

DOI: 10.11779/CJGE202006003

基于微流控芯片技术的微生物加固可视化研究

何 想^{1, 2}, 马国梁^{1, 2}, 汪 杨^{1, 2}, 赵 常^{1, 2}, 刘汉龙^{1, 2, 3}, 楚 剑⁴, 肖 杨^{*1, 2, 3}

(1. 重庆大学土木工程学院, 重庆 400045; 2. 重庆大学山地城镇建设与新技术教育部重点实验室, 重庆 400045;

3. 库区环境地质灾害防治国家地方联合工程研究中心(重庆), 重庆 400045; 4. 南洋理工大学土木与环境工程学院, 新加坡 639789)

摘 要: 微生物诱导碳酸钙沉积(MICP)能够加固散粒土体, 是岩土工程中新兴绿色加固技术之一。然而, 关于微生物加固机理以及矿化形成过程的研究尚不多见。基于微流控芯片技术开发了微生物加固可视化系统, 利用该系统开展了微生物诱导碳酸钙矿化机理的原位微观研究, 通过对微生物加固过程中碳酸钙晶体的沉积进行了观测, 并对其时空分布、沉积模式、生长速率进行了量化。结果表明溶质分子的对流和扩散作用对碳酸钙晶体分布影响较大, 碳酸钙的分布存在时间不均匀和空间不均匀现象, 时间不均匀随反应进行呈现弱化现象而空间不均匀在整个反应过程(0~2200 min)中一直存在。研究发现微尺寸管道中碳酸钙存在孔隙中和颗粒间两种沉积模式, 孔隙中的碳酸钙均匀长大, 而颗粒间碳酸钙存在不同速率的生长轴。研究结果将加深对微生物加固机理的认识, 为微生物加固技术的优化和推广应用提供参考。

关键词: 微生物矿化; 微流控芯片; 可视化; 结晶; MICP

中图分类号: TU43

文献标识码: A

文章编号: 1000-4548(2020)06-1005-08

作者简介: 何 想(1992—), 男, 博士研究生, 主要从事微生物土加固机理方面的研究。E-mail: medihe@163.com。

Visualization investigation of bio-cementation process based on microfluidics

HE Xiang^{1, 2}, MA Guo-liang^{1, 2}, WANG Yang^{1, 2}, ZHAO Chang^{1, 2}, LIU Han-long^{1, 2, 3}, CHU Jian⁴, XIAO Yang^{1, 2, 3}

(1. School of Civil Engineering, Chongqing University, Chongqing 400045, China; 2. Key Laboratory of New Technology for Construction

of Cities in Mountain Area, Chongqing University, Chongqing 400045, China; 3. National Joint Engineering Research Center of

Geohazards Prevention in the Reservoir Areas (Chongqing), Chongqing 400045, China; 4. School of Civil and Environmental Engineering,

Nanyang Technological University, Singapore 639798, Singapore)

Abstract: Biomineralization possesses the capability to bind granular materials, which can be used in the applications of geotechnical engineering as an emerging green ground improvement technology. However, little information is available on the mechanics of biomineralization, especially on the process of biocementation. An optical platform is proposed to visualize the process of biomineralization based on microfluidics. A series of micro-scale investigations related to this process are performed to capture the spatial distribution of calcium carbonate crystals, precipitation patterns and quantitative crystal growth rate. The results show that the convection and diffusion of solvent have significant impacts on the distribution of calcium carbonate, which demonstrates a nonuniform spatiotemporal distribution. The extent of uneven distribution in time scale is reduced as the reaction goes on. However, the phenomenon of uneven distribution in spatial scale is maintained during the whole reaction period (0~2200 min). Two precipitation patterns in biocementation are found in this study, i.e., precipitation at pore and precipitation at sand contacts. The precipitation at pore shows no growth axis, while the precipitation at sand contacts shows growth axis with different growth rates. These investigations may provide new insights into the mechanisms of microbial induced carbonate precipitation and are beneficial for the optimized design of up-scale application.

Key words: biomineralization; microfluidics; visualization; crystallization; MICP

0 引 言

土体中含有大量微生物, 在生长繁殖的过程中与周围环境发生相互作用, 通过新陈代谢活动改变岩土体的物质组成、理化性质和几何结构, 进而影响岩土体的工程力学特性。微生物矿化作用是生物圈最常见

的生物新陈代谢作用之一, 并被认为在沉积岩的形成

基金项目: 国家自然科学基金项目(51922024, 41831282); 重庆市研究生科研创新项目(CYB18035); 中央高校基本科研业务经费(2019CDQYTM031)

收稿日期: 2019-11-04

***通信作者** (E-mail: hhuxyanson@163.com)

过程中具有重要影响。近十几年来,人们认识到可以通过驯服自然界中的微生物,利用其微生物矿化作用对岩土体进行改造^[1-2]。基于此,研究者提出了以微生物矿化为基础的微生物岩土技术。该技术被相关学者广泛应用于土体加固、土壤修复、环境治理等领域,逐渐成为热门研究方向^[1-4]。

相较于传统岩土技术,学者们普遍认为微生物岩土技术具有环境友好性、原位微扰性、高效低耗性等优点。然而现阶段微生物岩土技术存在处理均匀性差、效果难以保障、加固成本较高等缺点。单元尺寸、模型尺寸或者大尺寸试验发现都存在均匀性不良的问题。如一维加固试验中出现上硬下软,注入口堵塞的现象, Van Paassen 等^[5]在 100 m³ 模型地基微生物加固试验中发现,加固后不同位置处强度差异较大,无侧限强度最低为 200 kPa,最高可达 20 MPa,相差约两个数量级。随后学者们研究了菌液活性、反应液浓度、灌注速率、加固方式等工艺因素^[6-9],以及土体类别形貌、温度、饱和度、冻融、相对密实度等环境因素^[10-13]对微生物加固的影响。

