

dr inż., Martyna Janek

Politechnika Lubelska

dr inż., Joanna Fronczyk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

prof. dr hab. inż., Wojciech Franus

Politechnika Lubelska

Biologiczne środki naprawcze jako sposób samonaprawy pęknięć zapraw i betonów

Biological Healing Agents as a Self-Healing Method for Cracks in Mortars and Concretes

Streszczenie

Samonaprawa struktury kompozytów cementowych to nowoczesna koncepcja, mogąca stanowić odpowiedź na główną wadę tych materiałów – podatność na powstawanie pęknięć. Jednym z mechanizmów samonaprawy jest wypełnianie pęknięć na skutek mikrobiologicznego wytrącania węglanów – MICP (z ang. Microbially Induced Carbonates Precipitation). Jest to proces oparty na wytrącaniu węglanów, w szczególności węglanu wapnia, w obecności odpowiednich szczepów bakterii, przy zapewnieniu optymalnych warunków środowiskowych. W niniejszej pracy oceniono potencjał odzyskania parametrów mechanicznych i transportowych oraz zdolność uszczelniania pęknięć zapraw i betonów zawierających biologiczne środki naprawcze, przygotowane poprzez impregnację materiałów porowatych dodawanych do mieszanek, diatomitu oraz zeolitów o dwóch typach struktury: NaX oraz NaP1, zawieszając endospor bakterii *Bacillus subtilis*. W ramach badań określono wpływ biologicznych środków naprawczych na parametry fizyko-mechaniczne zapraw i betonów, a także wieloaspektowo przeanalizowano zdolność samonaprawy zaprojektowanych materiałów. Próbkę zostały uszkodzone w testach kontrolowanego obciążania i poddane leczeniu w wodzie oraz roztworze składników odżywczych, stymulujących aktywność mikroorganizmów obecnych w matrycy cementowej. Ocena samonaprawy obejmowała współczynnik powierzchniowej naprawy rys, odzyskanie wytrzymałości na ściskanie oraz przepuszczalność wody. Analizie poddano także skład fazowy i chemiczny oraz morfologię powstających produktów naprawy. Badania wykazały, że zaproponowane środki naprawcze stanowią skuteczną metodę naprawy pęknięć w matrycy zapraw i betonów – zarówno wewnętrznych mikropęknięć, jak i zewnętrznych pęknięć o rozwarości około 0,3 mm. Wyznaczone współczynniki naprawy wskazały na nawet 44% odzyskanie wytrzymałości na ściskanie oraz niemal całkowite wypełnienie pęknięć, potwierdzone ponad 90% odzyskaniem odporności na przepuszczalność wody oraz współczynnikiem naprawy powierzchniowej pęknięć. Analiza mikrostruktury produktów naprawy pozwoliła na identyfikację związków powstających zarówno w wyniku procesów biotycznych (w obecności bakterii), jak i abiotycznych (niezwiązanych z obecnością bakterii). Wyniki badań samonaprawy oraz mikrostruktury potwierdzają efektywność biologicznej naprawy kompozytów cementowych, podkreślając jednocześnie częściowy udział procesów wytrącania form krystalicznych, powstających na skutek dostarczenia składników odżywczych i

prekursorów reakcji mikrobiologicznego wytrącania węglanów, jednak bez bezpośredniego udziału mikroorganizmów.

Abstract

Self-healing in cementitious composites is a modern concept that addresses one of the main drawbacks of these materials—their susceptibility to cracking. One mechanism enabling self-healing involves the filling of cracks through microbially induced carbonate precipitation (MICP). This process is based on the precipitation of carbonates, particularly calcium carbonate, in the presence of specific bacterial strains and under favorable environmental conditions. This study evaluates the potential for mechanical and transport property recovery, as well as the crack-sealing capacity of mortars and concretes incorporating biological healing agents. These agents were prepared by impregnating porous materials—diatomite and synthetic zeolites with NaX and NaP1 structures—with a suspension of *Bacillus subtilis* endospores. The effect of the biological agents on the physical and mechanical properties of the composites was assessed, alongside a comprehensive analysis of their self-healing performance. The samples were pre-damaged via controlled loading tests and subsequently cured in either water or a healing solution designed to stimulate microbial activity within the cement matrix. The self-healing assessment included measurements of surface crack closure, compressive strength recovery, and water permeability restoration. In addition, phase composition, chemical content, and morphology of the healing products were examined. The results demonstrated that the proposed healing agents are effective in repairing cracks within the cementitious matrix, including both internal microcracks and surface cracks with an initial width of approximately 0.3 mm. Healing indices revealed up to 44% recovery of compressive strength and nearly complete crack sealing, confirmed by over 90% restoration of water tightness and high surface healing efficiency. Microstructural analysis of the healing products revealed compounds formed through both biotic (bacteria-driven) and abiotic (bacteria-independent) processes. The findings confirm the efficacy of biological self-healing in cementitious composites, while also highlighting a partial contribution from the crystallization of mineral phases induced by healing solution components, even in the absence of active microbial participation.

1. Wstęp

Samonaprawa kompozytów cementowych stanowi coraz intensywniej rozwijaną dziedzinę badań, której celem jest zwiększenie trwałości i niezawodności materiałów budowlanych. Tradycyjnie, pęknięcia w betonie prowadzą do przyspieszonego zużycia materiału, korozji zbrojenia i utraty integralności strukturalnej [1, 2]. Mikropęknięcia powstające w wyniku skurczu, obciążeń mechanicznych lub czynników środowiskowych są szczególnie trudne do wczesnego wykrycia, a ich rozwój w czasie może prowadzić do poważnych uszkodzeń konstrukcyjnych. W odpowiedzi na ten problem rozwija się koncepcja materiałów samonaprawiających (*self-healing materials*), czyli systemów zdolnych do samodzielnego reagowania na uszkodzenia bez konieczności podejmowania aktywnych działań naprawczych przez użytkownika [3, 4]. Zastosowanie takich rozwiązań w konstrukcjach cementowych może prowadzić nie tylko do ograniczenia postępującej degradacji, ale również do zachowania funkcjonalności i szczelności elementów w warunkach eksploatacyjnych.

W efekcie zmniejsza się potrzeba kosztownych przeglądów i napraw, ogranicza się przenikanie wody i szkodliwych substancji do wnętrza struktury, a tym samym spowalnia proces karbonatyzacji i korozji zbrojenia, co wydłuża realną trwałość użytkową obiektu.

