

DOI: 10.11779/CJGE201805020

砂土微生物固化过程中尿素的影响研究

孙潇昊, 缪林昌*, 童天志, 王呈呈

(东南大学交通学院岩土工程研究所, 江苏 南京 210096)

摘要: 砂土固化技术可改善砂土力学特性, 被广泛应用于工程中, 而在菌种培养液中添加尿素可大大加快固化反应提高砂土固化效率。开展了在菌种培养液中添加尿素分析其对砂土固化影响的试验研究。首先将尿素添加方式分为灭菌前加尿素、灭菌后加尿素和不加尿素3种, 研究不同方式对菌种生长和脲酶活性的影响; 再控制不同尿素添加量对比回分析得到适合的尿素添加量以便后续研究; 然后在砂土固化试验中采用灭菌后加尿素的方式研究其对砂土固化的影响; 最后通过控制砂柱长度、胶凝液灌注速度和砂土颗粒粒径等因素, 得到各因素对砂柱固化效果的影响。结果表明培养液中添加尿素可提高脲酶活性, 但稍微抑制菌种生长; 适合的尿素添加量为5~20 g/L; 灭菌后添加尿素能显著提高灌注部位的强度, 但长砂柱却因强度不均而整体强度较低; 灌注速度越快, 整体强度越高; 添加20 g/L尿素时, 整体强度随颗粒粒径增大而增大, 因此, 该方法适用于粗砂。研究成果对后期砂土固化技术的应用具有重要指导意义。

关键词: 砂土固化; 尿素; 巴氏芽孢杆菌; 碳酸钙; 无侧限抗压强度

中图分类号: TU43 文献标识码: A 文章编号: 1000-4548(2018)05-0939-06

作者简介: 孙潇昊(1993-), 男, 博士, 主要从事隧道地铁的研究工作。E-mail: sunxiao14hao@126.com。

Effect of methods of adding urea in culture media on sand solidification tests

SUN Xiao-hao, MIAO Lin-chang, TONG Tian-zhi, WANG Cheng-cheng

(Institute of Geotechnical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China)

Abstract: The sand solidification technology can improve the mechanical properties of sands and is being widely applied in engineering. Adding urea to culture media can drastically accelerate the curing reaction. The influence of adding urea to culture media on sand solidification is studied. At first, three methods of adding urea are examined to investigate the effects of them on the growth characteristics and urease activity: that is, adding urea before sterilization, adding urea after sterilization and not adding urea. Different amounts of urea are then added to obtain the appropriate amounts of adding urea for subsequent experiments. Finally, the method of adding urea after sterilization, length of sand columns, injection speed of gelling solution and sizes of sand particles are investigated to observe the influences of different factors on the curing of sand. The results show that the method of adding urea to the culture media can increase urease activity, but it will slightly inhibit bacterial growth. The proper amounts of urea added are between 5 and 20 g/L. The method of adding urea after sterilization markedly increases the strength of the injecting path. However, a long injecting path leads to lower overall strength. The faster the injection speed, the higher overall strength the sand columns have. When 20 g/L of urea is added, the overall strengths of the solidified sand columns increase with larger sand particle size. Therefore, the method of adding urea to the culture media for sand solidification is suitable for coarse sand, which will act as a guide for the application of sand solidification technology.

Key words: sand solidification; urea; Sporosarcina pasteurii; calcium carbonate; unconfined compressive strength

0 引言

近年来微生物技术迅猛发展, 人们对微生物技术在土木工程中的作用有了较深入的认识。其实质是: 某些特定的微生物, 可以利用周围的尿素等有机物以及钙离子源, 较快生成具有胶凝性质的碳酸钙。这种碳酸钙生成方式, 其速度及强度可控, 并可作为黏结剂, 将松散砂粒黏结成强度及渗透性可控的人造砂砾石^[1-2]。目前, 该技术已广泛用于生物水泥的制作, 文

