

DOI: 10.11779/CJGE201610004

低温条件下微生物诱导碳酸钙沉积加固土体的试验研究

彭 劼^{1, 2}, 何 想^{1, 2}, 刘志明^{1, 2}, 冯清鹏^{1, 2}, 何 稼^{1, 2}

(1. 河海大学岩土力学与堤坝工程教育部重点实验室, 江苏 南京 210098; 2. 江苏省岩土工程技术工程研究中心(河海大学), 江苏 南京 210098)

摘 要: 微生物诱导碳酸钙沉积(MICP)加固土体是近年来受到学术界重视的问题, 但是对实际土壤温度下 MICP 加固土体的可行性及效果研究未见报道。利用尿素水解菌 ATCC 11859, 进行了微生物诱导碳酸钙沉积的试管试验及一维砂柱试验, 研究了不同温度下微生物诱导生成碳酸钙的特性及对土体的加固效果。试管试验表明温度越高生成的碳酸钙越多, 在不同温度下微生物诱导生成的碳酸钙晶型无显著差异, 但是温度对碳酸钙的生成速率有明显影响。一维加固试验表明 MICP 在一般土壤温度条件下都能够有效地加固土体, 但低温下 MICP 加固的试样强度较低, 渗透系数较高。
关键词: 微生物诱导碳酸钙沉积; 温度; 土体加固; 试验研究

中图分类号: TU41

文献标识码: A

文章编号: 1000-4548(2016)10-1769-06

作者简介: 彭 劼(1971-), 男, 湖南衡阳人, 教授, 硕士生导师, 主要从事软基处理相关研究。E-mail: peng-jie@hhu.edu.cn。

Experimental research on influence of low temperature on MICP-treated soil

PENG Jie^{1, 2}, HE Xiang^{1, 2}, LIU Zhi-ming^{1, 2}, FENG Qing-peng^{1, 2}, HE Jia^{1, 2}

(1. Key Laboratory of Ministry of Education for Geomechanics and Embankment Engineering, Hohai University, Nanjing 210098, China;

2. Jiangsu Research Center for Geotechnical Engineering Technology (Hohai University), Nanjing 210098, China)

Abstract: The microbially induced carbonate precipitation (MICP) has become an active issue in the field of geotechnical engineering. However, the feasibility and reinforcement effects of this technology at low temperature are not available in previous literatures. A series of tube tests and one-dimension sand column trials using ureolytic bacteria ATCC11859 are conducted to investigate the influence of ambient temperature on MICP behavior and stabilization effectiveness. The tube test results show that the final amount of calcium carbonate is much more in high temperature than lower temperature, and the temperature has a notable influence on the formation rate of precipitations instead of the morphology of CaCO_3 in aqueous medium. The experiments on coarse sand treated with surface percolation demonstrate the validity of bio-grout at common soil temperature, whereas the MICP-treated sand column has a relatively lower UCS as well as higher permeability coefficient at low temperature.

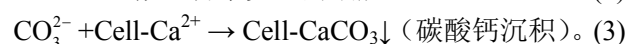
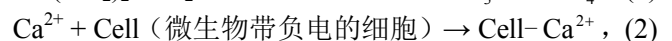
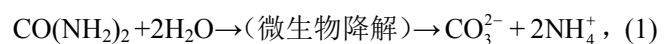
Key words: microbially induced carbonate precipitation; temperature; soil improvement; experimental research

0 引 言

土体加固是岩土工程领域的重要课题。通常的土体加固方法如预压固结、化学灌浆等, 普遍存在工期长、能耗大、费用高等不足, 化学灌浆法中的大多数浆液还对环境有害^[1]。随着各国对可持续发展和环境友好发展的要求, 使得在选择土体加固方法时, 宜更多地考虑生态环境保护 and 能源节约。在此背景下, 微生物诱导碳酸钙沉积(microbially induced carbonate precipitation, 后文缩写为 MICP)在加固土体方面的应用得到了越来越多的重视和研究。

