

陈筠,施鹏超,白文胜,等.微生物矿化作用对红黏土的影响研究[J].中国岩溶,2019,38(4):612-618.

DOI:10.11932/karst20190421

微生物矿化作用对红黏土的影响研究

陈筠¹,施鹏超²,白文胜³,郭忠虎⁴,杨恒⁴

(1. 贵州理工学院, 贵阳 550025; 2. 江西省交通科学研究院, 南昌 330200;
3. 贵州省建筑设计研究院有限责任公司, 贵阳 550000; 4. 贵州大学, 贵阳 550025)

摘要:引入微生物矿化技术,利用其中巴氏芽孢杆菌的代谢产物对红黏土进行改性研究。对微生物矿化作用的红黏土试样开展常规物理指标试验,分析试样含水率、密度、比重、孔隙比和颗粒粒径的变化。利用三轴固结不排水剪切试验,测定土体的抗剪强度指标,并结合扫描电镜分析微生物矿化下红黏土的微观结构特征。结果表明:巴氏芽孢杆菌诱导碳酸钙沉淀胶结充填红黏土空隙作用明显,土样经过恒温养护10 d时的作用效果最佳,红黏土的物理性质朝着工程性质好的方向发展、抗剪强度有所增强。从SEM图像分析,红黏土试样中生成碳酸钙晶体填充胶结于土体孔隙,加强了土壤颗粒间的连接。

关键词:微生物矿化;物理性质;抗剪强度;红黏土

中图分类号:TU446 文献标识码:A

文章编号:1001-4810(2019)04-0612-07 开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

土壤中存在这大量的微生物群体^[1-3],应将土体看作一个有生命存在的生态系统,而并非只是简单的建筑材料。最新研究表明,一些微生物(如巴氏芽孢杆菌),为其提供合适的条件,可在几天内生成数量可观的微生物成因碳酸钙沉淀,其成分和天然石材类似,同时可作为一种粘结剂,将松散的土体颗粒粘合成坚硬的块体^[4-8]。巴氏芽孢杆菌作为自然界广泛存在的细菌,在土体中同样赋存。

本研究将巴氏芽孢杆菌菌液和反应液人为地掺入到红黏土中,重塑试样,验证其微生物矿化作用在红黏土中的效果。

1 试验材料

1.1 微生物来源

试验用的巴氏芽孢杆菌(*Sporosarcina pasteurii*, ATCC-11859),购买自美国菌种保藏中心(图1)。购买的巴士芽孢杆菌菌种为冻干粉,在进行培养前用推荐的NH₄-YE液体培养基进行活化处理,培养基成分见表1。活化操作时,在无菌操作台上将20 mL NH₄-YE液体培养基注入到盛放菌种冻干粉的安培瓶中,摇动瓶体,让冻干粉充分溶解在培养液中,然后用无菌吸管吸取溶解后的菌液,按2%的比例,接种到装有300 mL的NH₄-YE液体培养基的锥形瓶中,将接种好的培养液放入水浴震荡培养箱中,28℃、180 r·min⁻¹,培养24~48 h,培养过程中培养液出

资助项目:贵州省地质灾害监测预警与决策支持平台建设(Z113278);碱污染红黏土宏观力学特性与微观结构关系的研究(黔科合基础[2019]1142号);贵州省水利厅科技专项经费项目资助(KT201804);江西省交通运输厅科技项目(2016H0025)

