PIBB 生物化学与生物物理进展
*Progress in Biochemistry and Biophysics*
2020,47(6):467~482
www.pibb.ac.cn

# 巴氏芽孢杆菌矿化作用机理及应用研究进展

裴 迪[1)] 刘志明[1,2)*] 胡碧茹[1)] 吴文健[1)]
([1)] 国防科技大学文理学院，长沙 410073；[2)] 军事科学院防化研究院，北京 102205）

**摘要** 本文介绍了具有诱导碳酸钙矿化功能的巴氏芽孢杆菌及其矿化核心酶脲酶的结构与功能，较为系统地综述了巴氏芽孢杆菌矿化作用的生物机制，简要介绍了国内外多领域关于巴氏芽孢杆菌矿化应用的研究现状及典型应用案例，并探讨了相应微生物矿化技术在特定环境下的应用前景及在未来应用中可能存在的不足之处，相关分析论述对进一步推进微生物矿化技术的应用具有较为重要的意义.

**关键词** 巴氏芽孢杆菌，矿化，脲酶，碳酸钙，MICP
**中图分类号** Q819 **DOI**：10.16476/j.pibb.2020.0012

2018年，全球水泥总产量近40亿吨.硅酸盐水泥（即国外通称的波特兰水泥）的生产过程会消耗大量的能源和资源，并排放大量的灰尘和废气，对生态环境造成严重的影响.因此，亟需开发节能、环保、耐久的绿色水泥材料[1].

生物水泥（biocement）是利用微生物诱导矿化形成矿物的凝胶化，由于其环境友好性等优势已成为国内外多领域的研究热点.其中最被熟知和广泛研究的当属微生物诱导碳酸钙矿化MICP（microbially induced carbonate precipitation）.而在碳酸钙的微生物矿化中，通过脲酶水解尿素从而产生矿化产物的模型是最简单且被研究最为深入的一种，并经常被用于MICP的应用技术中.巴氏芽孢杆菌（*Sporosarcinapasteurii*）凭借其高效的脲酶活性，成为MICP相关研究中最为热门的细菌之一.

早在20世纪90年代初，人们就开展了基于微生物诱导矿化的生物水泥研究.关于巴氏芽孢杆菌矿化作用的早期研究主要集中在矿化产物的材料性能、影响矿化反应及产物的条件、优化应用原材料及降低成本等方面[2-5].随着应用方面研究的深入，人们逐渐发现目前巴氏芽孢杆菌的矿化应用方面存在着一些亟待解决的问题，并开始重视巴氏芽孢杆菌的生物矿化机理及其矿化核心酶——脲酶的分子机理等方面的研究.

巴氏芽孢杆菌的基因组功能解析，能够为其生物矿化机制及分子机理等相关研究提供可靠的依据.直到2014年，巴氏芽孢杆菌的基因组序列才被初步报道[6]，2018~2019年，其基因组序列又得到完善和补充.目前，公开的巴氏芽孢杆菌全基因组测序数据已相对完备，必将极大地推动巴氏芽孢杆菌矿化作用的基础研究和应用拓展.

本论文主要结合巴氏芽孢杆菌MICP的相关分子机理，综述巴氏芽孢杆菌微生物矿化机理研究进展，总结国内外多领域关于巴氏芽孢杆菌矿化应用的研究现状及应用案例，讨论MICP技术在特定环境下的应用前景以及在未来应用中仍需解决的关键技术.

## 1 巴氏芽孢杆菌及其高活性脲酶

### 1.1 巴氏芽孢杆菌简介

巴氏芽孢杆菌属于芽孢杆菌目球菌科芽孢八叠球菌属（也被称为巴氏芽孢八叠球菌），是一种从土壤中分离出的非致病性革兰氏阳性菌[7].

巴氏芽孢杆菌细胞外形呈杆状，长度约为

* 通讯联系人.
Tel:0731-87001815, E-mail: lzm@nudt.edu.cn
收稿日期：2020-01-10，接受日期：2020-03-27

2 ~ 3 μm，具有很强的生存能力，能够在15 ~ 37℃下生长，并能够在缺少营养物质时以芽孢的形式继续存活，其芽孢呈圆形，直径约为0.5 ~ 1.5 μm（图1）. 巴氏芽孢杆菌形成芽孢的特性成为众多学者将其开发为自修复混凝土（水泥）的核心要素之一.

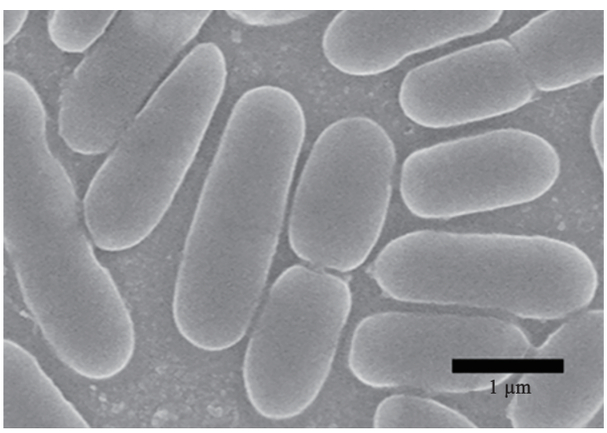



**Fig. 1　Microscopic morphology of *Sporosarcinapasteurii***
**图1　巴氏芽孢杆菌在扫描电子显微镜下的形态[8]**

长久以来，巴氏芽孢杆菌一直被认为是一种兼性厌氧菌[9-11]，直到2012年英国爱丁堡大学的Martin等研究发现，巴氏芽孢杆菌在严格无氧的条件下不能生长，应属于好氧菌种[12-13]. 该研究发现，在缺氧条件下脲酶活性依然存在，但该活性源于已经分泌并存在于细菌中的脲酶而不是在缺氧环境下重新合成的脲酶，而且巴氏芽孢杆菌一旦处于严格无氧环境便不再分泌脲酶[13].

美国菌种保藏中心（ATCC）推荐在实验室培养巴氏芽孢杆菌（菌种编号ATCC 11859）时，最佳培养基包括0.13 mol/L Tris（pH=9）、20 g/L酵母提取物、10 g/L硫酸铵，其中硫酸铵可以替代为尿素[14]. 巴氏芽孢杆菌是一种中度嗜碱菌，上述培养基中Tris的缓冲作用是控制培养过程中pH始终处于巴氏芽孢杆菌的最适pH范围内，而酵母提取物和硫酸铵（或尿素）分别作为细菌生长的主要碳源和氮源[14].

有研究表明，尽管属于实验室常用的微生物碳源（蛋白胨、牛肉膏、酵母提取物、葡萄糖等），葡萄糖不能作为巴氏芽孢杆菌的碳源或为巴氏芽孢杆菌提供能量，这一发现让人不禁猜测巴氏芽孢杆菌是否无法利用葡萄糖[14]，或者巴氏芽孢杆菌是如何利用氧气进行有氧代谢的？这些问题的答案都有待研究揭示.

### 1.2　脲酶及其相关分子机理

#### 1.2.1　脲酶简介

脲酶是巴氏芽孢杆菌具有诱导矿化能力的关键蛋白酶，但也普遍存在于多种细菌、真菌、藻类、植物、动物甚至人体中[15-19]，尤其在原核生物中广泛存在[20]. 脲酶的发现在生物化学发展史上具有里程碑式的意义. 1926年美国科学家James B. Sumner通过结晶法首次发现刀豆脲酶是一种蛋白质[21]，继而认为生物酶的本质就是蛋白质，这项发现解决了人们长久以来对生物酶本质的困惑. James B.Sumner本人也因首次证明了生物酶是蛋白质，获得了1946年诺贝尔化学奖. 此后，以脲酶为研究对象的许多科研成果纷至沓来.