MICP是指特定细菌的代谢产物与周围环境中的物质合成碳酸钙的过程^[2]。以尿素水解类微生物为例, 其在新陈代谢过程中会产生一种脲酶, 该脲酶可催化

尿素水解, 使周围溶液的 pH 值升高, 并最终生成铵根离子和碳酸根离子, 细菌表面带负电荷, 所以钙离子会吸附在细胞壁表面, 当周围溶液中碳酸根离子和钙离子过饱和时, 钙离子和碳酸根离子就会以细胞为晶核形成碳酸钙结晶^[3], 如下式所示:



MICP形成的碳酸钙不仅可填充在土体孔隙之间, 而且是很好的胶结材料, 将土颗粒黏结起来, 从而可

基金项目: 国家自然科学基金项目(51578214); 岩土力学与堤坝工程教育部重点实验室开放基金项目(GH201304)

收稿日期: 2015-09-15

达到提高土体强度、减小土体孔隙比、降低土体渗透系数等加固效果。由于 MICP 依靠微生物自身来合成碳酸钙, 只需要提供微生物代谢所需的营养及钙源, MICP 达到预期加固目标后, 剩余的微生物由于缺乏营养供给而死亡, 对环境的影响小, 因此相较于其他土体加固方法, MICP 具有能耗低、污染小的优点, 是具有应用潜力的新一代土体加固技术^[2-6]。

MICP 微生物的生长、活性及碳酸钙沉积速度和沉积量等生化特性受到多方面的因素影响^[7-8]。在研究中可将 MICP 分为两个过程: 即微生物生长阶段(或称培养阶段)和微生物代谢阶段(或称使用阶段), 在这两个阶段, 微生物所处的环境不同。已有的报道表明^[4], 尿素水解菌适宜的培养温度为 30℃, 而且能够适应从淡水到各种浓度海水的培养环境^[9-11]。微生物培养好后加入相关的化学试剂(如尿素和氯化钙混合液), 即进入生成碳酸钙沉积的使用阶段, 碳酸钙沉积的类型和产量受到多种因素的影响, 包括土体类型以及温度、含氧量等。研究表明, MICP 对各类土体都有较好的适应性。但是目前对温度的影响研究不足。有学者指出 30℃~60℃ 范围内微生物的脲酶活性较高^[4], 但土壤统计温度的峰值也不超过 30℃, 10℃~25℃ 是中国大部分地区土壤(冬季除外)的温度变化范围^[12], 尤其是距地面 3~4 m 以下的土壤温度大都是在 10℃~16℃ 之间, 这个温度范围并不是 MICP 微生物最佳的生长范围, 而是相对的低温范围。已有文献中的试验均是基于 20℃ 室温或 25℃ 室温下进行^[7-8, 13-15], 针对这个低温范围内 MICP 的可行性及加固效果的研究未见报道, 很明显, 研究这个温度范围内 MICP 的可行性及加固效果, 对该方法在未来实际中的应用和推广具有重要的意义。

为了研究 MICP 在不同土壤温度条件下的可行性及加固效果, 本研究分别在 10℃, 14℃, 18℃, 21℃, 25℃ 的环境下进行了 MICP 试管试验和一维砂柱加固试验, 对比研究了低温条件下 MICP 的可行性及加固效果。在试管试验中测试了微生物的活性、微生物诱导生成碳酸钙的沉积速度和总量, 并对生成晶体进行了 XRD 和 SEM 试验, 在砂柱试验中, 测试了各温度下 MICP 加固后砂柱的强度、碳酸钙沉积量以及碳酸钙晶型。

1 试验材料

1.1 细菌的培育生长

本试验用菌为巴斯芽孢杆菌(美国国家菌种库编号 ATCC11859), 培养液采用菌种库推荐配方 ATCC1376, 每升培养液包括 20 g 酵母提取物、10 g

