اثر رسوب کلسیم کربنات ناشی از عامل باکتریایی بر ویژگی های مکانیکی آسفالت سرد

حامد عطاران دوم[1]، ابوالفضل محمدزاده مقدم[2*]، محسن کرابی[3]، بهار شهنواز[4]، سمانه عطاران دوم[5]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی عمران، گرایش راه و ترابری، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استادیار، گرایش راه و ترابری، گروه مهندسی عمران، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار، گرایش محیط زیست، گروه مهندسی عمران، دانشگاه فردوسی مشهد

٤- استادیار،گرایش میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد

۵- دکترای زیست شناسی، فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

Ab-moghadam@um.ac.ir

خلاصه

امروزه هزینه بهسازی و نگهداری روسازی (راه) به طور قابل ملاحظه ای افزایش داشته است. در نتیجه سازمان های مربوطه در جستجوی روش های موثری جهت کاهش هزینه های ناشی از نگهداری راه هستند.در این پژوهش به اثر عامل باکتریایی در آسفالت سرد و رسوب ناشی از آن بر ویژگی های مخلوط آسفالتی سرد پرداخته شده است که بدین منظور اثر پوشش قیری بر روی مصالح سنگی و هم چنین چسبندگی سنگدانه و قیر توسط آزمایش آب جوشان، قبل و بعد از عمل آوری بیولوژیکی بر روی سنگدانه بررسی و مقایسه گردید. نتایج آزمایش نشان داد که پوشش قیری در نمونه های حاوی باکتری ، قبل و بعد از آزمایش آب جوشان بهتر از نمونه های شاهد بود. بدیهی است با کاربردی کردن این روش گام بزرگی در جهت بهبود خواص مکانیکی آسفالت انجام خواهد شد .

کلمات کلیدی: کلسیم کربنات ، باکتری ، ترسیب بیولوژیکی ، آسفالت سرد

۱. مقدمه

مخلوط آسفالتی گرم رایج ترین مخلوط برای روسازی راه ها به دلیل کیفیت بالا است. در سال های اخیر به استفاده از مخلوط های آسفالتی نیمه گرم که رفتاری مشابه مخلوط های آسفالتی گرم رایج را دارند به دلیل کاهش مصرف و انتشار انرژی ،تاکید شده است[۱]. تلاش های دیگر برای کاهش مصرف انرژی در مخلوط های آسفالتی به تحقیق بر بهبود خصوصیات قیر امولسیون و توسعه آن به منظور استفاده در این مخلوط ها انجامیده است. یکی ازین کاربرد ها، مخلوط آسفالتی سرد به منظور استفاده برای لایه روسازی است. آسفالت سرد در این مقاله شامل سنگدانه و قیر امولسیون به جای قیر داغ است که منافع محیط زیستی از قبیل: الف) کاهش انتشار و مصرف انرژی برای گرم کردن قیر در دمای محیط و ب) توانایی استفاده از سنگدانه ها بدون نیاز به خشک کردن، را دارند[۲]. بر خلاف پتانسیل مفید محیط زیستی آسفالت سرد، این نوع مخلوط یک سری معایب عملکردی را نیز دارد که نیاز است قبل از اجرایی شدن برطرف شود. یکی از این معایب حساسیت رطوبتی بالای این نوع آسفالت بخاطر تولید در دمای پایین است که با کاهش چسبندگی قیر و سنگدانه خود را نشان می دهد. این ضعف یکی از جنبه های منفی این نوع آسفالت نسبت به مخلوط های آسفالتی گرم است. به منظور نشان دادن حساسیت رطوبتی آسفالت سرد یک روش ساده و موثر برای بررسی کیفیت مصالح و قیر مورد نیاز است. چند روش برای ارزیابی حساسیت رطوبتی مخلوط های آسفالتی به صورت متراکم و غیر متراکم ارائه شده است[۳-۶]. یکی از این روش ها آزمایش آب جوشان تگزاس است که با توجه به استانداردASTM D3625 برای ارزیابی چشمی درصد پوشش قیری بر روی مصالح بعد از جوشاندن آب استفاده می شود. کاربرد گسترده ای از این آزمایش بر روی آسفالت سرد به دلیل نبود آماده سازی نمونه خاص و یکنواخت، انجام نشده است [1]. اخیرا روشی بیولوژیکی ارائه شده است که با تشکیل رسوب کلسیم کربنات بر روی سطوح سنگدانه و خاصیت آب گریزی این رسوب، جذب آب سنگدانه و