物的保护和修复, 地基加固, 边坡防护等方面^[3-4]。

近年来, Whiffin^[5]控制相关条件研究了微生物的脲酶活性。而 Danjo 等^[6]则研究了不同因素对微生物固化的影响。李萌等^[7]通过研究产脲酶微生物, 发现

基金项目: 国家自然科学基金项目(51578147, 51278099)

收稿日期: 2017-02-22

*通讯作者(E-mail: Le.miao@seu.edu.cn)

其产物的生成速度和固化体的强度是可控的。荣辉等^[8]分析了微生物的胶结机理, 对比了微生物法诱导形成的方解石与化学法形成的方解石的微观形貌。而在微生物砂土固化方面, Rowshanbakht 等^[9]提出了菌液用量对砂土固化效果的影响。Martinez 等^[10]进行了长 50 cm 的砂柱固化试验研究了碳酸钙生成的不均匀性。而 Harkes 等^[11]则提出了砂土固化时保证菌种均匀固定的工艺。Zhang 等^[12]将氯化钙、硝酸钙和醋酸钙作为不同钙源, 研究了不同钙源对砂柱强度的影响, 同时还研究了其微观特性。

当把尿素加入菌种培养液中, 尿素会被菌种产生的脲酶迅速分解成 CO_3^{2-} , 若再加入钙源, 固化反应会被大大加快。然而现在大部分研究主要针对尿素对脲酶活性的影响, 于是本文研究尿素加入培养液后对整个 MICP 过程的影响。首先根据尿素添加方式的不同研究各方式对菌种生长和脲酶活性的影响, 然后控制不同的尿素添加量得到适合的添加量, 再将该方式应用于砂土固化试验, 研究灭菌后添加尿素的方式对砂土固化的影响, 最后考虑砂柱长度、胶凝液灌注流速和砂颗粒粒径对固化效果的影响。

1 试验方法

砂土固化试验使用的菌种为巴氏芽孢杆菌 (*Sporosarcina pasteurii*)。

1.1 吸光度测试

利用分光光度计测定菌液的吸光度^[10]。设定 600 nm 的波长 (OD_{600}), 当吸光度在 0.2~0.8 范围内, 可通过公式^[11] $Y=8.59 \times 10^7 \cdot Z^{1.3627}$ 换算得到菌液的浓度, 其中 Y 为每毫升细胞浓度 ($\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$), Z 为测得的 OD_{600} 值; 若超出此范围, 需稀释后重新测 OD_{600} 值再进行换算。本文直接采用 OD_{600} 值来表示菌液浓度。

1.2 脲酶活性

巴氏芽孢杆菌通过产生脲酶对尿素进行水解得到铵根离子和碳酸根离子, 从而导致溶液电导率增加。因此 Whiffin^[11]提出可通过测量每分钟电导率变化来间接衡量脲酶活性, 并证明了溶液的电导率变化量与尿素水解量成正比。本文将 6 mL 待测菌液与 54 mL 尿素溶液混合, 并使用电导率仪监测 5 min 内电导率变化情况, 全过程温度维持 20℃ 不变。然后通过计算得到平均每分钟电导率变化值 ($\mu\text{s}/\text{min}$), 并利用 Whiffin^[11]提出的换算方法, 得到待测菌液每分钟尿素水解量 ($\mu\text{s urea hydrolysed} \cdot \text{min}^{-1}$), 本文利用每分钟尿素水解量来表示脲酶活性。

2 尿素对菌种生长的影响

2.1 尿素添加方法对菌种生长的影响

为研究尿素加入培养液 (酵母浸膏 10 g/L, 营养肉汤 20 g/L) 后对菌种生长的影响, 在培养液配置过程中添加适当尿素。但由于配置营养液后需进行高温高压灭菌, 而这会对加入的尿素造成影响。于是将尿素添加方法分为灭菌前添加尿素、灭菌后利用过滤灭菌法添加尿素和不添加尿素 3 种, 其中尿素含量为 20 g/L, 每种方式各制备 3 个平行样以便求平均值减小误差。

