科学通报 2012 年 第 57 卷 第 9 期：770 ~ 775
论 文 www.scichina.com csb.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS

微生物水泥基材料特征

荣辉[①②], 钱春香[①②*]

① 东南大学材料科学与工程学院, 南京 211189;
② 江苏省土木工程材料重点实验室, 南京 211189
* 联系人, E-mail: cxqian@seu.edu.cn

2011-08-01 收稿, 2011-09-19 接受
国家自然科学基金(51072035)、教育部博士点基金(20090092110029)、江苏省普通高校研究生科研创新计划(CXZZ_0145)和东南大学优秀博士论文基金(YBJJ1127)资助

摘要 在节能减排大环境下, 研发了新一代水泥——微生物水泥. 微生物水泥是利用微生物诱导形成的方解石作为胶结物质以连接松散颗粒成为整体并获得一定的力学性能. 证实了微生物水泥胶结松散颗粒的可行性, 并详细阐述了其胶结机理. 同时成功制备出微生物水泥砂柱, 并利用扫描电子显微镜(SEM)和压汞仪(MIP)分析了微生物水泥砂柱微观形貌和孔结构. 结果表明: (1)在 20 天龄期下, 利用微生物水泥胶结成的砂柱抗压强度可达 12 MPa; (2) 微生物水泥砂柱内部微观结构与微生物诱导形成的方解石数量有关.

关键词
微生物水泥
胶结机理
微观结构
方解石

为降低普通硅酸盐水泥能耗, 减少 CO_2 排放, 科研工作者正努力寻求新的胶结材料. 近年来, 由嗜碱微生物, 底物溶液和可溶性钙盐构成的微生物水泥得到了广泛关注. 这是因为与传统胶结材料相比, 微生物水泥由于广泛存在于自然界中, 而被认为是真正的绿色环保胶结材料. 微生物水泥胶结松散颗粒的本质原因是底物溶液在微生物作用下, 同时在外界 Ca^{2+}存在下, 诱导形成的方解石沉积在松散颗粒周围和颗粒-颗粒之间, 从而起到连接松散颗粒的作用.

微生物水泥已被广泛应用到许多领域中. 研究表明: 微生物水泥可以提高多孔材料的力学性能(硬度、强度)和渗透性[1~7]、修补建筑材料缺陷[8~12]、改善土壤和松散砂的性能[2,13,14]以及利用微生物水泥处理土壤中的重金属[15~19].

本文首先详细介绍了微生物水泥胶结机理, 然后制备出力学性能优异的微生物水泥砂柱, 并利用扫描电子显微镜(SEM)和压汞仪(MIP)对其微观结构进行了详细分析讨论. 最后建立并分析了微生物水泥砂柱内形成的方解石数量与强度、孔隙率之间的关系.

1 微生物水泥胶结机理

微生物水泥的胶结过程首先是底物溶液在产脲酶的微生物作用下按照以下反应发生分解[20~22]:

$$\text{底物溶液 B}+3H_2O \xrightarrow{\text{微生物}} CO_3^{2-} \quad (1)$$

由于底物分解而导致周围环境的 pH 增加, 同时在外界 Ca^{2+}存在条件下, 发生如下反应[3,22,23]:

$$Ca^{2+}+HCO_3^-+OH^- \rightarrow CaCO_3\downarrow+H_2O \quad (2)$$

$$Ca^{2+}+2HCO_3^- \Leftrightarrow CaCO_3\downarrow+CO_2+H_2O \quad (3)$$

另外, 形成 $CaCO_3$ 沉淀需要足够的 Ca^{2+}和 CO_3^{2-}, 以使离子活性超过溶解平衡常数. 饱和度定义为 Ω, 如果 Ω 大于 1, 则反应达到过饱和状态并形成 $CaCO_3$ 沉淀[23].

$$Ca^{2+}+CO_3^{2-} \Leftrightarrow CaCO_3\downarrow \quad (4)$$

$$\Omega=\alpha(Ca^{2+})\ \alpha(CO_3^{2-})/K_{\text{SO calcite, 25°}}, \quad (5)$$

其中 $K_{\text{SO calcite, 25°}}=4.8\times10^{-9}$.