Jednym z najczęściej badanych i najbardziej obiecujących mechanizmów wspomagających samonaprawę materiałów cementowych jest mikrobiologicznie indukowane wytrącanie węglanu wapnia – MICP (ang. *Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation*) [5]. Proces ten polega na wykorzystaniu aktywności metabolicznej wybranych szczepów bakterii, które w sprzyjających warunkach środowiskowych prowadzą do lokalnego wzrostu zasadowości oraz zwiększenia stężenia jonów węglanowych. W obecności kationów wapnia dochodzi do wytrącenia nierozpuszczalnego węglanu wapnia (CaCO_3), który osadza się w pęknięciach i porach struktury cementowej, ograniczając ich przepuszczalność i zamykając dostęp dla cieczy oraz gazów. Wytrącony osad może przyjmować różne formy krystaliczne – najczęściej stabilny kalcyt, ale również aragonit lub wateryt – w zależności od warunków chemicznych i biologicznych środowiska [6, 7].

Kluczowym szlakiem biochemicznym wykorzystywanym w MICP jest hydroliza mocznika – proces rozkładu mocznika katalizowany przez enzym ureazę, który prowadzi do wzrostu zasadowości i zwiększenia dostępności jonów węglanowych. W obecności jonów wapnia dochodzi do inicjacji krystalizacji CaCO_3 . Obok hydrolizy mocznika możliwe są również inne mechanizmy prowadzące do wytrącania węglanów, takie jak redukcja azotanów, metabolizm kwasów organicznych czy fotosynteza przeprowadzana przez cyjanobakterie. Jednak to hydroliza mocznika uznawana jest za najbardziej efektywną i najlepiej kontrolowalną w warunkach inżynierskich [8, 9].

W procesie MICP wykorzystuje się różne szczepy bakterii zdolnych do przeprowadzania reakcji biochemicznych prowadzących do wytrącania węglanów. Najczęściej badanymi grupami są bakterie z rodzaju *Bacillus* i *Sporosarcina*, w tym m.in. *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* czy *Sporosarcina pasteurii* [10, 11]. Mikroorganizmy te potrafią przetrwać w wymagających warunkach środowiska cementowego, takich jak wysokie pH, ograniczona wilgotność oraz obecność jonów metali ciężkich. Wiele z nich tworzy także trwałe formy przetrwalnikowe (endospory), które pozostają nieaktywne do momentu pojawienia się odpowiednich warunków do rozwoju. Efektywność procesu zależy od wielu czynników, takich jak dobór szczepu bakterii, dostępność prekursorów reakcji, wilgotność, temperatura oraz właściwości samego materiału cementowego [12, 13]. Ostateczne produkty wypełniają pęknięcia, jednocześnie poprawiając szczelność struktury i zabezpieczając przed dalszą degradacją.

Wprowadzenie bakterii do kompozytów cementowych wymaga zapewnienia im odpowiednich warunków do przetrwania oraz późniejszej aktywacji w odpowiednim momencie cyklu życia materiału. Kluczowe znaczenie ma zarówno forma biologicznego preparatu – np. odporne na trudne warunki środowiskowe endospory – jak i sposób jego trwałego wbudowania w strukturę cementową [14, 15]. W literaturze opisano kilka strategii umożliwiających inkorporację mikroorganizmów do matrycy cementowej. Jedną z nich jest bezpośrednie wprowadzenie zawiesiny bakteryjnej do wody zarobowej lub mieszaniny składników, jednak ta metoda wiąże się z ryzykiem szybkiej inaktywacji komórek w silnie zasadowym środowisku. Alternatywą są systemy kapsułkowania, w tym mikrokapsułki polimerowe i hydrożele, które pełnią funkcję czasowej izolacji, chroniąc bakterie do momentu aktywacji, a także umożliwiają

kontrolowane uwalnianie zawartości pod wpływem działania wody, pęknięcia struktury lub zmian pH [16, 17]. Inną grupą rozwiązań są porowate nośniki stałe, takie jak materiały mineralne (np. zeolity, perlity) [18, 19] oraz naturalne (np. diatomit) [20], które mogą być stosunkowo łatwo wprowadzane do mieszanki cementowej i nie wymagają skomplikowanych technologii enkapsulacji. Ich struktura porowata sprzyja osadzaniu się zawiesiny bakteryjnej, zapewniając zarówno pewną ochronę przed warunkami alkalicznymi i naprężeniami mechanicznymi, jak i dobrą dostępność wody oraz składników odżywczych podczas aktywacji.

Efektywność zastosowania metody MICP w materiałach cementowych oceniana jest zazwyczaj poprzez obserwację uszczelnienia rys i pęknięć, poprawy szczelności struktury lub ogólnego ograniczenia przepuszczalności cieczy i gazów [21, 22]. W niektórych badaniach stosuje się także testy mechaniczne, mikroskopię skaningową (SEM) oraz analizę składu fazowego osadów (XRD), w celu potwierdzenia obecności i morfologii wytrąconego węglanu wapnia [20, 23]. Chociaż szczegółowe procedury pomiarowe mogą się różnić, ogólna tendencja wskazuje na znaczną poprawę parametrów użytkowych materiału po zastosowaniu metody MICP.

Zaletą systemów opartych na bakterii jest ich zdolność do działania w odpowiedzi na rzeczywiste uszkodzenia – bakterie pozostają nieaktywne do momentu pojawienia się sprzyjających warunków, takich jak wilgoć, dostępność składników odżywczych oraz obecność jonów wapnia [5, 24, 25]. To sprawia, że proces samonaprawy można uznać za reaktywny i samoregulujący się. Co więcej, wiele badań potwierdza możliwość ich działania nie tylko w środowisku laboratoryjnym, ale również w warunkach in situ – przy odpowiednim zaprojektowaniu systemu i doborze materiałów [26, 27].

Podsumowując, metoda MICP to perspektywiczne podejście do poprawy trwałości materiałów cementowych, integrujące mikrobiologię z inżynierią materiałową. Choć technologia ta wymaga dalszej optymalizacji pod kątem skuteczności, kosztów oraz trwałości bakteryjnych układów naprawczych, jej potencjał jako zrównoważonego rozwiązania dla naprawy betonu jest powszechnie uznawany w literaturze naukowej.

Celem pracy była weryfikacja skuteczności procesu biologicznej naprawy kompozytów cementowych z zastosowaniem środków naprawczych opartych na bakteryjnych nośnikach mineralnych. Potencjał tych rozwiązań oceniono na podstawie badań dotyczących odzyskania właściwości mechanicznych i transportowych oraz zdolności do uszczelniania rys poprzez produkty naprawy.