(NH₄)₂SO₄ 以及 14.71g Tris, 并用 0.1 M 的盐酸调节 pH 至 9.0。将细菌从平板接种至培养液中, 置于振荡培养箱(30℃, 121r/min)培养 30~40 h, 测定其吸光度(OD 值)和活性, 吸光度采用可见光分光计测量, 测量波长为 600 nm, 培养好的菌液 OD 值范围在 0.8~1.2 之间, 由 OD 值可根据标准生长曲线估算细菌数量(bacterial density)^[4]。微生物活性采用电导率法测量。

1.2 胶结液的配置

本试验中胶结液采用 Urea-CaCl₂ 混合液, 其中尿素为微生物生长的氮源和能量来源, CaCl₂ 为 MICP 过程中的钙源。加入 10 g/L 的 Tris 和 NH₄Cl 通过稀盐酸调节注入前胶结液的 pH=8.0。砂柱试验中还加入 3 g/L 的营养肉汤作为细菌的营养源。胶结液的具体配方见表 1。

表 1 胶结液配方

Table 1 Cementation recipes					
化学物质	浓度 (mmol·L ⁻¹)	消毒 方式	摩尔 质量	用量 (g·L ⁻¹)	备注
尿素 Urea	1500	过滤	60.06	90.09	
氯化铵 NH ₄ Cl	187	高压蒸汽灭菌	53.49	10.00	
三羟甲基氨基 甲烷 Tris	82.5	高压蒸汽灭菌	121.14	10.00	
氯化钙 CaCl ₂	500	高压蒸汽灭菌	110.98	55.49	
营养肉汤 (Nutrient Broth)	3g/L	高压蒸汽灭菌	—	—	砂柱

1.3 砂样的性质

砂柱试验砂为福建标准砂, 筛除细颗粒后粒径参数为($d_{50}=3.6\text{ mm}$, $d_{90}=8\text{ mm}$), 砂的级配曲线见图 1。所用模具为 50 mL 内径为 3 cm 的玻璃注射器。砂样的高度为 8 cm。孔隙率为 30%~36%。试验前砂样浸水抽气饱和, 在不同的温度下自由滤水。静置 12 h 后, 砂样的饱和度为 44%~52%。

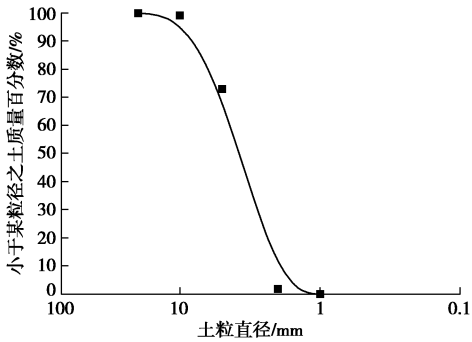


图 1 颗粒分布曲线

Fig. 1 Distribution curve of sand

2 试验方法

2.1 微生物活性试验

巴斯芽孢杆菌的活性即细菌水解尿素的能力。Whiffin 提出将菌液加入 1.5 M 的尿素按一定倍数稀释后（本文为 10 倍）在 25℃下每分钟电导率变化值可用来换算菌液脲酶水解能力^[4]。将培养好的细菌分装在烧瓶中置于不同温度下，待其冷却到相应的环境温度，各取 1 mL 加入 9 mL 1.5 M 尿素的试管中测定电导率变化量测定电导率变化量^[16]。为了便于比较，用每分钟水解尿素量除以 OD 值代表单体酶活性。

2.2 MICP 试管试验

分别在 10℃，14℃，18℃，21℃，25℃的温度下进行了 MICP 试管试验。在不同的温度下，将 20 mL 胶结液和 2 mL 菌液充分混合，并放置在相应温度的温控箱内，试验前测定所加菌液的活性和吸光度。每隔 10 h，取出一组试管，测量已沉淀碳酸钙的质量，并将不同温度下试管中最终沉淀的碳酸钙进行 XRD 试验，以确定生成的碳酸钙矿物成分和晶型。