取 OD_{600} 为 0.709 的母液, 按照 1% 体积比接种, 控制温度为 20℃, pH 为 7 进行菌种培养。之后分别测定培养 6, 12, 24, 36, 48 h 时各组试样的吸光度, 试验结果如图 1 所示。

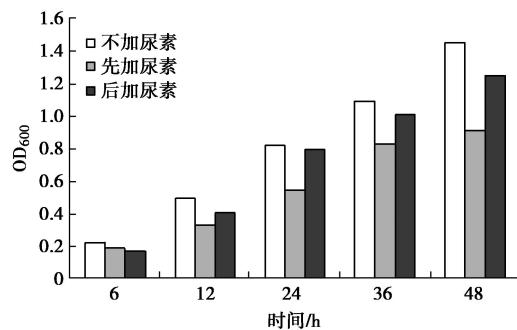


图 1 尿素添加方式对菌种生长的影响

Fig. 1 Effect of urea-adding ways on bacterial growth

由图 1 可知, 不加尿素时菌种生长繁殖的最快, 因此添加尿素对菌种生长具有抑制作用, 而相比于灭菌后添加尿素, 灭菌前添加尿素的方式极大地抑制了菌种生长。下面具体研究具有抑制作用的因素。

(1) 尿素

由于经过高温灭菌后部分尿素会被分解为 CO_2 和氨气, 从而产生 NH_4^+ 或 CO_3^{2-} , 因此, 灭菌后添加尿素的培养液中尿素含量多, 而 NH_4^+ 和 CO_3^{2-} 含量则较少。而灭菌后添加尿素抑制效果没有灭菌前添加尿素明显, 因此不是尿素对菌种生长具有抑制作用。

(2) NH_4^+ 或 CO_3^{2-}

在培养液高温高压灭菌后添加尿素、碳酸钠或氯化铵进行对比试验, 其中无任何外加剂作为对照组。培养液中尿素含量和碳酸钠含量为 0.3 mol/L, 氯化铵为 0.6 mol/L 以保证 NH_4^+ 和 CO_3^{2-} 含量相等。取 OD_{600} 为 0.637 的母液, 按照 1% 体积比接种, 控制温度为 20℃, pH 为 7 进行菌种培养。之后分别测定培养 12, 24, 36, 48 h 时各组试样的吸光度, 如图 2 所示。

如图 2 可知, 添加尿素的培养液的吸光度最小。由于添加尿素培养液中的 NH_4^+ 或 CO_3^{2-} 含量少于添加碳酸钠和氯化铵的培养液, 因此, 虽然 NH_4^+ 或 CO_3^{2-} 对菌种生长有影响, 但不是造成抑制的主要因素。

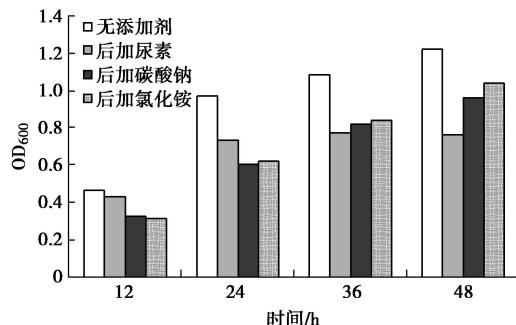


图 2 不同外加剂对菌种生长的影响

Fig. 2 Effect of different admixtures on bacterial growth

(3) pH 值

取 OD₆₀₀ 为 0.515 的母液, 按照 1% 体积比接种, 控制温度为 20℃, 利用 NaOH 溶液和稀盐酸进行调节, 控制 pH 值分别为 6, 7, 8, 9, 10 进行菌种培养, 培养 48 h 后得到的吸光度值如图 3 所示。因此当培养液呈碱性, 菌种生长繁殖受到较大的抑制。而当尿素发生分解生成 NH₄⁺ 和 CO₃²⁻ 时, 培养液呈碱性, 因此, 尿素分解产生的碱性环境是抑制菌种生长的主要因素。