1954年，人们首次纯化的微生物脲酶就是巴氏芽孢杆菌脲酶[22]. 1975年，澳大利亚科学家Nicholas E Dixon首次发现有镍离子存在于刀豆脲酶的微观结构中[23]，这也是人们发现的第一种含金属离子的生物酶，直至目前人们认为所有脲酶都是含镍的酶. 在酶的种类划分上，脲酶属于酰胺基水解酶与磷酸二脂酶类超家族[24]，其催化功能非常专一，底物仅包括尿素及极少数尿素类似物. 尽管有少数研究发现脲酶在某些细菌中位于细胞膜，但大量实验和数据表明，脲酶在大多数细菌及其他生物中是一种位于细胞质的生物酶[25-26].

#### 1.2.2　巴氏芽孢杆菌的脲酶相关分子机理

a. 脲酶的结构

自从脲酶被科学家发现以来，众多学者纷纷投入到其结构、功能、活性与性质等方面的研究[27]. 研究发现，脲酶是一种高分子质量的多聚体含镍酶，其基因以操纵子的结构形式存在于绝大多数物种的染色体DNA上[28-29].

包括巴氏芽孢杆菌在内的大多数物种脲酶都包含了ureA、B、C、D、E、F、G等7个及7个以上的基因. 已经证明巴氏芽孢杆菌的脲酶是典型的三聚体结构[30]，首先由ureA、B、C基因分别编码脲酶的3个亚基（α、β、γ），并由α、β、γ等3个亚基构成αβγ单聚体，3个单聚体再复合形成三聚体结构[31-32]. 巴氏芽孢杆菌脲酶（αβγ）$_3$三聚体结构如图2所示. 另外，ureD、E、F、G则分别编码了降解尿素所必需的几种辅助蛋白质.

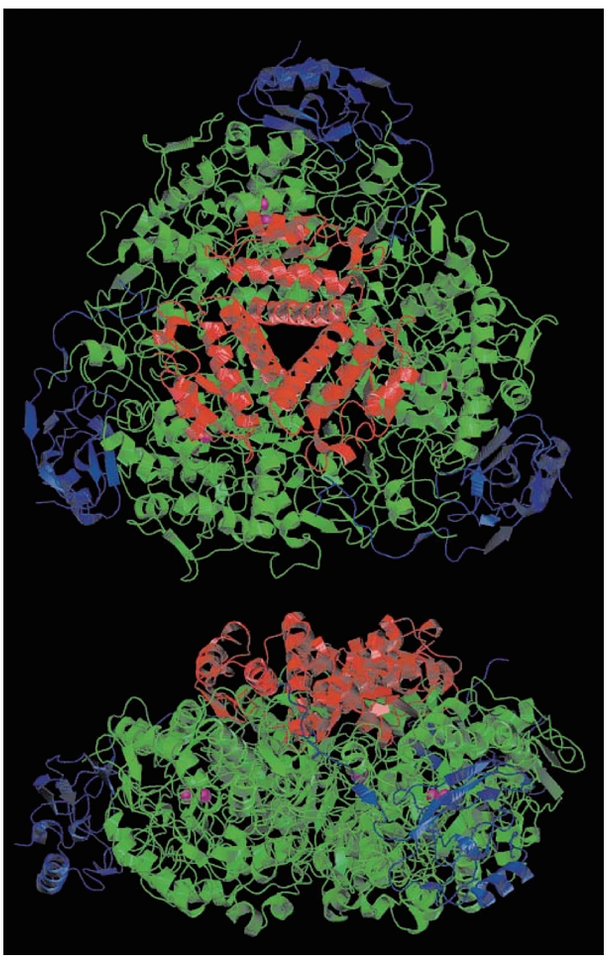


**Fig. 2 （αβγ）$^3$ trimer of *Sporosarcinapasteurii* urease**

**图2　巴氏芽孢杆菌脲酶（αβγ）$^3$三聚体[33]**

绿带，蓝带和红带分别表示α，β和γ亚基. α亚基中的红色球是活性中心的镍离子.

基于克雷伯氏菌的已知分子机理，科研人员对巴氏芽孢杆菌中脲酶的分子机理进行了初步解析[34]. 分析表明，脲酶活性表达的整体过程大致分为3步（图3）：（1）由脲酶操纵子编码并表达的3种亚基构成ureABC的脱辅基脲酶三亚基复合体，同时在辅助蛋白质ureG牵引下，辅助蛋白质ureF和ureD与其结合构成辅助蛋白质复合体ureDFG[35-36]；（2）三亚基复合体与辅助蛋白质复合体再结合形成ureABC-ureDFG的超级复合体；（3）通过镍离子转运蛋白ureE，将镍离子结合到ureABC-ureDFG超级复合体的活性位点，由此激发脲酶活性，形成最终的功能性脲酶[37-39]. 该过程只是对巴氏芽孢杆菌中脲酶分子机理的初步了解，还没有充足的实验对其进行证实，因此对其分子机理的研究和验证仍具有十分重要的意义.

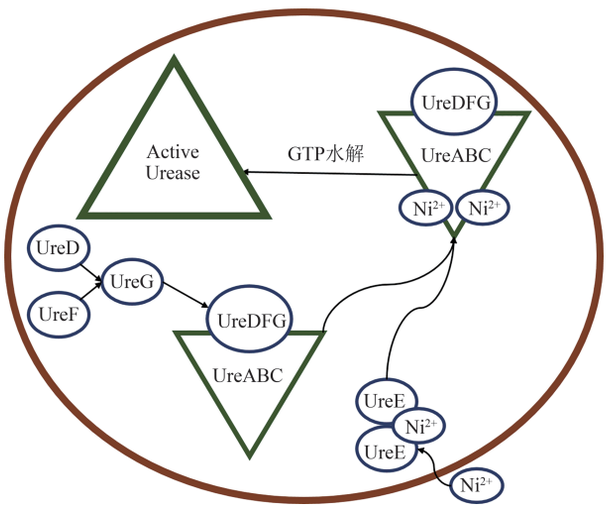



**Fig. 3　Schematic diagram of the urease formation process**

**图3　脲酶基因产物形成脲酶过程示意图**

科研人员对多种细菌的脲酶辅助蛋白质也展开了广泛的研究. 其中，ureE的功能研究相对较多. 研究结果表明，ureE是辅助蛋白质中唯一的镍离子伴侣蛋白[40]，并协助镍离子装入脲酶活性位点[41]. 通过敲除ureE基因的部分序列，可导致脲酶活性降低约50%[34]. 研究还发现，ureE的缺失会导致脲酶中镍离子含量的大幅降低[34]. Won等[40]通过圆二色谱及核磁共振光谱等实验研究发现，巴氏芽孢杆菌ureE辅助蛋白C末端的两个含组氨酸的保守侧链是镍离子的主要配体. 通过对ureE的研究，可以发现镍离子在脲酶活性中扮演着重要的角色. Carlsson等[42]使用密度泛函理论在脲酶活性位点模型上进行了理论计算，表明尿素最初通过其氧原子与活性位点的镍离子结合，进而水解尿素.