2.3 MICP 砂柱试验

分别在 10℃，14℃，18℃，21℃，25℃的环境温度下进行 MICP 砂柱试验。先泵入菌液，随后泵入胶结液，泵入速率均为 1.8 mL/min。菌液注入后静置 30 min，使细菌在孔隙中扩散、黏附于土颗粒上。然后将胶结液注入土中，注入后静置 6 h，使细菌与胶结液充分反应。静置后，进行第二次灌浆，做法与第一次相同，累计灌入 10 次。不同温度下注入总的菌液和胶结液体积相同，各组的菌液注入总量为 65 mL，胶结液注入总量为 130 mL（图 2）。

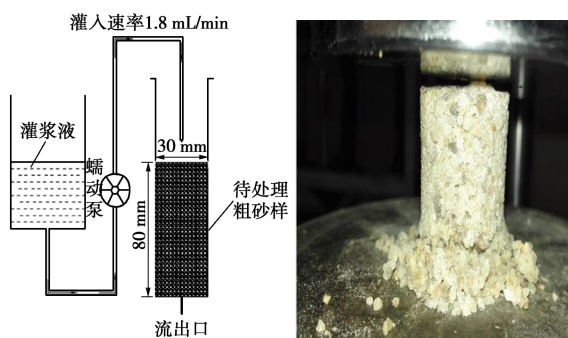


图 2 灌浆装置及加固后试样示意图

Fig. 2 Schematic plan of test setup and treated sand column

2.4 碳酸钙的测量

试管中沉积碳酸钙的测量：移除上层液，用蒸馏水冲洗数次，去除清液，保留沉淀并置于烘箱中烘干。为了防止试管中沉淀物随水沸腾喷出，将烘箱的温度调为 108℃，6 h 后沉淀中的水分蒸发，温度调高至 200℃充分分解沉淀中可能存在的氯化铵、尿素以及热稳

定性差的有机物。测得试管前后变化的质量即为碳酸钙的质量。碳酸钙的沉淀效率^[17]通过下式计算：

$$\text{CaCO}_3 \text{ Efficiency}(\%) = \frac{[\text{CaCO}_3(\text{s})]_{\text{T}} \cdot 1\text{molCa}^{2+} / 1\text{molCaCO}_3(\text{s})}{[\text{CaCl}_2(\text{s})]_{\text{T}} \cdot 1\text{molCa}^{2+} / 2\text{molCl}^{-}}, \quad (4)$$

其中， $[\text{CaCO}_3(\text{s})]_{\text{T}}$ 为沉淀生成的碳酸钙质量， $[\text{CaCl}_2(\text{s})]_{\text{T}}$ 为加入氯化钙的质量。

砂柱中沉积碳酸钙采用酸洗的方法进行测量。将烘干后的砂样用 6 M 稀盐酸浸泡，蒸馏水洗净后，过 0.075 mm 筛。砂样清洗前后变化的质量为砂样中生成的碳酸钙量。

2.5 砂样渗透系数的测量

直接在砂柱试验的容器内采用变水头渗透试验测量其渗透系数。测试及计算方法参照 GB/T 50123—1999。

3 结果与讨论

3.1 微生物活性

温度影响着微生物脲酶的活性，在 70℃时活性达到最大^[4]。此外，单体脲酶活性（specific urease activity）的平均值随温度的升高而缓慢增大，但温度越高测量的活性值离散程度越大，脲酶的活性越不稳定。如图 3 所示。