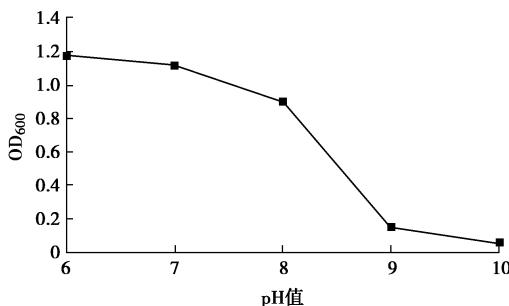


图 3 不同 pH 条件下菌体培养 48 h 后的吸光度

Fig. 3 Absorbance under different pH conditions after culture of 48 h

2.2 尿素添加方法对脲酶活性的影响

采用上述研究吸光度同样的方法研究不同尿素添加方式下 6, 12, 24, 36, 48 h 的脲酶活性, 试验结果如图 4 所示。

如图 4 (a) 所示, 在 0~24 h 内, 灭菌前添加尿素和灭菌后加尿素的培养液脲酶活性都呈现上升趋势, 且灭菌后加尿素的培养液脲酶活性更高, 而不加尿素的培养液脲酶活性明显较低。原因是因为尿素对脲酶活性具有促进作用, 这和 Whiffin^[1] 得到的结论一致。但在 24~48 h 内先加和后加尿素的营养液脲酶活性都呈现下降趋势, 这是由于尿素不断被分解, 培养液中的尿素含量越来越少导致。当尿素几乎完全分解, 不加尿素的培养液中菌种含量较多, 因此脲酶活性大于添加尿素的培养液, 这与前面吸光度分析得到的结论相对应。如图 4 (b) 所示的单位脲酶活性, 添加尿素的培养液的单位脲酶活性明显大于不加尿素的情

况, 且后加尿素的培养液由于尿素最多, 使得单位脲酶活性增强。但随着培养液中尿素不断被分解, 单位脲酶活性迅速下降并最终都趋于一致。

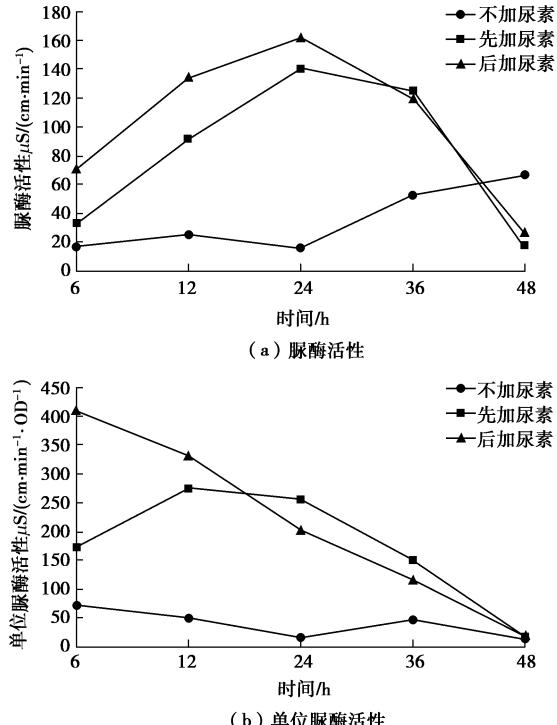


图 4 尿素添加方式对脲酶活性的影响

Fig. 4 Effect of urea-adding ways on urease activity

试验在无菌工作台中进行, 确保没有被污染。重复试验得到了相同的试验结果: 培养液中添加尿素对脲酶活性具有促进作用, 而尿素分解对菌种生长又有抑制作用。这是因为尿素本身会促进脲酶活性, 但随着尿素分解产生 CO₃²⁻, CO₃²⁻ 易和水中 H⁺ 结合, 导致溶液碱性逐渐增强, 碱性溶液有抑制菌种生长繁殖的作用。