چسبندگی قیر و سنگدانه بهبود یافته است[۷-۹]. رسوب کربنات کلسیم بیولوژیکی یکی از مواد زیست معدنی بوجود آمده توسط باکتری است که این رسوب توسط یک فرآیند آنزیمی شایع بوجود می آید[۱۰]. کلسیم کربنات (کلسیت) به آسانی با تجزیه اوره، با شکل گیری یون های کربنات و آمونیوم تشکیل می شود. در محیط مایع، با واکنش اوره-آز یک مولکول اوره به یک مولکول کربنات و دو مولکول آمونیوم تبدیل می شود [11]. وقتی که شرایط مناسب از قبیل حضور یون کلسیم آزاد و شرایط قلیایی مناسب وجود داشته باشد، رسوب کلسیت در محلول، شکل گیری مواد کریستالی را نتیجه می دهد. قدرت اتصال رسوب کریستالی تا حد زیادی به مقدار شکل گیری کربنات بستگی دارد[۱۲]. یکی از موثرترین باکتری های اوره ای، باسیلوس پاستوری[1] است. توانایی سیمان سازی باسیلوس پاستوری برای کاربرد های نوآورانه و امید بخش بیوتکنولوژی مطالعه شده است. در سال های اخیر تعمیر، باز سازی و افزایش مقاومتی مواد بر پایه سیمان و سنگدانه از طریق باکتری بسیار مورد علاقه بوده است[۱۳-۱۵]. اما تحقیقات نوآورانه برای بدست آوردن مواد سیمانی زیست محیطی به وسیله بیوتکنولوژی اوره ای نیز مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است[۱۶-۱۸]. گروه باکتریایی باسیلوس از بیشترین انواع میکروارگانیسم های کلسیت ساز درنظر گرفته شده است[۱۹, ۲۰]. این گروه از باکتری ها به دلیل اینکه به وفور در طبیعت یافت می شوند، می توانند مقدار قابل توجهی کلسیت را در مدت زمان کوتاهی تولید کنند که عمدتا به شرایط محیطی بستگی دارد [۲۱] و هیچ ساختار سلولی یا مکانیزم مولکولی خاصی را لازم ندارد[۲۲]. در این پژوهش نیز از باکتری باسیلوس پاستوری برای تولید رسوب کلسیم کربنات بر روی سنگدانه های مخلوط آسفالتی سرد استفاده شد. پس از آن نمونه های آسفالتی ساخته شد و پوشش قیری آن ها نسبت به نمونه های شاهد بررسی شد و سپس از آزمایش آب جوشان به عنوان معیاری برای بهبود حساسیت رطوبتی مخلوط آسفالتی استفاده گردید که نتایج آن در ادامه با بررسی شده است .

۲. محیط رشد و پرورش باکتری

در این تحقیق از باکتری sporosarsina pasteurii (bacillus pasteurii) PTCC 1645 که یک باکتری اوره ای می باشد جهت فرایند ترسیب بیولوژیکی(MICP[2]) استفاده شده است. باکتری از مرکز منطقه ای کلکسیون قارچها و باکتریهای صنعتی ایران تهیه گردید. ابتدا محیط جامد متشکل از ۲۸ g/L نوترینت آگار[3]، ۱۰ mg/L منیزیم سولفات دو آبه ($MnSO_4*H_2O$) و آب مقطر در ارلن تهیه شد و در اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲۰ بار به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و سپس ۲۰ درصد وزنی به حجمی اوره فیلتر شده به محیط اضافه شد. پس از آن کشت خطی باکتری انجام شد و به مدت 48 ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد و در نهایت پتری، در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد(شکل۱).