除以上解释外, 微生物诱导形成 $CaCO_3$ 沉淀还存在另一种解释: 即底物溶液进入到微生物细胞内, 在胞内酶作用下, 底物溶液分解形成 CO_3^{2-}并释放到微生物细胞表面, 同时外界溶液中的 Ca^{2+}吸附到带

英文版见: Rong H, Qian C X. Characterization of microbe cementitious materials. Chin Sci Bull, 2012, 57, doi: 10.1007/s11434-012-5047-9

有负电荷的微生物细胞表面，以微生物细胞表面作为 $CaCO_3$ 晶体的成核位点[3,24]，

$$Ca^{2+} + Cell \rightarrow Cell - Ca^{2+} \quad (6)$$

$$细胞 - Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow 细胞 - CaCO_3 \downarrow \quad (7)$$

由微生物诱导形成的方解石晶体在松散颗粒之间充当桥梁作用，从而把松散颗粒胶结在一起，成为整体. 胶结前后的松散颗粒见图 1. 胶结过程示意图见图 2[25]. 图 2(a)显示的是当紧密的砂颗粒放到试模中，仍发现在砂颗粒之间存在大量空隙. 图 2(b)表明的是把菌液注入砂体中，发现大量的微生物可以吸附到砂中，随后注入底物溶液和可溶性钙盐，它们在微生物作用下，在砂颗粒之间形成胶结物质—方解石(图 2(c), (d)). 随着在松散颗粒之间和周围形成的方解石数量不断增加，松散颗粒逐渐被胶结成为具有一定力学性能的整体.

2 试验和方法

2.1 材料

(ⅰ) 微生物水泥. 采用光密度在 600 nm 波长下吸光值为 1.7，酶活性为 4.4 mmol (L min)$^{-1}$ 的微生物. 配制的微生物培养基为 1 L 去离子水中含有 3 g 蛋白胨和 5 g 牛肉浸膏. 底物溶液浓度和可溶性钙盐浓度均为 2 mol/L.

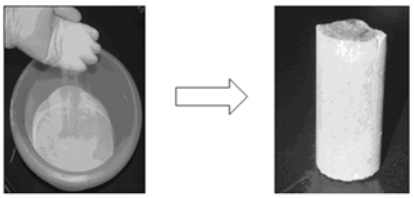

图 1 微生物水泥胶结的松散砂颗粒

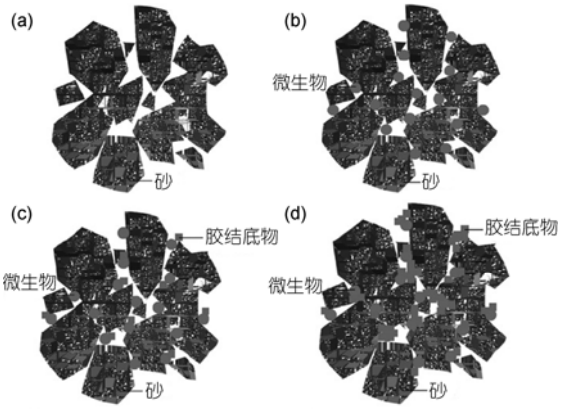

图 2 微生物水泥胶结机理

(a) 松散砂颗粒; (b) 微生物吸附在砂颗粒间; (c) 微生物、胶结底物吸附在砂颗粒间; (d) 松散砂颗粒被微生物水泥胶结成为整体

(ⅱ) 骨料. 试验用骨料为粒径小于 300 μm 的石英砂，采用 150 μm 以下粒径、质量分数为 10%和 150~300 μm 之间、质量分数为 90%的级配.

2.2 圆柱体参数和成型工艺

采用 50 mL 塑料注射器作为试模，其内径为 3.0 cm，高为 11.0 cm，如图 3 所示. 装入松散砂粒之前，首先在注射器底部放入 1.0 cm 高的纱布，然后放入砂颗粒，使砂粒高度达到 6.0 cm，然后用自来水冲洗几次，以排除砂颗粒之间存在的气泡，最后在砂粒顶部放入 1.0 cm 高的纱布. 所有试验均是在相对温度 30±2℃下进行.