当前对于巴氏芽孢杆菌脲酶其他辅助蛋白质的研究相对较少，科研人员将人工构建的脲酶操纵子植入大肠杆菌并改变操纵子中特定基因，对ureD、F、G的特定位点进行突变处理，发现能够造成脲酶活性的大幅度降低[43]. 此方法虽然能从一定程度上说明辅助蛋白质ureD、F、G的重要性，但已有大量实验表明将脲酶表达载体导入大肠杆菌，脲酶表达本身就会受到很大影响，在此基础上的研究可能并不能很好地说明问题. 不可否认的是，辅助蛋白质对脲酶具备降解尿素的酶活性起到了重要作用，但其如何在脲酶各亚基及尿素之间发挥作用目前还未得到详细的解析.

b. 脲酶的活性

虽然在众多种属的微生物中都发现了脲酶活性，但只有在以巴氏芽孢杆菌为代表的少数微生物中发现了极高的脲酶活性，并诱导生物矿化反应. 21世纪初，Whiffin[44]最先开展了脲酶活性在多物种间的差异研究，发现微生物的脲酶活性普遍高于动植物，但脲酶活性在微生物中也存在着显著的种间差异. 其中，幽门螺旋杆菌的脲酶活性在微生物中处于较高水平[45-46]，而变形杆菌的脲酶活性则相对较低[47]，甚至与植物的脲酶活性相当. 目前已知的脲酶活性最高的物种为巴氏芽孢杆菌[48]，其脲酶基因的总体表达量甚至达到其细胞干重的1%[49]. 表1展示了几种微生物脲酶的活性情况，对比可知巴氏芽孢杆菌的脲酶活性有着其他菌种难以媲美的高活性. 需要注意的是，由于各种微生物的最适生长条件及其脲酶活性的最适pH和温度不尽相同，表中各种微生物脲酶$K_m$值（米氏常数）测定所使用的条件也并不一致.

虽然巴氏芽孢杆菌有着其他生物难以媲美的高脲酶表达量，但仅以高脲酶表达量并不能很好地解释其超高的总体脲酶活性，关于巴氏芽孢杆菌脲酶及其活性的问题还有很多，相关分子机理的研究还有待进一步深入研究和讨论.

c. 脲酶表达相关的代谢活动

巴氏芽孢杆菌属于中度嗜碱菌，为了适应土壤的弱碱性环境，巴氏芽孢杆菌形成了非常独特的ATP生成机制. Casey等[62]研究发现，巴氏芽孢杆菌的ATP形成机制与其脲酶降解尿素的过程有着密不可分的关系.

**Table 1　Comparison of urease activities of several microorganisms**

**表1　几种微生物的脲酶活性对比表**

| 微生物 | 脲酶米氏常数/（mmol • $L^{-1}$） |
|---|---|
| 氧化节杆菌 | 12.5[50] |
| 巴氏芽孢杆菌 | 40~130[30] |
| 产氨短杆菌 | 18~72[51] |
| 克雷伯氏菌 | 2.8[52] |
| 混合瘤胃种菌群 | 0.83[53] |
| 奇异变形杆菌 | 13[54] |
| 雷氏普罗威登斯菌 | 10.5~71[55] |
| 斯氏普罗威登斯菌 | 9.3[56] |
| 反刍月形单胞菌 | 2.2[57] |
| 极大螺旋藻 | 0.12[58] |
| 腐生葡萄球菌 | 7.36[59] |
| 解脲支原体 | 2.5[60] |
| 小巢状曲菌 | 1.33[61] |

Cuzman等[63]研究认为，巴氏芽孢杆菌的ATP合成机制与细菌体内铵根生产过程紧密相关（图4）. 研究表明，最适合巴氏芽孢杆菌生存的环境pH值为9.25，而其细胞内的正常pH值为8.4. 当尿素在胞内由脲酶降解产生氨分子后，氨会在生理pH下质子化形成铵离子，并缓慢扩散到胞外[64]. 当细菌处于pH值为9.25的最适宜pH值环境中时，环境中的铵根和氨分子是处于平衡状态的，比例为50∶50；而在pH值为8.4的胞内，铵根和氨分子浓度存在差异，比例为70∶30. 正是由于铵根在胞内和胞外浓度差的存在，促使铵根从胞内扩散到胞外，到胞外后部分铵根转变为氨分子和质子，使得胞外的质子浓度高于胞内，形成质子浓度梯度，建

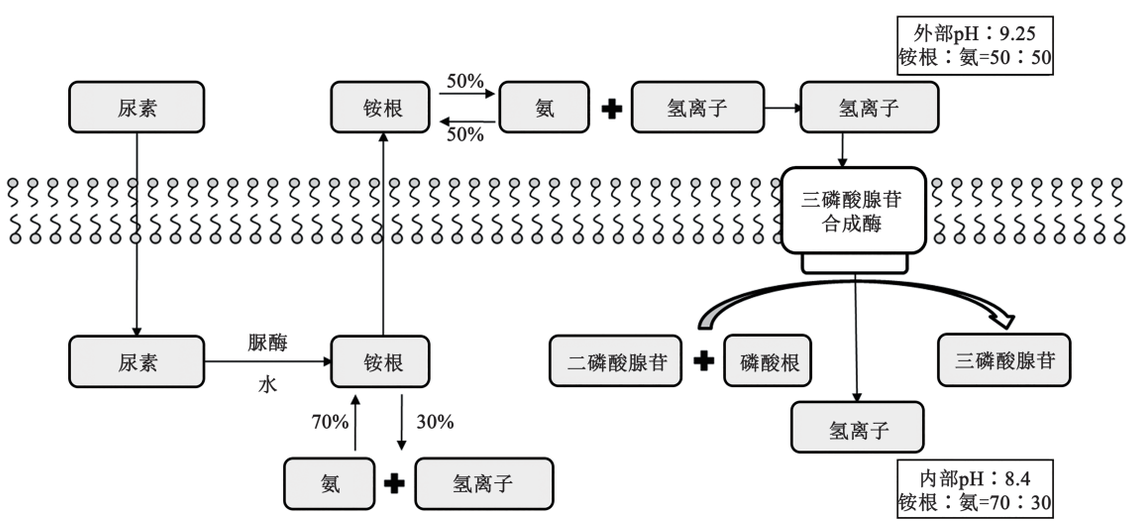



**Fig. 4　*Sporosarcinapasteurii* forms an ATP synthesis mechanism coupled with ammonium production**

**图4　巴氏芽孢杆菌形成了与铵根生产过程相偶联的ATP合成机制**

立质子动力势，驱动细胞膜上的三磷酸腺苷合成酶（质子泵）合成ATP[63]．

由于巴氏芽孢杆菌的脲酶与铵离子、尿素运输及ATP耦合关系，Whiffin[44]最早提出巴氏芽孢杆菌在培养基中缺乏尿素和铵根时，会因无法合成足量的ATP而生长困难．由此可以推断，巴氏芽孢杆菌的高脲酶活性可能是为了调节胞内外质子浓度梯度，满足细菌对能量的直接需求．

## 2　巴氏芽孢杆菌矿化的生物机制

### 2.1　巴氏芽孢杆菌矿化的生物化学模型

自然界的生物几乎都存在一定的矿化现象，比如哺乳动物的骨骼、牙齿，软体动物鲍鱼的贝壳，以及节肢动物藤壶的外壳等[65]．仅在微生物中就存在多种矿化模型，包括硝酸盐还原模型、硫酸盐模型、反硝化模型等等，而通过脲酶微生物水解尿素而产生碳酸盐沉淀的模型是MICP中最直接且最容易控制的，能够在短时间内产生大量碳酸盐（图5）．因此，脲酶微生物水解尿素的模型是一种被广泛应用的微生物矿化模型．