شکل۱.کشت خطی باکتری

در ادامه محیط کشت مایع متشکل از ۱۰ میلی لیتر اوره‌ی ۲۰ درصد،۱,۳ گرم نوترینت براث[4] و۹۰ میلی لیتر آب مقطر تشکیل شد پس از آن باکتری از محیط جامد به محیط کشت مایع تلقیح شد و سپس ارلن حاوی باکتری در شیکر-انکوباتور دردمای ۳۰ درجه سانتی گراد و چرخش120 دور بر دقیقه قرار گرفت(شکل۲). پس از ۲۴ ساعت (ابتدای فاز سکون) محلول باکتری با OD=2 برای عمل رسوب دهی بر روی سنگدانه از شیکر خارج شد.

[1] Bacillus pasteurii
[2] Microbiologically induced carbonate precipitation
[3] Nutrient agar
[4] Nutrient broth

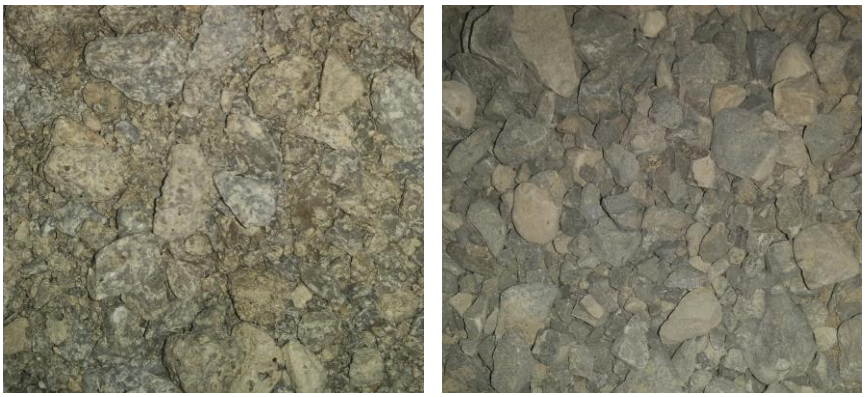
شکل۲. شیکر-انکوباتور مورد استفاده برای رشد باکتری

3. مواد

در این پژوهش از مصالح رودخانه ای شکسته که از کارخانه آسفالت مجیدی مشهد تهیه شد استفاده گردید. دانه بندی مصالح بر اساس دانه بندی پیوسته مخلوط آسفالتی شماره ۵، جدول ۹-۱ آیین نامه روسازی آسفالت های ایران(نشریه ۲۳۴) تهیه گردید. قیر مورد استفاده ، قیر کاتیونی دیر شکن-Css) (1 با درصد باقیمانده قیر ۶۵، تهیه شده از شرکت توسعه ساختار محیط ایران است.

4. عمل آوری رسوب زیستی بر روی سنگدانه

تا کنون روش های متنوعی برای عمل آوری سنگدانه ارائه شده است. در این پژوهش عمل آوری بر روی مصالح مانده روی الک ۵۰ انجام شد. محلول حاوی باکتری همراه با محلول تغذیه اوره-کلسیم کلراید هر هشت ساعت به مدت سه روز اسپری شد. سپس به مدت ۲۸ روز رسوب تشکیل شده روی سنگدانه برای تثبیت و چسبندگی بر روی سنگدانه ها باقی ماند. شکل۳ رسوب تشکیل شده بر روی مصالح را نشان می دهد.



