

DOI: 10.11779/CJGE202110012

# 微生物矿化沉积时空演化的微流控芯片试验研究

何 想<sup>1, 2</sup>, 刘汉龙<sup>1, 2, 3</sup>, 韩 飞<sup>4</sup>, 马国梁<sup>1, 2</sup>, 赵 常<sup>1, 2</sup>, 楚 剑<sup>5</sup>, 肖 杨<sup>\*1, 2, 3</sup>

(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. 新罕布什尔大学, 新罕布什尔州 03824,  
美国; 5. 南洋理工大学土木与环境工程学院, 新加坡 639789)

**摘要:** 微生物矿化沉积是近年来的热门研究课题, 然而人们对其时空演化过程的认识目前稍显不足。设计了具有大小孔隙的概念化微流控芯片, 并利用微生物加固可视化系统对微生物矿化沉积的时空演化过程进行研究。提出了一种图像处理方法, 该方法能够对沉积过程中的碳酸钙进行识别和计算, 从而对微生物矿化沉积的时空演化过程进行量化研究。结果表明孔隙空间结构对碳酸钙晶体具有一定的调控作用, 管道大孔隙中碳酸钙以单晶的形式存在, 而砂颗粒间小孔隙中碳酸钙以聚合体的方式渐进生长并表现出3个不同的生长过程。无论单晶还是聚合体碳酸钙, 它们的生长速率均随反应时间先增加后逐渐降低, 碳酸钙晶体面积的等效半径增长速率最大为4.22 μm/min。研究结果有望验证孔隙尺度微生物矿化沉积模拟, 为现场工程应用提供参考。

**关键词:** 微生物矿化; 微流控芯片; 碳酸钙; 生长速率; MICP

中图分类号: TU411 文献标识码: A 文章编号: 1000-4548(2021)10-1861-09

作者简介: 何 想(1992—), 男, 博士研究生, 主要从事岩土可视化方面研究。E-mail: medihe@163.com。

## Spatiotemporal evolution of microbial-induced calcium carbonate precipitation based on microfluidics

HE Xiang<sup>1, 2</sup>, LIU Han-long<sup>1, 2, 3</sup>, HAN Fei<sup>4</sup>, MA Guo-liang<sup>1, 2</sup>, ZHAO Chang<sup>1, 2</sup>, CHU Jian<sup>5</sup>, XIAO Yang<sup>1, 2, 3</sup>

(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. University of New Hampshire, Hampshire 03824, USA; 5. School of Civil and Environmental Engineering, Nanyang Technological University, Singapore 639798, Singapore)

**Abstract:** The microbial-induced calcium carbonate precipitation (MICP) is a hot research topic in recent years, however, the understanding of its spatiotemporal evolution is still insufficient. This paper aims to investigate the spatiotemporal evolution process by designing a conceptual microfluidic chip within large and small pores and using a visualized experimental platform. An image-processing method is proposed to distinguish the calcium carbonate and measure its areas during the precipitation process, which allows the quantitative study on the spatiotemporal evolution process of MICP. The results show that the pore structures are involved in regulation of crystallization of the calcium carbonate. The calcium carbonate in the large pores of the channel exhibit as a single crystal, while those in the small pores between the sand particles show asymptotic growth in the form of aggregates and exhibit three different growth processes. Regardless of single crystal or crystalline aggregates, the growth rate of the calcium carbonate first increases and then gradually decreases with the increasing reaction time. The maximum growth rate is 4.22 μm/min with respect of the equivalent radius of the calcium carbonate crystals. This study is expected to benchmark the pore-scale modeling of biomineralization and provide reference for field practices.

**Key words:** biomineralization; microfluidics; calcium carbonate; growth rate; MICP

## 0 引言

微生物矿化是近年来岩土工程研究的学科交叉热点问题之一。微生物矿化源于地质学和矿物学是自然地质作用的一种, 对岩石圈的演化过程具有重要影响<sup>[1]</sup>。虽然它是自然界的自发行为, 但是近年来研究者意识

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(41831282); 国家自然科学基金优秀青年项目(51922024); 国家自然科学基金面上项目(52078085); 重庆市自然科学基金杰出青年基金项目(cstc2019jcyjjqX0014); 重庆市研究生科研创新项目(CYB18035)

收稿日期: 2020-12-25

\*通信作者(E-mail: hhuxyanson@163.com)

到可以对这种行为进行人为调控，将其对材料性质改变的时间尺度从漫长的地质尺度调整为人类建筑建设许可尺度，从而实现从自然现象到工程技术的转变<sup>[2]</sup>。由此衍化而来的微生物矿化沉积技术具备天然的环境相容性，并在文物修复<sup>[3]</sup>、建筑材料性能提升<sup>[4]</sup>、岩土体处理<sup>[5-6]</sup>、污染场地修复与污染物治理<sup>[7-8]</sup>等方面展现了良好的应用前景。

微生物矿化沉积既属于自然科学又属于工程技术的交叉属性是其引起化学、生物、环境、材料、力学及土木等学科研究者关注的主要原因。人们从微观、细观、宏观等尺度对微生物矿化沉积进行了多尺度研究试图明晰其反应机理、反应动力学，探索其在各类工程问题中适用性和可行性并寻找更优的技术实现方式。具体来说表现在通过微观试验研究成核机理<sup>[9]</sup>、微环境改变<sup>[10-11]</sup>、碳酸钙的结晶相变<sup>[12]</sup>，通过单元试验、模型试验研究研究工程力学特性<sup>[13-14]</sup>、渗透特性的改变<sup>[15-16]</sup>，技术方法的改进<sup>[5, 17]</sup>，通过现场试验评估大规模应用的可行性和技术难点<sup>[18-20]</sup>等。