2. Materiały i metody badań

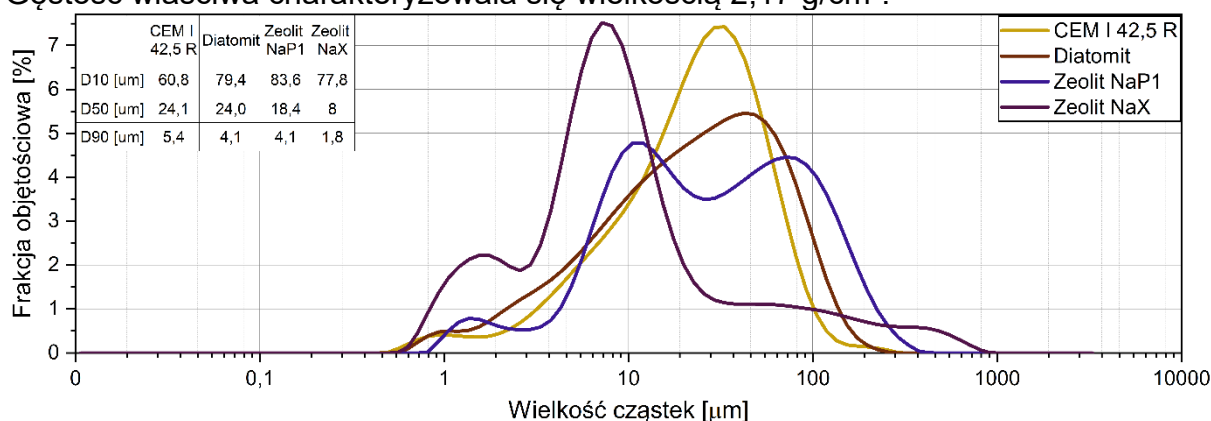
2.1. Materiały

W niniejszym badaniu zastosowano biologiczny środek naprawczy, którego głównym komponentem była zawiesina endospor bakterii *Bacillus subtilis* KP17, pozyskanej z kolekcji mikroorganizmów Instytutu Mikrobiologii Uniwersytetu Warszawskiego. Hodowlę prowadzono w specjalistycznym podłożu sporulacyjnym (DSM), a następnie uzyskane endospory oczyszczono zgodnie z protokołem opisanym w [28] i zawieszono w wodzie destylowanej. Gotowy preparat charakteryzował się stężeniem $3,9 \times 10^8$ jtk/ml. W celu umożliwienia mikrobiologicznego wytrącania węglanu wapnia zastosowano roztwór zawierający źródło węgla organicznego oraz jony metali stanowiące prekursor procesu mineralizacji. Skład roztworu obejmował mocznik w stężeniu 0,25 M oraz azotany wapnia i magnezu, każdy o stężeniu 0,1 M.

Dobór tych związków umożliwił zarówno indukcję aktywności enzymatycznej bakterii, jak i zapewnienie niezbędnych składników do przebiegu biomineralizacji w warunkach matrycy cementowej. Wszystkie zastosowane odczynniki chemiczne pochodziły z firmy Chempur i spełniały wymagania klasy czystości analitycznej.

Do przygotowania zapraw wykorzystano cement portlandzki CEM I 42,5 R. Zgodnie z analizą chemiczną, dominującymi składnikami cementu były tlenek wapnia (69,6%) i dwutlenek krzemu (16,9%). Ziarna cementu charakteryzowały się jednorodnym rozkładem wielkości, z przewagą frakcji mieszczących się w zakresie 2–50 μm (Rys. 1). Gęstość właściwa cementu wynosiła 3,07 g/cm³.

Celem ograniczenia zużycia spoiwa, a jednocześnie wprowadzenia funkcjonalnego komponentu biologicznego, w badaniu zastosowano porowate nośniki: diatomit oraz dwa rodzaje zeolitów syntetycznych – NaP1 i NaX. Diatomit, pozyskany z lokalnego złoża w Polsce (Jawornik Ruski, Specjalistyczne Przedsiębiorstwo Górnicze „Górtex”, Wieliczka), przed użyciem został rozdrobniony i przesiany. Składał się głównie z amorficznej krzemionki (77,3% SiO₂) oraz glinu (8,7% Al₂O₃), co potwierdziła analiza XRF. Materiał ten odznaczał się dużą porowatością wewnętrzną i kanałową budową oraz rozkładem wielkości cząstek zbliżonym do cementu, choć z nieco szerszym zakresem uziarnienia – 91,3% objętości próbki mieściło się w przedziale 2–100 μm (Rys. 1). Gęstość właściwa diatomitu wynosiła 2,33 g/cm³. Zeolit NaP1 otrzymano syntetycznie w wyniku konwersji hydrotermalnej zgodnie z procedurą opracowaną na Wydziale Budownictwa i Architektury Politechniki Lubelskiej [29, 30]. Materiał tworzyły drobne agregaty krystaliczne o wymiarach 1–10 μm . Główne składniki to SiO₂ (46,8%) i Al₂O₃ (23,4%), a obecność jonów Na, Ca i Fe odpowiadała za kompensację ładunku szkieletu glinokrzemianowego. Uziarnienie miało charakter bimodalny, z pikami w rejonie 10 i 80 μm (Rys. 1). Gęstość właściwa wynosiła 2,48 g/cm³. Zeolit NaX, również otrzymany metodą konwersji hydrotermalnej, miał postać izometrycznych kryształów o wymiarach 3–7 μm . Charakteryzował się zawartością 43,3% SiO₂ oraz 23,5% Al₂O₃, a także wysokim udziałem Na₂O (10,7%). Uziarnienie miało charakter wielomodalny, z dominującą frakcją 2–20 μm (67,3%) (Rys. 1). Gęstość właściwa charakteryzowała się wielkością 2,17 g/cm³.



Rys.1. Rozkład uziarnienia cementu oraz nośników.

2.2. Metody

W przeprowadzonym badaniu nośniki w postaci diatomitu, zeolitu NaP1 oraz zeolitu NaX zostały zaimpregnowane zawiesiną endospor *Bacillus subtilis* z zastosowaniem metody próżniowej. Suchy materiał umieszczono w komorze

próżniowej, w której wytworzono podciśnienie na poziomie -0,8 bara. Przy utrzymanym podciśnieniu wprowadzono roztwór endospor, a cały proces trwał łącznie 90 minut. Po zakończeniu impregnacji próbki suszono przez 48 godzin w temperaturze 40 °C. Proporcja materiału stałego do roztworu bakterii wynosiła 1:5 w stosunku masowo–objętościowym (m:v).

Do dalszych analiz przygotowano cztery serie zapraw cementowych: jedną referencyjną (R), a także trzy z dodatkiem nośników – D (diatomit), NaP1 (zeolit NaP1) i NaX (zeolit NaX). W każdej serii materiał nośnikowy stanowił 10% objętości cementu i był wcześniej zaimpregnowany endosporami bakterii. Skład każdej mieszanki obejmował cement portlandzki, piasek kwarcowy, wodę zarobową, włókna polipropylenowe (PP) oraz – w odpowiednich próbkach – nośnik biologiczny. Włókna PP dodano w celu umożliwienia kontrolowanego, lokalnego uszkodzenia próbek podczas obciążania, co miało na celu symulację powstawania rys. Szczegółowe proporcje składników, podane w przeliczeniu na stosunek masowy (m) i objętościowy (v), zestawiono w Tabeli 1. Do badań wykonano próbki prostopadłościennne o wymiarach 40×40×160 mm oraz walcowe 100×200 mm, zgodnie z normą PN-EN 12390-2:2019-07.