ب **الف**

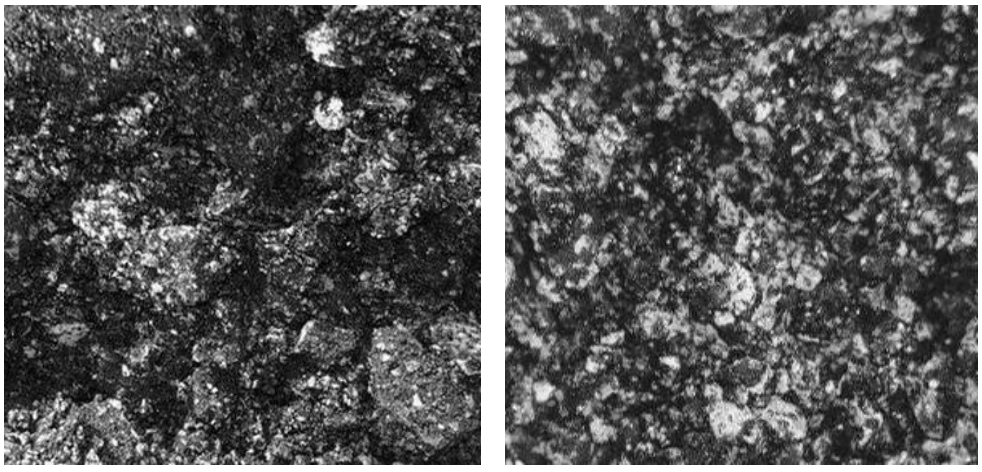
شکل ۳. الف)سنگدانه قبل از عمل آوری ب)سنگدانه بعد از عمل آوری

5. ساخت نمونه های آسفالتی

به منظور بررسی پوشش قیری و انجام آزمایش آب جوشان، مخلوط آسفالتی سرد با قیر امولسیونی کاتیونی CSS-1 تهیه گردید. طرح اختلاط آسفالت بر اساس نشریه MS19 انستیتو آسفالت بدست آمد. درصد آب بهینه ۳ درصد و درصد قیر بهینه مخلوط آسفالتی ۵ درصد قیر یا ۷/۶۹درصد قیرابه بدست آمد. سپس نمونه ها به مدت ۴ روز در دمای محیط قرار داده شد تا خشک شود.

6. آزمایش پوشش قیری

پس از گذشت ۴ روز از تهیه‌ی دو مخلوط آسفالتی سرد ، پوشش قیری نمونه ها بر اساس صفحه ۱۶۲ نشریه MS19 انستیتو آسفالت اندازه گیری شد[۲۳]. شکل ۴-الف پوشش قیری برای سنگدانه معمولی و شکل ۴-ب پوشش قیری برای سنگدانه حاوی باکتری را نشان می دهد. مطابق شکل پوشش قیری بر روی مخلوط آسفالتی کوبیده نشده با مصالح عمل آوری شده با باکتری بیشتر از پوشش قیری برروی آسفالت کوبیده نشده با مصالح ساده است . بنابراین عمل آوری سنگدانه با روش بیولوژیکی پوشش قیری را بهبود داده است. علت این امر به دلیل ایجاد یک پوشش سطحی از رسوب کلسیم کربنات که یک ماده آب گریز است بر روی مصالح سنگی است.