成型工艺为：首先用调节流速的蠕动泵连接注射器注射口(圆柱体底部)，然后以 5 mL/min 的流速注入菌液，当注入完菌液后，立即封堵注射口，停滞 2 h，以让更多微生物吸附在砂颗粒上. 2 h 后，打开封堵口，待菌液完全从砂柱中流出后，紧接着以

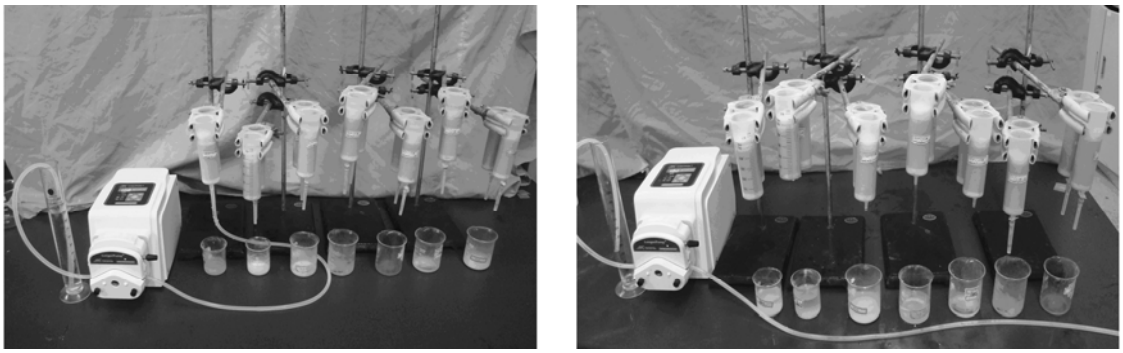

图 3 利用微生物水泥胶结松散砂颗粒的试验过程

10 mL/min 的流速注入胶结溶液，待注入完胶结溶液，立即封堵注射口 2 h. 2 h 过后，待胶结溶液完全从砂柱中渗出后，再注入第二批胶结溶液. 注入完胶结溶液后，封堵注射口 12 h，以便砂中微生物与胶结溶液充分发生反应. 然后注入第二批菌液. 重复以上步骤，直至砂柱中不再有溶液渗出，此时则认为微生物水泥成功胶结出砂柱.

2.3 样品制备

成型直径为 30 mm，高为 60 mm 的微生物水泥砂柱，其所需配合比见表 1. 浇注完后，样品养护在 30±2℃下. 20 天后，利用微生物水泥成功把松散颗粒胶结成为砂柱，效果见图 4.

2.4 力学性能测试

采用 SANS CMT 8502 微机控制电子万能试验机对龄期为 20 天的微生物水泥砂柱进行抗压强度测试，加载速率为 1 mm/min.

2.5 孔结构测试

采用 Micrometrics 生产的 Auto-Pore IV 9500 压汞仪对微生物水泥砂柱孔径分布和孔隙率进行测试分析. 其中，压汞仪最高压力可达 415 MPa，孔径测量范围为 3 nm~360 μm.

表 1 微生物水泥砂柱配合比

组成	用量
菌液	200 mL
底物溶液	100 mL
Ca^{2+}溶液	100 mL
石英砂	80 g

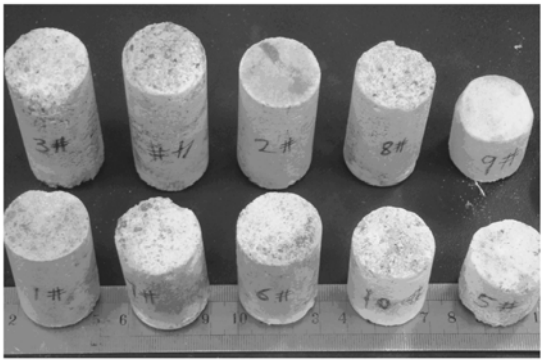

图 4 利用微生物水泥胶结成的砂柱

2.6 方解石数量

力学性能测试后，开始测试微生物水泥砂柱中含有的方解石数量. 首先把干燥的微生物水泥砂柱质量记为 $M_{干燥}$，然后把干燥的微生物砂柱与过量的盐酸混合，待充分反应后，过滤液体并收集残余物质，烘干后记为 $M_{残余}$，那么，该微生物水泥砂柱中所含有的方解石数量，则为