试验结果表明这些因素均能影响加固效果,同时微生物加固试样具有较大的离散性,以强度为例,碳酸钙含量与无侧限强度几乎无法建立对应关系,加固效果很难通过单一指标进行衡量。

室内试验表现出的这些特性阻碍了现场试验的开展和该技术的推广应用。为保证加固效果,了解微生物的加固机理是非常必要的,研究表明碳酸钙的沉积模式与加固效果相关,而碳酸钙的沉积取决于碳酸钙晶体的成核方式、生长顺序和生长位置,涉及结晶学、渗流学、微生物学等多学科交叉。常规的室内试验、扫描电镜^[14]以及 CT 扫描^[15]能够对加固完成后碳酸钙的分布进行研究,却无法对碳酸钙的形成过程进行捕捉。细菌通过弥散迁移和对流迁移作用与尿素和氯化钙组成的反应液混合,沉淀出碳酸钙晶体,这一系列具体的反应过程国内外尚未出现报道。而微生物矿化加固砂颗粒过程中晶体生长的研究对明晰微生物加固机理也至关重要。由于缺少微生物矿化过程的直观观察,目前对于微生物矿化加固机理也仅仅建立于加固完成后微观试验观测的基础上,缺乏有效的证据。

目前国内外对微生物矿化加固机理存在两种解释:①认为细菌吸附在砂颗粒表面,加入反应液后钙离子将细菌包裹,尿素水解生成的碳酸根离子与胞外钙离子结合,以细菌为成核点生成碳酸钙晶体^[16]。在此过程中,由于细菌为晶体成核点,碳酸钙的生长位置取决于细菌位置,而生长方向指向胞外,溶液中的化学组分调控碳酸钙晶体的形状。②认为细菌仅为碳

酸钙的结晶提供碳酸根,碳酸钙晶体的成核和生长与细菌无直接关系,碳酸钙在溶液中生长^[17]。值得注意的是前者的主要证据为加固完成后发现的碳酸钙矿物上出现的椭球形空洞,而后者则单纯研究细菌和反应液混合后,在溶液或固体琼脂上生成碳酸钙的过程。前者由于缺乏对反应过程的观测,只是对微观结果的推测,属于理论设想解释,而后者矿化的环境和微生物加固存在较大差异,无法用来阐明微生物矿化加固的机理。综上所述,开发能实时观测微生物矿化加固砂颗粒的模型对于微生物加固机理研究是必要的。

微流控芯片技术又称为芯片上的实验室,是近年来兴起的微观测试分析手段,通过将反应物引入微米级的管道中实现过程观测、快速检测和物质分离等功能^[18]。微流控技术最显著的优点在于可对反应实时观测、反应物用量少和环境因素可控性好^[18]。与以往技术最大的不同在于微流控管道中的微生物矿化与常规砂柱试验类似,却能实现反应的高时空分辨率观测,达到实时研究微生物矿化反应过程的目的^[19]。

本文通过微流控技术构建了微生物矿化加固微观试验系统,探讨了微生物矿化可视化研究的可行性,初步研究了微生物加固过程中碳酸钙晶体的生长过程,并对其生长速率和生长位置进行了量化,研究结果将加深对微生物加固机理的认识,为微生物加固技术的优化和推广应用提供参考。

1 试验材料

1.1 微流控芯片制备

微生物诱导碳酸钙加固反应在微流控芯片中进行,通过微流控芯片对反应环境进行控制,并对矿化过程实时观测。微流控芯片分为填砂的管道、黏结层和载玻片 3 部分如图 1 所示。

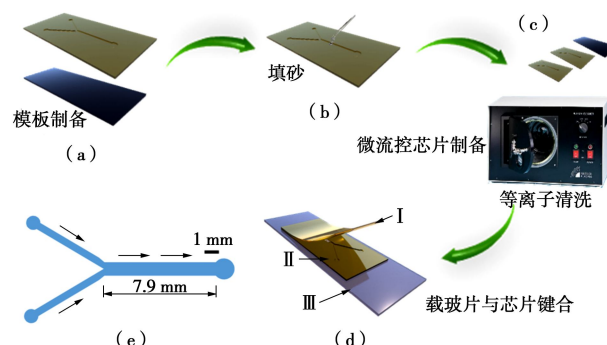


图 1 微流控芯片制备示意图

Fig. 1 Schematic images of fabrication process of microchip

管道采用聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 倒模固化而成,黏结层为固化 PDMS 薄片(图 1(a)),载玻片为高透光玻璃。芯片管道所用凸模板为光蚀刻技术加工

而成的硅片。管道为 Y 型结构 (图 1 (b)), 两侧支管为进样口, 宽度为 $437\ \mu\text{m}$, 主管道宽度为 $944\ \mu\text{m}$, 尽头为出样口, 管道深度均为 $120\ \mu\text{m}$ 。试验用砂为福建标准砂, 砂的粒径为 $50\sim 100\ \mu\text{m}$ 。通过弯尖镊子将砂颗粒填入管道中。填砂管道 (I)、黏结层 (II) 和载玻片 (III) 经过等离子清洗机处理后键合, 形成微流控芯片 (图 1 (d))。微管道的尺寸及形状如图 1 (e) 所示。

1.2 微观可视化系统

微观可视化系统由进样系统、反应器和观测系统构成如图 2 所示。本试验中进样系统由哈佛进样泵、注射器和进样管组成。进样泵能实现连续长时间均匀进样。注射器量程为 $2.5\ \text{mL}$, 直径为 $17.32\ \text{mm}$ 。反应器为微流控芯片。微流控芯片通过进样管与进样泵连接。观测系统包括用于观测的奥林巴斯 IX73 倒置荧光显微镜及奥林巴斯 DP74 彩色相机。