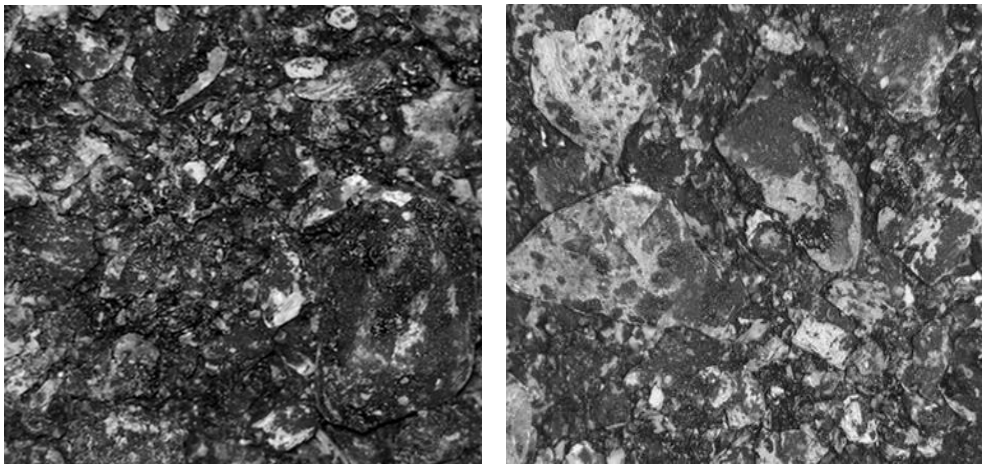


ب الف

شکل٤. الف)پوشش قیری بر روی سنگدانه معمولی ب)پوشش قیری براس سنگدانه عمل آوری شده توسط باکتری باسیلوس پاستوری

7. آزمایش آب جوشان

در این تحقیق آزمایش آب جوشان بر اساس استاندارد ASTM D3625 و پوشش قیری بر روی مخلوط آسفالتی سرد قبل و بعد از آزمایش آب جوشان بررسی شد.[۱, ۲۴] حدود ۵۰۰ گرم از مخلوط آسفالتی کوبیده نشده مطابق استاندارد داخل بشر شیشه ای ریخته شد و حدود ۲,۵ سانتی متر آب بالای آن قرار داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد . سپس قیر بوجود آمده بر روی سطح آب به منظور جلوگیری از چسبندگی دوباره بر روی سطح سنگدانه ها از سطح آب استخراج شد و نمونه ها بر روی پارچه سفید و تمیز تهیه شد و به مدت ۲۴ ساعت در اون قرار داده شد تا آب مخلوط خشک شود. شکل ۵ عریان شدگی مصالح سنگی ساده و عمل آوری شده را بعد از آزمایش آب جوشان نشان می دهد. مطابق جدول ۱ عریان شدگی بعد از آزمایش آب جوشان بر روی آسفالت کوبیده نشده با مصالح معمولی بیشتر از ۳۰ درصد است و در نتیجه درجه ۴ است وعریان شدگی بعد از آزمایش آب جوشان بر روی آسفالت کوبیده نشده با مصالح عمل آوری شده کمتر از ۳۰ درصد است و درجه ۳ را به خود اختصاص می دهد بنابراین در این پژوهش عمل آوری سنگدانه بر روی مصالح سنگی در مخلوط آسفالتی سرد عریان شدگی را به اندازه یک درجه بهبود داده است. علت این امر تشکیل لایه ای از کلسیم کربنات که ماده ای آب گریز است توسط باکتری بر روی مصالح سنگی و در نتیجه بهبود چسبندگی بین قیر و سنگدانه توسط این رسوب است.



الف ب

شکل ۵. پوشش قیری بعد از آزمایش آب جوشان الف) بر روی مصالح سنگی ساده و ب) مصالح سنگی عمل آوری شده با باکتری باسیلوس پاستوری

جدول۱. درجه چسبندگی مصالح با قیر براساس آیین نامه چین[۲۵, ۲۶]

درجه	شرط فیلم قیری جدا شده از مواد بعد از ده دقیقه دقیقه جوشاندن
۱	سطوح همه مصالح هم چنان با قیر پوشیده شده و هیچ مقداری از قیر از آن جدا نشده است.
۲	کمتر از ۱۰ درصد قیر از سطح مصالح جداشده و فیلم قیری تغییر شکل یافتگی ندارد.
۳	کمتر از ۳۰ درصد قیر از سطح مصالح جدا شده و بخشی از فیلم قیری باقیمانده تغییر شکل یافته است اما هنوز از سطح مصالح جدا نشده است.
۴	بیشتر از ۳۰ درصد قیر از سطح مصالح جدا شده و بخش عمده ای از فیلم قیری تغییر شکل یافته اما هنوز روی مصالح باقیمانده است.
۵	مصالح به طور اساسی عریان شدگی دارند و بقیه فیلم قیری به طور کامل تغییر شکل یافته است یا روی آب شناورند.