$$M_{方解石} = M_{干燥} - M_{残余}. \tag{8}$$

3 结果和讨论

3.1 微生物水泥砂柱的抗压强度

利用微生物水泥胶结而成的有代表性的砂柱抗压强度结果见图 5. 从图 5(a)可知，2# 砂柱强度为 11.7 MPa，而 1#，3# 的强度分别为 7.8 和 4.5 MPa. 图 5(b)显示了微生物水泥砂柱的破坏形式，从破坏形式可知，1#，3# 的微生物水泥砂柱薄弱环节为顶部，而 2# 砂柱整体比较均匀. 同时通过试验得出了 1#，2#和 3# 微生物水泥砂柱中含有的方解石数量，它们分别为 25.7, 36.3 和 18.2 g.

图 6 分别显示了 3 个砂柱的微观图. 从图 6(b)可以看出在松散砂颗粒表面和颗粒之间沉积着大量微生物诱导而成的方解石晶体. 同时还可以看出 2# 微

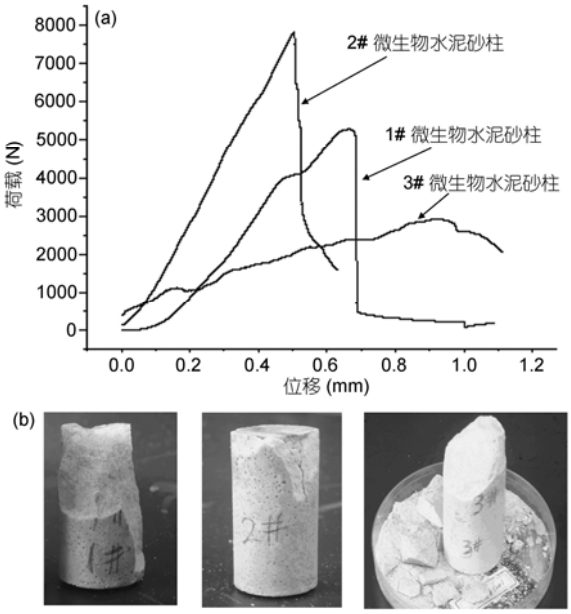

图 5 微生物水泥砂柱的荷载-变形曲线和破坏方式

(a) 微生物水泥砂柱的荷载-变形; (b) 微生物水泥砂柱的破坏形式