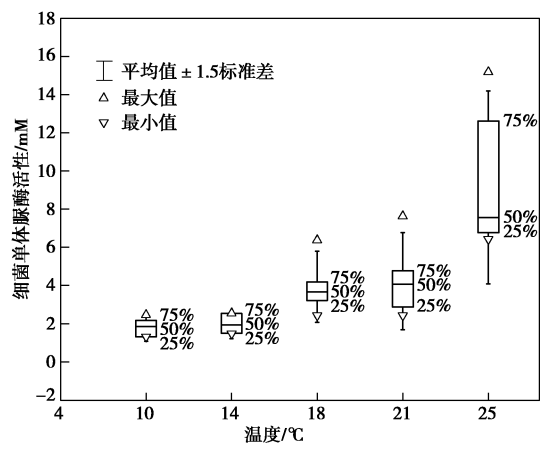


图 3 不同温度下菌液的单体酶活性

Fig. 3 Specific urease activity under different temperatures

3.2 试管试验数据整理

（1）根据式（1）～（3）沉淀 1 mol 钙离子需要水解 1 mol 尿素，本次试验中尿素的用量为钙离子的 3 倍，理论上能够将钙离子全部沉淀。试验表明巴斯芽孢杆菌有良好的温度耐受性，在不同温度下均有碳酸钙生成、沉积。温度越高碳酸钙的生成、沉积速度越快，最终的碳酸钙产量也越高。经过 107 h，25℃下钙离子的沉淀效率达到 97%，21℃和 18℃分别为 93% 和 92%，14℃时为 83%，而 10℃只有 39%。如图 4

所示。沉淀量并不是随着时间线性增大,甚至在菌液加入 10 h 后沉淀量变小。出现这一现象的原因可能由于菌液加入初期试管中有机质较多,碳酸根离子较少,钙离子与带负电有机质相互间静电、螯合作用,使钙离子在带电有机质周围微环境中富集,形成局部饱和^[18]产生沉淀,随着细菌的生长、代谢、繁殖,溶液中碳酸根离子及阳离子溶度增大,钙离子逐渐以碳酸钙的形式析出。菌液加入初期,碳酸钙产量与菌液的活性相关,温度越低活性越小从而碳酸钙产量越低。10℃形成的碳酸钙的沉淀效率为 18%,25℃时为 10℃的两倍以上为 38%。

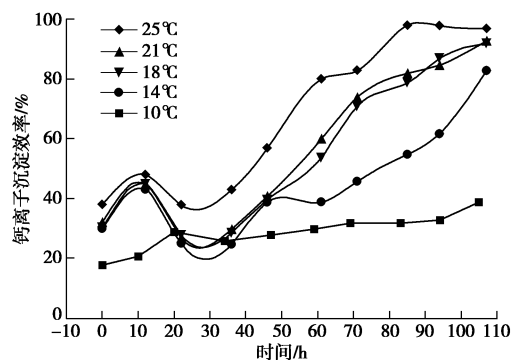


图 4 不同温度下钙离子沉淀效率

Fig. 4 Efficiency of precipitation under different temperatures

(2) 取试管中烘干后的沉淀进行 XRD 试验,图 5 显示了 14℃和 25℃下沉淀的 XRD 图谱。分析发现在不同温度的试管环境下生成的碳酸钙沉淀物差别不大,用 XRD 软件分析的结果表明矿物成分为方解石(calcite)。

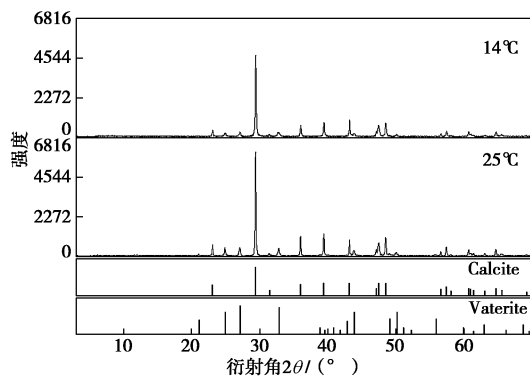


图 5 试管中沉淀 XRD 图谱

Fig. 5 X-ray diffraction patterns of minerals in tube

3.3 砂柱试验数据整理

(1) 进行了小型砂柱试验,测定不同温度对加固

强度的影响。表 2 为砂柱胶结体的无侧限抗压强度,从表中可以看出,经微生物加固后砂样的无侧限抗压强度可以达到 370 kPa。何稼等^[19]统计了碳酸钙含量与单轴抗压强度的关系,结果显示碳酸钙含量与无侧限抗压强度存在正相关。在相同的抗压强度区间(0~500 kPa),25℃下本文的碳酸钙含量为 3.2%,与前人的试验统计结果接近。同时,温度越高,加固样的强度越大,25℃条件下的加固试样强度是 10℃条件下的 305%,为 14℃的 141%,21℃下的 102%。在低温下温度的增加对强度影响明显,从 10℃到 14℃,强度增加了 141.8 kPa,而 21℃到 25℃强度变化只有 10 kPa。随着温度的升高,温度对强度的影响逐渐减弱,如图 6 所示。