以巴氏芽孢杆菌为代表的产脲酶微生物，通过新陈代谢分泌脲酶，并水解环境中的尿素．尿素作为有机小分子可以自由扩散的方式进入细菌细胞内，当环境中尿素浓度较高时，会大量涌入细菌内部，在细菌内部脲酶的作用下催化水解，水解过程可大致分为两步：a. 在脲酶的催化下1分子尿素水解为1分子氨基甲酸酯和1分子氨；b. 1分子氨基甲酸酯自发水解形成1分子碳酸和第2个氨分子．最终，1分子尿素水解产物即为2分子氨和1分子碳酸[66]．在生理pH值下，碳酸质子解离，氨分子在水分子的作用下质子化，导致pH值净增加[67]．整个反应过程如反应式（1）～（4）．

$$CO(NH_2)_2 + H_2O \xrightarrow{脲酶} NH_3 + NH_2COOH \quad (1)$$

$$NH_2COOH + H_2O \rightarrow H_2CO_3 + NH_3 \quad (2)$$

$$H_2CO_3 \rightarrow 2H^+ + CO_3^{2-} \quad (3)$$

$$NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH_4^+ + OH^- \quad (4)$$

1999年，Stocks-Fischer等[68]测算了巴氏芽孢杆菌的脲酶动力学参数（米氏常数和最大反应速率）．研究发现pH值能够影响脲酶对底物的亲和力以及巴氏芽孢杆菌的生物活性：当pH为7.0时脲酶的米氏常数和最大反应速率值分别为41.6 mmol/L和3.55 mmol•$L^{-1}$•$min^{-1}$•$mg^{-1}$．但是，随着pH增加至8.3～9.0，脲酶对底物亲和力提高，此时脲酶的米氏常数和最大反应速率值分别为26.2 mmol/L和1.72 mmol•$L^{-1}$•$min^{-1}$•$mg^{-1}$．通过这项研究我们可以推测，脲酶分解尿素促进环境pH升高，而pH的升高又激活了更强的脲酶活性，促使尿素分解反应进一步加强，pH进一步升高．显然，pH在一定范围内时，以上生化反应构成了正反馈调节，直到pH超出脲酶适宜的反应条件时，脲酶活性才会降低，尿素分解反应随之减弱甚至停止，pH不再升高，该过程又转变为负反馈调节．

碳酸钙沉淀是一个相当简单的化学过程，主要受4个关键因素控制[69]：钙浓度、可溶性无机碳的浓度、pH值、是否存在成核位点．碳酸钙沉淀需要足够浓度的钙离子和碳酸根，以使两种离子的离子活度（$\alpha$）乘积超过碳酸钙的溶解平衡常数（$K_{so}$），如式（5），（6）所示．通过离子活度积与溶解平衡常数的比值，可以定义系统的饱和度为$\Omega$；当$\Omega > 1$，说明溶液系统达到过饱和状态，并可能沉淀碳酸钙．在自然条件下，上述沉淀过程会非常缓慢，但是微生物可以通过改变上述任何一个影响碳酸钙沉淀的关键因素来控制或诱导碳酸钙沉淀[69]．从而在短时间内产生大量的碳酸钙．

$$Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow CaCO_3 \quad (5)$$

$$\Omega = \alpha(Ca^{2+})\alpha(CO_3^{2-})/K_{so}(K_{so\,25℃} = 4.8 \times 10^{-9}) \quad (6)$$

巴氏芽孢杆菌能够诱导碳酸钙沉淀，主要归因于两大特征：其中最主要的特征是其能够分泌高活性的脲酶，凭借其高效的脲酶活性催化细菌内部的尿素分解，迅速提高细菌周围微环境的碳酸根浓度和pH值；其次，有研究表明巴氏芽孢杆菌表面（包括细胞壁及胞外聚合物）比非矿化细菌具有更多的表面负电荷[70]，对阳离子有更强的吸附作用，因此环境中带有正电荷的$Ca^{2+}$能够大量吸附于巴氏芽孢杆菌表面．在高浓度的碳酸根和碱性条件下，$Ca^{2+}$就会以细胞为晶核，沉降形成$CaCO_3$结晶[19]．整个微生物矿化过程的反应式为（1）～（4），（7），其中$K_{SP}$是反应式（7）中的溶度积，图5为矿化过程示意图．

$$Ca^{2+} + CO_3^{2-} \xrightarrow{成核作用} CaCO_3(K_{SP} = 3.8 \times 10^{-9}) \quad (7)$$

然而，微生物诱导碳酸钙沉淀的实际作用仍然存在争议．一些人认为这种沉淀过程是微生物新陈代谢的有害副产物，然而另一些人则认为这是一个特殊的过程，对诱导沉淀的微生物本身具有生理意义[72-73]．例如，有人认为当环境处于不适宜巴氏芽

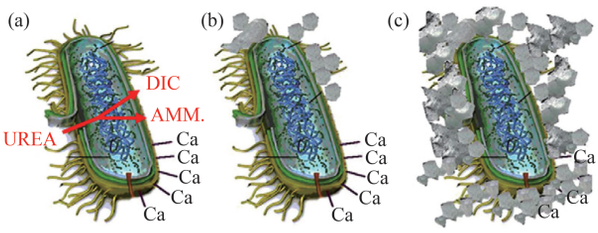



**Fig. 5　Schematic diagram of calcium carbonate precipitation induced by *Sporosarcina pasteurii***

**图5　产脲酶微生物诱导生成碳酸钙沉淀的过程示意图**[71]

（a）尿素进入细菌并在脲酶作用下分解；（b）碳酸根与细菌表面钙离子结合并沉降于细菌表面；（c）碳酸钙颗粒不断沉降并包裹细菌.

孢杆菌生存的条件下，细菌通过允许钙离子的进入和积累及质子的过度排出而存活. 随后，细菌主动输出钙并补偿质子的损失. 在微环境中，碳酸根离子的分泌需要低浓度的质子和高浓度的钙离子，而过饱和度的碳酸根会引起碳酸钙在细菌表面沉淀. 在此过程中，胞外聚合物、细胞膜甚至无活性的芽孢都可以为上述反应提供成核位点[74-75]. 此外，有科研人员通过研究巴氏芽孢杆菌分解尿素的生理意义了解到，巴氏芽孢杆菌等微生物通过分解环境中的尿素，提高周围环境pH，并使环境中氨分子及铵根离子浓度上升，然而巴氏芽孢杆菌本身即使在高碱性pH环境下也能耐受极高浓度的氨[76]，这使其在有尿素的环境中取得生存竞争优势. 此外，巴氏芽孢杆菌能够形成芽孢的特性也为其矿化应用提供了更多可能.

目前众多学者普遍认为巴氏芽孢杆菌在整个矿化过程中主要起着双重作用：a. 分解来自环境中的尿素，促进形成碱性环境并产生碳酸根离子，为生物矿化反应提供必要的化学条件；b. 吸附环境中的$Ca^{2+}$为生物矿化反应提供必需的金属离子，并为矿化物结晶提供晶核[7, 77]. 但在2018年，天津大学Zhang等[8]在单细胞水平上对巴氏芽孢杆菌的生物矿化进行了原位实时观察. 研究发现，在MICP过程中，纳米级的碳酸钙首先在细胞膜上的胞外聚合物上形成，并与细菌细胞表面紧密结合，但是大部分亚微米级乃至微米级的矿化产物是以释放到培养基中的纳米级碳酸钙小球继续矿化而来. 然而，不可否认的是，细菌细胞表面在矿化作用中扮演着重要角色，细菌的存在与否对矿化产物的晶体形态和晶体结构存在重要影响[8].

## 2.2　矿化产物胶结的生物物理机理

目前研究表明，巴氏芽孢杆菌微生物矿化产物主要为碳酸钙的方解石晶型[78]，但生物矿化的方解石为什么具有胶结砂粒的能力，而普通化学法产生的方解石为什么不具备该能力，这个问题长久以来悬而未决.