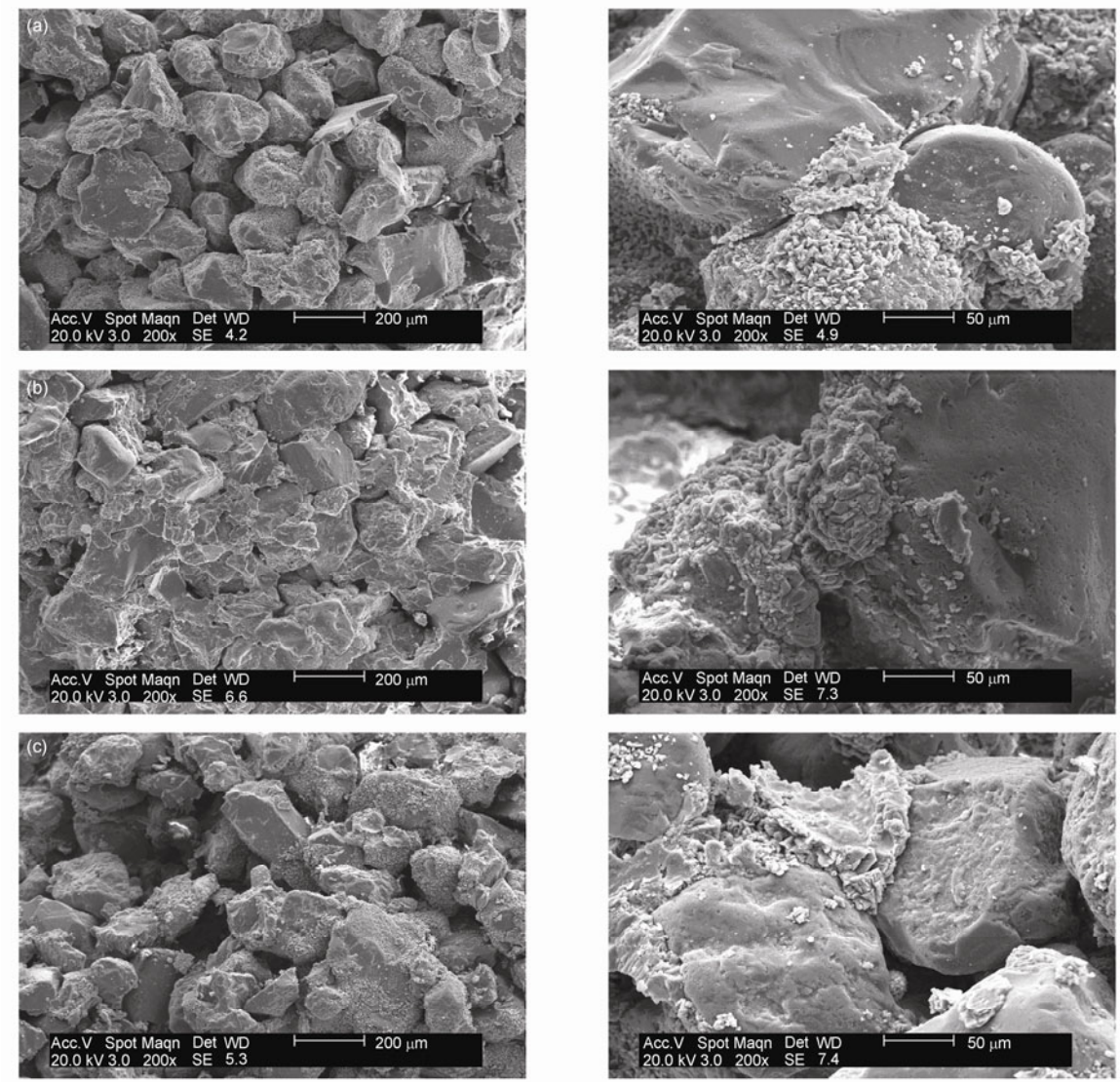

图 6 微生物水泥砂柱的 SEM 图

(a) 1#微生物水泥砂柱; (b) 2#微生物水泥砂柱; (c) 3#微生物水泥砂柱

生物水泥砂柱的孔隙率明显低于 1#和 3# 样品. 出现以上结果的原因可能是吸附在 2#砂柱中的微生物数量多, 从而形成足够多的方解石晶体并填充在砂颗粒周围, 较好地改善了砂柱内部结构.

3.2 孔隙率和孔径分布

利用 MIP 技术测试了微生物水泥砂柱的孔径分布和孔隙率, 结果见图 7. 由图可知, 2# 微生物水泥砂柱的最可几孔径集中在 25~30 μm, 而 1# 和 3# 试样的孔径范围分别为 27~32 μm 和 32~36 μm. 结果表明 3 种试样的孔径范围差距不明显. 同时表 2 列出了胶结前后砂柱的孔隙率变化, 发现 2# 砂柱试样孔隙率降低最多, 为 45.0%, 而 1# 和 3# 试样分别降低了 30.6%, 20.9%. 出现以上现象的原因可能为 2# 砂柱中微生物诱导形成的方解石数量多且形成的方解石晶型较小所致.