虽然目前针对微生物矿化的研究较多，但是在岩土工程领域大多数都集中在单元和模型尺度，主要原因在于现场试验成本较高、环境因素复杂、处理效果难以保证，微观试验缺少常规的试验设备和分析手段，而单元和模型试验相关研究方法较为成熟。如利用砂柱试验研究微生物沉积对有机质黏土<sup>[21]</sup>、过湿铝尾粘土<sup>[22]</sup>、泥炭土<sup>[23]</sup>、黄土<sup>[24]</sup>、粗砂<sup>[25]</sup>及钙质砂<sup>[26]</sup>等的加固作用；风洞试验<sup>[27]</sup>、水槽试验<sup>[28]</sup>研究微生物加固抗侵蚀能力及通过振动台试验研究微生物胶结后土体的动力响应等；研究得到的普遍结论为微生物加固后岩土体力学性能得到了极大改善<sup>[29]</sup>，力学强度、抗渗性、抗液化性等出现了提高<sup>[30-32]</sup>。这些研究丰富了微生物岩土的学科内涵，提高了人们对于微生物胶结作用的认识，然而单元和模型试验无法重现微生物矿化沉积的时空演化过程，因而难以对微生物矿化沉积的一些基本问题如碳酸钙在孔隙中的生长模式、碳酸钙的生长速率、胶结特性等进行系统研究。这些问题的研究可为加固过程模拟、加固程度判定以及评估潜在应用的长期服役性能模拟等方面提供参数，对于微生物矿化加固工程的全寿命周期管理具有重要意义。

尽管部分学者开展了一些微生物矿化沉积微观尺度方面的研究工作。如 Zhang 等<sup>[9]</sup>在单细菌尺度观测微生物诱导碳酸钙的沉淀行为研究了细菌表面的电负性对碳酸钙成核结晶的影响认为细菌表面的负电荷并非碳酸钙结晶的必要条件。Wang 等<sup>[12]</sup>通过观测微流控芯片中的 MICP 过程，对碳酸钙晶体在生长中的形貌相变行为进行了深入研究，结果表明注入时间间隔不同生成的碳酸钙颗粒大小和数量均存在差异，碳酸

钙在生长过程中呈现明显相变。Marzin 等<sup>[33]</sup>使用微流控芯片观测碳酸钙在砂颗粒上的吸附沉淀，从而研究溶液注入时间和离子强度对晶体吸附率和空间分布的影响。这些研究均反映出微流控技术在观测微生物矿化沉积过程上具备的优势，然而他们大多集中于微生物矿化的微观机制和机理研究方面，着重观测一些常规单元试验及其他宏观试验无法显示的现象，较少将其用于参数的量化研究。Marzin 等<sup>[33]</sup>虽然对吸附率进行了量化但是他们的量化方法通过计算碳酸钙晶体的个数实现，对最大生长速率等参数并未展开研究。

本研究拟在上述微观研究的基础上设计具有大小孔隙及砂颗粒的概念化微流控芯片，并结合微流控技术和数字图像处理技术，对不同反应时刻生成的碳酸钙进行识别，首先研究恒定流速下管道中和砂颗粒间碳酸钙的微观生长机制和生长规律，进一步地计算不同时刻芯片中碳酸钙的生长量和生长速率，对微生物矿化沉积的时空演化过程进行量化，最后将常用的碳酸钙结晶生长模拟方法与本文结果进行对比，讨论常规模拟方法的不足。本文研究结果可用于孔隙尺度及连续性微生物矿化模型的标定和验证，得到的参数可供工程技术人员参考。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 概念化微流控芯片

碳酸钙可能在大孔隙或岩石裂隙中生长，也可能在颗粒间或小孔隙中生长。大孔隙或裂隙尺寸较大，如部分裂隙宽度可大于 2 mm。碳酸钙在这类孔隙中生长时生长空间较大，周围环境对其约束较少，生长行为与烧杯或试管等环境中沉积类似。而在小孔隙中由于颗粒的存在，碳酸钙在相对受限的空间中生长。研究表明，由于颗粒（或基质材料）与碳酸钙的相互作用，受限空间中碳酸钙的生长行为与常规的非受限空间有较大区别<sup>[34]</sup>。另一方面岩土材料孔隙结构复杂，孔隙中溶液流动路径随碳酸钙生长发生变化，导致溶质的扩散迁移过程改变，进而导致溶质的分布状态改变。本文通过微流控管道和位于管道中的砂粒构建大小孔隙，形成概念化微流控芯片，该芯片兼具孔隙流场和孔隙尺寸差异。借助微流控系统对边界和初始条件的精确控制，为模型验证提供参照。在概念化微流控芯片中细菌和反应液由两个分开的支管道注入，并在主管道中混合，主管道宽 944 μm，深 120 μm。试验用砂筛自福建标准砂，主要成分为二氧化硅，颗粒粒径为 120~210 μm。如图 1 所示，将主管道分为 3 个区域，分别为靠近注入口，中部和靠近流出口位置。每个区域中部放置一排砂颗粒，相邻砂颗粒间距为 30~120 μm。芯片具体制备方法可参考文献[35, 36]。

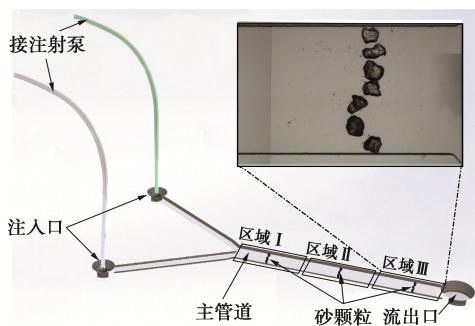


图 1 概念化微流控芯片示意图

Fig. 1 Schematic image of conceptual micro fluidic chip

## 1.2 微生物矿化溶液

细菌菌种由中国普通微生物菌种保藏中心(CGMCC)购置,拉丁学名为 *Sporosarcina pasteurii*。细菌灭菌培养 13 h 后置于 4°C 冰箱中保存,使用时离心两次去除杂质,离心方法与文献[31]相同。离心后测量细菌活性为 14.22 U(相对应的电导率变化率为 0.128 ms/min),细菌经 0.85% 的氯化钠溶液稀释 10 倍后作为本研究菌液。反应液为分析纯尿素和分析纯氯化钙溶于超纯水中配制而成,浓度均为 0.5 mol/L。