为了探究微生物矿化产物的胶结机理，Qian的课题组展开了一系列研究. 2013年该组Rong等[79]首先对比了化学法和生物矿化方法生成的方解石产物对砂柱的胶结情况. 研究发现，化学法生成的方解石不能把松散的砂粒胶结成一个整体，而通过生物矿化方法生成含量几乎相同的方解石能够将松散砂粒胶结成砂柱，并具备一定的强度（图6）.

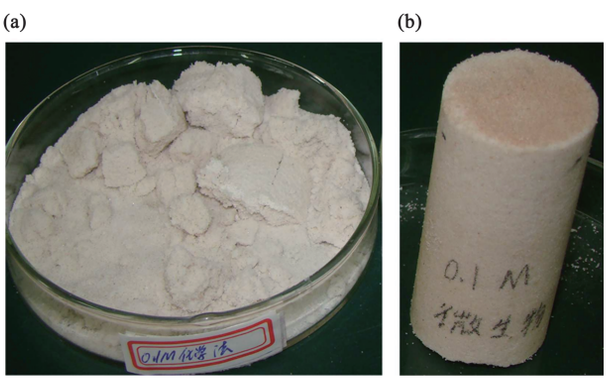



**Fig. 6　Sand column cemented by chemical and biomineralization methods**

**图6　化学法与生物矿化法胶结的砂柱**[79]

（a）化学法胶结的砂柱.（b）生物矿化法胶结的砂柱.

随后，该组Yu等[80]研究了生物磷酸盐矿化产物对砂粒的胶结机理，通过X射线光电子能谱（XPS）、扫描电子显微镜（SEM）等技术和方法对胶结界面的结合力进行了观察和分析，研究发现矿化产物能够使砂粒（$SiO_2$）中的Si原子电子结合能产生变化. Rong等[81]进一步研究发现，巴氏芽孢杆菌矿化产生的微生物碳酸钙在胶结砂粒时也产生了类似的现象，使砂粒中Si原子的电子结合能产生了变化. 以上两项研究均表明在微生物矿化的作用下，砂粒中Si原子的电子结合能高于化学法作用下的电子结合能.

2018年Qian等[82]展开了进一步研究，通过X射线光电子能谱（XPS）及核磁共振波谱（NMR）等方法对比微生物碳酸钙及微生物磷酸盐与砂粒胶

结后的微观界面. 结果表明，Si原子的化学环境发生了显著变化，并且由于胶结产物与石英砂颗粒之间形成新键，其电子密度降低. 起初，Qian等推测这种作用力为范德华力（即分子间作用力），并认为这就是生物水泥具备胶结能力的本质. 然而热分析表明，生物方解石的分解温度和活化能分别为683℃和47.5 kJ/mol，均高于化学方解石（分解温度为663℃，活化能为44.1 kJ/mol），这意味着除化学键外还需要破坏另一个特殊的键. Qian等[82]结合一系列研究认为是生物方解石有机质中多肽的羟基与石英砂$SiO_2$中的氧原子相互作用形成氢键，松散的砂粒被粘合在一起正是有机质、石英砂和生物方解石之间形成氢键的作用.

### 2.3　影响矿化效果的生物化学因素

对于生物矿化这样一个复杂的生物化学反应过程，能够影响其最终结果的因素有很多，总体可以分为生物的影响、化学条件及环境的影响等等. 微生物矿化体系主要包括两大原料：生物原料即菌液、化学原料即胶结液（钙盐加尿素的混合液）. 对于巴氏芽孢杆菌的矿化产物，影响其大小、形态和结晶度的因素包括矿化体系的pH值、钙源种类及浓度、细菌的浓度、尿素浓度等.

1999年，Chu等[83]最早提出脲酶活性取决于pH值，OnalOkyay和Frigi Rodrigues也得出相同的结论[84]. Sookie等[85]进一步研究发现，脲酶在较高的pH值水平（pH值为8～9）下表现出较高的酶活性，该pH值对方解石沉淀同样是有利的. Ma等[86]和Hu等[87]认为，pH值不仅能促进碳酸钙的形成，而且还会影响碳酸钙的形态（pH值的增加导致生物沉淀物表面结构从光滑的单晶型转变为粗糙的多晶型）.

在钙源的选择方面，Abo-El-Enein等[88]对微生物矿化的不同钙源进行了研究，发现利用氯化钙作为钙源（相比于醋酸钙和硝酸钙）获得矿化产物的抗压强度更高且渗透率更低，并认为原因在于以氯化钙为钙源时方解石的结晶度和产量更高. 该研究所使用的实验条件为：氯化钙、乙酸钙或硝酸钙（1 mol/L）通过与尿素（1 mol/L）和菌液（$A_{600}$=1）混合来胶结沙子. 随后，Abo-El-Enein还对比了$A_{600}$分别为0.5、1.0、1.5的菌液对砂浆胶结的性能差异. 研究发现，$A_{600}$为1.0的菌液胶结的砂浆抗压强度最高，其矿化产物的结晶度和产量也最高. Achal等[89]也探究了不同钙源作用下的微生物矿化效果，认为氯化钙能显著提升脲酶活性且能够生成更多的方解石，因此更适宜作为钙源.

但是，Zhang等[90]研究却得到了不同的结果，他们同样利用3种钙源（氯化钙、醋酸钙、硝酸钙）胶结砂柱，发现利用醋酸钙作为钙源的样品具有更高的抗压强度和更宽的孔径分布，其抗压强度可达28.8 MPa，比其他两种钙源高出40%. 用醋酸钙处理的样品晶体类型主要为针状的文石，而其他两种主要为六面体的方解石. Zhang等[91]也对实验进行了进一步的重现和拓展，发现用醋酸钙处理并分两批灌浆的微生物砂浆抗压强度分别是用氯化钙和硝酸钙处理的微生物砂浆的2.45和2.98倍. 且在孔径分布上更均匀，可能是由于产物晶体类型为文石的缘故. 因此，Zhang等认为醋酸钙是应用于微生物矿化技术更合适的钙源.

然而，对于钙源的研究还有不同的结果，Liang等[92]研究对比4种钙源（氯化钙、醋酸钙、硝酸钙、乳酸钙）固化砂柱的效果，发现硝酸钙作为钙源时固化效果最好，抗压强度达到2.884 MPa. 固化砂柱的抗压强度随着干密度的增加，呈现指数型增长. 根据2019年Zhu等[93]的钙源方面的最新研究，氯化钙作为钙源时的抗压强度约为醋酸钙的2倍，最高可达2.91 MPa.

虽然在钙源的种类上研究结果不尽相同，甚至有些矛盾，但诸位学者的实验条件和技术方案没有统一的标准可能是造成结果差异的主要原因. 因此，在钙源的选择上，目前的建议是根据应用条件进行实验模拟后再进行抉择.

在胶结液浓度方面，Whiffin等[44]最早通过对胶结溶液中的各组分浓度进行调节，研究了尿素、钙离子等主要原材料浓度对脲酶活性的影响，同时进一步研究了铵根、硝酸根、氯离子等副产物对矿化反应的影响，结果发现巴氏芽孢杆菌在3 mol/L尿素浓度和2 mol/L钙离子浓度下，依然保持了高效的脲酶活性.

Salwa等[94]通过提高培养基中主要成分酵母提取物的浓度，并添加脲酶合成所需的镍离子等方法，优化了微生物的产酶效率. 该研究表明，培养基中酵母提取物浓度为20 g/L并添加10 μmol/L的镍离子能够增强微生物降解尿素的能力. 不过脲酶活性的高低并不能说明胶结效果的优良，Qabany等[95]发现，过饱和胶结液有助于大粒径方解石晶体的形成，但晶体粒径均匀性差、空间分布散乱，使用较低浓度的胶结液将更有利于方解石晶体分布. Dworatzek等[96]也得到了相似的结果，利用表

2中设计的4组条件进行土壤改善研究，发现第4组（即胶结液浓度最低）处理的土壤实现了最大程度的改善，方解石含量高达2.1%.