表 2 砂柱无侧限抗压强度

Table 2 Unconfined compression stress of MICP-treated sand samples

温度/℃	10	14	18	21	25
无侧限抗压强度/kPa	122.7	264.5	291.8	364.3	374.3

(2) 砂样的初始渗透系数为 $(6.4\sim7.8)\times10^{-2}$ cm/s,经过加固后由于碳酸钙生成沉积填充于孔隙之中,不同温度下砂样渗透系数均有下降。与何稼等^[19]的统计结果相比,在相同的碳酸钙含量区间除了 25℃渗透系数的值偏低外,其余的数据是接近的。可能因为在 25℃下试样表层生成了碳酸钙硬壳层。由表 3 可以看出温度越高,砂样的渗透系数下降越多。这主要是由于温度不同导致碳酸钙最终生成量不相同,本次试验中 25℃下生成的碳酸钙为 0.063 g/g(每 g 砂体中含有的碳酸钙质量),而 10℃下生成的碳酸钙为 0.032 g/g。14℃下处理后的试样渗透系数比 10℃减少了 12.7 倍,25℃比 21℃减少了 63.4 倍。在 10℃~25℃范围内温度越高,渗透系数降低越明显,10℃时处理后的砂样渗透系数减少了一个数量级,14℃和 18℃减少了两个数量级,25℃时减少了 5 个数量级,与黏土的渗透系数相当。由图 6 可看出温度、强度的变化并不同步,出现这种现象的原因可能由于在较高温度下,细菌的水解速率加快,导致碳酸钙在砂样中分布不均,注入处含量高发生塞孔,其他地方相对较小,从而测得的渗透系数与强度变化规律不一致。

(3) 由 SEM 图像发现不同温度下胶结砂粒的表

表 3 渗透系数和碳酸钙生成量

Table 3 Hydraulic conductivity of sand column

指标	温度/℃				
	10	14	18	21	25
处理前渗透系数/(cm·s ⁻¹)	6.42×10^{-2}	7.83×10^{-2}	6.09×10^{-2}	7.92×10^{-2}	7.76×10^{-2}
处理后渗透系数/(cm·s ⁻¹)	3.43×10^{-3}	5.76×10^{-4}	2.70×10^{-4}	1.30×10^{-5}	2.05×10^{-7}
碳酸钙含量/(g·g ⁻¹)	0.032	0.043	0.050	0.057	0.063

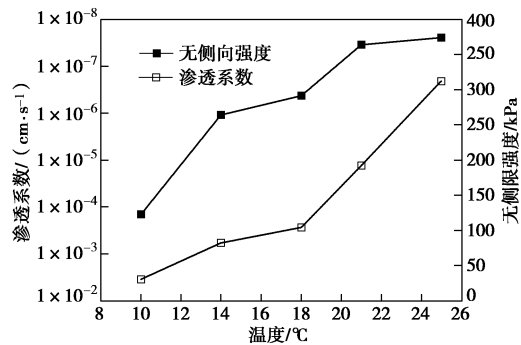


图 6 不同温度下处理后砂样的无侧限强度和渗透系数

Fig. 6 UCS and hydraulic conductivity of treated samples under different temperature