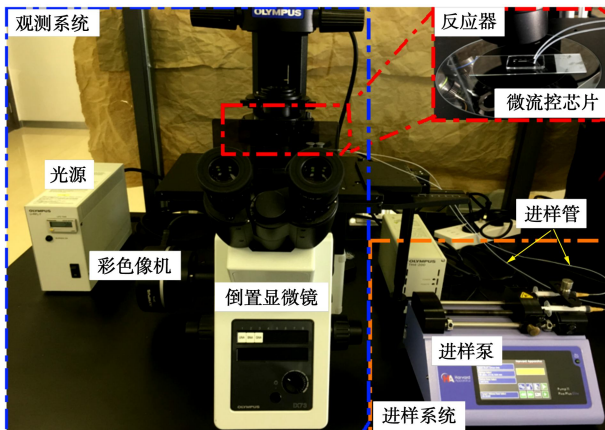


图 2 微流控系统示意图

Fig. 2 Schematic images of microfluidics system

1.3 微生物矿化溶液

本试验使用的微生物为巴氏芽孢杆菌。细菌接种至液体无菌培养基后在 30°C , $200\ \text{rpm}$ 的条件下振荡培养 $14\ \text{h}$ 得到原始菌液。随后将原始菌液在 $10000\ \text{g}$, 4°C 的环境中离心 $15\ \text{min}$ 去除培养基中的杂质。离心后的细菌用等体积 0.85% 的氯化钠溶液溶解, 再次离心, 溶解得到反应用细菌液。菌液活性为 15U 。反应液为尿素和氯化钙混合溶液, 两者浓度均为 $0.5\ \text{mol/L}$ 。

2 试验方法

2.1 砂样饱和

进样时气泡的存在影响孔隙溶液的流动路径。溶液绕气泡边缘流动, 渗流路径变得复杂, 同时溶液流经的横断面变小局部流速变大, 导致溶质非均匀迁移。因而反应前通过抽真空和毛细作用对管道中的砂样饱和。抽真空前管道进样口用去离子水进行液封, 随后将芯片放入真空干燥器中抽真空 $5\ \text{min}$, 并维持真空

度 $10\ \text{min}$ 。抽真空后以 $1\ \text{mL/h}$ 的速度泵入去离子水, 由于孔隙的毛细作用, 气泡被水挤出并随孔隙中流动的去离子水从出口排出。

2.2 溶液进样

反应液和菌液泵入微管道的速度对于微生物矿化生长碳酸钙非常重要。流速影响溶质和细菌沿流动方向的对流迁移和横向扩散作用。流体力学中常用 Péclet 数表征对流和扩散的相对比例^[20]

$$Pe = \frac{h^2 v}{DL}, \quad (1)$$

式中, h 为管道高度, L 为管道中填砂长度, v , D 分别为达西流速和扩散系数。

流速过快可能出现湍流、涡流以及砂颗粒随溶液流走的现象。此外常用的低压注浆方式亦利用孔隙流体的渗流进行物质传输, 满足达西定律, 因而进样液的雷诺数应较小。下式用来计算进样液的雷诺数^[21]:

$$Re = \frac{\rho d_p v}{\mu}, \quad (2)$$

式中, ρ 为溶液密度, d_p 为砂颗粒平均粒径, v , μ 分别为达西流速和溶液黏滞系数。

细菌和反应液以相同的流速泵入微流控芯片, 速率为 $20\ \mu\text{L/h}$, 对应达西流速为 $0.95 \times 10^{-4}\ \text{m/s}$ 。假定巴氏芽孢杆菌扩散系数与大肠杆菌相同为 $D_{\text{cell}} = 0.4 \times 10^{-5}\ \text{cm}^2/\text{s}$ ^[20], 钙离子和尿素的扩散系数分别为 $D_{\text{Ca}} = 0.79 \times 10^{-5}\ \text{cm}^2/\text{s}$ ^[22] 和 $D_{\text{u}} = 1.34 \times 10^{-5}\ \text{cm}^2/\text{s}$ ^[23]。根据式 (1) 得到细菌、钙离子和尿素的 Peclet 数分别为 0.47 , 0.23 和 0.14 。根据式 (2) 得到溶液的雷诺数 $Re = 0.007 \ll 1$ 。因此孔隙中溶液流动可视为层流, 满足达西方程。

2.3 MICP 实时显微观测与图像处理

虽然微流控芯片管道为微米级, 碳酸钙在微管道中的结晶仍属于三维空间行为。碳酸钙可能沉积的位置包括管道顶面、管道中间和管道底面。本研究中显微图像放大倍数为 $10\times$, 镜头工作距离为 $10\ \text{mm}$ 。为观测管道横断面不同位置处的碳酸钙, 本试验通过调节物镜焦距的方式获得不同物平面处的图像, 如图 3 (a) 所示。图 3 (b), (c) 分别展示了靠近管道顶面和管道底面物平面的显微镜图像, 由图可知, 不同焦距下可清晰观测到的碳酸钙晶体数量和位置均存在差异。将同一位置处不同物平面下拍摄的图像导入 ImageJ 进行景深扩展, 得到全聚焦图片。该图将微管道同一横截面不同深度处生成的碳酸钙进行了捕捉, 砂颗粒 (图 3 (c) 中黄色箭头) 和碳酸钙晶体 (图 3 (c) 中蓝色箭头) 轮廓清晰可见, 能够防止碳酸钙统计出现遗漏, 便于后续图像分析。随后将不同位置处的全聚焦图片进行拼接得到微流控芯片全景图。