## 1.3 溶液进样与矿化过程实时监测

采用哈佛注射泵将矿化溶液注入芯片,速率 40  $\mu\text{L}/\text{h}$ (对应初始达西流速为  $1.9 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ ),此流速下细菌基本位于管道下半部分。值得注意的是,流速不同碳酸钙的生长位置可能不同。拍摄时调整显微镜焦距在某一位置处沿管道深度方向连续拍摄多张照片。通过移动载物台,对不同反应时刻整个管道进行拍照,捕捉反应过程中碳酸钙的时空演化过程。将某一时刻和位置处拍摄的多张照片(20~40 张)进行景深扩展处理合成该位置在给定时刻的全景深图片。合成后的图片消除了由于光线聚焦位置不同产生的模糊或虚影,便于进一步图像处理。

## 2 图像处理

砂颗粒与管道的灰度值存在较大差异,选取合适的阈值可将砂与管道从原始图像中分割出来。大津算法(Otsu)是常用的确定图像二值化分割阈值的方法。该方法将灰度图像分为背景和目标两部分通过计算图像的最大类间方差得到最佳阈值。由于 Otsu 算法阈值分割的高效性和较好的准确性,该算法被用于两相流<sup>[37]</sup>、矿化沉积<sup>[38-39]</sup>、岩土体孔隙结构<sup>[40]</sup>等研究中的显微图像或 CT 图像处理。然而需要注意的是砂颗粒中部存在与管道像素值相近的点单一的阈值分割并不能将砂颗粒和管道完全区分,为此使用 Otsu 方法计算得到的阈值作为 Canny 边缘检测使用的高低阈值得

到较优的砂颗粒轮廓,将识别的轮廓进行填充并二值化处理,如图 2 所示。将二值化图像中砂颗粒和管道像素点分别用土黄和灰色像素值替换得到反应前砂颗粒和管道的伪彩图。

砂颗粒间和管道中生成碳酸钙后,碳酸钙与砂颗粒灰度值相近,采用上述全局图像处理方法无法区分二者。因而对于反应后的图像先采用图 2 中所示方法将管道和颗粒(包括砂颗粒和碳酸钙晶体)进行区分,并将得到的二值化图像与原图中进行加运算,计算后砂颗粒与碳酸钙的原始像素值在相加后的图片中得以保留而管道位置像素值变为 255(即白色),此步称为整体轮廓识别。在此基础上进一步对砂颗粒和碳酸钙采用前述阈值分割和边缘检测方法进行识别,并赋不同的灰度数值,此步称为局部轮廓识别。如图 2(b)所示,砂颗粒由灰色(灰度值为 115),碳酸钙颗粒由黑色(灰度值为 0),孔隙由白色(灰度值为 255)分别进行标识,并将此灰度图进行彩色化处理。碳酸钙表示为白色,砂颗粒与管道的颜色与图 2(a)相同。值得指出的是由于不同时刻碳酸钙生成量不同,为显示碳酸钙随时间的变化可将其按反应时间用不同时刻进行着色,并将图片叠加得到全反应过程碳酸钙的生长序列图。显微图片中比例尺实际长度与所占像素进行对比可换算出每个像素对应的绝对长度,本研究中每个像素点对应的长度为 1.035  $\mu\text{m}$ ,从而可根据砂颗粒和碳酸钙的像素点个数计算他们的面积。

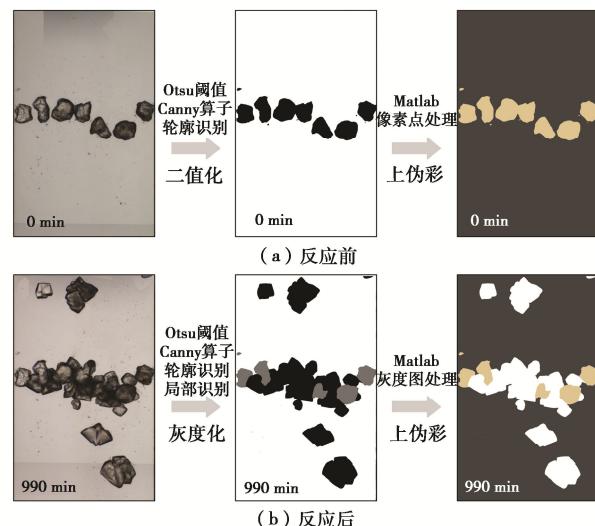


图 2 图像处理流程

Fig. 2 Image processing

## 3 试验结果与分析

### 3.1 碳酸钙生长过程

芯片中 MICP 反应持续 1400 min。由于扩散迁移作用的影响,在整个反应过程中仅区域 III(如图 1 所

示) 出现碳酸钙沉淀。取区域III中的砂颗粒及前后存在碳酸钙的管道位置进行分析。碳酸钙在管道中的生长过程原始图及处理后的伪彩图分别如图 3, 4 所示。

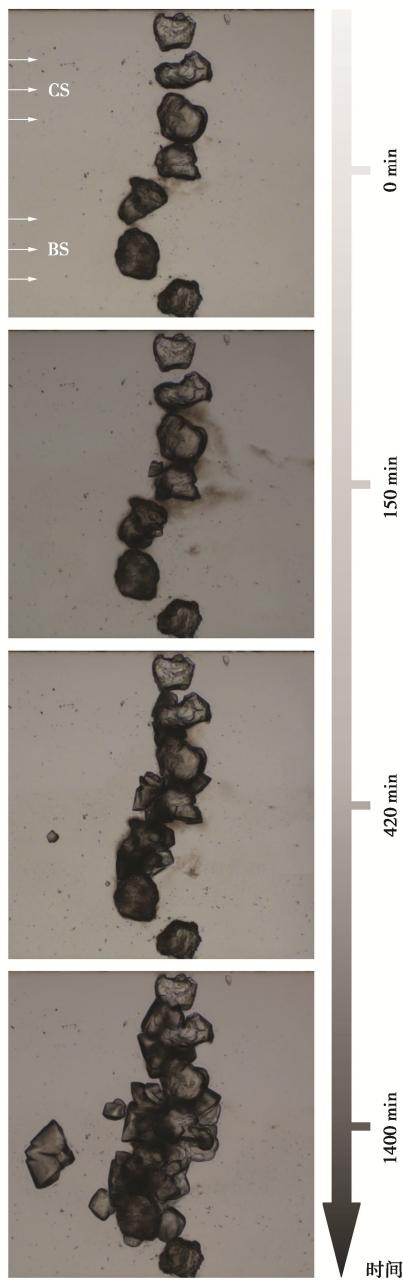


图 3 颗粒间碳酸钙晶体随时间生长过程原始图

Fig. 3 Raw images of evolution of calcium carbonate crystals in vicinity of sand particles during reaction process