Tabela 1. receptury zapraw cementowych

Oznaczenie serii	R	NaP1	NaX	D
Cement [m]	1	0,9	0,9	0,9
Piasek [m]	3	3	3	3
Woda [m]	0,5	0,5	0,5	0,5
Nośnik [v]	-	0,1	0,1	0,1
Włókna PP [m]	0,005	0,005	0,005	0,005

W celu oceny zdolności samo-naprawy zapraw przeprowadzono serię trzech typów badań, obejmujących odzysk parametrów mechanicznych i transportowych. Pierwszym z analizowanych wskaźników był współczynnik odzyskania wytrzymałości na ściskanie (f_{cR}). Próbkę prostopadłościenną poddano wstępnemu uszkodzeniu przez obciążenie ich do 70% uprzednio wyznaczonej siły niszczonej. Po uszkodzeniu próbki poddawano leczeniu przez 28 dni w dwóch środowiskach: wodzie wodociągowej oraz roztworze naprawczym. Po zakończonym okresie pielęgnacji dokonano ponownego pomiaru wytrzymałości. Wartość f_{cR} obliczono jako procentowy przyrost wytrzymałości w odniesieniu do stanu po wstępnym zniszczeniu, zgodnie ze wzorem:

$$f_{cR} = \frac{f_{ci} - f_{ct}}{f_{ci}} * 100$$

gdzie f_{ci} oznaczało średnią wytrzymałość bezpośrednio po uszkodzeniu, a f_{ct} wytrzymałość po zakończonym leczeniu.

Kolejnym analizowanym parametrem był współczynnik zmniejszenia powierzchni rys (η). Próbkę prostopadłościenną poddano testowi trójpunktowego zginania do poziomu przemieszczenia umożliwiającego uzyskanie rys o szerokości 0,3 mm $\pm$ 10%. Wyselekcjonowane w ten sposób próbki leczono analogicznie w dwóch środowiskach i poddawano cyklicznemu skanowaniu w dniach 0, 3, 7, 14 oraz 28.

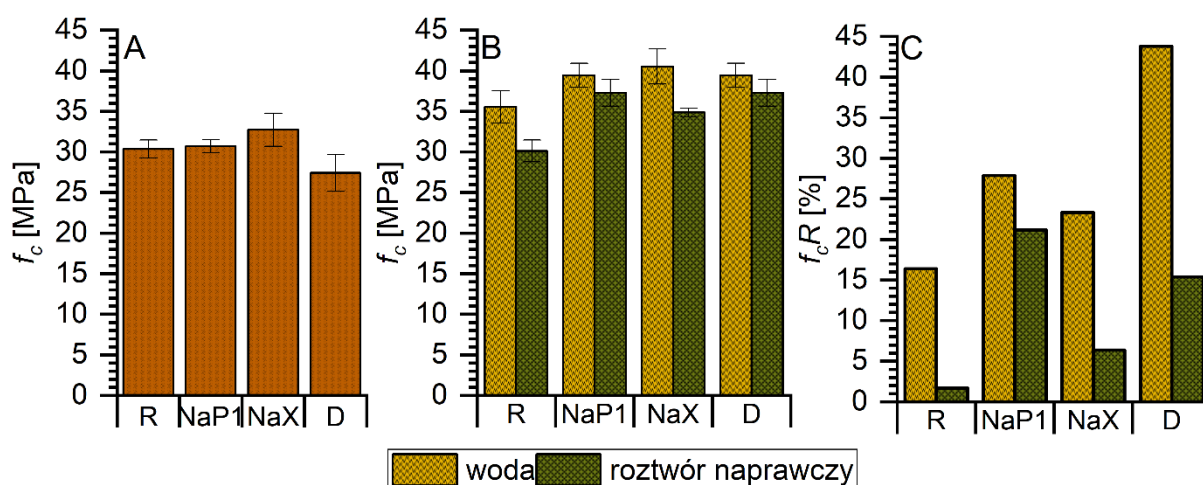
Analizę obrazu rys przeprowadzono z wykorzystaniem programu ImageJ i algorytmu segmentacji Trainable Weka Segmentation (TWS). Obliczano powierzchnię rysy w odniesieniu do całkowitej powierzchni analizowanej, a współczynnik η wyrażono jako procentową redukcję pola rysy względem pomiaru początkowego.

Trzecim mierzonym parametrem był współczynnik odzyskania odporności na przepuszczalność wody (kR). Do badania wykorzystano krążki o wymiarach 100×50 mm, wycięte z wcześniej przygotowanych próbek walcowych. Krążki poddano kontrolowanemu uszkodzeniu poprzez obciążanie do przemieszczenia skutkującego rysą o szerokości 0,3 mm $\pm$ 10%. Boczne powierzchnie zabezpieczono żywicą epoksydową, a następnie wykonano badanie przepuszczalności wody w specjalnie przygotowanym stanowisku laboratoryjnym. Po 28 dniach leczenia w wodzie lub roztworze naprawczym ponownie przeprowadzono pomiar, a kR obliczono jako procentowy przyrost odporności na przepływ cieczy w porównaniu z wartością początkową.

W ramach analizy składu mineralnego osadów powstających w procesie leczenia wykorzystano dyfrakcję rentgenowską (XRD). Badania przeprowadzono przy użyciu dyfraktometru Panalytical X'Pert PRO MPD w zakresie 5–65 °2 θ , przy kroku 0,02 °2 θ . Uzyskane dane analizowano z użyciem oprogramowania X'Pert Highscore. Uzupełnieniem analizy był przegląd morfologii i składu chemicznego przy zastosowaniu mikroskopii skaningowej (SEM) z detektorem EDS. Próbkę pokryto warstwą węgla i analizowano w wysokiej próżni przy napięciu 10–15 kV, z wykorzystaniem mikroskopu FEI Quanta 250 FEG.