第一作者简介:陈筠(1970—),女,硕士,副教授,主要从事岩土工程勘察研究及教学工作。E-mail:409272271@qq.com。

通信作者:施鹏超(1993—),男,硕士,主要从事岩土工程性质与应用的方面研究。E-mail:851689566@qq.com。

收稿日期:2019-04-30

现浑浊现象,说明活化成功(图2)。活化成功的菌液按上述比例可再次接种到NH₄-YE液体培养液中,多次重复,以此得到足够数量的菌液。

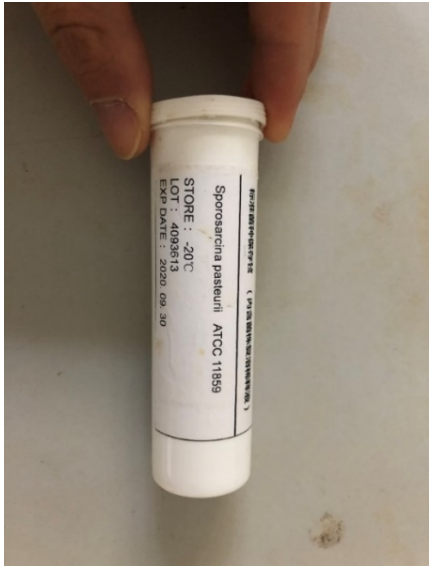


图1 巴氏芽孢杆菌菌种
Fig. 1 *Bacillus bacillus*

表1 NH₄-YE培养基成分
Table 1 Composition of NH₄-YE medium

培养基成分	酵母提取物/g	(NH ₄) ₂ SO ₄ /g	0.13 M Tris buffer(pH=9.0)/L
含量	20.0	10.0	1.0



图2 活化成功的巴氏芽孢杆菌菌液
Fig. 2 Successfully activated *Bacillus bacillus*

1.2 红黏土来源

试验用天然红黏土来自贵阳花溪互通工程某一基坑土体,下伏基岩为三叠系安顺组一段(T₁a₁)薄至中厚层白云岩,取土深度为5 m,其主要物理性质指标见表2。

表2 红黏土的主要性能指标
Table 2 Main performance indicators of red clay

土粒比重 G _s	塑限 (w _p)	液限 (w _L)	塑性指数 (I _p)	天然密度/g·cm ⁻³	天然含水率(w)/%
2.36	55.71%	98.57%	42.86	1.6214	66.39

2 试验研究与分析

2.1 微生物矿化反应液的制备

以巴氏芽孢杆菌诱导碳酸钙沉淀胶结土体颗粒,其作用机理是通过该菌种新陈代谢过程中生成的脲酶水解尿素产生的氨气和二氧化碳,在pH>7的碱性环境中转化成铵根离子和碳酸氢根离子,碳酸氢根离子在有足够的钙离子存在的情况下反应生成碳酸钙^[9-11]。因此为保证这一过程的顺利进行,需制备配置1 mol·L⁻¹的CaCl₂和尿素混合反应液,即每升溶液中含1 mol的CaCl₂和1 mol的CO(NH₂)₂^[12]。

2.2 红黏土重塑试样制备

将红黏土试样重塑处理,在重塑过程中按1:1的体积比例掺入巴氏芽孢杆菌菌液和反应液,将菌液和混合反应液加入风干、过筛的土样中,配置66%含水率的重塑红黏土试样^[13]作为B组,制成制备Φ61.8 mm,高20 mm的标准环刀样和Φ39.1 mm,高80 mm的环刀试样。依照上述方法,同时制备只掺入蒸馏水66%含水率的A组试样作为对照组。将重塑环刀试样和三轴试样密封包裹好放置在恒温水箱中,在28℃的恒温环境下养护1 d、3 d、6 d、10 d、20 d,即设置五个时间梯度,分析微生物矿化作用对红黏土的作用影响。

2.3 密度

将恒温养护后的环刀试样放入真空抽气饱和仪中,抽气饱和和处理,然后利用环刀法测定A、B两组试样的湿密度,试验结果见图3。

由图3可知A组试样的饱和密度并未明显改变,维持1.46~1.48 g·cm⁻³的水平,说明试样在28℃恒温环境下,A组土体的密度并未随着养护时间的改变而发生变化。而在重塑过程中掺入巴氏芽孢杆菌和反应液的B组土体试样,饱和密度较A组相比发生了改变,B组土样经过恒温养护之后,所有时间结点其土体的饱和密度均大于A组,在时间梯度上呈现持续增长的态势,在10 d后基本不变,此时的饱和密度为1.59 g·cm⁻³。