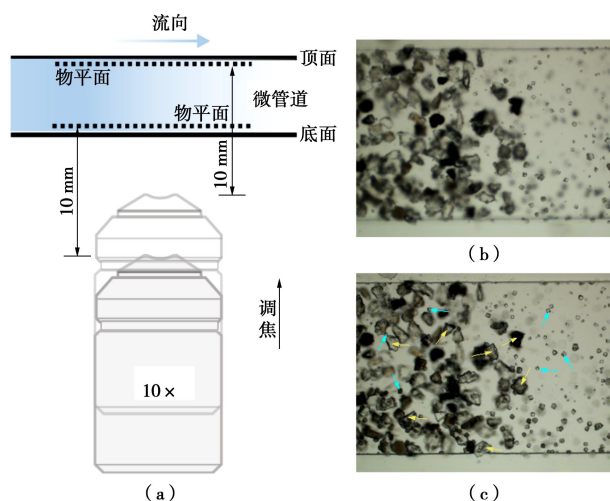


图 3 显微拍摄示意图及图像

Fig. 3 Schematic diagram of microscopy and digital photographs

3 试验结果分析

3.1 MICP 反应时序过程

微流控芯片中 MICP 的实时观测序列如图 4 所示。管道被砂颗粒填充，初始孔隙率为 50%，砂的形貌和孔隙状态可由反应前填砂管道(0 min)观测得到。砂填充在管道中形成多孔介质。细菌液(浅绿色线段表示)和反应液(浅黄色线段表示)分别由左右两侧泵入芯片，在管道中部交汇并形成界面(浅蓝色箭头表示溶液流动方向)。由 2.2 节计算可知，当进样速率为 $20 \mu\text{L/h}$ 时，两种进样液溶质的 Péclet 数均较小，因而交汇处并无明显界面，由于横向扩散作用而形成相互扩散区。根据不同时刻微管道观测图可知，微生物诱导矿化生成碳酸钙需要一定时间，前 6 min 几乎

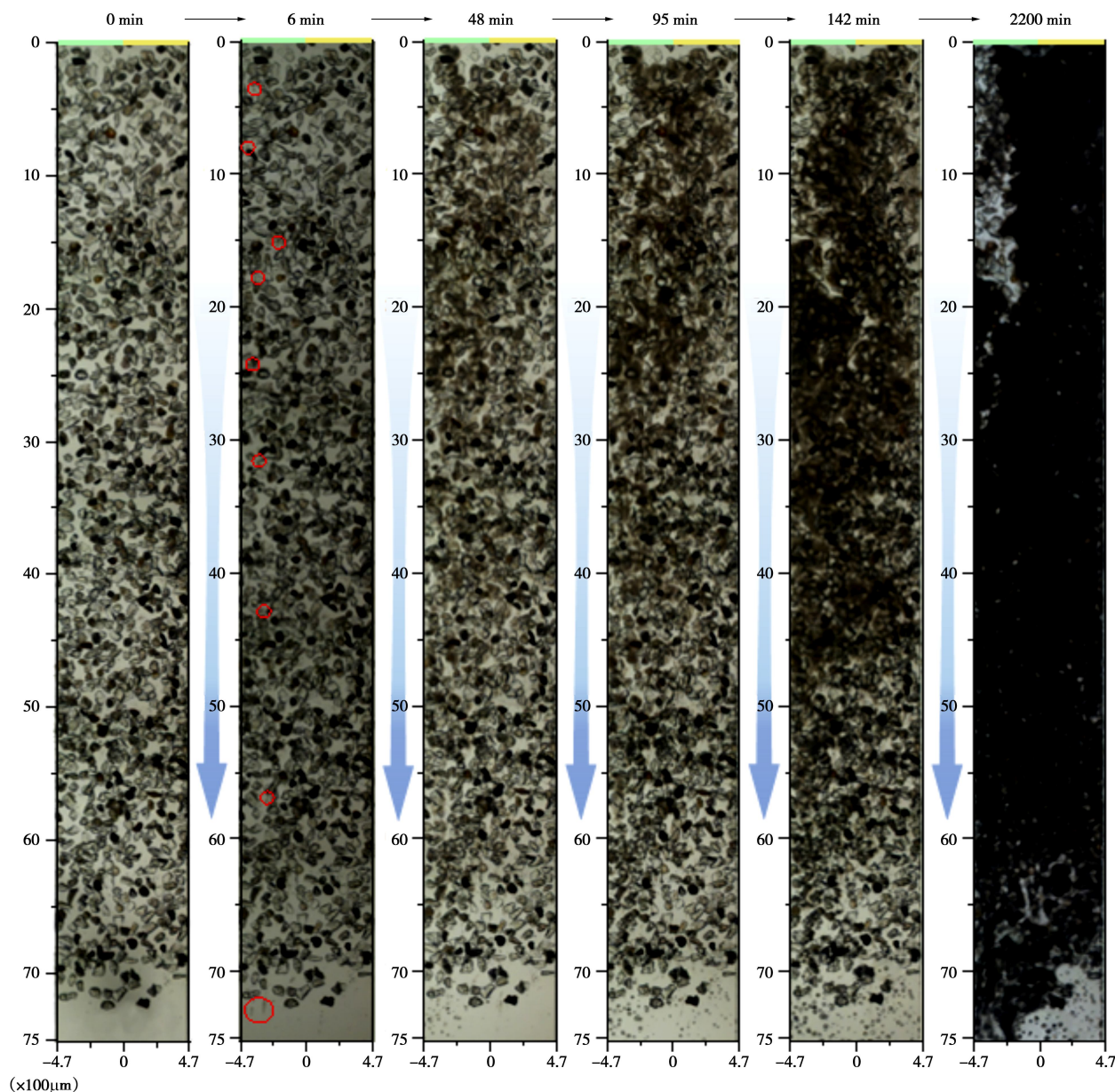


图 4 微生物矿化胶结砂颗粒时序图

Fig. 4 Sequence photographs of cementation of sand particles over course of MICP experiment