由于脲酶将尿素分解得到 CO₃²⁻, 更强的脲酶活性能促进尿素分解速度, 生成更多的碳酸钙, 因此, 整体脲酶活性对碳酸钙沉淀具有更大的影响。且该方式具有快速固化的优势, 因此可用于后续砂土固化试验的研究。

2.3 尿素添加量对菌种生长的影响

配置每组营养液 100 mL, 控制尿素添加量分别为 0, 5, 10, 20, 30, 0 g/L。同时采用灭菌后添加尿素的方式研究尿素添加量对菌种生长和脲酶活性的影响。按照 1% 体积比接种, 控制温度为 20℃, pH 分别为 7 培养 24 h 后, 测定各组菌种吸光度以及脲酶活性, 试验结果如图 5 所示。

从图 5 可知, 随着尿素添加量的增加, 吸光度呈下降趋势, 即随着尿素添加量的增加, 微生物浓度越来越低; 而随着尿素添加量的增加, 脲酶活性却呈现上升趋势。综合分析, 若采用灭菌后添加尿素的方式

进行试验, 尿素添加量在 5~20 g 时较为适宜, 此时尿素的添加对微生物生长影响较小, 同时脲酶活性较高。

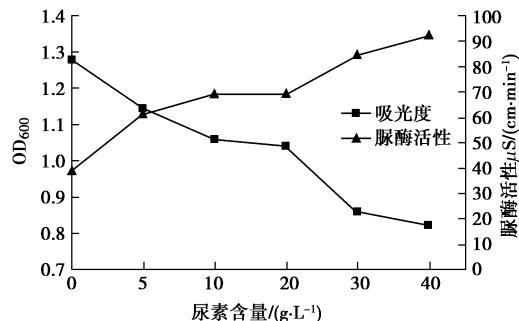


图 5 尿素添加量对菌种生长和脲酶活性的影响

Fig. 5 Effect of urea-adding ways on bacterial growth and urease activity

3 砂土固化试验

首先进行菌种培养 48 h, 然后将砂土(不良级配江砂)装入 PVC 管(内径 46 mm, 外径 50 mm)中, 其中砂土已在 110°C 条件下烘干 2 d, 再在砂土顶部和底部各铺上两层纱布并塞上橡皮塞。试验示意图如图 6 所示。



图 6 砂土固化试验示意图

Fig. 6 State of sand solidification tests

采用的连续固化的方法进行砂土固化试验。

首先把菌液以一定的速度灌入砂样, 以保证菌液充满所有砂颗粒孔隙, 然后静置 2 h; 为提高菌种附着效果, 不被后续灌浆过程冲出, 以同样的速度灌入约为 1/3 孔隙体积左右的固定液(0.1 mol/L 醋酸钙溶液)以中和细菌表面负电荷; 最后控制适当的流速灌入胶凝液(各 0.5 mol/L 尿素与醋酸钙的混合液)20 h 左右。

每天按上述步骤循环 1 次, 同时采用正反向灌注的方式进行双向固化, 固化一定天数后完成固化。

3.1 后加尿素方式对砂土固化的影响

采用颗粒粒径小于 0.25 mm 的砂土进行砂土固化试验, 称量 210 g 砂土装入 PVC 管中, 砂样高度约为 8 cm, 即初始干密度约为 1.57 g/cm³。砂土固化试验分两种情况进行, 一种培养液灭菌后添加尿素(20

g/L), 一种不加尿素, 控制胶凝液灌注流速为 1 mL/min, 固化 6 d 后完成固化。

固化后的砂柱对比如图 7 所示, 明显可以看出, 营养液中后加尿素固化得到的砂柱由于生成较多碳酸钙, 颜色较白。接下来对砂柱进行无侧限抗压试验, 得到的强度如表 1 中试样 1 和 4 所示。