**Table 2　Composition of four groups of cement with different concentrations**

**表2　四组不同浓度胶结液成分[96]**

| 组别 | 巴氏芽孢杆菌浓度 /（cells•L$^{-1}$） | 培养基浓度 /（mg•L$^{-1}$） | 尿素浓度 /（g•L$^{-1}$） | 氯化钙浓度 /（g•L$^{-1}$） |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 矿化组1 | $10^8$ | 58.7 | 60 | 55.5 |
| 矿化组2 | $10^8$ | 58.7 | 30 | 27.75 |
| 矿化组3 | $10^8$ | 58.7 | 15 | 13.875 |

同年，OnalOkyay等[84]利用数学建模并实验验证，确定了最佳尿素、氯化钙和硝酸镍浓度分别为42.12 g/L、6.93 g/L和0.071 g/L. 在这些条件下，巴氏芽孢杆菌的生长、脲酶活性和碳酸钙的沉淀速率都是最高的. 产生的碳酸钙颗粒直径为0.1～10 μm. 因此认为，碳酸钙的沉淀速率需要较高的尿素和镍离子浓度，以及较低的钙浓度. Omoregie等[97]也得到了相近的结果，通过研究影响脲酶活性的各种培养条件，包括培养温度（20℃～45℃）、初始培养基pH值（6.0～8.5）、培养期（共96 h，每24 h取样）和尿素浓度（2%～10%）. 实验结果表明，脲酶活性在25℃～30℃，pH值6.5～8.0，24 h培养时间和6%～8%（*w*/*v*）尿素浓度下是最佳的. 因此，Omoregie也建议使用较高浓度的尿素来培养巴氏芽孢杆菌. 在最近的研究中，Zhu等[93]发现不同浓度胶结液对钙质砂的固化效果差异明显，低浓度胶结液更有利于钙质砂胶结成型，最适营养液浓度约为1 mol/L. 因此，在胶结液浓度方面，相对一致的认为胶结液浓度偏低更有利于微生物矿化和胶结效果.

在其他方面，Qian等[98]研究认为，先加入钙离子后加入尿素的方式会产生更加致密的碳酸钙沉积物. 而Mortensen等[99]对微生物矿化的应用条件进行了更多细节的研究. 结果表明：在尿素水解过程中产生的铵不会减慢巴氏芽孢杆菌的脲酶活性，这与Whiffin提出的结果一致；富含碳酸钙的土壤颗粒能够为微生物矿化产物提供理想的晶核；在砂粒粒径方面，与较细的砂相比，较粗的砂具有更快的矿化物沉降速率. Terzis等[100]也开展了相关研究，发现中粒砂生物胶结抗压强度高达12 MPa. 相对的，对于相似的矿化产物含量，细粒砂的抗压强度只有2.5 MPa. 以上研究结果展现了微生物矿化技术可以在多种土壤类型及土壤条件中进行应用.

Mortensen等[99]还探究了盐度的影响，发现巴氏芽孢杆菌能够在各种淡水条件和相当于100%海水的盐度条件下生长，该结果与Ou等[101]研究人员的结论一致. 进一步说明了巴氏芽孢杆菌广泛的环境适应性及微生物矿化技术广阔的应用前景.

## 3　巴氏芽孢杆菌矿化作用的应用研究及典型应用案例

### 3.1　矿化作用应用研究

20世纪90年代初，Kantzas等[102]开展了基于微生物诱导沉积碳酸钙的“生物水泥”研究，成功地胶结了松散砂粒，极大地降低了砂体的渗透率，渗透系数降为原来的1/10. Stocks-Fischer等[68]也通过从土壤中分离筛选出的微生物巴氏芽孢杆菌，诱导矿化出具有胶结作用的碳酸钙晶体. 此后，微生物诱导矿化的应用受到了越来越多的研究和开发.

随着微生物矿化效果研究的发展，Whiffin等开展了较为系统的研究，通过对胶结溶液中的各组分浓度进行调节，利用巴氏芽孢杆菌矿化胶结得到的砂体抗剪强度达到1.8 MPa，并且抗压强度达到20 MPa. Whiffin等[103]还进一步扩大了胶结物尺寸，并成功胶结出长5 m、直径为66 mm的砂柱. 但大尺寸的胶结产物中矿化物分布不均的问题较为突出. Whiffin等提出，砂柱中矿化物分布不均匀可能是由于尿素降解速率与混合溶液流速（即反应物的供应速率）间的失衡造成的. Achal等[9]也发现，在细菌和胶结液的注入点处会更快地形成碳酸钙，阻止了矿化物和胶结液的正常流入并导致碳酸钙沉淀物的分布不均.

Qian等[104]用微生物水泥将砂岩（直径0.05 m，高度0.5 m）和沙堆（0.125 m$^3$）结合在一起，形成一个整体. 方解石含量和抗压强度结果均

表明，微生物矿化产物在胶结体内分布不均，距注入口的距离越远方解石含量越低，抗压强度也越低.

矿化产物分布不均是微生物矿化技术应用面临的重要问题，如何在不同的应用环境中解决该问题引起了众多研究人员的关注.Mortensen等[99]研究发现，通过增加胶结液的灌浆流速，使其超过尿素降解和碳酸钙沉淀的速率，能够促进矿化产物在砂柱中更加均匀的分布，这也许是解决分布不均的有效方法. Salwa等[94]通过优化灌注条件，使用较低浓度$Ca^{2+}$并连续浇注的方法成功胶结出长1 m的砂柱. 该方法得到的砂柱，内部矿化物的均匀性得到改善，抗压强度约达5.8 MPa.

Rong等[105]分别研究了菌液和胶结混合溶液的不同灌注速度对胶结砂土的影响. 研究发现，菌液灌注速度较低时（如5 ml/min），能够将微生物更加均匀地分布于砂粒表面与砂粒间隙，而胶结混合溶液灌注速度较高时（如10 ml/min），能够防止矿化产物在注射口附近迅速沉积而导致的堵塞. 通过以上最优条件灌注的砂柱，强度高达12.0 MPa.

Qabany等[95]进一步提高了巴氏芽孢杆菌在砂柱内诱导矿化的效率. 总结前人的研究方法和实验结果，Qabany等通过调节胶结液（尿素/钙盐溶液）的浓度、供应速率以及停留时间等条件发现，当混合溶液供应速率低于0.042 $mol•L^{-1}•h^{-1}$时，矿化产物碳酸钙的沉积效率可达100%. 然而受限于尿素的降解速率，较高的混合溶液供应速率会降低矿化物沉积的效率. Qabany等[106]进一步研究发现，当供应的混合溶液浓度较高（如1 mol/L）时，易造成砂体局部迅速堵塞，其渗透率在实验早期急剧下降. 而通过低浓度混合溶液处理的砂体，渗透率匀速缓慢下降，且在产生等量矿化产物的情况下，其无侧限抗压强度更高.

Tobler等[107]研究了不同灌注方式对砂土加固的影响. 实验表明，菌液和胶结混合溶液并行灌注，会造成沙土内部矿化产物分布不均匀，胶结混合液入口处附近矿化沉积速度较快，易造成入口堵塞，而使用菌液和胶结混合溶液分段灌注的方法，砂土内的矿化产物分布较均匀，且循环注射菌液和胶结混合液能够进一步提高均匀性. Rong等[80]进行了类似的研究，表明生物胶结砂岩的抗压强度取决于微生物诱导的碳酸钙含量以及生物介导的方解石晶体尺寸；Chu等[83]和Zhu等[93]同样认为碳酸钙产率与胶结体的抗压强度间呈现正相关性. Rong等[80, 104]利用微生物矿化技术多次粘结砂柱（Φ为0.05 m×0.5 m），直至在灌浆过程中无法注入生物水泥. 最终结果显示，砂柱的平均抗压强度可以达到5.90 MPa.