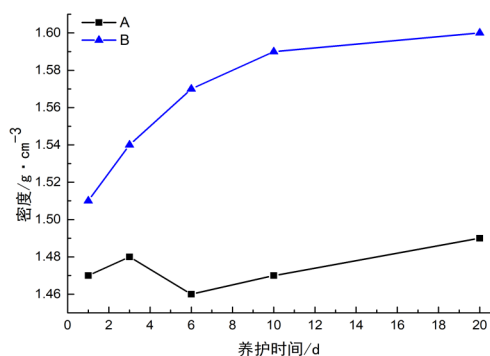


图3 不同养护时间下密度变化

Fig. 3 Density change in different curing times

2.4 含水率

含水率是土体中土体颗粒的质量与土体中水分质量的比值,含水率直接影响土体的力学性质。试验时取15~30 g饱和后的环刀土样,用钢丝锯切削成小块放入已经称重的洁净称量盒中,称量盒加湿土的重量精确到0.01 g。然后放置到105 ℃的烘箱中烘干至恒重(图4)。由图4可知A组试样的饱和含水率并未随着养护时间的变化而发生明显的改变。B组试样的含水率有一定程度的下降,且经过恒温养护10 d后试样的含水率最低,仅为63.3%。

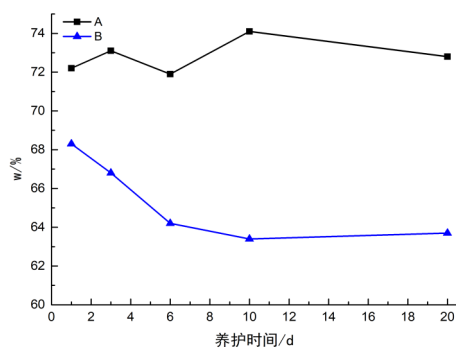


图4 不同养护时间下含水率变化

Fig. 4 Change of water content in different curing times

2.5 比重

试样比重采用比重瓶法测定。需要注意的是,微生物菌液中的有机质会导致土体比重的下降^[14]。为了消除人为添加的有机质对土体比重的影响,先将土样烘干、碾碎、过筛,然后倒入大量的蒸馏水搅拌均匀,使土颗粒处于悬浮状态,然后反复过滤,收集

滤纸上的土颗粒烘干、过筛后用作比重测试的土样,试验结果见图5。

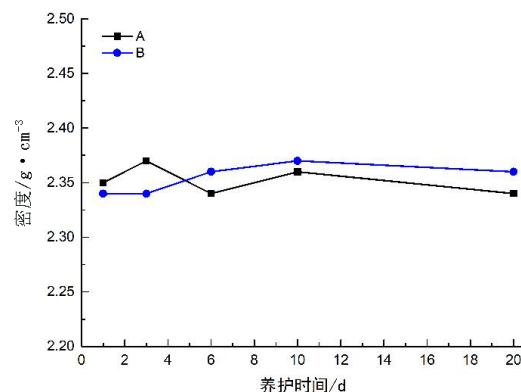


图5 不同养护时间下比重变化

Fig. 5 Change of specific gravity in different curing times

从试验结果可知,A、B两组试样的比重并未发生改变,基本维持在2.35左右。这说明在消除有机质的影响之后,微生物矿化未对土体的比重产生很大的影响。

2.6 孔隙比

孔隙比是反应土体孔隙情况的重要指标,与颗粒的大小和排布方式密切相关^[15-16]。通过土的三项指标换算得到二组试样的孔隙比(图6),由图6可看出B组试样的孔隙比下降,分析认为,经过微生物矿化作用后,微生物新陈代谢中产生的碳酸钙沉淀不断地填充在土体的孔隙中,导致土体地孔隙比下降,到10 d时趋于稳定。

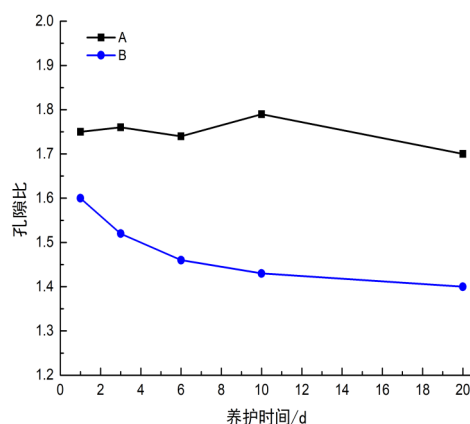


图6 不同养护时间下孔隙比变化

Fig. 6 Change of pore ratio in different curing times

2.7 颗粒粒径

通过分析颗粒的平均粒径和粒度分布,可很好地反映土体颗粒和集聚体的大小分布情况。利用激光粒度分析仪对 B 组试样进行颗粒粒度试验,试验中采用超声波对试验样品进行分散处理,结果见表 3。

