai trò các kênh dẫn nước li ti, tạo môi trường khai thác hoạt tính sinh học vi khuẩn. Các mẫu vữa thanh

trụ kích thước 4x4x16cm sau tạo hình 1 ngày tuổi được phá hủy đứt lia, sau đó tiếp tục được giữ cố định rồi ngâm trong nước bảo dưỡng. Sau các mốc thời gian bảo dưỡng 14, 28 ngày, tiến hành quan sát tính tự liên vết nứt ban đầu, đồng thời phân tích đánh giá thành phần khoáng XRD, vi cấu trúc SEM tại vị trí này.

2.2. Nguyên liệu

Như đã đề cập ở trên, chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* được chọn dựa trên các tiêu chí về tính bền kiềm, hiếu khí, điều kiện nuôi cấy đơn giản, khả năng sống cao, cũng như phù hợp với các tiêu chí an toàn và môi trường mà chúng tôi sử dụng trong nghiên cứu này. Trong thực tế, chủng vi khuẩn này được dùng trong chế biến thực phẩm như một dạng lợi khuẩn bổ sung. Bào tử vi khuẩn được sản xuất trong nước tại Công ty cổ phần ANABIO theo bản quyền của Đại học Hoàng gia Holloway (Anh). Từ bào tử gốc với mật độ 10^{11} cfu/g sẽ được pha loãng và nuôi cấy cho phát triển. Các thành phần dinh dưỡng giúp cho sự tồn tại, phát triển và tạo khoáng calcite của vi khuẩn bao gồm nutrient broth, urea, NH_4Cl , NaHCO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Đây là những loại muối thương mại dễ kiếm trên thị trường. Thành phần các chất dinh dưỡng được chúng tôi chuẩn bị phối trộn với nước theo tỉ lệ trong bảng 1. Hồ dung dịch thu được được bảo quản kỹ để đem đi sử dụng trong suốt quá trình thí nghiệm.

Bảng 1. Tỷ lệ phối trộn tạo 7g hồ sinh khối vi khuẩn

| Thành phần | Định lượng (g) | Tỷ lệ (%) |
|---|----------------|-----------|
| Vi khuẩn <i>Bacillus subtilis</i> | 2,25 | 22,61 |
| Urea | 2 | 20,10 |
| Nutrient Broth | 0,5 | 5,03 |
| NH_4Cl | 0,2 | 2,01 |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1 | 10,05 |
| NaHCO_3 | 4 | 40,20 |

Bào tử vi khuẩn cùng các chất dinh dưỡng được phối trộn theo tỷ lệ trên nhằm tạo ra sinh khối phù hợp với sự phát triển và khả năng tạo khoáng calcite. Nếu tính toán lại mật độ vi khuẩn trên 1g sinh khối tương đương 10^9 tế bào vi khuẩn. Điều chỉnh mật độ này bằng cách thay đổi mật độ vi khuẩn ban đầu hoặc lượng hồ dung dịch sinh khối trong phối trộn vào vữa xi-măng. Trong khuôn khổ nghiên cứu này, chúng tôi chỉ xét hai mật độ vi khuẩn sử dụng là 10^9 cfu/g và 10^{11} cfu/g.