Zhao等[108]针对不同环境处理下的砂体强度变化情况开展了一系列实验，研究发现在30℃且自然风干的环境处理下，得到的砂体抗压强度最高，约为1.36 MPa；当以-18℃环境处理砂体时，抗压强度降至约1.29 MPa，下降约5%. 而湿度即使达到100%，砂体强度也只损失约11%，实验表明不同环境条件的处理对微生物胶结砂土的性能影响较低. 另外，韩国学者Kang等[109]发现巴氏芽孢杆菌适用于放射性金属离子（锶离子）的生物修复，表明该菌在放射性的极端条件下仍然具备较强的矿化能力.

虽然大多数实验仅限于实验室内，但有少数科研人员已开展了室外大型实验. 目前为止，规模最大的实验当属荷兰科学家van Paassen等[110]实施的100 $m^2$的大型室外实验，实验人员对100 $m^2$的沙土进行微生物矿化胶结以提高沙土的强度和刚度. 研究发现，微生物矿化技术可以显著提高沙土的强度和刚度，刚度的增加可以根据胶结液的注入量和与注入点的距离进行量化. 而Dworatzek等[96]在加拿大萨斯喀彻温省的某处荒漠进行了实地试验，实验设计了4组实验条件对土地进行改良，并证明了微生物矿化方法是改良土壤的有效方法. 上述大型室外实验结果为生化矿化技术的应用提供了重要的数据和参考.

实验室中，巴氏芽孢杆菌在生长培养基中必不可少的物质包括酵母提取物和尿素（或铵离子），该菌种需要在高氮含量的培养基中进行生长[111]. 如果按照标准培养基中的成分进行微生物矿化技术的大规模应用，其成本与传统的水泥或砖块相比并不具备任何优势，甚至成本更高. 有研究表明，培养基中营养成本可能高达总运营成本的60%[112]. 因此，生长培养基的高成本成为微生物诱导矿化技术商业化的主要障碍. 在这样的现实条件下，已有研究人员开始致力于研发巴氏芽孢杆菌的培养基替代品. 可以预见的是，在微生物矿化技术的大规模应用当中，用家畜排泄物代替培养基原材料可能是未来的必然选择[113]，其不仅可以降低应用成本，还能够减轻环境污染，满足可持续发展的时代主旋律.

### 3.2　典型应用案例

随着微生物矿化研究的不断涌现，在建筑领域中，生物修复、生物水泥、生物砖等名词不断出现在人们眼前，并受到越来越多的关注. 这些生物技术主要根据巴氏芽孢杆菌的矿化现象研发而来，本节简要介绍相关技术的著名应用案例.

早在1996年，Ferris等[114]就利用巴氏芽孢杆菌诱导矿化的能力，对油田进行裂缝封堵，控制原油流动，提高了原油的开采率. 2001年Ramachandran等[115]较早地利用微生物矿化技术，制备了常规水泥的替代品，并有效地提高了混凝土的抗压强度和刚度. Wang等[116-117]也利用巴氏芽孢杆菌诱导矿化技术对大理石文物表面进行防护，提高了文物的抗侵蚀能力.

巴氏芽孢杆菌的矿化应用还有一些更为著名的案例. 2007年荷兰科学家Jonkers等[118]发表文章提出环境对传统水泥建筑长时间的侵蚀问题. 在传统水泥建筑中，随着时间的推移，外界环境会对其产生一定的腐蚀作用，导致水泥内部产生大量微小裂缝，其内部钢筋便会暴露在复杂环境中，从而进一步加重腐蚀现象. 该过程会对整个建筑带来巨大的安全隐患. Jonkers等在其发表的论文中提出了一种能够自我修复的生物水泥，其可通过自身的修复能力完成对裂缝的修补工作，环保且省力. 文中所述的方法利用了巴氏芽孢杆菌，不但能够适应碱性的干燥环境，并且其芽孢能够以休眠的状态存活数十年，满足生物水泥对其内部微生物的特殊要求. 巴氏芽孢杆菌诱导的矿化反应是需要在营养物质和钙离子存在的条件下才能进行的，然而，若在水泥中添加糖类等营养物质可能会破坏水泥的硬度，影响其建筑安全. 结合以上问题，Jonkers等[119]提出在水泥中加入乳酸钙为巴氏芽孢杆菌提供营养和钙离子原料. 当有裂缝产生后，通过雨水等水分的流过使休眠巴氏芽孢杆菌复苏，进一步以乳酸钙为原材料进行生物矿化，由此完成裂缝修复. 该项技术在2016年被美国有线电视新闻网（CableNewsNetwork，CNN）称为“史上最受欢迎的建筑材料”.

2012年，bio-MASON公司推出了“培养”生物砖的业务. 他们首次采用微生物诱导矿化技术来生产砖块，以替代传统的砖窑生产. 该过程主要分为3步：先是在砖块模具中放入沙土；然后，将巴氏芽孢杆菌菌液接种在沙土中；最后，每隔一段时间将促进生物矿化的混合溶液浇灌在沙土上，通过多次矿化胶结，生产出足够强度的生物砖（图7）. 该方法与传统方法相比具有很大的优势：首先，生物矿化节约能源，不需要烧火高温，因此也减少了碳排放量；其次，生物矿化砖可以实现多种外观形状，通过对模具和沙土固化模型的设计，可以实现矿化胶结物外观形状的特殊定制，以满足特殊条件下的使用要求[120]；另外，据公司首席科学家Ginger Dosie介绍，利用不同微生物或基因改造微生物，还可以为生物砖添加附加功能，比如荧光、吸收污染、遇湿变色等，这将为建筑增添新的功能和特色. 生物砖等相关技术给建筑材料带来了革命性的变化，该技术曾荣获Metropolis的Next Generation“The Big Fix”奖. 据该公司官方数据表明，到2016年止，bio-MASON公司已经生产了1.23万亿块生物砖，在二氧化碳排放上，为全球减少了8亿吨的排放量.



**Fig. 7　Biomason produced by bioMASON Company**

**图7　bioMASON公司生产的生物砖[121]**

2018年，南非开普敦大学（UCT）也报道了关于生物砖的研究成果：该校研究人员Randall等[121]利用巴氏芽孢杆菌和人尿成功研制出“生物砖”. 据报道，这是首次利用人类尿液制备生物

砖. 他们通过特别设计的便池收集人的尿液，尿液中大部分成分可以变成固体肥料，剩余液体通过灭菌等一系列处理后，与沙子和细菌进行混合，制成生物砖. 据开普敦大学介绍，这种生物砖的强度和形状可以根据需要进行改变. 如果想要更高强度的砖体，只需要让制作时间加长，即可达到效果.

巴氏芽孢杆菌的微生物矿化技术在环境安全领域中也大有可为. 2008年Harkes[122]提出，为了避免土壤沙化流失问题，可以利用微生物矿化技术来进行土壤加固. 著名的TED演讲中，一位来自伦敦建筑学院的学生Larsson[123]讲述了利用巴氏芽孢杆菌的生物矿化技术将撒哈拉沙漠南北两侧的沙子铸成人工砂墙的设想，由此来阻挡沙漠规模的增加，同时可在砂墙上制造人工洞穴，成为人类暂住场所.