无碳酸钙晶体出现, 48 min 后开始出现块状晶体。随着反应时间增加 (95~142 min), 块状晶体不断长大直至堵塞孔隙 (2200 min)。Zeng 等^[24]在 Y 型微管道结构中观察碳酸钠和氯化钙矿化生成碳酸钙, 发现反应 10 min 时已有 10 μm 大小碳酸钙晶体生成。说明微生物诱导碳酸钙沉淀速率较常规化学反应小。细菌与反应液混合后首先在菌液一侧形成絮凝状物质 (反应 6 min 图中红圈处), 随后絮凝物向反应液一侧扩大, 直至布满管道。值得注意的是, 虽然絮凝状物质在显微镜下呈黑色并覆盖在砂颗粒表面, 却不影响溶液流动, 并且能随溶液流动而迁移。随反应进行, 碳酸钙块状晶体开始在微管道中出现。另一方面晶核形成后不断长大。碳酸钙晶体一旦沉积几乎不受孔隙液体流动的影响。

3.2 碳酸钙晶体的分布

碳酸钙晶体的生长位置直接影响加固效果。研究者认为碳酸钙晶体的沉积模式有两种分别为孔隙中沉淀和砂颗粒接触处沉淀, 并认为两种沉积模式对土体工程特性的改变是不同的。沉积在孔隙中的碳酸钙堵塞孔隙造成渗透系数降低而形成生物淤堵 (bioclogging), 而砂颗粒间的沉淀碳酸钙能形成粒间胶结 (biocementation) 提高土体强度和刚度。

图 5 显示了沿流动方向微管道中碳酸钙晶体的生长位置情况。将微管道由进样口到出样口依次分为四个相同大小的区域并计算随时间增加不同区域中碳酸钙晶体的数量。由图 5 可知, 反应至 36 min 后块状碳酸钙晶体最先在区域 C 中形成, 距进样口 4.3 mm。值得注意的是图 5 仅统计尺寸大于 5 μm 的晶体个数。由图 5 可知, 晶体生长的位置与进样口的距离有关, 反应 140 min, 区域 A 和区域 B 生成晶体的数量基本相当, 但分别仅为区域 C、D 数量的 1/2 和 1/4。离进样口越近, 块状晶体分布越不均匀, 且 II 区域 (反应液侧) 的晶体数量明显大于 I 区域 (细菌侧); 而离进样口较远区域, 虽然在反应初始阶段 I 区域生成的晶体较多, 随反应进行, I 区域和 II 区域晶体数量大致相当。

在管道横截面上, 碳酸钙图 6 显示了相同面积视野内, 不同时间和管道横截面不同位置处晶体的分布, 其中 LT、LS 和 LB 分别代表微管道的上视平面区域 (图 3 中顶面)、砂颗粒区域和下视平面区域 (图 3 中底面)。碳酸钙在管道顶面、底面以及砂颗粒表面上均能发生沉积。然而微管道中沉积的晶体呈现大部分位于砂颗粒表面, 管道底面的数量比顶面多的规律。如反应 95 min, 砂颗粒表面沉积的碳酸钙晶体为 150 个, 分别为管道顶面和底面的晶体数量的 4.6 倍和 2.8

倍。随反应的进行, 管道横截面上的晶体沉积规律并不发生变化。

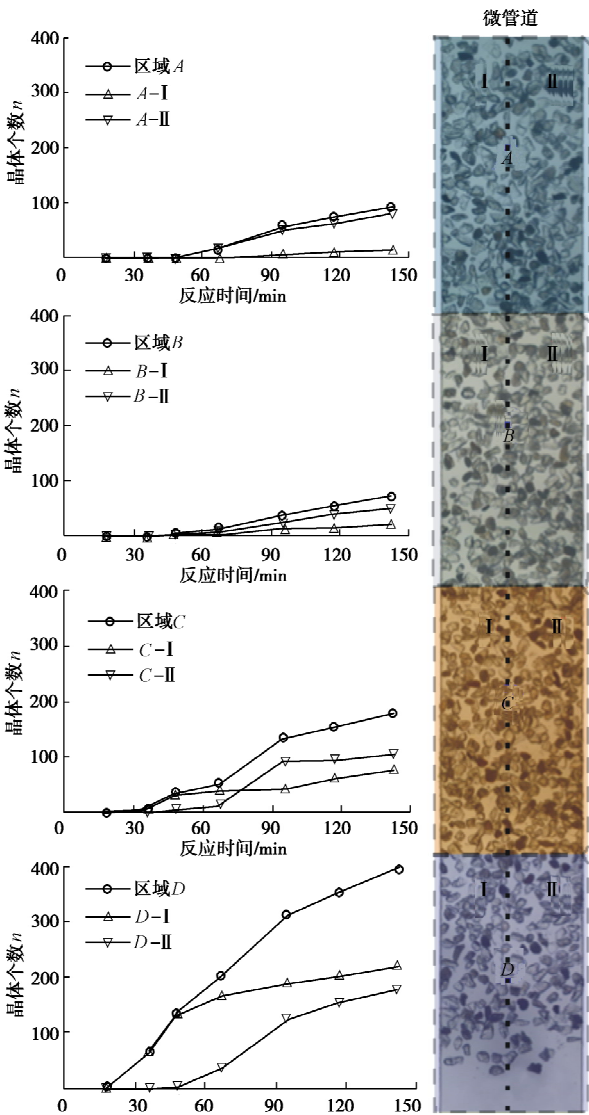


图 5 微管道中碳酸钙晶体随时间分布图

Fig. 5 Spatial distribution of bulk crystals during different reaction periods in microchannel