۸. نتیجه گیری

با توجه به آزمایشات انجام شده در این پژوهش و ترسیب بیولوژیکی توسط باکتری های کلسیت ساز بر روی سطوح سنگدانه های مخلوط آسفالتی سرد، می توان نتیجه گرفت:

- پوشش قیری به دلیل خاصیت آب گریز بودن رسوب کلسیم کربنات بهبود پیدا کرده است.
- عریان شدگی قبل و بعد از آزمایش آب جوشان به یک درجه بهبود پیدا کرده است و علت آن را میتوان افزایش مقاومت چسبندگی قیر و سنگدانه توسط لایه نازک رسوب کلسیم کربنات دانست.
- این تحقیق پتانسیل رسوب زیستی کلسیم کربنات توسط عامل باکتریایی برای بهبود خواص مکانیکی آسفالت سرد را نشان می دهد.

۹. قدردانی

از آقایان فنودی و محسن حاجی نژاد ، مسئولان محترم آزمایشگاه روسازی و آسفالت برای همکاری در این پژوهش کمال تشکر را داریم.

۱۰. مراجع

[1] C. Ling, A. Hanz, and H. Bahia, "Measuring moisture susceptibility of Cold Mix Asphalt with a modified boiling test based on digital imaging," *Construction and Building Materials*, vol. 105, pp. 391-399, 2016.

[2] P. Jarrett, A. Beaty, and A. Wojcik, "Cold-mix asphalt technology at temperatures below 10 C," in *Proc., Association of Asphalt Paving Technologists*, 1984, pp. 50-97.

[3] D.-W. Cho, *Study of asphalt-aggregate bond in simple simulation using the dynamic shear rheometer*. ProQuest, 2008.

[4] H. Bahia, A. Hanz, K. Kanitpong, and H. Wen, "Testing methods to determine aggregate/asphalt adhesion properties and potential moisture damage," *WHRP 07-02, Wisconsin Highway Research Program*, 2007.

[5] A. Bhasin, "Development of methods to quantify bitumen-aggregate adhesion and loss of adhesion due to water," Texas A&M University, 2007.

[6] Y.-R. Kim, D. Little, and R. Lytton, "Effect of moisture damage on material properties and fatigue resistance of asphalt mixtures," *Transportation Research Record: Journal of the Transportation Research Board*, no. 1891, pp. 48-54, 2004.

[7] Z.-Y. Pan *et al.*, "Modified recycled concrete aggregates for asphalt mixture using microbial calcite precipitation," *RSC Advances*, vol. 5, no. 44, pp. 34854-34863, 2015.

[8] D. Snoeck, J. Wang, D. P. Bentz, and N. De Belie, "Applying a biodeposition layer to increase the bond of a repair mortar on a mortar substrate," *Cement and Concrete Composites*, vol. 86, pp. 30-39, 2018.

[9] J. García-González *et al.*, "Quality improvement of mixed and ceramic recycled aggregates by biodeposition of calcium carbonate," *Construction and Building Materials*, vol. 154, pp. 1015-1023, 2017.

[10] E. Boquet, A. Boronat, and A. Ramos-Cormenzana, "Production of calcite (calcium carbonate) crystals by soil bacteria is a general phenomenon," *Nature*, vol. 246, no. 5434, pp. 527-529, 1973.

[11] V. Achal and X. Pan, "Characterization of urease and carbonic anhydrase producing bacteria and their role in calcite precipitation," *Current microbiology*, vol. 62, no. 3, pp. 894-902, 2011.

[12] V. S. Whiffin, "Microbial CaCO3 precipitation for the production of biocement," Murdoch University, 2004.

[13] S.-J. Park, Y.-M. Park, W.-Y. Chun, W.-J. Kim, and S.-Y. Ghim, "Calcite-forming bacteria for compressive strength improvement in mortar," *Journal of microbiology and biotechnology*, vol. 20, no. 4, pp. 782-788, 2010.