面相似, 都包裹着碳酸钙晶体, 说明巴斯芽孢杆菌能适应 $10^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$, 水解尿素产生碳酸钙沉淀, 验证了低温 MICP 的可行性。然而碳酸钙在砂粒表面的分布并不均匀, 有学者认为钙离子的浓度影响着 MICP 分布的均匀性^[5, 8]。在相同钙离子浓度和温度下 (25°C), Qabany 等^[8]的观察结果与本试验是一致的 (图 7 (b) I)。由于处理次数有限 (本次试验共计灌入 10 次, 历时 66 h), 生成的碳酸钙并未完全覆盖砂粒, 空隙中填充的碳酸钙也不多, 解释了本次试验处理后的砂柱强度相对于其他试验偏低。在 25°C 下, 砂粒表面的碳酸钙晶体大多呈球体图 7 (b) I, 14°C 下产生了大量棱柱状晶体图 7 (a) I。碳酸钙晶体的形态受多方面影响, CHENG 等^[18]认为在试管中细菌分泌液起主要作用, 本试验发现温度也会影响碳酸钙的晶型。在较大尺度下砂粒表面碳酸钙的包裹程度差别不大。然而, 碳酸钙含量却不相同, 可能是生成的碳酸钙分级生长, 砂体表面覆盖了多层矿物。

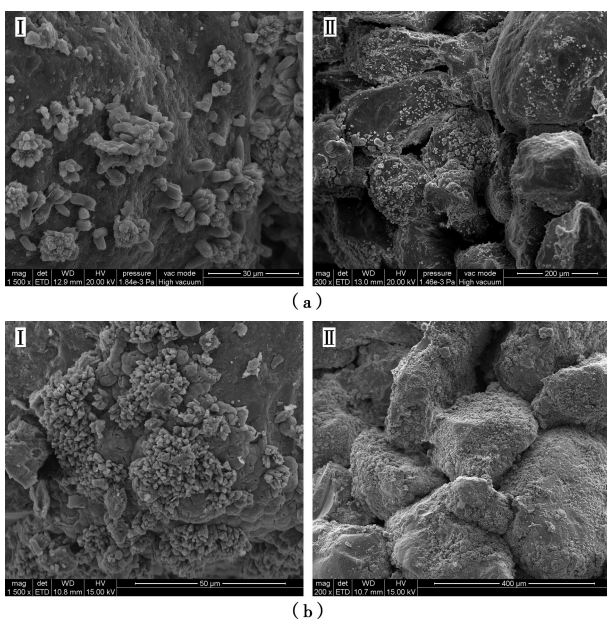


图 7 砂样 SEM 图像

Fig. 7 SEM images of sand coated in minerals

4 结论及展望

本文利用尿素水解菌 ATCC 11859, 进行了微生物诱导碳酸钙沉积的试管试验及一维砂柱试验, 研究了不同温度下微生物诱导生成碳酸钙加固土体的可行性及加固效果。得到的结论如下:

(1) 在一般的土壤环境温度 ($10^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$) 下, MICP 都能够有效地生成碳酸钙沉积并加固土体, 表明了该方法应用于未来工程实际的可能性。

(2) 温度对微生物诱导碳酸钙生成的速率有明显影响。温度越高, 碳酸钙沉淀速率越快, 生成的碳酸钙量越多。

(3) 在 ($10^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$) 范围内, 土壤温度越高, MICP 加固后土体的强度越高、渗透性越低。 25°C 条件下的加固试样强度是 10°C 条件下的 305%; 渗透系数在 25°C 条件下降低了 4 个量级, 在 10°C 条件下渗透系数只降低了一个量级。考虑到实际的土壤温度是从地表开始随深度逐渐降低的, MICP 方法这种随着温度降低、加固效果逐渐降低的特性, 对该方法未来的实际应用提出了挑战, 需要进一步研究相应的改善措施, 以使 MICP 加固土体各深度处的加固效果更均匀。

参考文献:

- [1] DEJONG J T, MORTENSEN B M, MARTINEZ B C, et al. Bio-mediated soil improvement [J]. Ecological Engineering, 2010, **36**(2): 197 - 210.
- [2] DEJONG J T, SOGA K, KAVAZANJIAN E, et al. Biogeochemical processes sand geotechnical applications: progress opportunities sand challenges [J]. Géotechnique, 2013, **63**(4): 287 - 301.
- [3] IVANOV V, CHU J. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ [J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2008, **7**(2): 139 - 153.
- [4] WHIFFIN V S. Microbial CaCO_3 precipitation for the production of Biocement [D]. Perth West Australia: Morduch University, 2004.
- [5] DE MUYNCK W, DE BELIE N, VERSTRAETE W. Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review [J]. Ecological Engineering, 2010, **36**(2): 118 - 136.
- [6] DHAMI N K, REDDY M S, MUKHERJEE A. Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: a review [J]. Frontiers in Microbiology, 2013, **4**: 1 - 13.
- [7] MORTENSEN B M, HABER M J, DEJONG J T, et al.

- Effects of environmental factors on microbial induced calcium carbonate precipitation[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, **111**(2): 338 – 349.
- [8] QABANY AL A, SOGA K, SANTAMARINA C. Factors affecting efficiency of microbially induced calcite precipitation[J]. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 2012, **138**(8): 992 – 1001.
- [9] BENNETT P C, HIEBERT F K, ROGERS J R. Microbial control of mineral-groundwater equilibria: Macroscale to microscale[J]. *Hydrogeology Journal*, 2000, **8**(1): 47 – 62.
- [10] FERRIS F G, PHOENIX V, FUJITA Y, et al. Kinetics of calcite precipitation induced by ureolytic bacteria at 10 to 20 degrees C in artificial groundwater[J]. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2004, **68**(8): 1701 – 1710.
- [11] FUJITA Y, TAYLOR J L, GRESHAM T L T, et al. Stimulation of microbial urea hydrolysis in groundwater to enhance calcite precipitation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**(8): 3025 – 3032.
- [12] 张慧智, 史学正, 于东升, 等. 中国土壤温度的季节性变化及其区域分异研究[J]. *土壤学报*, 2009, **46**(2): 227 – 234. (ZHANG Hui-zhi, SHI Xue-zheng, YU Dong-sheng, et al. Seasonal and regional variations of soil temperature in China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2009, **46**(2): 227 – 234. (in Chinese))
- [13] DEJONG J T, FRITZGES M B, NUSSLEIN K. Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear[J]. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 2006, **132**(11): 1381 – 1392.
- [14] CHU J, IVANOV V, NAEIMI M, et al. Optimization of calcium-based bioclogging and biocementation of sand[J]. *Acta Geotechnica*, 2014, **9**(2): 277 – 285.
- [15] GAT D, TSESARSKY M, SHAMIR D, et al. Accelerated microbial-induced CaCO_3 precipitation in a defined coculture of ureolytic and non-ureolytic bacteria[J]. *Biogeosciences*, 2014, **11**(10): 2561 – 2569.
- [16] 沈吉云. 微生物成因土工材料试验及应用研究[D]. 北京: 清华大学, 2009. (SHEN Ji-yun. Experiments and applications of bio-geomaterials[D]. Beijing: Tsinghua University, 2009. (in Chinese))
- [17] MARTINEZ B C, DEJONG J T, GINN T R, et al. Experiment optimization of microbial-induced carbonate precipitation for soil improvement[J]. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 2013, **139**(4): 587 – 598.
- [18] CHENG L, QIAN C X, WANG R X, et al. Study on the mechanism of calcium carbonate formation induced by carbonate-mineralization microbe[J]. *Acta Chimica Sinica*, 2007, **65**(19): 2133 – 2138.
- [19] 何稼, 楚剑, 刘汉龙, 等. 微生物岩土技术的研究进展[J]. *岩土工程学报*, 2016, **38**(4): 643 – 653. (HE Jia, CHU Jian, LIU Han-long, et al. Research advances in biogeotechnologies[J]. *Chinese Journal of Geotechnical Engineering*, 2016, **38**(4): 643 – 653. (in Chinese))