图 7 固化砂柱对比图

Fig. 7 Comparison of cured sand columns

表 1 试样的无侧限抗压强度

Table 1 Unconfined compressive strengths of specimens

试样	尿素添加方式	砂柱长度/cm	无侧限抗压强度/MPa
1	后加尿素	8	3.42
2	后加尿素	9	2.67
3	后加尿素	11	—
4	后加尿素	11	0.32
5	不加尿素	8	2.59
6	不加尿素	9	2.01
7	不加尿素	11	1.25
8	不加尿素	11	1.51

通过对比发现, 灭菌后添加尿素固化得到的砂柱无侧限抗压强度明显高于不加尿素的情况。这是因为砂土固化试验实质是利用生成的碳酸钙将松散的砂颗粒胶结成砂柱整体, 其中碳酸钙又是由脲酶分解尿素生成的 CO₃²⁻ 和钙源溶液中的 Ca²⁺结合生成。当菌种培养液中没有尿素, CO₃²⁻ 和 Ca²⁺几乎完全由胶凝液中的尿素和醋酸钙提供; 而当培养液采用后加尿素的方式, 那么培养液中的尿素已经被菌种产生的脲酶分解成 CO₃²⁻, 若再通入胶凝液, 则会立刻和 Ca²⁺结合生成碳酸钙进行固化反应。

如果简单地将菌种生成脲酶分解尿素并与 Ca²⁺结合生成碳酸钙看作生物固化, 那么当培养液中添加尿素, 由于在菌种培养液中就已经分解出 CO₃²⁻, 因此该固化反应不完全是生物固化, 还有部分是直接的化学固化, 这明显加快了固化反应。因此, 不加尿素固化得到的砂柱强度较小于灭菌后添加尿素固化得到的砂柱强度。

3.2 砂柱长度对砂土固化的影响

采用颗粒粒径小于 0.25 mm 的砂土进行固化砂土试验, 称量 290 g 砂土装入 PVC 管中, 砂样高度约为

11 cm, 即初始干密度也大约为 1.57 g/cm^3 , 同样称量 230 g 砂土制作高度约为 9 cm 的试样, 保证同一初始干密度。砂土固化试验分两种情况进行, 一种培养液灭菌后添加尿素 (20 g/L), 一种不加尿素。控制胶凝液灌注流速为 1 mL/min, 由于固化试样长度较大, 固化天数采用 12 d。同样对固化后砂柱进行无侧限抗压试验, 得到的强度如表 2 所示。

表 2 不同流速的试样的无侧限抗压强度

Table 2 Unconfined compressive strengths of specimens with different grain diameters

试样	砂柱长度 /cm	不同流速 /(mL·min ⁻¹)	无侧限抗压强度/MPa
1	8	1	3.42
2	8	2	4.78
3	8	4	10.56
4	11	1	0.32
5	11	2	1.53
6	11	4	1.71

通过观察发现, 当砂柱长度为 9 cm, 后加尿素的方式固化得到的砂柱强度有所增加, 但没有长度为 8 cm 增加的幅度明显。而长度为 11 cm 的试样则明显不同, 采用后加尿素的方式固化得到的砂柱强度反而小于不加尿素的情况。这是因为菌种培养液中含有分解得到 CO_3^{2-} 与胶凝液中的 Ca^{2+} 结合的化学固化反应是立刻发生的, 即该反应大部分发生在进口端, 且随着离进口端的距离的增大而迅速减小。因此, 该方式固化得到的砂柱不均匀, 正反向灌注的方法导致砂柱两端强度明显高于中间, 于是整体抗压强度反而较小。而 3 号试样没有得到强度值是因为取出砂柱时, 中间发生断开, 如图 8 所示。