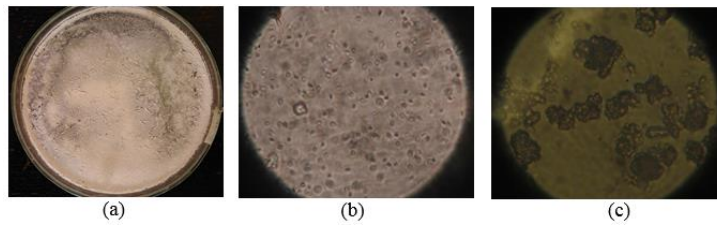
Đối với các nguyên liệu chế tạo vữa xi-măng được lựa chọn đáp ứng theo yêu cầu của tiêu chuẩn Việt Nam. Xi-măng Portland PC40 của Công ty xi-măng Hà Tiên Vicem là sản phẩm đóng bao thương mại, thỏa mãn các tiêu chí yêu cầu của tiêu chuẩn TCVN 2682:1999. Việc sử dụng xi-măng Portland với thành phần rõ ràng giúp tránh các ảnh hưởng của các tạp chất khoáng khác khi khảo sát. Cát tiêu chuẩn được sử dụng làm cốt liệu chế tạo vữa, có nguồn gốc là sản phẩm đóng bao của Công ty xi-măng Hà Tiên Vicem, đáp ứng tiêu chuẩn TCVN 6227:1996. Nước máy sạch của phòng thí nghiệm cũng sẽ được sử dụng trong các thí nghiệm liên quan đến vữa xi-măng. Mẫu vữa chế tạo trong phòng thí nghiệm tuân thủ theo tiêu chuẩn hướng dẫn về nhào trộn và đổ khuôn dạng thanh 4x4x16cm. Sau thời gian ổn định 24h, các thanh mẫu được tháo khuôn và bảo dưỡng liên tục trong môi trường nước cũng theo hướng dẫn của TCVN 6016:1995. Dung dịch nước bảo dưỡng được theo dõi trong suốt 28 ngày tiếp theo, súc rửa các cặn bẩn (nếu có) do một phần hồ dinh dưỡng trên bề mặt bị tan lắng.

3. KẾT QUẢ VÀ BÌNH LUẬN

3.1. Kết quả thành phần khoáng calcite tổng hợp

Theo các phân tích trong cơ chế chuyển hóa, ở điều kiện nhiệt độ, độ ẩm môi trường bình thường, tiếp xúc trực tiếp với không khí, vi khuẩn *Bacillus subtilis* có khả năng chuyển hóa các chất dinh dưỡng trong môi trường tạo thành khoáng calcite. Sau các mốc thời gian nuôi cấy trên đĩa Petri, mẫu sinh khối vi khuẩn *Bacillus subtilis* được đem đi quan sát. Hình 3a, b lần lượt là ảnh chụp dưới kính hiển vi quang học sau 7 và 14 ngày, cho thấy vẫn còn có thể quan sát được sự sống sót và hoạt động của các tế bào vi khuẩn này. Cụ thể trên hình 3a quan sát thấy hiện tượng các vảy tinh thể cứng trên mặt đĩa Petri, trên hình 3b quan sát thấy các đốm nhỏ vi khuẩn *Bacillus subtilis* phân tán rải rác. Và đặc biệt trên hình 3c ở độ phóng đại 40x, chúng tôi ghi nhận rõ ràng các tinh thể khoáng trong suốt bao quanh vi khuẩn sẫm màu hơn. Đây là thời điểm sau 14 ngày, có thể quan sát thấy vi khuẩn *Bacillus subtilis* vẫn còn hoạt động. Điều này chứng tỏ chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* này có khả năng tồn tại rất cao trong điều kiện nhiệt độ thường, đây là cơ sở quan trọng mà chúng tôi đã phân tích ở trên về tiêu chí lựa chọn vi khuẩn.

Có thể nhận thấy với việc cố định lượng sinh khối trên đĩa Petri, lượng calcite tạo thành phụ thuộc thời gian nuôi và mật độ vi khuẩn. Thời gian càng dài, mật độ vi khuẩn càng cao, lượng calcite tạo thành càng nhiều lan dần trên toàn bộ đường kính mặt đĩa Petri nuôi cấy, như các vảy cứng khi chạm vào như trên hình 3a.



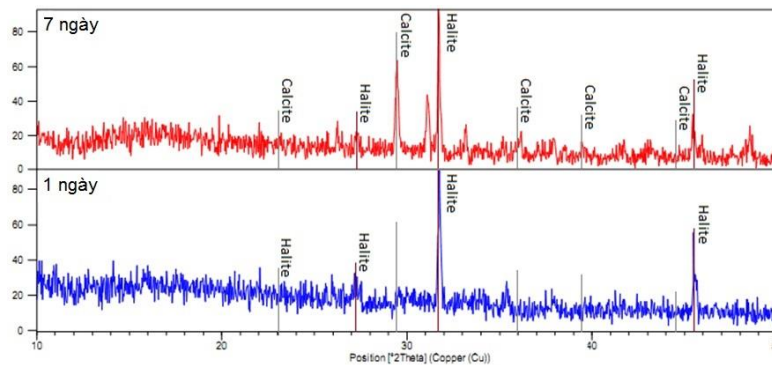
Hình 3. (a): Sự hình thành tinh thể trên đĩa Petri nuôi cấy sau 7 ngày