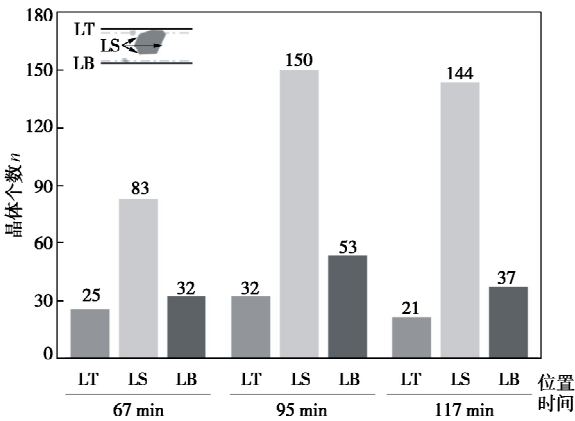


图 6 管道横截面不同位置处晶体分布图

Fig. 6 Spatial distribution of bulk crystals at microchannel cross-section

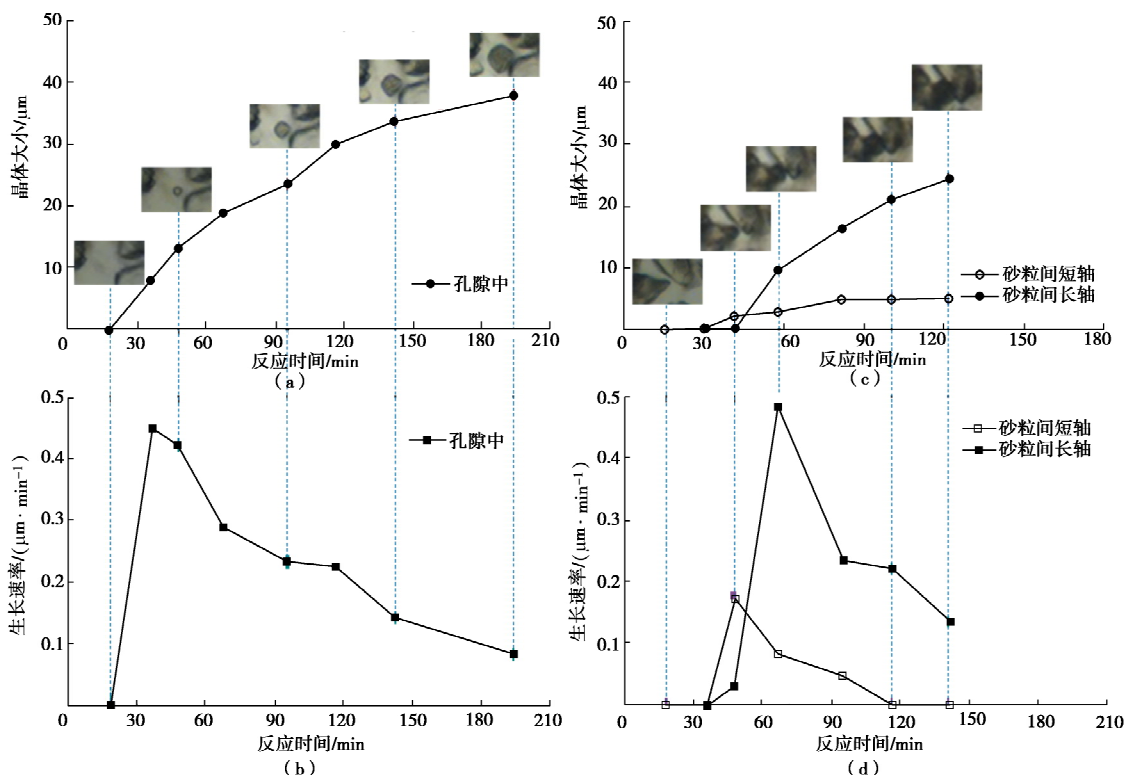


图7 不同沉积模式下碳酸钙晶体的生长速率

Fig. 7 Crystal growth rate of different precipitation patterns

3.3 碳酸钙生长速率

微生物矿化生成的碳酸钙以单晶的形式生长, 晶体沉积在某一表面后不断长大。微管道模型中砂颗粒单层排列在管道中, 碳酸钙可能沉积在管道的顶面和底面不与砂颗粒接触, 也可能沉积在砂颗粒表面。将前者称为孔隙中沉积, 后者称为砂粒间沉积。对应于由砂粒和孔隙组成的试样, 孔隙中沉积可视为沉积在砂颗粒表面并向孔隙中生长的碳酸钙, 生长过程中不接触相邻砂粒, 无法产生颗粒间胶结作用; 砂粒间沉积可视为晶体生长发生在粒间孔隙的受限空间, 生长后在颗粒间起桥接作用能产生颗粒间胶结。图7反应了孔隙中和砂粒间碳酸钙单晶随反应时间晶体尺寸和生长速率的变化。如图7(a)所示, 孔隙中碳酸钙能随反应进行一直长大, 进样140 min后尺寸可达38 μm。而砂粒间碳酸钙生长存在两个明显不同的取向, 其一为垂直砂颗粒边缘并指向孔隙, 其二为平行砂颗粒边缘。图7(c)中长轴表示垂直方向, 短轴表示平行方向。进样140 min后, 长轴方向碳酸钙尺寸可达到24 μm, 而短轴方向碳酸钙尺寸仅为4.9 μm, 并且短轴方向存在明显的生长限制, 在反应95 min后即达到最大值, 此后该方向的单晶尺寸不再增加。图7(b), (d)显示不管是孔隙中还是砂粒间的晶体生长均存在初期生长速率较大, 随反应进行逐渐减小的规律。在无颗粒位置限制的孔隙中自由生长时, 碳酸钙在生长