图 8 中间断开的 2 号试样砂柱

Fig. 8 Disconnected sand column of No. 2 specimen

3.3 不同流速对砂土固化的影响

同样采用颗粒粒径小于 0.25 mm 的砂土进行固化砂土试验, 按照上述方法分别制作高度约为 8 cm 或 11 cm 的砂样, 初始干密度都控制在大约为 1.57 g/cm^3 , 同时都采用灭菌后添加尿素 (20 g/L) 的方式, 不同的是对胶凝液灌注的流速进行控制, 分别为 1 mL/min、2 mL/min 或 4 mL/min, 固化天数为 12 d。

一般情况下, 当菌种被吸附在砂土颗粒表面时, 胶凝液停留时间越长, 固化反应时间则越长, 因此,

胶凝液灌注流速的不同会造成固化砂柱的强度的差异, 且低流速情况下固化得到的砂柱强度会高于高流速情况下固化的砂柱。表 2 为不同流速条件下试样的无侧限抗压强度值, 通过观察发现结果却截然相反。不论砂柱长度为 8 cm 还是 11 cm, 随着流速的增加, 得到的固化砂柱抗压强度都有所增加。经过分析发现, 当采用灭菌后添加尿素的方式, 固化反应随着离进口端的距离的增大而明显减少, 导致两端和中间强度差异明显。而当流速较大时, 进口端胶凝液停留时间变短, 更小的化学固化发生在进口端, 而更多的化学固化发生在离进口端较远处, 这减小了砂柱两端和中间强度的差异。因此, 砂柱整体强度反而增大了。

3.4 不同粒径对砂土固化的影响

将砂土固化试验所用的砂土分成颗粒粒径小于 0.25 mm、0.25~0.5 mm、0.5~1 mm、1~2 mm 4 种类型, 同时控制尿素添加量为 20 g/L, 研究不同颗粒粒径砂土对固化效果的影响。分别称量 290 g 砂土装入 PVC 管中, 砂样高度约为 11 cm, 控制胶凝液灌注流速为 1 mL/min。由于固化试样长度较长, 固化天数采用 12 d。

将固化后的砂柱进行无侧限抗压强度试验, 得到的强度值如表 3 所示。

通过观察表 3 可知, 同样的尿素添加量不同颗粒粒径的砂柱相比于不添加尿素固化的砂柱强度差距明显。培养液中添加的较多尿素使得进口端的化学固化反应较多, 即一开始生成的碳酸钙较多, 因此, 当颗粒粒径越大, 得到的砂柱强度越大。由表 3 可知, 除了颗粒粒径为 1~2 mm 时, 其余情况下添加尿素得到的砂柱强度都较小于不加尿素的情况。这是因为添加尿素使得进口端和砂柱中间强度差异较大, 从而导致整体强度下降, 而当颗粒粒径增大, 颗粒间孔隙增大, 更多的固化反应发生在砂柱中间, 使得强度差异减小, 因此, 随颗粒粒径的增大, 两种方法得到的砂柱强度差距逐渐减小。

表 3 不同粒径试样的无侧限抗压强度

Table 3 Unconfined compressive strengths of specimens with different particle sizes

试样	不同尿素添加量 /(g·L ⁻¹)	不同粒径 /mm	无侧限抗压强度 /MPa
1	0	小于 0.25	1.25
2	0	0.25~0.5	1.38
3	0	0.5~1	1.86
4	0	1~2	1.31
5	20	小于 0.25	0.32
6	20	0.25~0.5	0.99
7	20	0.5~1	1.55
8	20	1~2	1.98

当颗粒粒径为 1~2 mm 时, 颗粒间孔隙很大, 由

于在生物固化反应之前进行了化学固化，这导致生成了足够的碳酸钙填充颗粒孔隙，使得生成的砂柱强度明显高于不添加尿素的情况。因此当颗粒孔隙较大时，利用添加尿素的方法得到的试样均匀性可以得到保证。相比于前人不添加尿素的固化方式，采用培养液中添加尿素的方式可缩短固化周期且更适合于粗砂的砂土固化试验。