(b): Sinh khối mẫu vi khuẩn mật độ 10^{11} cfu/g sau 7 ngày dưới kính hiển vi quang học 10x

(c): Tinh thể calcite bọc xung quanh vi khuẩn sau 14 ngày, dưới kính hiển vi quang học 40x

Hình 4 trình bày phổ chụp XRD thành phần khoáng của bột cạo sinh khối đĩa Petri chuẩn bị sấy khô 120°C và nghiền mịn. Kết quả chồng phổ chuẩn của khoáng calcite cho thấy các peak nổi bật tại các vị trí $2\theta = 29,5; 36,5; 47,5$. Như vậy có thể khẳng định sự tạo thành của khoáng

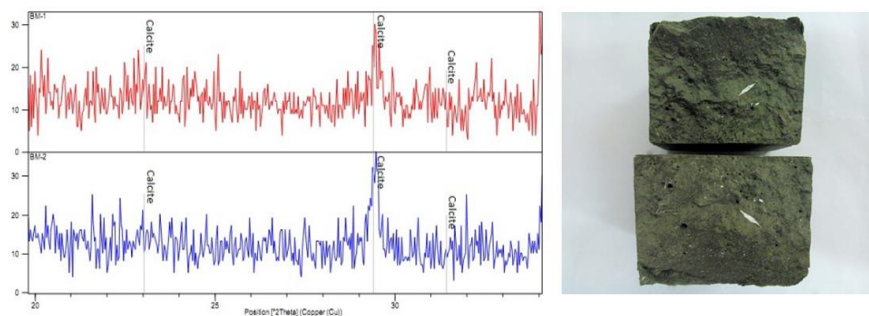
calcite sau thời gian nuôi cấy 7 ngày. Các vảy trong suốt quan sát trên ảnh chụp kính hiển vi quang học hình 6 là các tinh thể calcite này. Các muối đóng vai trò chất dinh dưỡng nuôi cấy cũng được quan sát thấy trên phổ chụp. Điển hình như halite (NaCl) tại các vị trí $2\theta = 32; 54,5$.



Hình 4. Phổ XRD của các mẫu vi khuẩn, $\text{CuK}\alpha$, cùng mật độ 10^9 cfu/g sau 1 và 7 ngày tuổi

Trong môi trường hồ xi-măng, vi khuẩn được chọn *Bacillus subtilis* vẫn hình thành quanh nó các tinh thể calcite. Bằng chứng là trên hình 5 (trái) chụp phổ XRD của hồ xi-măng đóng rắn 28 ngày tuổi có chứa sinh khối. Tinh thể khoáng calcite được phát hiện khi chồng phổ chuẩn tại các vị trí $2\theta = 29,5; 36,5; 47,5$. Đối với xi-măng Portland sử dụng là sản phẩm nghiền 95% clinker kết khối và 5% phụ gia đóng rắn

thạch cao thì sự hiện diện của khoáng calcite (hình 6) nhiều khả năng là kết quả của chuyển hóa. Đặc biệt trên hình ảnh trực quan quan sát được trên mặt gãy mẫu hồ xi-măng đóng rắn 14 ngày tuổi có thể thấy các vị trí sáng màu li ti hoặc dạng thanh mảnh chính là các tinh thể khoáng calcite (hình 5-phải). Một số điểm tụ đặc biệt các thanh calcite kích thước khoảng 4mm dễ dàng quan sát được bằng mắt thường.



Hình 5. Trái: Phổ XRD của các mẫu vi khuẩn sau 28 ngày tuổi, CuK α , với mật độ 10^9 cfu/g (BM1) và 10^{11} cfu/g (BM2).