表 2 微生物水泥砂柱的孔隙率

编号	最初孔隙率 (%)	最终孔隙率 (%)	20 天后降低率 (%)
1#	42.1	29.2	30.6
2#	43.1	23.7	45.0
3#	42.6	33.7	20.9

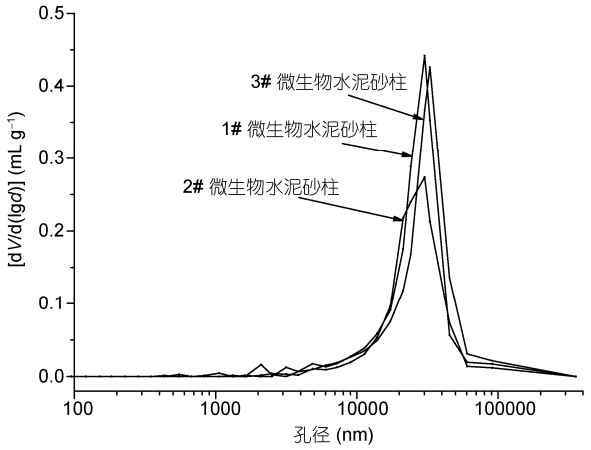

图 7 微生物水泥砂柱的孔径分布

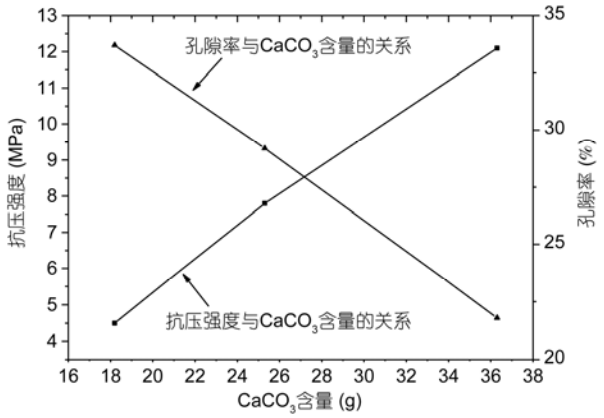

图 8 方解石、抗压强度和孔隙率关系

3.3 微生物水泥砂柱孔隙率、抗压强度和方解石三者之间的关系

图 8 显示了微生物诱导形成的方解石数量与砂柱抗压强度和孔隙率 3 者之间的关系. 由图 8 可知, 砂柱中含有的方解石数量可以明显影响微生物水泥砂柱的抗压强度和孔隙率. 方解石数量少时, 改善砂柱的抗压强度不明显, 而当方解石数量较高时, 可明显改善砂柱的力学性能和微观结构. 由图 8 同样证实了 2# 微生物水泥砂柱强度最高, 形成的方解石数量最多, 孔隙率最低.

4 结论

本文阐述了利用微生物水泥胶结松散颗粒的方法, 并成功制备出力学性能优异的微生物水泥砂柱. 通过试验研究, 可得出以下结论:

(1) 证实了微生物水泥胶结松散颗粒的可行性, 并详细介绍了微生物水泥胶结机理, 为传统硅酸盐水泥材料提供一种新的替代材料.

(2) 利用微生物水泥胶结而成的微生物水泥砂柱力学性能优异. 力学性能的变化取决于微生物水泥砂柱中形成的方解石数量和孔隙率, 而形成的方解石数量又取决于菌液数量、微生物活性、胶结溶液浓度、用量等诸多因素.

(3) 微生物水泥胶结松散颗粒的应用领域不应仅仅局限于小尺寸试样. 随着研究的不断深入, 微生物水泥将向着加固地基、防止土壤液化、防治沙漠化等领域发展.