经过矿化处理的红黏土试样,随着养护时间的增加黏粒的含量要低于天然土样,而粉砂粒含量却增加较多,到 10 d 时达到最多。这说明随着矿化反应的发生,土体中的小颗粒被胶结成大的团聚体,土体颗粒间的稳定性得到了增强。

表 3 颗粒粒度试验结果
Table 3 Test results of particle size

颗粒组成/mm	<0.005	0.005~0.007 5	0.007 5~0.01	0.01~0.02	0.02~0.025	0.025~0.05	>0.5
天然土样/%	44.47	14.76	10.48	24.29	4.27	1.73	0
B-1/%	43.30	13.60	10.77	26.10	4.49	1.74	0
B-3/%	40.98	11.26	10.44	27.78	6.07	3.47	0
B-6/%	36.31	12.03	11.78	28.42	5.99	5.47	0
B-10/%	37.73	9.91	9.73	29.92	4.26	8.45	0
B-20/%	33.71	10.93	12.57	26.08	5.28	11.43	0

注:粒径小于 0.005 mm 为黏粒,0.005~0.075 mm 为粉粒,0.075~2.0 mm 为砂粒[土的分类标准(GB/T 50145-2007)]。

2.8 三轴压缩试验

抗剪强度指标是工程应用当中最为重要的指标,研究中使用全自动应变式三轴仪进行固结不排

水(CU)剪切试验,设置 50 kPa、100 kPa、200 kPa 三个围压,试验过程中应变的剪切速率为 0.1 mm·min⁻¹,CU 试验的结果见表 4、表 5、表 6。

表 4 A 组试样平均破坏峰值
Table 4 Average damage peak of sample group A

项目		养护时间/d				
		1	3	6	10	20
$\sigma_1-\sigma_3$ /kPa	$\sigma_3=50$ kPa	86.4	84.9	86.8	87.1	87.3
	$\sigma_3=100$ kPa	110.2	111.5	112.6	107.9	112.4
	$\sigma_3=200$ kPa	184.8	186.1	186.6	182.4	183.4

表 5 B 组试样平均破坏峰值
Table 5 Average damage peak of sample group B

项目		养护时间				
		1	3	6	10	20
$\sigma_1-\sigma_3$ /kPa	$\sigma_3=50$ kPa	95.7	108.8	122.1	137.8	132.6
	$\sigma_3=100$ kPa	128.5	142.5	162.3	183.3	173.5
	$\sigma_3=200$ kPa	208.4	230.6	245.2	283.4	282.7

表 6 试样抗剪强度指标
Table 6 Sample shear strength index

养护时间/d		1	3	6	10	20
A 组	C/ kPa	18.92	18.28	19.18	19.27	20.11
	$\varphi/^{\circ}$	14.54	14.80	14.65	14.26	14.22
B 组	C/ kPa	21.00	23.94	29.87	31.21	27.41
	$\varphi/^{\circ}$	15.96	16.95	16.93	19.13	19.68

试验结果显示,在经过巴氏芽孢杆菌的矿化作用后试样的峰值破坏强度和抗剪强度指标均得到了提高,且在 10 d 达到最大,这是因为巴氏芽孢杆菌在红黏土中通过诱矿化作用使体系中的钙离子沉淀生成碳酸钙。

此时土体中孔隙被矿化生成的碳酸钙充填胶结,土体小颗粒相互胶结成大颗粒土体,颗粒间的连接更加稳定,土体强度得到提高。

2.9 SEM 分析

将 A 组恒温养护 6 d 的试样和 B 组恒温养护 3 d、6 d、10 d 的红黏土试样在扫描电镜下观察,分析微生物矿化作用对红黏土微观结构的影响(图 7)。

从图 7a 来看,未经过矿化作用的 A 组试样颗粒间多为片-片结构,土体颗粒孔隙间未见明显充填物质,存在大量开放性孔隙,结构较为松散。而图 7b、图 7c、图 7d 中,在微生物矿化作用下,土体颗粒间明显存在颗粒状充填物,这些充填物分布在土体的大、小孔隙中,而且通过能谱分析,这些充填物的 Ca 元素含量增高(图 8),可推测为巴氏芽孢杆菌通过矿化作用生成的碳酸钙。这些碳酸钙在土体中产生胶结作用,增强了土体内部的稳定性,使土体具备更为良好的力学性质。