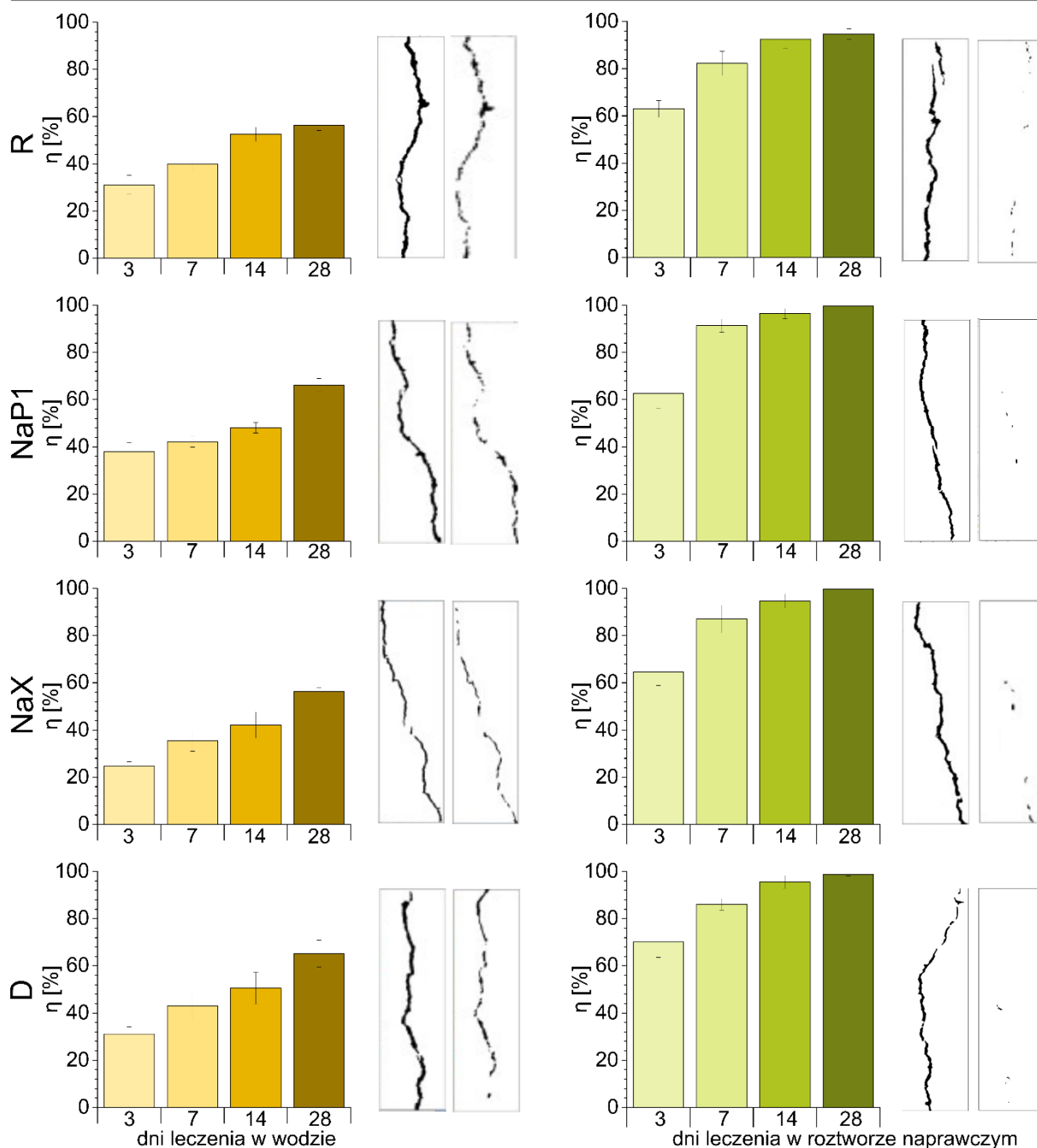
3. Wyniki

Wyniki wytrzymałości na ściskanie po wstępnym uszkodzeniu (Rys. 2A) pokazują, że najwyższe wartości osiągnęły próbki z dodatkiem zeolitu NaX zaimpregnowanego bakteriami – odnotowano wzrost o 8% względem serii referencyjnej. Przeciwnie, zastosowanie diatomitu wpłynęło niekorzystnie na ten parametr, co może wskazywać, że bezpośrednio po uszkodzeniu dominującą rolę odgrywały właściwości fizyczne materiałów nośnikowych, a nie aktywność biologiczna. W dalszej części eksperymentu zauważono wyraźny wzrost wytrzymałości próbek poddanych leczeniu – zarówno w wodzie, jak i roztworze naprawczym – w obecności biologicznych środków naprawczych (Rys. 2B). Maksymalna poprawa sięgnęła 24%, co potwierdza skuteczność mechanizmów naprawy inicjowanych przez mikroorganizmy w uszkodzonej strukturze cementowej [81]. Współczynnik odzysku wytrzymałości (f_cR) był istotnie wyższy we wszystkich seriach z dodatkiem nośników biologicznych, niezależnie od zastosowanej metody pielęgnacji (Rys. 2C). Co ciekawe, wyższe wartości f_cR uzyskano po leczeniu w wodzie, co sugeruje, że bakterie mogły wspierać naturalne, autogeniczne procesy naprawcze zachodzące w standardowych warunkach pielęgnacji, szczególnie w przypadku mikropeknięć powstałych wskutek obciążenia ściskającego.



Rys. 2. Wytrzymałość na ściskanie po wstępnym uszkodzeniu próbek 28-dniowych (A), wytrzymałość na ściskanie po 28 dniach leczenia (B), współczynnik odzyskania wytrzymałości na ściskanie (C).

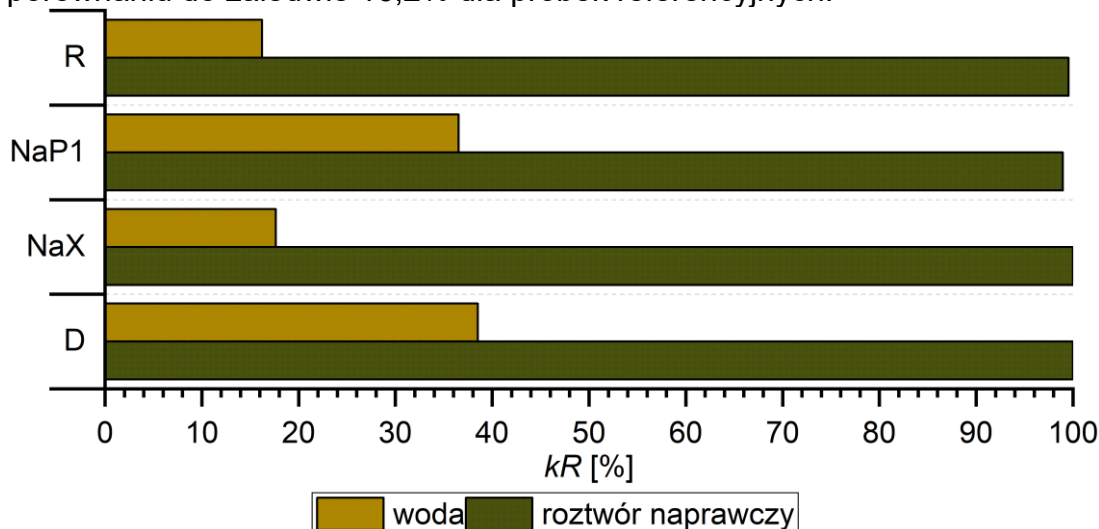
We wszystkich seriach obserwowano stopniowy wzrost współczynnika η w trakcie leczenia, zarówno w wodzie, jak i w roztworze naprawczym. Efektywność zamykania rys była jednak uzależniona od warunków pielęgnacji, dlatego analizę prowadzono oddzielnie dla obu wariantów leczenia (Rys. 3). W przypadku serii referencyjnej, naprawa przebiegała w ograniczonym stopniu i wynikała wyłącznie z autogenicznych mechanizmów naprawczych, które standardowo są skuteczne głównie w przypadku rys o rozwarości do około 0,2 mm. Wprowadzenie biologicznych środków naprawczych wyraźnie przyspieszyło redukcję powierzchni rys [8]. W warunkach wodnych najwyższą skuteczność wykazała seria NaP1, osiągając poprawę współczynnika η o 17,6% po 28 dniach. Jeszcze wyraźniejsze efekty uzyskano przy leczeniu w roztworze zawierającym składniki stymulujące aktywność bakterii – wszystkie serie przekroczyły 95% uszczelnienia, a w wielu przypadkach wartość η zbliżyła się do 100%. Uzyskane rezultaty sugerują, że o skuteczności naprawy decydują nie tylko same dodatki materiałowe, ale przede wszystkim warunki środowiskowe. Obserwowane osady zamykające pęknięcia mogą w istotnym stopniu pochodzić z procesów abiotycznych, aktywowanych obecnością jonów i związków mineralnych zawartych w roztworze naprawczym.