图中展示的反应时刻为 0, 150, 420 以及 1400 min。笔者并未选取相同的时间间隔, 原因在于选用的几个时刻较明显展示了碳酸钙在砂颗粒表面及附近的渐进生长过程。如图 4 所示, 碳酸钙的生长过程随生长量不同可分为 3 个阶段。在反应初始阶段碳酸钙沉淀在颗粒表面, 并主要集中在管道中间位置 (150 min); 随着反应时间的增加, 颗粒间出现碳酸钙晶体 (420 min), 形成颗粒间胶结, 碳酸钙的生长范围由中间向两侧扩大; 反应时间进一步增加, 碳酸钙不仅

生长在相邻砂颗粒间甚至将砂颗粒包裹形成碳酸钙-砂粒集合体。宏观试验表明碳酸钙含量为 5% 的砂柱无侧限强度即可达到 2 MPa 以上<sup>[41]</sup>, 强度较高的原因在于大量碳酸钙形成了颗粒间胶结对应于图 4 中 420 min 时的生长形态。碳酸钙的渐进生长方式也可用来解释微生物矿化防渗过程中的自适应注浆现象<sup>[42-43]</sup>, 反应液和细菌在孔隙或裂缝隙中混合生成碳酸钙, 随注浆时间增加胶结范围不断扩大直至将整个渗流通道堵塞。管道中微观尺度下碳酸钙的生长行为能够较好的解释一些宏观试验现象说明微观与宏观尺度研究具有较好的一致性。

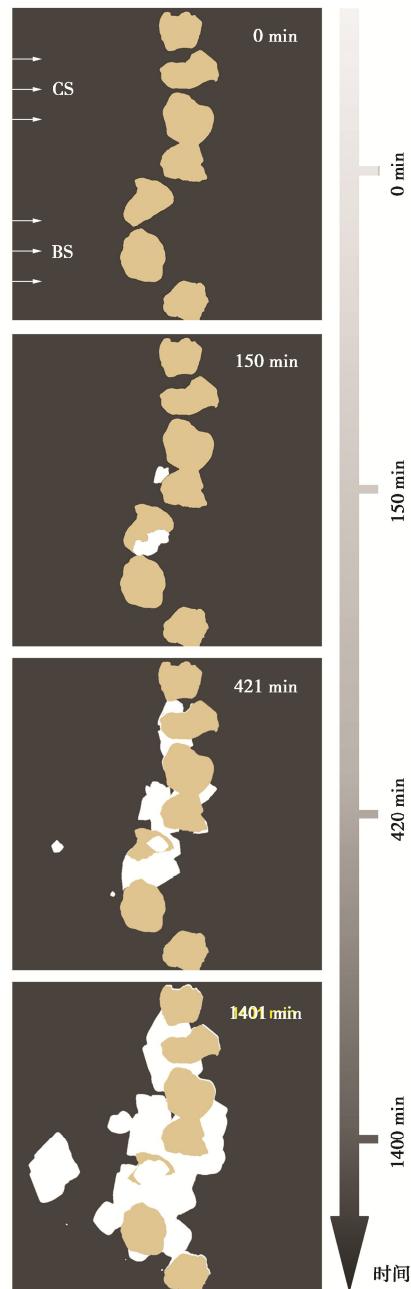


图 4 颗粒间碳酸钙晶体随时间生长过程伪彩图

Fig. 4 Pseudo-color images of evolution of calcium carbonate crystals in vicinity of sand particles during reaction process

### 3.2 碳酸钙单晶生长

碳酸钙不仅沉积在砂颗粒表面, 在管道中其他位置亦有生成。在砂颗粒外的管道其他位置, 由于受空间约束较小及晶体生长过程中的 Ostwald Ripening 机制, 管道其他位置处生长的碳酸钙以单个、不规则菱形的晶体存在。管道中单个碳酸钙晶体共 4 个。图 5 为管道中不同位置处单个碳酸钙晶体随时间生长的过程图。单个晶体存在相同的生长规律即首先缓慢生长, 随后快速生长, 最后生长逐渐变慢。图中晶体尺寸最大约为  $245 \mu\text{m}$ , 小于管道宽度。可以认为在平行于图 5 子图的平面内上下管壁对碳酸钙的生长影响较小, 换言之在没有几何限制的空间中(即概念化模型中的大孔隙)易生成单个碳酸钙。碳酸钙单晶并非都能生长成较大的晶体(本研究中为  $0.041 \text{ mm}^2$ ), 如图 5 及其子图所示, 晶体 II 和 III 在  $1000 \text{ min}$  左右基本上大小不再发生变化, 而晶体 I 和晶体 IV 的生长曲线几乎重合, 并在  $1400 \text{ min}$  时尺寸均大于  $0.04 \text{ mm}^2$ 。进一步比较晶体 II、III 和晶体 I、IV, 发现前两者形状更规则接近菱形, 而后两者较为不规则、晶面起伏不平, 存在较多突出状结构, 可能说明粗糙晶面更有利于单晶生长。虽然晶体 II、III 相对其他晶体尺寸较小但仍大于  $0.01 \text{ mm}^2$ , 大于粒径为  $60 \mu\text{m}$  的砂粒。