3 结 论

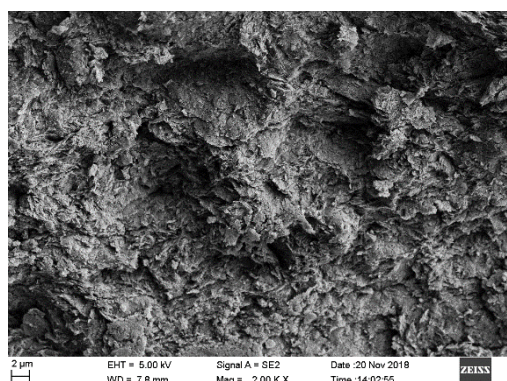
通过上述研究试验表明,巴氏芽孢杆菌诱导碳酸钙沉淀胶结充填红黏土空隙作用明显,土样经过恒温养护 10 d 时的作用效果最佳。

(1)随着矿化反应的进行,红黏土土体的物理性质均朝着工程性质好的方向发展,如:含水率、孔隙比降到最低,土颗粒聚集为粉砂粒;

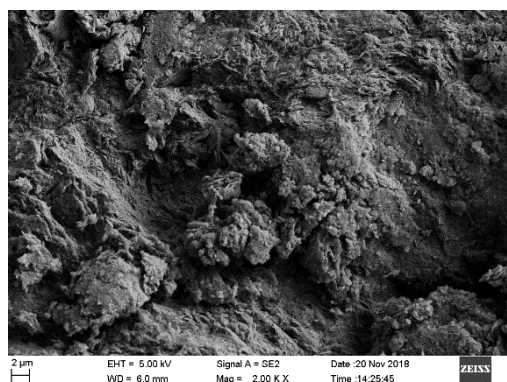
(2)红黏土力学性质也随着矿化作用的进行,破坏峰值强度、抗剪强度均有所提高;

(3)从微观结构分析,由于大量矿化产物(碳酸钙)胶结、充填在土粒颗粒之间,使土体间的孔隙减小,颗粒间连接性增强,形成的大颗粒团聚体能承担更多力的作用,从而佐证了宏观力学性质朝着有利于工程建设的方向发展。这一结论可归因于微生物在土体中起到胶结作用、离子作用、填充作用^[17-20]。

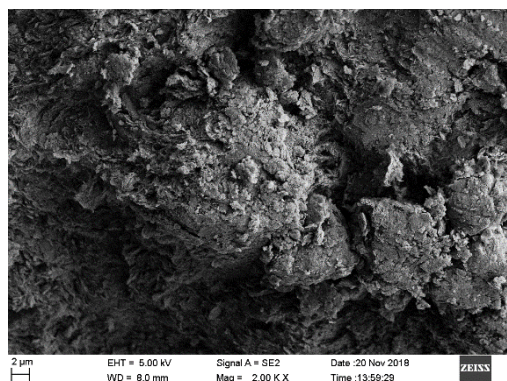
基于微生物在红黏土改良中的积极作用,可将微生物作为一种环境友好型材料用于工程中,这是



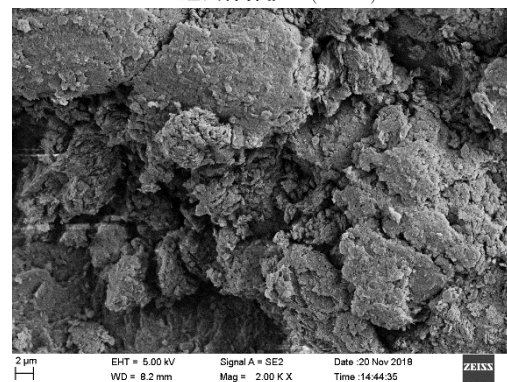
a.A 组试样养护 6d(2000×)



b.B 组试样养护 3d(2000×)



c.B 组试样养护 6d(2000×)



d.B 组试样养护 10d(2000×)