Rys.3. Współczynnik zmniejszenia powierzchni rys w czasie leczenia próbek.

Skuteczność samonaprawy materiałów cementowych powinna być oceniana nie tylko na podstawie wizualnego wypełnienia rys, lecz także poprzez przywrócenie ich odporności na przepuszczanie wody [32]. W związku z tym przeprowadzono badanie przepuszczalności, analizując wpływ środków naprawczych i warunków pielęgnacji na odzyskanie szczelności zapraw. W próbkach leczonych wodą nie stwierdzono widocznych osadów w obrębie rys ani na ich powierzchni. Odmienny efekt zaobserwowano w próbkach pielęgnowanych w roztworze naprawczym, gdzie osady węglanowe były obecne zarówno wewnątrz spękań, jak i na powierzchni próbek. Potwierdzało to skuteczniejsze uszczelnianie materiału, czego wyrazem były bardzo wysokie wartości współczynnika kR – sięgające niemal 100% dla wszystkich serii

leczonych w tym środowisku. Choć w próbkach leczonych wodą nie obserwowano wyraźnych osadów, obecność biologicznych środków naprawczych wciąż wpływała korzystnie na efektywność leczenia. Bakterie wspomagały naturalne mechanizmy samouszczelniania, co skutkowało poprawą odporności na przepuszczalność w porównaniu do serii referencyjnej. W tym kontekście środki biologiczne można traktować jako element wzmacniający klasyczną pielęgnację, łączący mechanizmy naturalne i mikrobiologiczne w jednym procesie. Najwyższy współczynnik kR przy pielęgnacji w wodzie uzyskano dla serii D, która osiągnęła wartość 38,5%, w porównaniu do zaledwie 16,2% dla próbek referencyjnych.

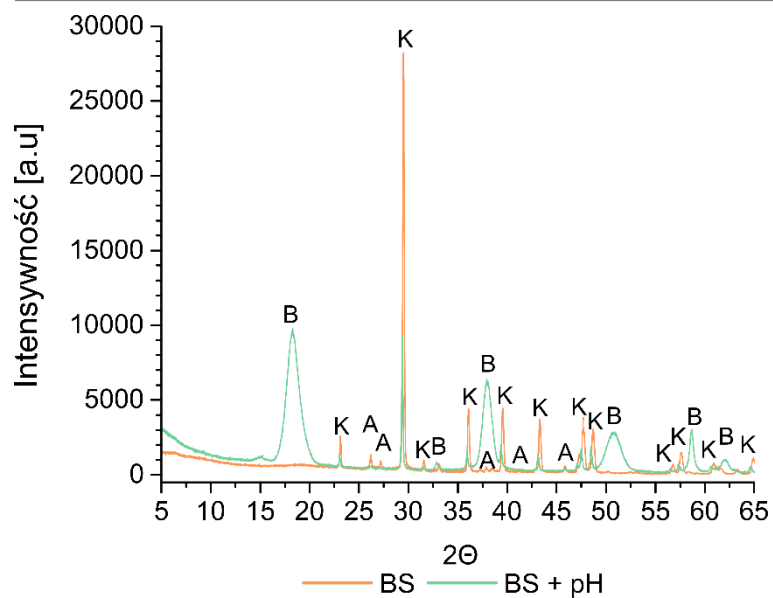


Rys.4. Współczynnik odzyskania odporności na przepuszczalność wody po 28 dniach leczenia.