4 结 论

在培养液中添加尿素，并基于 MICP 技术，进行了砂土固化试验，再控制不同条件对比固化效果。结果证明了培养液添加尿素的方式能使固化后的砂柱具有足够的强度。试验分析得到具体结论如下：

(1) 培养液中添加尿素对脲酶活性具有促进作用，而对菌种生长具有抑制作用，这是由尿素分解产生的碱性环境造成的，但灭菌后添加尿素的方式抑制较小，且该方式具有快速固化的优势，因此可用于后续砂土固化试验的研究。

(2) 考虑到对菌种生长和脲酶活性的影响，试验的尿素添加量控制在 5~20 g 时较为适宜。

(3) 灭菌后添加尿素的方式可明显增加短砂柱的强度，而对于长砂柱，其进口端和中间段会出现强度差异，导致整体强度较小。且胶凝液灌注流速越大，砂柱强度反而越大。

(4) 当试验培养液中添加尿素含量为 20 g/L 时，砂土颗粒粒径越大，得到的砂柱强度越大。因此培养液中添加尿素的方式更适合于粗砂的砂土固化试验。

参考文献：

- [1] WHIFFIN V S. Microbial CaCO₃ precipitation for the production of biocement[D]. Perth: Murdoch University, 2004.
- [2] DEJONG J T, FRITZGES M B, NÜSSLEIN K. Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear[J]. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2006, **132**(11): 1381~1392.
- [3] DEJONG J T, SOGA K, KAVAZANIAN E, et al. Biogeochemical processes and geotechnical applications: progress, opportunities and challenges[J]. Géotechnique, 2013, **63**(4): 287~301.
- [4] MONTOYA B M. Bio-mediated soil improvement and the effect of cementation on the behavior, improvement, and performance of sand[D]. Davis: University of California, 2012.
- [5] WHIFFIN V S, VAN PAASSEN L A, HARKES M P. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique[J]. Geomicrobiology Journal, 2007, **24**(5): 417~423.
- [6] DANJO T, KAWASAKI S. Formation mechanisms of beachrocks in Okinawa and Ishikawa, Japan, with a Focus on Cements[J]. Materials Transactions, 2014, **55**(3): 493~500.
- [7] 李萌, 程晓辉, 杨钻, 等. 土壤中产脲酶细菌的分离及其在微生物砂浆制备中的应用[J]. 混凝土与水泥制品, 2013(8): 13~16. (LI Meng, CHENG Xiao-hui, YANG Zuan, et al. Isolation of urease produced strain from soil and its application in preparation of mortar[J]. China Concrete and Cement Products, 2013(8): 13~16. (in Chinese))
- [8] 荣辉, 钱春香, 李志龙. 微生物水泥胶结机理[J]. 硅酸盐学报, 2013, **41**(3): 314~319. (RONG Hui, QIAN Chun-xiang, LI Long-zhi. Cementation mechanism of microbe cement[J]. Journal of the Chinese Ceramic Society, 2013, **41**(3): 314~319. (in Chinese))
- [9] ROWSHANBAKHT K, KHAMEHCHIYAN M, SAJEDI R H, et al. Effect of injected bacterial suspension volume and relative density on carbonate precipitation resulting from microbial treatment[J]. Ecological Engineering, 2016, **89**: 49~55.
- [10] MARTINEZ B C, DEJONG J T, GINN T R, et al. Experimental optimization of microbially-induced carbonate precipitation for soil improvement[J]. Geotech Geoenviron Eng, 2013, **139**(4): 587~598.
- [11] HARKES M P, VAN PAASSEN L A, BOOSTER J L, et al. Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation for ground reinforcement[J]. Ecological Engineering, 2010, **36**(2): 112~117.
- [12] ZHANG Y, GUO H X, CHENG X H. Role of calcium sources in the strength and microstructure of microbial mortar[J]. Construction and Building Materials, 2015, **77**: 160~167.