Phải: mẫu hồ xi măng với calcite hình thành rải rác sau 14 ngày đóng rắn

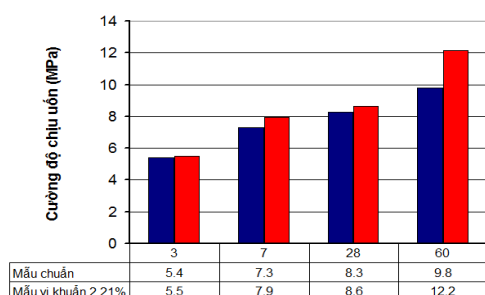
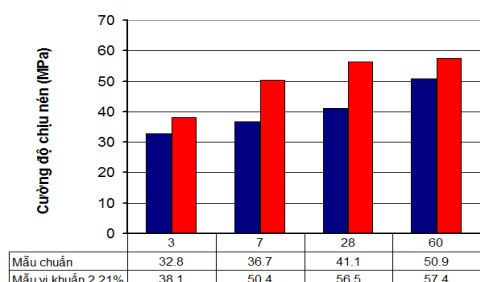
Môi trường hồ xi-măng thủy hóa, dưỡng hồ và đóng rắn có kiềm tính cao, thiếu không khí, đặc biệt là oxy, còn phải chịu thêm ứng suất nội lớn, nhiệt thủy hóa; chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* vẫn giữ nguyên khả năng tổng hợp tạo khoáng calcite như trong điều kiện nuôi cấy tự do. Định lượng kết quả trong hai trường hợp là cần thiết phải tiến hành để đánh giá chính xác ảnh hưởng của môi trường. Trong điều kiện tiếp xúc trực tiếp với môi trường bên ngoài, bên cạnh tinh thể calcite còn phát hiện được nhiều tinh thể khác, trong đó có tinh thể halite. Nguyên nhân là do trong điều kiện dung dịch loãng, các chất điện ly ra các ion dễ dàng, các ion này tồn tại và di chuyển tự do, một số các ion Ca^{2+} và Cl^- tự do không tham gia vào quá trình hình thành calcite theo cơ chế sinh học có thể kết hợp với nhau để tạo thành NaCl. Đây có thể xem là phụ phẩm của quá trình nuôi cấy vi khuẩn sử dụng sinh khối. Rõ ràng sinh khối sử dụng đưa vào xi-măng cần quan tâm yếu tố này nhằm loại bỏ hoàn toàn các ảnh hưởng xấu lên bản thân cấu trúc chính là ma trận xi-măng thủy hóa ở tính bền và chịu lực.

3.2. Kết quả các đặc trưng cơ lý của mẫu vữa

Theo kết quả nghiên cứu trước đây của Seshagiri Rao và cộng sự [8], các tinh thể calcite hình thành theo cơ chế sinh học bên

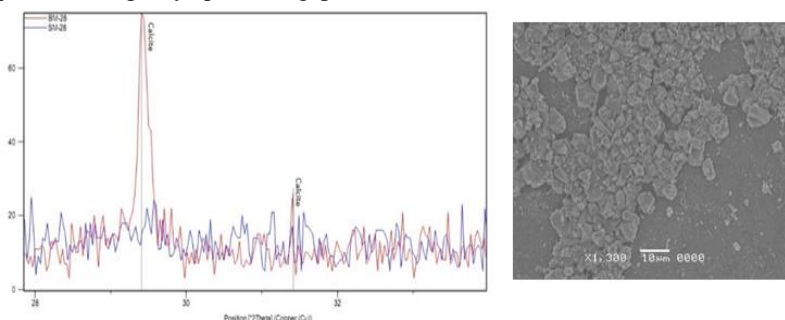
trong mẫu vữa xi-măng bê-tông giúp cải thiện độ bền nén và uốn so với mẫu chuẩn thông thường. Điều này được các tác giả giải thích là do khoáng calcite tạo thành bên trong các vị trí rỗng của cấu trúc xi-măng đóng rắn và lấp đầy chúng. Đối với chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* dạng hình que, đồng thời quan sát mẫu chụp các thanh khoáng calcite ở hình 5 có thể gây ảnh hưởng đến ứng xử cơ học của mẫu vữa chứa chúng. Sự thực trên hình 6 trình bày kết quả so sánh cường độ chịu nén và chịu uốn của mẫu vữa mang sinh khối (tỉ lệ 2,21% tổng xi-măng) và không mang sinh khối (mẫu chuẩn). Theo các mốc thời gian bảo dưỡng 3-7-28-60 ngày có thể nhận thấy quá trình phát triển cường độ liên tục của cả mẫu chuẩn và mẫu chứa vi khuẩn. Giá trị cường độ chịu nén, chịu uốn đều có chênh lệch khá lớn, với mẫu chuẩn đạt cao hơn trong sớm và dài ngày. Cường độ chịu nén sau 28 ngày của mẫu vữa vi khuẩn tăng đến 37,5% so với mẫu chuẩn. Theo kết quả nghiên cứu của Srinivasa Reddy và cộng sự [9], mức tăng cường độ nén đạt 19,3% sau 28 ngày khi có sự hiện diện khoáng calcite do vi khuẩn chuyển hóa. Như vậy môi trường bảo dưỡng với sự hiện diện của sinh khối và khoáng phụ phẩm halite dễ rửa trôi và không có ảnh hưởng đến cơ tính của ma trận vữa xi-măng. Vai trò của calcite lấp đầy các lỗ trống hay vết nứt như một pha phân