图 7 不同养护时间下孔隙比变化

Fig 7 Change of pore ratio in different curing times

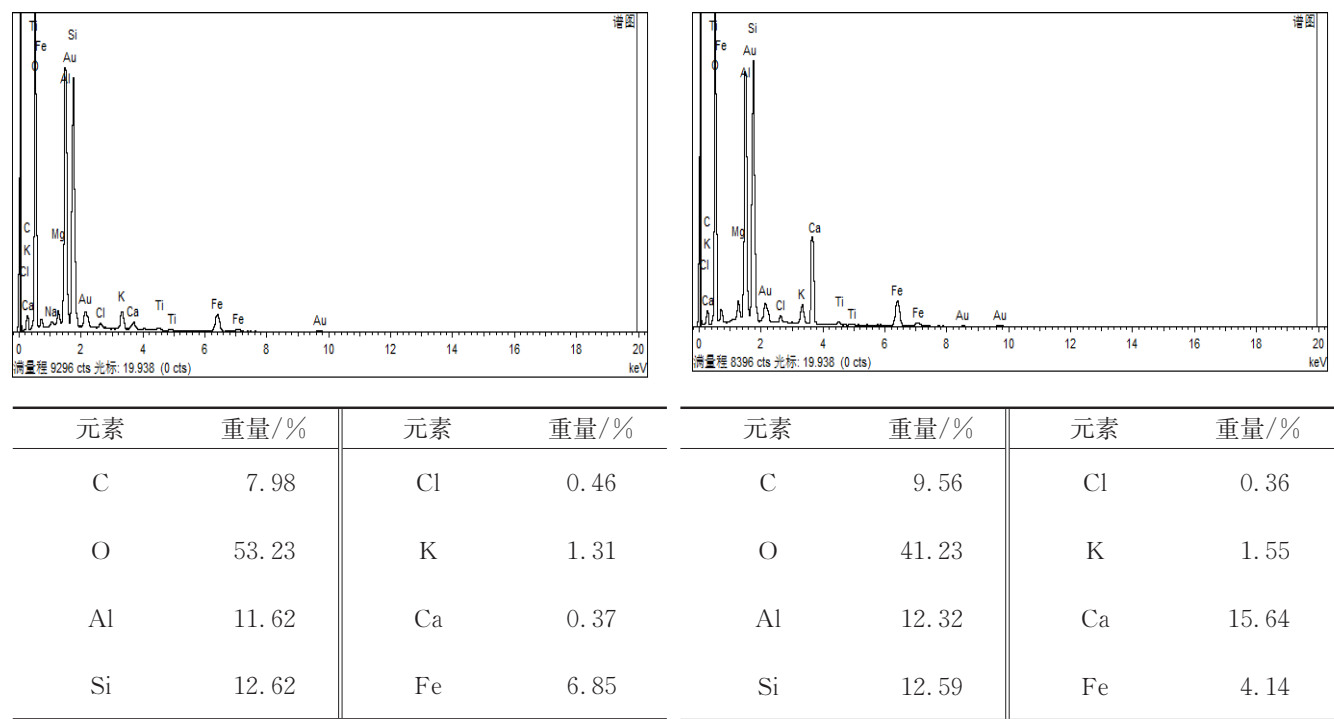


图 8 能谱分析
Fig. 8 Energy spectrum analysis

一种“经济生态”加固、改良红黏土的方法,可很好地促进社会、经济、环境协调发展。但需要注意的是,将巴氏芽孢杆菌诱导碳酸钙沉淀的方法投入工程建设中,还需要对微生物菌种的选择、优化诱导产物的生成条件和微生物矿化过程中所涉及的理论以及如何让微生物和诱导产物准确地填充在土体孔隙中、有效地胶结土体颗粒等方面进行研究^[21-22]。

参考文献

[1] 张双双,靳振江,贾远航,等.岩溶区与非岩溶区3种土地利用方式下土壤细菌群落结构比较[J].中国岩溶,2019,38(2):164-172.

[2] 丁丽君,连宾.碳酸钙微生物风化试验研究[J].中国岩溶,2008,27(3):197-200.

[3] 祁乐,高明,杨来淑,等.土地整理对岩溶区土壤微生物生物量碳、氮及酶活性的影响:以重庆丰都县三坝乡为例[J].中国岩溶,2015,34(1):86-94.