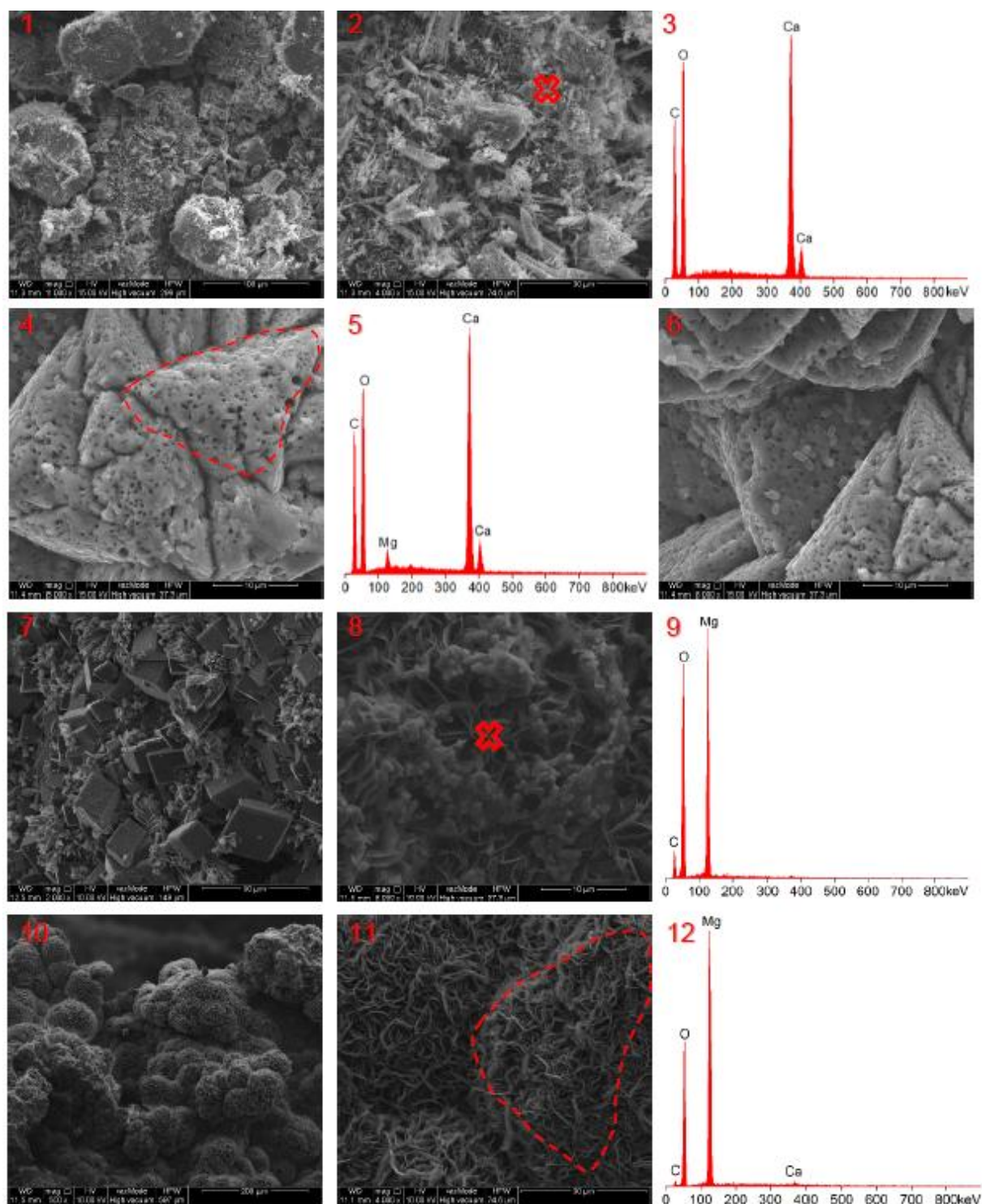
W celu identyfikacji faz mineralnych powstających w trakcie leczenia przeprowadzono analizę XRD dla osadów uzyskanych w dwóch warunkach: wyłącznie w obecności bakterii oraz przy jednoczesnym podwyższeniu odczynu roztworu, symulującym zasadowe środowisko matrycy cementowej. Zestawienie widm pozwoliło ocenić, które formy krystaliczne są efektem aktywności mikroorganizmów, a które mogą powstawać również na drodze procesów abiotycznych.

W obu przypadkach zidentyfikowano obecność węgla wapnia w formie kalcytu oraz aragonitu (Rys. 5), co potwierdza aktywność biologiczną bakterii (39). W warunkach zasadowych, oprócz tych samych form CaCO_3 , odnotowano wytrącanie brucytu (Mg(OH)_2), co było efektem reakcji chemicznych zachodzących w obecności jonów magnezu przy podwyższonym pH (136). Analiza SEM (Rys. 6) próbek leczonych w roztworze z dodatkiem jonów magnezu ujawniła obecność brucytu (Mg(OH)_2), szczególnie wyraźną na powierzchni zaleczanych beleczek. Wskazuje to, że równolegle z procesami biotycznymi mogą zachodzić również reakcje chemiczne niezależne od obecności bakterii, prowadzące do tworzenia osadów o charakterze uszczelniającym.

Podsumowując, obserwacje XRD i SEM jednoznacznie wskazują na udział mikroorganizmów w formowaniu kryształów węgla wapnia, jednak obecność faz takich jak brucyt potwierdza istotny udział również mechanizmów abiotycznych – szczególnie w warunkach wysokiego pH, typowego dla środowiska cementowego.



Rys.5. Dyfraktogramy produktów mikrobiologicznej naprawy (A – aragonit, K – kalcyt, B – brucyt).



Rys.6. Obrazy SEM i analiza EDS produktów naprawy (1-6) oraz powierzchni próbek serii NaP1 po leczeniu w wodzie (7) oraz roztworze naprawczym (8-12).

4. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

- Biologiczne środki naprawcze, przygotowane poprzez impregnację porowatych materiałów bakteryjną zawiesiną, umożliwiły skuteczne wprowadzenie

mikroorganizmów do zapraw cementowych i wykazały korzystny wpływ na procesy samonaprawy materiału, szczególnie w warunkach standardowej pielęgnacji.

-Zaobserwowano istotne zwiększenie zdolności do samouszczelniania mikropęknięć i ograniczenia przepuszczalności, zarówno poprzez mechanizmy autogeniczne, jak i wspomagane aktywnością bakterii. W sprzyjających warunkach leczenia wskaźniki naprawy osiągały poziom nawet 100% dla wybranych parametrów.

- Zastosowanie roztworu naprawczego zawierającego jony wapnia i magnezu znacznie zwiększało efektywność leczenia, prowadząc do powstawania krystalicznych osadów o właściwościach uszczelniających – zarówno biotycznych, jak i abiotycznych (m.in. kalcyt, aragonit).

- Analiza mikroskopowa i rentgenowska potwierdziła współistnienie procesów biologicznych i chemicznych, prowadzących do tworzenia osadów mineralnych w strukturze materiału. Obecność brucytu wskazuje na udział mechanizmów niezależnych od obecności bakterii, aktywowanych w warunkach podwyższonego pH.

Badania zostały w całości sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu nr 2024/53/N/ST8/03779 (Preludium 23).

5. Literatura

- [1] K. Van Tittelboom, N. De Belie, Self-healing in cementitious materials-a review, *Materials*. 6 (2013) 2182–2217. <https://doi.org/10.3390/ma6062182>.
- [2] L. Zhang, M. Zheng, D. Zhao, Y. Feng, A review of novel self-healing concrete technologies, *J. Build. Eng.* 89 (2024) 109331. <https://doi.org/10.1016/j.jobbe.2024.109331>.
- [3] B. G- Harold Drew, On the Precipitation of Calcium Carbonate in the Sea by Marine Bacteria, and on the Action of Denitrifying Bacteria in Tropical and Temperate Seas, *J. Marine Biological Association UK* 9 (1913) 479–524. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0025315400071526>.
- [4] N. He, L. Hu, Z. He, M. Li, Y. Huang, Mineralization of lead by *Phanerochaete chrysosporium* microcapsules loaded with hydroxyapatite, *J. Hazard. Mater.* 422 (2022) 126902. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126902>.
- [5] S.S. Bang, J.K. Galinat, V. Ramakrishnan, Calcite precipitation induced by polyurethane-immobilized *Bacillus pasteurii*, *Enzyme Microb. Technol.* 28 (2001) 404–409. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00348-3](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00348-3).
- [6] S.K. Ramachandran, V. Ramakrishnan, S.S. Bang, Remediation of Concrete Using Micro-Organisms, *ACI Mater. J.* 98 (2001).
- [7] T. Zhu, M. Dittrich, Carbonate precipitation through microbial activities in natural environment, and their potential in biotechnology: A review, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 4 (2016). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2016.00004>.
- [8] J. Fronczyk, M. Janek, M. Szelaąg, A. Pyzik, W. Franus, Immobilization of (bio-)healing agents for self-healing concrete technology: Does it really ensure long-term performance?, *Compos. B Eng.* 266 (2023) 110997. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2023.110997>.
- [9] S. Mondal, A. (Dey) Ghosh, Review on microbial induced calcite precipitation mechanisms leading to bacterial selection for microbial concrete, *Constr. Build. Mater.* 225 (2019) 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.07.122>.