tán mới trong hệ composite nền vữa xi-măng đóng rắn chưa cho thấy ảnh hưởng rõ rệt. Đặc biệt cũng lưu ý với việc chuyển hóa giải phóng khí CO₂, NH₃ trong quá trình tạo calcite cũng không gây ảnh hưởng đến cơ tính sản phẩm. Cường độ chịu uốn tăng có thể nguyên nhân là do thành phần các thanh calcite lấp đầy theo dạng vi khuẩn hình que sử dụng.



Hình 6. Biểu đồ phát triển cường độ chịu nén, uốn của các mẫu vữa theo thời gian 3-60 ngày

Dựa trên kết quả chụp thành phần khoáng XRD của mẫu vữa, có thể thấy được sự khác biệt về thành phần khoáng này qua chồng phổ



Hình 7. Trái: Phổ XRD mẫu vữa vi khuẩn và mẫu chuẩn ở 28 ngày, CuK α . Phải: Ảnh SEM mẫu vữa vi khuẩn sau 28 ngày với độ phóng đại 1300x

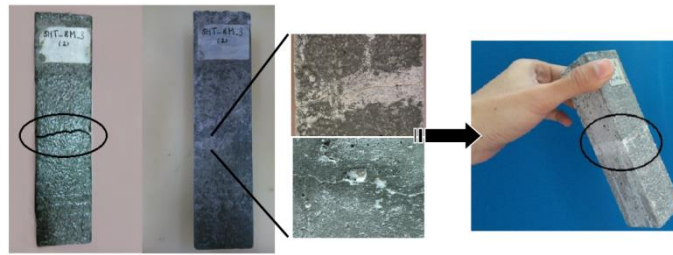
trên hình 7 (trái). Khoáng calcite trong phổ của mẫu vi khuẩn với peak đặc trưng tại $2\theta=29,5$ có cường độ cao vượt trội so với phổ của mẫu chuẩn. Ảnh chụp vi cấu trúc trên kính hiển vi điện tử quét SEM (hình 7-phải) cũng cho phép quan sát các tinh thể calcite với mức độ tập trung cao. Trên quy mô quan sát nhỏ cho thấy sự phân bố tập trung thành mảng chứ không rải rác. Rõ ràng việc phân tán và kiểm soát quá trình chuyển hóa calcite cần phải được quan tâm thì mới giúp cải thiện đặc trưng cơ lý của mẫu.

Theo nguyên tắc, do lượng calcite bị khống chế vừa đủ trong phạm vi không gian trống của vi cấu trúc, nên càng nhiều tinh thể calcite được tạo thành bên trong mẫu, cường độ bền nén và bền uốn càng cao. Cũng có thể gia tăng hơn nữa cường độ uốn bằng cách thử nghiệm các chủng vi khuẩn khác hoặc các biện pháp nhằm tăng chiều dài cho phù hợp của cốt liệu “sợi calcite” tạo thành từ calcite bao bọc vi khuẩn hình que. Kết quả này phù hợp với lý giải trong nghiên cứu của Seshagiri Rao và cộng sự [8] về cường độ chịu uốn. Sự phân bố đều khắp trong ma trận thủy hóa cũng có ý nghĩa quan trọng và là hệ quả của việc nhào trộn chế tạo.