[4] 钱春香,陆旺杰,王瑞兴,等.一种利用碳酸盐矿化菌固化土壤的方法.中国.E02D3/12,200810156941.9.2009-02-1(要核实江苏,CN101368384[P].2009-02-18.)

[5] 荣辉,钱春香.微生物水泥基材料特征[J].科学通报,2012,57(9):770-775.

[6] 崔明娟,郑俊杰,赖汉江.颗粒粒径对微生物固化砂土强度影响的试验研究[J].岩土力学,2016,37(S2):397-402.

[7] MITCHELL J K, SANTAMARINA J C. Biological considerations in geotechnical engineering [J]. Geotech Geoenviron Eng ,2005,131:1222-1233.

[8] Whiffin VS. Microbial CaCO₃ precipitation for the production of biocement [D].Murdoch University,2004.

[9] DEJONG J T, SOGAK, KAVAZANJIAN E, et al. Biogeochemical processes and geotechnical applications: progress, opportunities and challenges [J]. Geotechnique, 2013, 63: 287-301.

[10] RONG hui, QIAN chunxiang. Development of Microbe Cementitious Material in China [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University (Science), 2012, 17(3): 350-355.

[11] Van Paassen L A. Biogrout, Ground Improvement by Microbial Induced Carbonate Precipitation [D]. Delft: Delft University of Technology, 2009.

[12] 周锋. 粉土中微生物灌浆诱导沉积物填充效果的研究 [D], 扬州: 扬州大学, 2016.

[13] 土工试验方法标准[S]. 中华人民共和国水利部. 1999.

[14] 施鹏超,陈筠,王麒,等.细菌对红黏土抗剪强度的影响研究[J/OL].长江科学院院报:1-8[2018-11-12].

[15] 陈筠,王麒,于明圆,等.碱污染红黏土抗剪强度及破裂面微观结构特征研究[J].工程地质学报,2018,26(5):1300-1310.

- [16] 王麒,陈筠,赵鹏,施鹏超,等.碱污染红黏土物理性质及微观结构试验研究[J].地下空间与工程学报,2017,13(6):1483-1492.
- [17] 许朝阳,张莉.微生物改性对粉土强度的影响[J].建筑科学,2009,25(5):45-48.
- [18] 许朝阳,张莉,周健.微生物改性对粉土某些特性的影响[J].土木建筑与环境工程,2009,31(2):80-84.
- [19] 赵茜.微生物诱导碳酸钙沉淀(MICP)固化土壤实验研究[D].北京:中国地质大学(北京),2014.
- [20] Van Paassen L A. Biogrout, Ground Improvement by Microbial Induced Carbonate Precipitation[D]. Delft: Delft University of Technology, 2009.
- [21] MITCHEL J, SANTAMARINA J. Biological considerations in geotechnical engineering [J]. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, ASCE, 2005, 131(10):1222-1233.
- [22] 沈吉云.微生物成因土工材料实验及应用研究[D].北京:清华大学,2009.

Effect of microbial mineralization on red clay

CHEN Jun¹, SHI Pengchao², BAI Wensheng³, WU Zhonghu⁴, YANG Heng⁴

(1. Guizhou Institute of Technology, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. Jiangxi Academy of Transportation Sciences Nanchang, Jiangxi 330200, China; 3. Guizhou Architectural Design & Research Institute Co., Ltd., Guiyang, Guizhou 550000, China; 4. Guizhou University, Guiyang, Guizhou 55025, China)

Abstract The technology of microbial mineralization was applied to the modification of red clay, in which the metabolites of bacillus pasteurii were used. Routine physical index tests were carried out on the red clay samples to analyze the changes of water content, density, specific gravity, porosity ratio and particle size by the modification. The shear strength of soil was determined by triaxial undrained shear tests. The microstructure of red clay was observed by SEM. The results show that the Bacillus pasteurii can induce the precipitation and cementation of calcium carbonate to fill voids of red clay effectively, and the soil sample was the best after 10 days of curing with constant temperature. With the addition of bacteria and the occurrence of microbial mineralization, the physical properties of the red clay changed significantly, and the internal friction angle and cohesion of the sample increased. Analysis of SEM images shows that calcium carbonate crystals were generated in the red clay sample which filled in the pores of the soil and strengthen the connection between soil particles.

Key words microbial mineralization, physical properties, shear strength, red clay

(编辑 张玲)