- [10] M. Nodehi, T. Ozbakkaloglu, A. Gholampour, A systematic review of bacteria-based self-healing concrete: Biomineralization, mechanical, and durability properties, *J. Build. Eng.* 49 (2022) 104038. <https://doi.org/10.1016/j.jobbe.2022.104038>.
- [11] Z. Bařaran Bundur, S. Bae, M.J. Kirsits, R.D. Ferron, Biomineralization in Self-Healing Cement-Based Materials: Investigating the Temporal Evolution of Microbial Metabolic State and Material Porosity, *J. Mater. Civ. Eng.* 29 (2017). [https://doi.org/10.1061/\(asce\)mt.1943-5533.0001838](https://doi.org/10.1061/(asce)mt.1943-5533.0001838).
- [12] R.B. Frankel, D.A. Bazylinski, Biologically Induced Mineralization by Bacteria, *Rev. Mineral. Geochem.* 54 (2003) 95–114. <https://doi.org/https://doi.org/10.2113/0540095>.
- [13] S. Joshi, S. Goyal, M. Sudhakara Reddy, Influence of biogenic treatment in improving the durability properties of waste amended concrete: A review. *Constr. Build. Mater.* 263 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.120170>.
- [14] V. Ramakrishnan, K.S. Deo, E.F. Duke, S.S. Bang, SEM investigation of microbial calcite precipitation in cement, in: 21st Int. Conf. Cem. Microsc., 1999, pp. 406–4014.
- [15] W. De Muynck, N. De Belie, W. Verstraete, Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review, *Ecol. Eng.* 36 (2010) 118–136. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.02.006>.
- [16] M.J. Castro-Alonso, L.E. Montañez-Hernandez, M.A. Sanchez-Muñoz, M.R. Macias Franco, R. Narayanasamy, N. Balagurusamy, Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP) and Its Potential in Bioconcrete: Microbiological and molecular concepts, *Front. Mater.* 6 (2019) 126. <https://doi.org/10.3389/fmats.2019.00126>.
- [17] F.G. Ferris, V. Phoenix, Y. Fujita, R.W. Smith, Kinetics of calcite precipitation induced by ureolytic bacteria at 10 to 20°C in artificial groundwater, *Geochim. Cosmochim. Acta.* 68 (2004) 1701–1710. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(00\)00503-9](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(00)00503-9).
- [18] D.A. Golovkina, E. V. Zhurishkina, L.A. Ivanova, A.E. Baranchikov, A.Y. Sokolov, K.S. Bobrov, A.E. Masharsky, N. V. Tsvigun, G.P. Kopitsa, A.A. Kulminskaya, Calcifying Bacteria Flexibility in Induction of CaCo₃ Mineralization, *Life* 10 (2020) 1–14. <https://doi.org/10.3390/life10120317>.
- [19] J.W. Morse, The kinetics of calcium carbonate dissolution and precipitation, in: Reeder, R.J. (Ed.), *Carbonates: Mineralogy and Chemistry*, Mineralogic Society of America, 1983, pp. 227–264. <https://doi.org/10.1515/9781501508134-011>.
- [20] A.J. Phillips, R. Gerlach, E. Lauchnor, A.C. Mitchell, A.B. Cunningham, L. Spangler, Engineered applications of ureolytic biomineralization: A review, *Biofouling* 29 (2013) 715–733. <https://doi.org/10.1080/08927014.2013.796550>.
- [21] V. Ramakrishnan, S. Bang, K. Deo, A novel technique for repairing cracks in high performance concrete using bacteria, *Proc. of the Int. Conf. on HPHSC* (1998) 597–618.
- [22] B. De Graef, W. De Windt, J. Dick, W. Verstraete, N. De Belie, Cleaning of concrete fouled by lichens with the aid of Thiobacilli, *Mater. Struct.* 38 (2005) 875–882. <https://doi.org/10.1007/BF02482254>.
- [23] E. Boquet, A. Boronat, A. Ramos-Cormenzana, Production of Calcite (Calcium Carbonate) Crystals by Soil Bacteria is a General Phenomenon, *Nature.* 246 (1973) 527–529. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/246527a0>.
- [24] H.M. Jonkers, E. Schlangen, Development of a bacteria-based self healing concrete, in: *In Tailor Made Concrete Structures*; Walraven, S., Ed.; Taylor and Francis Group: Boca Raton, FL, USA, (2008).

- [25] A.S. Fouladi, A. Arulrajah, J. Chu, S. Horpibulsuk, Application of Microbially Induced Calcite Precipitation (MICP) technology in construction materials: A comprehensive review of waste stream contributions, *Constr. Build. Mater.* 388 (2023) 131546. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2023.131546>
- [26] V. Wiktor, H.M. Jonkers, Quantification of crack-healing in novel bacteria-based self-healing concrete, *Cem. Concr. Compos.* 33 (2011) 763–770. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2011.03.012>.
- [27] S. Joshi, S. Goyal, A. Mukherjee, M.S. Reddy, Microbial healing of cracks in concrete: a review, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 44 (2017) 1511–1525. <https://doi.org/10.1007/s10295-017-1978-0>.
- [28] M. Janek, J. Fronczyk, A. Pyzik, M. Szeląg, R. Panek, W. Franus, Diatomite and Na-X zeolite as carriers for bacteria in self-healing cementitious mortars, *Constr. Build. Mater.* 343 (2022) 128103. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2022.128103>.
- [29] R. Panek, J. Madej, L. Bandura, G. Słowik, Recycling of waste solution after hydrothermal conversion of fly ash on a semi-technical scale for Zeolite synthesis, *Materials*. 14 (2021). <https://doi.org/10.3390/ma14061413>.
- [30] M. Wdowin, M. Franus, R. Panek, L. Badura, W. Franus, The conversion technology of fly ash into zeolites, *Clean Technol. Environ. Policy*. 16 (2014) 1217–1223. <https://doi.org/10.1007/s10098-014-0719-6>.
- [31] M.B.E. Khan, D. Dias-da-Costa, L. Shen, Factors affecting the self-healing performance of bacteria-based cementitious composites: A review, *Constr. Build. Mater.* 384 (2023) 131271. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2023.131271>.
- [32] W. Tang, O. Kardani, H. Cui, Robust evaluation of self-healing efficiency in cementitious materials - A review, *Constr. Build. Mater.* 81 (2015) 233–247. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.02.054>.