3.3. Kết quả khả năng làm liền vết nứt 0,5mm tạo trước

Theo cơ chế sinh học, các tinh thể calcite chỉ hình thành và phát triển cho đến khi khoáng không gian mà quá trình chuyển hóa tạo khoáng bị lấp đầy, tức là lúc vết nứt và các lỗ trống được lấp kín. Nước từ bên ngoài không thâm nhập qua cấu trúc đặc của calcite sản phẩm để tạo môi trường ẩm cho chuyển hóa tiếp theo. Do đó, không có hiện tượng calcite hình thành quá

nhiều gây nứt do giãn nở thể tích. Đây là ghi nhận quan trọng do bản thân việc trương nở thể tích có thể gây tác dụng không tốt đến mẫu vữa xi-măng. Bên trong các vết nứt phá hoại là vết nứt lớn, vi khuẩn có đủ không gian và không khí độ ẩm cần thiết, cũng như có thể tiếp xúc được với các chất dinh dưỡng để chuyển hóa tạo thành các tinh thể calcite có tác dụng lấp kín và từ đó làm liền.



Hình 8. Kết quả liền vết nứt gãy của mẫu vữa sau 14 ngày và lớp calcite hình thành ở vết nứt giúp kết dính và làm liền vết nứt.

Hình 8 minh họa quá trình này trên mẫu thanh 4x4x16cm đứt lia được nối liền tại vị trí đứt rộng xấp xỉ 0,5mm. Bề rộng vết nứt tự liền 0,5mm cho thấy hiệu quả khi sử dụng chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* tốt hơn so với kết quả mà De Belie và cộng sự [4] sử dụng chủng vi khuẩn *Bacillus sphaericus*, thực hiện với vết nứt rộng 0,3mm. Sau thời gian 14 ngày dưỡng hộ trong nước, trên bề mặt vết nứt đã có thể liền lại (hình 8). Phóng đại ảnh chụp tại vị trí này cho thấy vết màu trắng của calcite đi dọc theo chiều dài vết nứt tương tự như lớp keo dính. Thanh mẫu có thể được nhấc lên mà không bị tách rời như trên hình. Điều này chứng tỏ mẫu đã biểu hiện giá trị bền uốn nhất định, tuy rất nhỏ.

4. KẾT LUẬN

Có thể khẳng định chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* có khả năng chuyển hóa các chất dinh dưỡng thành các tinh thể khoáng calcite trong môi trường xi-măng ẩm. Các bằng chứng khoa

học được chúng tôi phân tích bao gồm quan sát trên kính hiển vi quang học, kính hiển vi điện tử quét SEM và phổ thành phần XRD đều chứng minh sự tồn tại của sản phẩm calcite. Cách tiếp cận ở các cấp độ khảo sát từ môi trường nuôi cấy, môi trường hồ xi-măng và môi trường vữa là tiền đề để có thể ứng dụng chủng vi khuẩn này trong vật liệu bê-tông. Sự hiện diện của các tinh thể khoáng calcite tại các vị trí trống trong ma trận vữa xi-măng đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện các tính chất cơ lý của bê-tông. Cường độ chịu nén, chịu uốn được cải thiện do calcite hình thành bên trong, lấp đầy các lỗ trống của cấu trúc. Cụ thể hiệu quả cải thiện cường độ chịu nén cao trên 30% với mật độ vi khuẩn phù hợp là 10^9 cfu/g. Tương tự như cường độ chịu nén, cường độ chịu uốn của bê-tông vi khuẩn cũng cao hơn thông thường. Đây là một yếu tố có lợi, bởi bê-tông vốn không có cường độ chịu uốn cao. Các vết nứt tạo trước được lấp đầy và nối liền cũng nhờ vào các tinh

thể khoáng calcite này là minh họa sinh động mà chúng tôi thu được. Nếu kiểm soát tốt khả năng chuyển hóa khoáng calcite đặc biệt trong dài ngày, và tính phân tán của sản phẩm trong ma trận thủy hóa thì khả năng ứng dụng trong bê-tông là có thể với chủng vi khuẩn *Bacillus*

subtilis, hiện thực hóa việc chế tạo bê-tông thông minh tự liền trong các nghiên cứu tiếp theo.