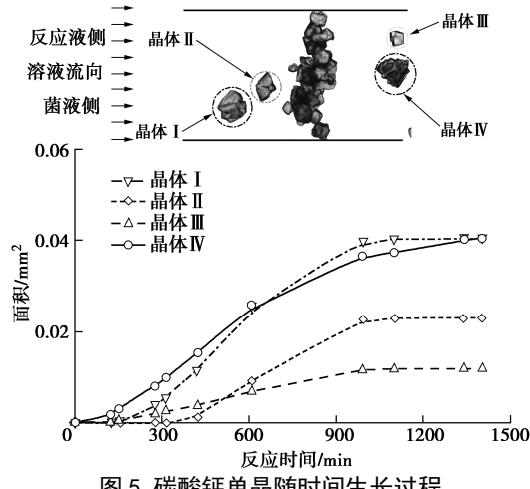


图 5 碳酸钙单晶随时间生长过程

Fig. 5 Evolution of single calcium carbonate crystal

### 3.3 碳酸钙单晶生长速率

图 6 显示了碳酸钙单晶生长速率随时间变化图, 为便于比较将某一时刻的碳酸钙面积等效为圆, 并以等效圆的半径变化率为等效生长速率。Woehl 等<sup>[44]</sup>曾在纳米颗粒的成核和生长中采用等效半径比较不同颗粒的生长行为, 本文借鉴了这种处理方法。由图可知碳酸钙生长速率并不稳定但均在晶体出现后急剧增长。按照经典晶体生长理论, 溶液中先出现晶核, 溶液中的离子克服能量壁垒扩散至晶面扭折、台阶和缺陷处不断堆积, 宏观上表现为晶体尺寸不断扩大。需

要说明的是, 晶核的尺寸较小, 如 Pouget 等<sup>[45]</sup>认为碳酸钙晶核尺寸小于  $500 \text{ nm}$ 。光学显微镜无法捕捉到碳酸钙晶核, 因而显微镜观测到的碳酸钙为已成核碳酸钙晶体。

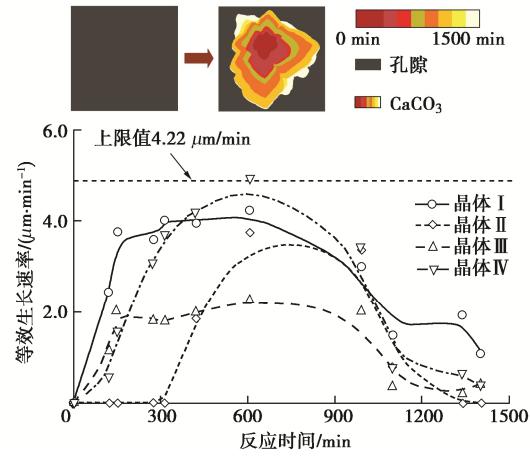


图 6 不同时刻下碳酸钙单晶生长速率

Fig. 6 Growth rates of single crystal versus time

溶液流动方向对晶体生长也有一定的影响, 主要表现为相同的反应时间, 碳酸钙单晶的迎水面较背水面长得更多。以晶体 IV 为例(图 6 中彩图), 溶液流动方向由下至上, 反应时间相同时该晶体下部新增的区域大于其上部。原因可能在于与垂直水流方向的晶面作用的离子除扩散能外还具备一定动能, 自由能更大, 局部浓度更高。

### 3.4 颗粒间碳酸钙生长及其生长速率

图 7 显示了颗粒间碳酸钙随时间的生长过程图。砂颗粒间碳酸钙与大孔隙中纯溶液环境下碳酸钙单晶的生长规律有一定差异。如图 7 所示, 砂颗粒间碳酸钙在溶液注入前期和中期生长量均较大, 后期生长较缓慢。

砂颗粒间的碳酸钙在形貌上与管道中碳酸钙存在明显不同, 砂颗粒间碳酸钙类似胶状聚合体, 形状较难区分, 而管道中碳酸钙为不规则多面体单晶, 说明砂颗粒的存在对碳酸钙的宏观形态具有一定的调控作用, 一方面由于砂颗粒在空间上的限制, 碳酸钙无法自由生长(对比纯溶液环境下), 另一方面砂颗粒提供了结晶面导致晶体沿砂颗粒表面生长, 出现包裹、覆盖砂颗粒的现象(图 7 中子图)。若将砂颗粒间碳酸钙作为整体来研究, 颗粒间碳酸钙生长量并未因砂颗粒的存在而受到限制。反应  $1100 \text{ min}$  左右, 颗粒间碳酸钙的面积开始超过砂颗粒面积, 并且碳酸钙生长并无停止的趋势。如图 8 所示, 反应结束时颗粒间碳酸钙等效生长速率仍可达到  $3.2 \mu\text{m}/\text{min}$ 。此外, 若将砂颗粒区域均分为反应液侧和细菌侧两部分, 细菌液侧生成的碳酸钙量大于反应液侧。而反应液侧砂颗粒面积

与细菌侧几乎相同, 分别为 0.059 和 0.057 mm<sup>2</sup>。根据不同位置处碳酸钙单晶生长量差异较小的现象, 推测导致生成的碳酸钙量存在差异的原因可能在于两侧流场不同。

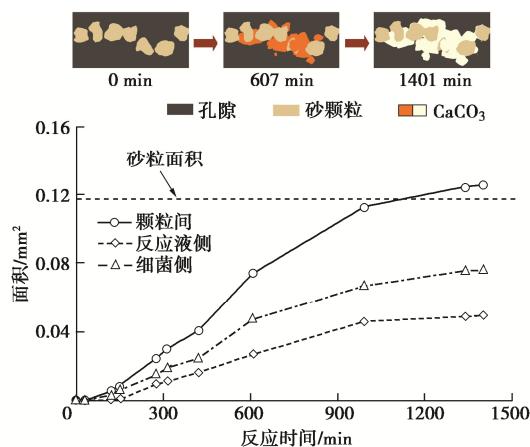


图 7 颗粒间碳酸钙生长过程

Fig. 7 Growth processes of interparticle calcium carbonate

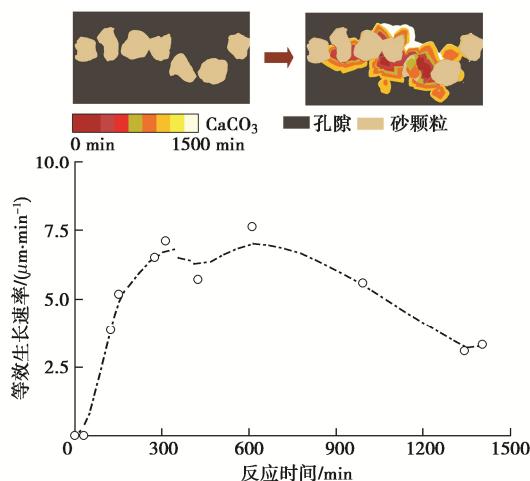


图 8 颗粒间碳酸钙生长速率

Fig. 8 Growth rates of interparticle calcium carbonate

## 4 讨 论

碳酸钙的沉淀速率是微生物矿化模拟中的重要变量, 对于宏观和现场试验中加固程度评估加固时长确定等方面也是重要的考虑因素。目前在有关微生物矿化沉积的模拟中碳酸钙的生长速率通常参考化学反应中晶体的生长速率<sup>[39, 46-48]</sup>公式如下所示:

$$r_{\text{CaCO}_3} = kA_c(\Omega - 1)^n \quad (1)$$

式中,  $r_{\text{CaCO}_3}$ ,  $k$ ,  $A_c$ ,  $\Omega$  和  $n$  分别为碳酸钙的生长速率, 反应常数、晶体表面积、碳酸钙过饱和指数和反应阶次。过饱和指数<sup>[49]</sup>如下式所示:

$$\Omega = [\gamma_{\text{Ca}^{2+}} c(\text{Ca}^{2+}) \gamma_{\text{CO}_3^{2-}} c(\text{CO}_3^{2-})] / K_{\text{sp}} \quad (2)$$

式中,  $\gamma_{\text{Ca}^{2+}}$ ,  $\gamma_{\text{CO}_3^{2-}}$ ,  $c(\text{Ca}^{2+})$ ,  $c(\text{CO}_3^{2-})$  和  $K_{\text{sp}}$  分别钙

离子、碳酸根离子活化系数, 钙离子、碳酸根离子浓度及平衡常数。活化系数与溶液的离子强度相关, 在 0.5 mol/L 的氯离子溶液中钙离子和碳酸根离子活化系数上限值分别为 0.25 和 0.15<sup>[47]</sup>。 $k$  可取  $1.5 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ <sup>[50]</sup>。 $K_{\text{sp}}$  与生成的碳酸钙晶型相关。在微生物矿化过程中方解石和球霰石是最常见的产物, 球霰石较不稳定容易发生相变转变为方解石, 在化学反应过程中碳酸钙过饱和度过高也容易生成球霰石<sup>[51]</sup>。鉴于本研究中生成的碳酸钙晶体均为不规则多面体, 形貌上与球霰石相差较大, 因而认为生成的碳酸钙晶体为方解石,  $K_{\text{sp}}$  可取  $10^{-8.48}$ <sup>[52]</sup>。碳酸根离子的浓度和尿素水解速率有关, 由于本研究中菌液脲酶活性较尿素浓度低, 尿素处于过量状态, 碳酸根离子的浓度主要由脲酶活性控制, 考虑到碳酸根受质子和氢氧根的影响, 其实际浓度小于脲酶每分钟水解的尿素浓度, 碳酸根浓度的上限值  $c(\text{CO}_3^{2-})_{\text{max}} \leq 1.42 \text{ mM}$ 。在方解石沉淀中通常采用一阶动力学方程描述碳酸钙生长  $n = 1$ 。碳酸钙在管道空间半径方向生长速率与平面成正比, 由此可算出碳酸钙的生长速率为  $21.6 \mu\text{m}/\text{min}$ , 远大于本试验观测到的结果 ( $4.22 \mu\text{m}/\text{min}$ ), 说明常规的以过饱和参数为基础的碳酸钙动力学计算方法高估了碳酸钙的生长速率, 实际模拟时需要进行适当折减。

对比颗粒间碳酸钙与碳酸钙单晶等效生长速率可知, 本研究计算得到的颗粒间碳酸钙生长速率约为碳酸钙单晶的 1.8 倍。究其原因, 笔者认为并非由于砂颗粒促进碳酸钙生长而在于颗粒间碳酸钙生长具有一定取向性<sup>[36]</sup>。大孔隙(管道)中碳酸钙除沉积外可向其他面外自由生长, 而颗粒间存在几何限制, 碳酸钙只能沿特定方向生长(如狭长孔隙中)。在三维空间中碳酸钙在沉积面和垂直沉积面方向均有生长, 若生长速率一定, 垂直沉积面方向生长受限制, 那么沉积面上观测到的面积将大于垂直沉积方向不受限制时的面积, 从而出现“观测”生长速率的增大。

## 5 结 论

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, 对微生物矿化的时空演化过程进行了研究, 得到的结论如下:

(1) 碳酸钙存在单晶和多晶聚合体两种形式; 自由溶液中碳酸钙以单晶的形式生长, 而在砂颗粒构成的小孔隙中碳酸钙以聚合体的形式渐进生长。砂颗粒间碳酸钙随含量不同存在 3 个不同的生长状态。