参考文献

1 Le Metayer-Levrel G, Castanier S, Orial G, et al. Applications of bacterial carbonatogenesis to the protection and regeneration of limestones in buildings and historic patrimony. Sediment Geol, 1999, 126: 25–34

2 Nemati M, Voordouw G. Modification of porous media permeability, using calcium carbonate produced enzymatically *in situ*. Enzyme Microb Technol, 2003, 33: 635–642

3 DeJong J T, Fritzges M B, Nusslein K. Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear. J Geotech Geoenviron Eng, 2006, 132: 1381–1392

4 DeJong J T, Brina M M, Brian C M, et al. Bio-mediated soil improvement. Ecol Eng, 2010, 36: 197–210

5 Whiffin V S. Microbial $CaCO_3$ precipitation for the production of Biocement. Dissertatin for the Doctoral Degree. Western Australia: Murdoch University, 2004

6 Whiffin V S, Van Paassen L A, Harkes M P. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. Geomicrobiol J, 2007, 24: 417–423

7 Ivanov V, Chu J. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil *in situ*. Rev Environ Sci Biotechnol, 2008, 7: 139–153

8 De Muynck W, De Belie N, Verstraete W. Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review. Ecol Eng, 2010, 36: 118–136

9 De Muynck W, Verbeken K, De Belie N, et al. Influence of urea and calcium dosage on the effectiveness of bacterially induced carbonate precipitation on limestone. Ecol Eng, 2010, 36: 99–111

10 De Muynck W, Debrouwer D, De Belie N, et al. Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials. Cem Concr Res, 2008, 38: 1005–1014

11 Qian C X, Wang J Y, Wang R X, et al. Corrosion protection of cement-based building materials by surface deposition of $CaCO_3$ by Bacillus pasteurii. Mater Sci Eng C, 2009, 29: 1273–1280

12 Ramachandran S K, Ramakrishnan V, Bang S S. Remediation of concrete using micro-organisms. ACI Mater J, 2001, 1: 3–9

13 Ferris F G, Setehmeir L G. Bacteriogenic mineral plugging. United States Patent, 664769, 1992

14 Nemati M, Greene E A, Voordouw G. Permeability profile modification using bacterially formed calcium carbonate: comparison with enzymic option. Process Biochem, 2005, 40: 925–933

15 Ferris F G, Phoenix V, Fujita Y, et al. Kinetics of calcite precipitation induced by ureolytic bacteria at 10℃ to 20℃ in artificial groundwater. Geochem Cosmochim Acta, 2003, 67: 1701–1722

16 Fujita Y, Ferris F G, Lawson R D, et al. Calcium carbonate precipitation by ureolytic subsurface bacteria. Geomicrobiol J, 2000, 17: 305–318

17 Warren L A, Maurice P A, Parmar N, et al. Microbially mediated calcium carbonate precipitation: Implications for interpreting calcite pecipitation and for solid-phase capture of inorganic contaminants. Geomicrobiol J, 2001, 18: 93–115

18 Chaturvedi S, Chandra R, Rai V. Isolation and characterization of Phragmites australis (L) rhizosphere bacteria from contaminated site for bioremediation of colored distillery effluent. Ecol Eng, 2006, 27: 202–207

19 Simon M A, Bonner J S, Page C A, et al. Evaluation of two commercial bioaugmentation products for enhanced removal of petroleum from a wetland. Ecol Eng, 2004, 22: 263–277

20 Bachmeier K L, Williams A E, Warmington J R, et al. Urease activity in microbiologically-induced calcite precipitation. J Biotechnol, 2002, 93: 171–181

21 Ferris F G, Stechmeier L G, Kantzas A, et al. Bacteriogenic mineral plugging. J Can Pet Technol, 1996, 35: 56–61

22 Ramakrishnan V, Ramesh K P, Bang S S. Bacterial concrete. In: Proc of SPIE-Int Society of Optical Engineering, 2001, 4234: 168–176

23 Morse J W. The kinetics of calcium carbonate dissolution and precipitation. In: Reeder R J, ed. Carbonates: Mineralogy and chemistry, vol. 11. Mineralogic Society of America, Washington DC, 1983. 227–264

24 Kantzas A, Stehmeier L, Marentette D F, et al. A novel method of sand consolidation through bacteriogenic mineral plugging. In: Jha K N, Maurits F M, eds. Proceedings of Annual Technical Meeting, 1992 Jun 7-10, Calgary. Canada: Society of Petroleum Enginners, 1992. 46

25 Qian C X, Pan Q F, Wang R X. Cementation of sand grains based on carbonate precipitation induced by microorganism. Sci China Tech Sci, 2010, 53: 2198–2206