LỜI CẢM ƠN: Tác giả cảm ơn ĐHBK Tp.HCM đã hỗ trợ đề tài NCKH SV năm 2013.

Use of Bio-Active *Bacillus subtilis* bacteria to form self-healing concrete

- Nguyen Ngoc Tri Huynh
- Nguyen Khanh Son

University of Technology, VNU-HCM

ABSTRACT:

Self-healing concrete or bio-concrete is considered as one kind of "living" smart materials. Recently, bio-concrete has become more attractive to researchers around the world because of its promising future in improving concrete durability. In this study, we investigate the role of Bacillus subtilis in healing cracked cement. Bacillus subtilis 10⁹cfu/g and 10¹¹cfu/g, respectively, was tested in the different scale sample: normal condition in Petri plate, binding in cement hydrate product and dispersing in cement mortar 40x40x160mm. From the

result of XRD analysis and microscopy (OP, SEM), calcite precipitates were found after curing time of 7, 14, and 28 days. In the presence of this calcite deposit, both results of compressive and flexural properties of cement mortar increased up to 30%. The self-healing effect was tested with a priori crack 0.5mm in large of a prismatic sample during 14 days of curing time. Specific discussion on the obtained results permit us to extend this study for concrete sample.

Key words: Self-healing, bio-concrete, *Bacillus subtilis*, bacteria, calcite.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Ramachandran S. K., Ramakrishnan V. and Bang S. S. "Remediation of concrete

using microorganisms." ACI Materials journal 98, no. 1 (2001).

- [2]. De Muynck W., Cox K., De Belie N. and Verstraete W. "Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete." *Construction and Building Materials* 22, no. 5: 875-885 (2008).
- [3]. Jonkers H. M. "Self healing concrete: a biological approach." In *Self Healing Materials*, pp. 195-204. Springer Netherlands (2008).
- [4]. De Belie N., & De Muynck W. "Crack Repair in Concrete Using Biodeposition." In *Proceedings of the 2nd International Conference on Concrete Repair, Rehabilitation, and Retrofitting (ICRRR)*, ed. Mark G. Alexander et al., 291-292. Leiden, The Netherlands: CRC Press/Balkema (2008).
- [5]. Al-Thawadi S. M.. "Ureolytic bacteria and calcium carbonate formation as a mechanism of strength enhancement of sand." *Journal of Advanced Science and Engineering Research* 1, no. 1 (2011).
- [6]. Castaner S., Le M. G., Perthuisot J. P., "Bacterial roles in the precipitation of carbonate minerals", In *Microbial sediments* (Ed Riding RE, Awramik SM) Heidelberg, Springer-Verlag, pp. 32-39 (2000).
- [7]. Srinivasa Reddy V., Achyutha Satya K., Seshagiri Rao M.V and Azmatunnisa M. "A Biological Approach To Enhance Strength And Durability In Concrete Structures." *International Journal of Advances in Engineering & Technology* 4, no.2 (2012).
- [8]. Seshagiri Rao M.V., Srinivasa Reddy V., Hafsa M., Veena P. and Anusha P. "Bioengineered Concrete-A Sustainable Self-Healing Construction Material." *Research Journal Engineering Sciences*, Vol.2(6), pp45-51 (2013).
- [9]. Srinivasa Reddy V., Sunil Pratap Reddy S., Seshagiri Rao M.V., Sasikala Ch., "Strength enhancement of cement mortar using microorganisms-an experimental study", *International Journal of Earth Sciences and Engineering*, vol. 4, pp. 933-936 (2011).
- [10]. Yang Y., Lepech M. D., Yang E. H. and Li V. C., "Autogenous healing of engineered cementitious composites under wet-dry cycles", *Cement and Concrete Research*, vol. 39, pp. 382-390 (2009).