(2) 微生物矿化过程中碳酸钙晶体具有先快速生长后缓慢生长的生长规律, 碳酸钙单晶不会无限长大,

然而碳酸钙聚合体在本试验时间尺度内(23 h)可持续生长, 生长范围不断扩大。

(3) 碳酸钙生成量受流速、孔隙大小、孔隙几何结构影响出现空间分布上的不均匀。对于碳酸钙单晶迎水面有利于其生长。

(4) 碳酸钙最大生长速率约为4.22 μm/min, 运用经典碳酸钙生长动力学模拟微生物矿化沉积时易高估碳酸钙的生长速率, 实际应用时需要进行相应的折减。

## 参考文献:

- [1] SIGEL A, SIGEL H, SIGEL RKO. Biomineralization: From Nature to Application[M]. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2008.
- [2] TANG C-S, YIN L-Y, JIANG N-J, et al. Factors affecting the performance of microbial-induced carbonate precipitation (MICP) treated soil: a review[J]. Environmental Earth Sciences, 2020, **79**(5): 24.
- [3] JROUNDI F, SCHIRO M, RUIZ-AGUDO E, et al. Protection and consolidation of stone heritage by self-inoculation with indigenous carbonatogenic bacterial communities[J]. Nature Communications, 2017, **8**(1): 279.
- [4] QIAN C X, REN L F, XUE B, et al. Bio-mineralization on cement-based materials consuming CO<sub>2</sub> from atmosphere[J]. Construction and Building Materials, 2016, **106**: 126–132.
- [5] 谢约翰, 唐朝生, 尹黎阳, 等. 纤维加筋微生物固化砂土的力学特性[J]. 岩土工程学报, 2019, **41**(4): 675–682. (XIE Yue-han, TANG Chao-sheng, YIN Li-yang, et al. Mechanical behavior of microbial-induced calcite precipitation (MICP)-treated soil with fiber reinforcement[J]. Chinese Journal of Geotechnical Engineering, 2019, **41**(4): 675–682. (in Chinese))
- [6] 方祥位, 申春妮, 楚 剑, 等. 微生物沉积碳酸钙固化珊瑚砂的试验研究[J]. 岩土力学, 2015, **36**(10): 2773–2779. (FANG Xiang-wei, SHEN Chun-ni, CHU Jian, et al. An experimental study of coral sand enhanced through microbially-induced precipitation of calcium carbonate[J]. Rock and Soil Mechanics, 2015, **36**(10): 2773–2779. (in Chinese))
- [7] ACHAL V, PAN X, LEE D J, et al. Remediation of Cr(VI) from chromium slag by biocementation[J]. Chemosphere, 2013, **93**(7): 1352–1358.
- [8] LI M, CHENG X, GUO H, et al. Biomineralization of carbonate by terrabacter tumescens for heavy metal removal and biogrouting applications[J]. Journal of Environmental Engineering, 2016, **142**(9): C4015005.
- [9] 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.
- [10] HARRIS D, UMMADI J G, THURBER A R, et al. Real-time monitoring of calcification process by *Sporosarcina pasteurii* biofilm[J]. The Analyst, 2016, **141**(10): 2887–2895.
- [11] ZAMBARE N, LAUCHNOR E G, GERLACH R. Controlling the distribution of microbially precipitated calcium carbonate in radial flow environments[J]. Environmental Science & Technology, 2019, **53**(10): 5916–5925.
- [12] WANG Y, SOGA K, DEJONG J T, et al. Microscale visualization of microbial-induced calcium carbonate precipitation processes[J]. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2019, **145**(9): 04019045.
- [13] XIAO Y, CHEN H, STUEDLEIN A W, et al. Restraint of particle breakage by biotreatment method[J]. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2020, **146**(11): 04020123.
- [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] CHU J, IVANOV V, STABNIKOV V, et al. Microbial method for construction of an aquaculture pond in sand[J]. Géotechnique, 2013, **63**(10): 871–875.
- [16] 李 贤, 汪时机, 何丙辉, 等. 土体适用micp技术的渗透特性条件研究[J]. 岩土力学, 2019, **40**(8): 2956–2964, 2974. (LI Xian, WANG Shi-ji, HE Bing-hui, et al. Permeability condition of soil suitable for MICP method[J]. Rock and Soil Mechanics, 2020, **40**(8): 2956–2964, 2974. (in Chinese))
- [17] 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.
- [18] 李 驰, 王 硕, 王燕星, 等. 沙漠微生物矿化覆膜及其稳定性的现场试验研究[J]. 岩土力学, 2019, **40**(4): 1291–1298. (LI Chi, WANG Shuo, WANG Yan-xing, et al. Field experimental study on stability of bio-mineralization crust in the desert[J]. Rock and Soil Mechanics, 2019, **40**(4): 1291–1298. (in Chinese))