初期速率为0.45 μm/min并逐步减少至0.08 μm/min; 而在空间受限的砂粒间生长时, 短轴和长轴方向的生长速率存在较大差异, 长轴方向最大生长速率可达0.48 μm/min, 是短轴方向最大生长速率(0.17 μm/min)的2.8倍。此外, 短轴方向由于受颗粒限制, 生长速率在117 min时变为0, 意味着此后碳酸钙单晶不再沿该方向生长。对比孔隙中和砂颗粒间长轴的生长速率, 发现两者相差不大, 如在进样117 min时长轴方向生长速率分别为0.225, 0.221 μm/min。

4 讨 论

微生物矿化加固依赖孔隙液体的流动, 随流动实现不同区域的加固。微尺度试验中碳酸钙晶体在管道纵截面和横截面上的分布均存在不均匀的现象。其中纵截面的不均匀可分为时间不均匀和空间不均匀。时间不均匀体现在管道同一横截面在反应初期细菌侧和反应液侧碳酸钙生成量不同, 而反应后期生成量相当; 空间不均匀体现在靠近和远离注射口的区域碳酸钙生成量不同。值得说明的是, 远离注射口碳酸钙分布的时间不均匀现象随着反应进行逐渐减弱, 而空间不均匀现象一直存在。靠近进样口的细菌侧即便加入细菌和反应液2200 min(约3500倍孔隙体积)仍无明显淤堵发生。由于孔隙液体一直处于流动状态, 尿素被水解后促成碳酸钙沉淀的碳酸根和氢氧根随流体迁

移,因而在距离进样口 4.3 mm 的区域最先出现块状晶体。试验中尿素和钙离子浓度为 0.5 mol/L,远大于无机化学领域研究的碳酸钙结晶浓度,在反应界面中形成的过饱和度更大,从而过饱和度梯度较高,碳酸根和钙离子极易扩散至整个管道截面,导致碳酸钙晶体在靠细菌和反应液侧数量大致相当。与化学反应不同,细菌在管道中形成的絮凝状物体可能改变局部离子浓度,影响碳酸钙的分布。如在 Zeng 等^[24]的试验中,大部分晶体在碳酸根侧形成,考虑到尿素扩散大于细菌,Zeng 等^[24]的试验中碳酸根侧应对应于本试验细菌侧。值得说明的是,虽然管道中形成了大量絮凝状物体,但碳酸钙晶体并未在絮凝状物体中最先形成,最终大量块状碳酸钙也并未出现絮凝物中,说明絮状物并不参与最终晶体的形成。

碳酸钙晶体沉积主要受重力、范德华力、静电作用力,渗流拖曳力,浮力等相互作用的影响,最终的沉积状态由这些作用叠加决定。试验发现碳酸钙晶体形成后沉积位置不再发生变化,说明拖曳力在影响孔隙中碳酸钙沉积的相互作用中不起主导作用。碳酸钙结晶后受界面相互作用而在某一表面沉积,微管道中硅砂比表面积远大于管壁,因而表现为大量碳酸钙沉积在砂颗粒表面(图6)。此外 PDMS 管壁表现为化学疏水性^[25],硅砂表现为化学亲水性,进一步促进碳酸钙沉积在砂颗粒表面。值得注意的是,管道上下壁沉积的碳酸钙数量相差均在 25 以内,远小于管壁和砂颗粒表面沉积的碳酸钙数量差,说明可能重力对孔隙中碳酸钙的沉积作用影响较小,从而反映范德华力和静电作用力为碳酸钙晶体的沉积主导因素。

微生物加固后强度的提高来自于胶结强度和摩擦强度,胶结强度主要来源于矿化产物在砂颗粒间形成的胶结作用。孔隙中碳酸钙无特定生长方向虽然尺寸较大但无法在颗粒间形成有效胶结,而颗粒间碳酸钙生长受砂颗粒限制,出现大小不同的生长轴,虽然起胶结的短轴在一定反应时间后生长受到抑制,碳酸钙出现沿长轴方向的定向生长,但长轴方向晶体尺寸的增大提高了胶结面积从而有利于颗粒间胶结。不管孔隙中或颗粒间碳酸钙的生长速率($G_{\max}=0.49\text{ }\mu\text{m}/\text{min}$)均小于低浓度下($0.05\text{ mol/L Ca}^{2+}$)化学方法^[24]合成的碳酸钙生长速率($G'_{\max}=1.25\text{ }\mu\text{m}/\text{min}$),说明与化学反应相比,微生物水解尿素的速率较慢,延缓了碳酸钙的生长,有益于砂颗粒胶结。

5 结 论

微生物加固是一项新兴的地基处理技术,针对当下微生物加固机理不清晰的现状,本文基于微流控技

术开展了微尺度下微生物加固砂粒试验,对碳酸钙生长过程进行了实时动态追踪,得到以下 4 点结论。

(1)基于微流控技术开发的可视化研究系统用微生物加固机理的细观研究是可行的。微生物和反应液混合初始阶段形成絮凝状物体,随后生成块状碳酸钙晶体。

(2)沿溶液流动方向,溶质分子扩散和迁移对碳酸钙的空间分布影响较大,碳酸钙分布存在时间和空间不均匀现象。时间不均匀随反应进行减弱而空间不均匀在反应过程一直存在。

(3)在微尺寸管道横截面,吸附作用对碳酸钙的分布影响较大。相较于管壁,碳酸钙更容易沉积在砂颗粒表面。如反应 95 min,砂颗粒表面沉积的碳酸钙数量为管壁底面和顶面的 2.8 倍和 4.6 倍。