[14] R. Siddique and N. K. Chahal, "Effect of ureolytic bacteria on concrete properties," *Construction and Building Materials*, vol. 25, no. 10, pp. 3791-3801, 2011.

[15] Z. Yang and X. Cheng, "A performance study of high-strength microbial mortar produced by low pressure grouting for the reinforcement of deteriorated masonry structures," *Construction and Building Materials*, vol. 41, pp. 505-515, 2013.

[16] N. Chahal, R. Siddique, and A. Rajor, "Influence of bacteria on the compressive strength, water absorption and rapid chloride permeability of fly ash concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 28, no. 1, pp. 351-356, 2012.

[17] N. Chahal and R. Siddique, "Permeation properties of concrete made with fly ash and silica fume: Influence of ureolytic bacteria," *Construction and Building materials*, vol. 49, pp. 161-174, 2013.

[18] R. Siddique and A. Rajor, "Strength and microstructure analysis of bacterial treated cement kiln dust mortar," *Construction and Building Materials*, vol. 63, pp. 49-55, 2014.

[19] W. De Muynck, N. De Belie, and W. Verstraete, "Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review," *Ecological Engineering*, vol. 36, no. 2, pp. 118-136, 2010.

[20] L. S. Wong, "Microbial cementation of ureolytic bacteria from the genus Bacillus: a review of the bacterial application on cement-based materials for cleaner production," *Journal of Cleaner Production*, vol. 93, pp. 5-17, 2015.

[21] M. A. Rivadeneyra, R. Delgado, A. del Moral, M. R. Ferrer, and A. Ramos-Cormenzana, "Precipatation of calcium carbonate by Vibrio spp. from an inland saltern," *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 13, no. 3, pp. 197-204, 1994.

[22] C. Barabesi, A. Galizzi, G. Mastromei, M. Rossi, E. Tamburini, and B. Perito, "Bacillus subtilis gene cluster involved in calcium carbonate biomineralization," *Journal of bacteriology*, vol. 189, no. 1, pp. 228-235, 2007.

[23] A. B. A. E. Manual, "Manual Series No. 19 (MS-19), the Asphalt Institute," *Inc., Lexington, Kentucky*, 1992.

[24] C. Ling, R. Moraes, D. Swiertz, and H. Bahia, "Measuring the influence of aggregate coating on the workability and moisture susceptibility of cold-mix asphalt," *Transportation Research Record: Journal of the Transportation Research Board*, no. 2372, pp. 46-52, 2013.

[25] W. Wang, Y. Zhang, K. Höeg, and Y. Zhu, "Investigation of the use of strip-prone aggregates in hydraulic asphalt concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 24, no. 11, pp. 2157-2163, 2010.

[26] *DL/T 5362-2006, Test code for hydraulic asphalt concrete [in Chinese]*. 2006.

11th INTERNATIONAL CONGRESS ON CIVIL ENGINEERING
MAY 8-10 2018

یازدهمین کنگره بین المللی مهندسی عمران
۱۸ تا ۲۰ اردیبهشت ۱۳۹۷

بنام خدا

فرهیخته گرامی جناب آقای / سرکار خانم **حامد عطاران دوم**

به این وسیله گواهی می شود مقاله حضرتعالی تحت عنوان:

اثر رسوب کلسیم کربنات ناشی از عامل باکتریایی بر ویژگی های مکانیکی آسفالت سرد

مورد پذیرش کمیته علمی یازدهمین کنگره بین المللی مهندسی عمران قرار گرفته و در مجموعه مقالات کنگره انتشار یافته است.

همچنین گواهی می شود که مقاله مذکور در فوق توسط حضرتعالی در جلسات کنگره ارائه گردیده است.

سهیل محمدی	شاهرخ مالک	ایرج محمودزاده کنی	سید تقی (امید) نظامی
رئیس دانشکده مهندسی عمران	دبیر کنگره	دبیر کمیته علمی	دبیر کمیته اجرایی