- [19] 谈叶飞, 郭张军, 陈鸿杰, 等. 微生物追踪固结技术在堤防防渗中的应用[J]. 河海大学学报(自然科学版), 2018, 46(6): 521–526. (TAN Ye-fei, GUO Zhang-jun, CHEN Hong-jie, et al. Study on application of microbial tracing consolidation technology in the seepage prevention of earth bank[J]. Journal of Hohai University (Natural Sciences), 2018, 46(6): 521–526. (in Chinese))
- [20] 刘汉龙, 马国梁, 肖杨, 等. 微生物加固岛礁地基现场试验研究[J]. 地基处理, 2019, 1(1): 26–31. (LIU Han-long, MA Guo-liang, XIAO Yang, et al. In situ experimental research on calcareous foundation stabilization using MICP technique on the reclaimed coral reef islands[J]. Chinese Ground Improvement, 2019, 1(1): 26–31. (in Chinese))
- [21] 彭劼, 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))
- [22] 欧孝夺, 莫鹏, 江杰, 等. 生石灰与微生物共同固化过湿性铝尾黏土试验研究[J]. 岩土工程学报, 2020, 42(4): 624–631. (OU Xiao-duo, MO Peng, JIANG jie, et al. Experimental study on solidification of bauxite tailing clay with quicklime and microorganism[J]. Chinese Journal of Geotechnical Engineering, 2020, 42(4): 624–631. (in Chinese))
- [23] 桂跃, 吴承坤, 刘颖伸, 等. 利用微生物技术改良泥炭土工程性质试验研究[J]. 岩土工程学报, 2020, 42(2): 269–278. (GUI Yue, WU Cheng-kun, LIU Ying-shen, et al. Improving engineering properties of peaty soil by biogeotechnology[J]. Chinese Journal of Geotechnical Engineering, 2020, 42(2): 269–278. (in Chinese))
- [24] 黄涛, 方祥位, 张伟, 等. 活性氧化镁-微生物固化黄土试验研究[J]. 岩土力学, 2020, 41(10): 3300–3306, 3316. (HUANG Tao, FANG Xiang-wei, ZHANG Wei, et al. Study of effect of chemical treatment on strength of bio-cemented sand[J]. Rock and Soil Mechanics, 2020, 41(10): 3300–3306, 3316. (in Chinese))
- [25] 马国梁, 何想, 路桦铭, 等. 高岭土微粒固载成核微生物固化粗砂强度[J]. 岩土工程学报, 2020, 43(2): 290–299. (MA Guo-liang, HE Xiang, LU Hua-ming, et al. Strength of biocemented coarse sand with kaolin micro-particle improved nucleation[J]. Chinese Journal of Geotechnical Engineering, 2020, 43(2): 290–299. (in Chinese))
- [26] 刘汉龙, 肖鹏, 肖杨, 等. MICP 胶结钙质砂动力特性试验研究[J]. 岩土工程学报, 2018, 40(1): 38–45. (LIU Han-long, XIAO Peng, XIAO Yang, et al. Dynamic behaviors of MICP-treated calcareous sand in cyclic tests[J]. Chinese Journal of Geotechnical Engineering, 2018, 40(1): 38–45. (in Chinese))
- [27] 吴敏, 高玉峰, 何稼, 等. 大豆脲酶诱导碳酸钙沉积与黄原胶联合防风固沙室内试验研究[J]. 岩土工程学报, 2020, 42(10): 1914–1921. (WU Min, GAO Yu-feng, HE Jia, et al. Laboratory study on use of soybean urease-induced calcium carbonate precipitation with xanthan gum for stabilization of desert sand against wind erosion[J]. Chinese Journal of Geotechnical Engineering, 2020, 42(10): 1914–1921. (in Chinese))
- [28] 刘璐, 沈扬, 刘汉龙, 等. 微生物胶结在防治堤坝破坏中的应用研究[J]. 岩土力学, 2016, 37(12): 3410–3416. (LIU Lu, SHEN Yang, LIU Han-long, et al. Study of effect of chemical treatment on strength of bio-cemented sand[J]. Rock and Soil Mechanics, 2016, 12(12): 3410–3416. (in Chinese))
- [29] 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.
- [30] XIAO Y, STUEDLEIN AW, PAN Z, et al. Toe bearing capacity of precast concrete piles through biogrouting improvement[J]. Journal of Geotechnical and Geo-environmental Engineering, 2020, 146(12): 06020026.
- [31] XIAO P, LIU H L, STUEDLEIN A W, et al. Effect of relative density and biocementation on cyclic response of calcareous sand[J]. Canadian Geotechnical Journal, 2019, 56(12): 1849–1862.
- [32] XIAO Y, ZHAO C, SUN Y, et al. Compression behavior of MICP-treated sand with various gradations[J]. Acta Geotechnica, 2021, 16(5): 1391–1400.
- [33] MARZIN T, DESVAGES B, CREPPY A, et al. Using microfluidic set-up to determine the adsorption rate of sporesarcina pasteurii bacteria on sandstone[J]. Transport in Porous Media, 2020, 132(2): 283–297.
- [34] SCHUSZTER G, BRAU F, DE WIT A. Calcium carbonate mineralization in a confined geometry[J]. Environmental Science & Technology Letters, 2016, 3(4): 156–159.
- [35] WANG Y Z, 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]. *Geotechnique*, 2019, **69**(12): 1086 – 1094.
- [36] 何 想, 马国梁, 汪 杨, 等. 基于微流控芯片技术的微生物加固可视化研究[J]. *岩土工程学报*, 2020, **42**(6): 1005-1012. (HE Xiang, MA Guo-liang, WANG Yang, et al. Visualization investigation of bio-cementation process based on microfluidics[J]. *Chinese Journal of Geotechnical Engineering*, 2020, **42**(6): 1005 – 1012. (in Chinese))
- [37] HU R, WAN J M, KIM Y, et al. Wettability impact on supercritical co<sub>2</sub> capillary trapping: Pore-scale visualization and quantification[J]. *Water Resources Research*, 2017, **53**(8): 6377 – 6394.
- [38] FANIZZA M F, YOON H, ZHANG C, et al. Pore-scale evaluation of uranyl phosphate precipitation in a model groundwater system[J]. *Water Resources Research*, 2013, **49**(2): 874 – 890.
- [39] KIM D H, MAHABADI N, JANG J, et al. Assessing the kinetics and pore-scale characteristics of biological calcium carbonate precipitation in porous media using a microfluidic chip experiment[J]. *Water Resources Research*, 2020, **56**(2): e2019WR025420.
- [40] TAYLOR H F, O'SULLIVAN C, SIM W W. Geometric and hydraulic void constrictions in granular media[J]. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 2016, **142**(11): 04016057.
- [41] CHENG L, CORD-RUWISCH R, SHAHIN M A. Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation[J]. *Canadian Geotechnical Journal*, 2013, **50**(1): 81 – 90.
- [42] GAO Y F, TANG X Y, CHU J, et al. Microbially induced calcite precipitation for seepage control in sandy soil[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2019, **36**(4): 366 – 375.
- [43] BLAUW M, LAMBERT J, LATIL M N. Biosealing: A method for in situ sealing of leakages[C]// International Symposium on Ground Improvement Technologies and Case Histories (ISGI09), 2009, Singapore.
- [44] WOEHL T J, EVANS J E, ARSLAN I, et al. Direct in situ determination of the mechanisms controlling nanoparticle nucleation and growth[J]. *ACS Nano*, 2012, **6**(10): 8599 – 8610.
- [45] POUGET E M, BOMANS P H H, GOOS J A C M, et al. The initial stages of template-controlled CaCO<sub>3</sub> formation revealed by cryo-TEM[J]. *Science*, 2009, **323**(5920): 1455 – 1458.
- [46] DUPRAZ S, PARMENTIER M, MÉNEZ B, et al. Experimental and numerical modeling of bacterially induced ph increase and calcite precipitation in saline aquifers[J]. *Chemical Geology*, 2009, **265**(1/2): 44 – 53.
- [47] EBIGBO A, PHILLIPS A, GERLACH R, et al. Darcy-scale modeling of microbially induced carbonate mineral precipitation in sand columns[J]. *Water Resources Research*, 2012, **48**(7): 17.
- [48] QIN C Z, HASSANIZADEH S M, EBIGBO A. Pore-scale network modeling of microbially induced calcium carbonate precipitation: insight into scale dependence of biogeochemical reaction rates[J]. *Water Resources Research*, 2016, **52**(11): 8969 – 8985.
- [49] 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.
- [50] ZHONG S J, MUCCI A. Calcite and aragonite precipitation from seawater solutions of various salinities - precipitation rates and overgrowth compositions[J]. *Chemical Geology*, 1989, **78**(3/4): 283 – 299.
- [51] ZHANG C Y, DEHOFF K, HESS N, et al. Pore-scale study of transverse mixing induced CaCO<sub>3</sub> precipitation and permeability reduction in a model subsurface sedimentary system[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, **44**(20): 7833 – 7838.
- [52] NIEL PLUMMER L, BUSENBERG E. The solubilities of calcite, aragonite and vaterite in CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O solutions between 0 and 90°C, and an evaluation of the aqueous model for the system CaCO<sub>3</sub>-CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1982, **46**(6): 1011 – 1040.