(4)试样中碳酸钙的沉积模式可分为孔隙中沉积和砂粒间沉积。孔隙间沉积的碳酸钙在平面下均匀长大,而砂粒间沉积的碳酸钙存在速率不同的生长轴,生长具有方向性。微尺寸管道中碳酸钙单晶的生长速率随时间呈衰减规律,如随反应时间增加孔隙中和颗粒间碳酸钙长轴生长速率分别由 0.45, 0.48 $\mu\text{m}/\text{min}$ 降低至 0.08, 0.13 $\mu\text{m}/\text{min}$ 。

参考文献:

- [1] 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))
- [2] 刘汉龙, 肖 鹏, 肖 杨, 等. 微生物岩土技术及其应用研究新进展[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2019, **41**(1): 1 - 14. (LIU Han-long, XIAO Peng, XIAO Yang, et al. State-of-the-art review of biogeotechnology and its engineering applications[J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2019, **41**(1): 1 - 14. (in Chinese))
- [3] 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.
- [4] DEJONG J T, SOGA K, KAVAZANJIAN E, et al. Biogeochemical processes and geotechnical applications: Progress, opportunities and challenges[J]. Geotechnique, 2013, **63**(4): 287 - 301.
- [5] VAN PAASSEN L A, GHOSE R, VAN DER LINDEN T J M, et al. Quantifying biomediated ground improvement by ureolysis: large-scale biogROUT experiment[J]. Journal of

- Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2010, **136**(12): 1721 – 1728.
- [6] CUI M J, ZHENG J J, ZHANG R J, et al. Influence of cementation level on the strength behaviour of bio-cemented sand[J]. Acta Geotechnica, 2017, **12**(5): 971 – 986.
- [7] XIAO Y, WANG Y, DESAI C S, et al. Strength and deformation responses of biocemented sands using a temperature-controlled method[J]. International Journal of Geomechanics, 2019, **19**(11): 04019120.
- [8] 崔明娟, 郑俊杰, 章荣军, 等. 化学处理方式对微生物固化砂土强度影响研究[J]. 岩土力学, 2015, **36**(增刊 1): 392 – 396. (CUI Ming-juan, ZHENG Jun-jie, ZHANG Rong-jun, et al. Study of effect of chemical treatment on strength of bio-cemented sand[J]. Rock and Soil Mechanics, 2015, **36**(S1): 392 – 396. (in Chinese))
- [9] XIAO P, LIU H, STUEDLEIN A W, et al. Effect of relative density and biocementation on cyclic response of calcareous sand[J]. Canadian Geotechnical Journal, 2019, **56**(12): 971 – 986.
- [10] XIAO Y, HE X, EVANS T M, et al. Unconfined compressive and splitting tensile strength of basalt fiber-reinforced biocemented sand[J]. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2019, **145**(9): 04019048.
- [11] 彭 劫, 温智力, 刘志明, 等. 微生物诱导碳酸钙沉积加固有机质黏土的试验研究[J]. 岩土工程学报, 2019, **41**(4): 733 – 740. (PENG Jie, WEN Zhi-li, LIU Zhi-ming, et al. Experimental research on MICP-treated organic clay[J]. Chinese Journal of Geotechnical Engineering, 2019, **41**(4): 733 – 740. (in Chinese))
- [12] XIAO Y, STUEDLEIN A W, RAN J Y, et al. Effect of particle shape on strength and stiffness of biocemented glass beads[J]. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2019, **145**(11): 06019016.
- [13] CHENG L, CORD-RUWISCH R, SHAHIN M A. Influence of key environmental conditions on microbially induced cementation for soil stabilization[J]. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2017, **143**(1): 04016083.
- [14] 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.
- [15] TAGLIAFERRI F, WALLER J, ANDÒ E, et al. Observing strain localisation processes in bio-cemented sand using X-ray imaging[J]. Granular Matter, 2011, **13**(3): 247 – 250.
- [16] DEJONG J T, MORTENSEN B M, MARTINEZ B C, et al. Bio-mediated soil improvement[J]. Ecological Engineering, 2010, **36**(2): 197 – 210.
- [17] ZHANG W, JU Y, ZONG Y, et al. In situ real-time study on dynamics of microbially induced calcium carbonate precipitation at a single-cell level[J]. Environmental Science & Technology, 2018, **52**(16): 9266 – 9276.
- [18] WHITESIDES G M. The origins and the future of microfluidics[J]. Nature, 2006, **442**(7101): 368 – 373.
- [19] WANG Y, SOGA K, DEJONG J T, et al. A microfluidic chip and its use in characterising the particle-scale behaviour of microbial-induced calcium carbonate precipitation (MICP)[J]. Géotechnique, 2019, **69**(12): 1086 – 1094.
- [20] ROSSY T, NADELL C D, PERSAT A. Cellular advective-diffusion drives the emergence of bacterial surface colonization patterns and heterogeneity[J]. Nature Communications, 2019, **10**(1): 2471 – 2480.
- [21] CHILTON T H, COLBURN A P. Pressure drop in packed tubes[J]. Industrial and Engineering Chemistry, 1931, **23**(8): 913 – 919.
- [22] HAYNES W M. CRC Handbook of Chemistry and Physics[M]. Boca Raton: CRC Press, 2014.
- [23] GOSTING L J, AKELEY D F. A study of the diffusion of urea in water at 25-degrees with the Gouy interference method[J]. Journal of the American Chemical Society, 1952, **74**(8): 2058 – 2060.
- [24] ZENG Y, CAO J, WANG Z, et al. Formation of amorphous calcium carbonate and its transformation mechanism to crystalline CaCO_3 in laminar microfluidics[J]. Crystal Growth & Design, 2018, **18**(3): 1710 – 1721.
- [25] MCDONALD J C, DUFFY D C, ANDERSON J R, et al. Fabrication of microfluidic systems in poly (dimethylsiloxane) [J]. Electrophoresis, 2000, **21**(1): 27 – 40.