巴氏芽孢杆菌不仅在生物矿化上具有巨大的应用前景，在医疗领域内，凭借其高效的脲酶活性，在肾功能衰竭的治疗中也存在潜在的应用价值. 1997年，专注研发食用益生菌的Kibow生物技术公司（美国费城）发现利用巴氏芽孢杆菌较高的脲酶活性，可以帮助肾脏功能缺陷的人群降解体内尿素. 由于巴氏芽孢杆菌不是病原菌且其生长繁殖过程中不产生毒素，这些优势使该菌的临床使用成为可能[124].

## 4　总结与展望

随着巴氏芽孢杆菌矿化技术的广泛研究，其对环境友好且社会经济价值高等优良特性，在许多领域都展现出巨大的应用前景. 着眼微生物矿化技术的发展情况，可以发现仍存在某些亟待解决的问题：

a. 对巴氏芽孢杆菌高效脲酶活性等分子机理研究还相对较少. 若想解决微生物矿化在应用上存在的一些关键性问题，对其分子机理的深入研究必不可少且已迫不及待. 随着巴氏芽孢杆菌基因组的全面测序，其分子机理等基础研究将会掀开崭新的一页，也必将迎来高速发展.

b. 微生物诱导的矿化反应对细菌本身的生理意义有待进一步研究. 例如对于矿化细菌，诱导矿化过程中涉及到的一系列生化反应对于微生物本身是否具有生理意义，或者对其生存或生长是否有其特殊的价值. 揭示其生理意义有利于更好地理解和调控微生物矿化反应，并有助于在实际工程应用当中扬长避短地进行工艺优化.

c. 微生物诱导的碳酸钙晶型和形态等问题需要更加系统的实验探究. 目前，微生物诱导的碳酸钙晶型及形态等研究方面不断涌现出新的结果，碳酸钙晶型及形态的不同会从根本上影响矿化产物的强度等力学性能，如何调控由微生物诱导的碳酸钙晶型及形态是面向应用过程中不可或缺的一个重要问题.

d. 微生物矿化胶结砂土的全面性研究不足. 虽然有少数学者对微生物矿化胶结材料的酸碱耐受性、低温耐受性以及抗冲刷等性能进行了初步实验[125]，但在实际应用中，环境的多样性和复杂程度高，目前仍缺乏全面和深入的研究，对于该材料处于现实复杂环境中的耐受性有待进一步研究.

e. 大规模微生物矿化胶结时砂体内存在异质性问题. 现有研究多基于小体积砂土实验，对砂体内方解石或者微生物的均匀分布做了大量研究，但是在实际应用中，需要固化的沙土可能具有庞大的规模，而在大规模胶结时，开放体系下通过微生物灌浆等方法控制微生物的原位分布更是一个重要难题，最终会影响固化后砂体的工程性质及实用性能.

f. 微生物矿化技术的经济效益和环境可行性还需要进一步研究探讨. 首先，若能够采用更加廉价的营养物质（如工业废水、家畜排泄物等）应用到大规模的微生物灌浆中[126]，将会在极大提高其经济效益的同时起到环保的效果. 其次，在微生物矿化过程中由尿素水解产生的副产物$NH_3$/$NH_4^+$的处理问题是保持其环境友好性的主要挑战.

## 参　考　文　献


[1] Yu X N, Jiang J G. Mineralization and cementing properties of bio-carbonate cement, bio-phosphate cement, and bio-carbonate/phosphate cement: a review. Environmental Science and Pollution Research, 2018, **25**: 21483-21497

[2] Achal V , Mukherjee A , Zhang Q . Unearthing ecological wisdom from natural habitats and its ramifications on development of biocement and sustainable cities. Landscape and Urban Planning, 2016, **155**: 61-68

[3] Al-Salloum Y , Abbas H , Sheikh Q I , *et al*. Effect of some biotic factors on microbially-induced calcite precipitation in cement mortar. Saudi Journal of Biological Sciences, 2016, **24**(2):286-294

[4] Cui M J , Zheng J J , Zhang R J , *et al*. Influence of cementation level on the strength behaviour of bio-cemented sand. Acta Geotechnica, 2017, **12**(5):971-986

[5] Dapurkar D , Telang M. A patent landscape on application of microorganisms in construction industry. World Journal of

Microbiology and Biotechnology, 2017, **33**(7):138-149

[6] Tiwari P K , Joshi K , Rehman R , *et al*. Draft genome sequence of urease-producing *Sporosarcina pasteurii* with potential application in biocementproduction. Genome Announcements, 2014, **2**(1): e01256-13

[7] Dejong J T , Fritzges M B , Nüsslein K. Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2006, **132**(11): 1381-1392

[8] Zhang W C, Ju Y, Zong Y W, *et al*. *In situ* real-time study on dynamics of microbially induced calcium carbonate precipitation at a single-cell level. Environmental Science & Technology: ES&T, 2018, **52**: 9266-9276

[9] Achal V , Mukherjee A , Basu P C , *et al*. Lactose mother liquor as an alternative nutrient source for microbial concrete production by *Sporosarcina pasteurii*. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2009, **36**(3): 433-438

[10] Achal V , Mukherjee A , Basu P C , *et al*. Strain improvement of *Sporosarcina pasteurii* for enhanced urease and calcite production. J Ind Microbiol Biotechnol, 2009, **36**(7):981-988

[11] Tobler D J , Cuthbert M O , Greswell R B , *et al*. Comparison of rates of ureolysis between *Sporosarcina pasteurii* and an indigenous groundwater community under conditions required to precipitate large volumes of calcite. Geochimica Et Cosmochimica Acta, 2011, **75**(11):3290-3301

[12] Benini S , Borsari M , Ciurli S , *et al*. Modulation of *Bacillus pasteurii* cytochromec553 reduction potential by structural and solution parameters. J Biol Inorg Chem, 1998, **3**(4): 371-382

[13] Martin D , Elphick S C , Ngwenya B T , *et al*. Inhibition of *Sporosarcina pasteurii* under anoxic conditions: implications for subsurface carbonate precipitation and remediation *via* ureolysis. Environmental Science & Technology, 2012, **46**(15):8351-8355

[14] Williams S L , Kirisits M J , Ferron R D . Optimization of growth medium for*Sporosarcinapasteurii*in bio-based cement pastes to mitigate delay in hydration kinetics. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2016, **43**(4):567-575

[15] Granick S. Ureasedistribution in plants: general methods. Plant Physiology, 1937, **12**(2):471-486

[16] Polacco J C . Is nickel a universal component of plant ureases?. Plant Science Letters, 1977, **10**(3):249-255

[17] Mcdonald J A , Vorhaben J E , Campbell J W . Invertebrate urease: purification and properties of the enzyme from a land snail, Otalalactea. Comparative Biochemistry & Physiology Part B Comparative Biochemistry, 1980, **66**(2):223-231

[18] Lloyd A B , Sheaffe M J . Urease activity in soils. Plant and Soil, 1973, **39**(1):71-80

[19] Contreras M , Magris M , Hidalgo G , *et al*. Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature, 2012, **486**(7402): 222-227

[20] Bhatnagar L , Jain M K , Aubert J P , *et al*. Comparison of assimilatory organic nitrogen, sulfur, and carbon sources for growth of methanobacteriumspecies. Applied and Environmental Microbiology, 1984, **48**(4):785-790

[21] Beeson P B , Rowley D. The anticomplementary effect of kidney tissue; its association with ammonia production. Journal of Experimental Medicine, 1959, **110**(5):685-697

[22] Larson A D , Kallio R E . Purification and properties of bacterial urease. Journal of Bacteriology, 1954, **68**(1):67-73

[23] Benini S , Cianci M , Mazzei L , *et al*. Fluoride inhibition of *Sporosarcina pasteurii* urease: structure and thermodynamics. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2014, **19**(8):1243-1261

[24] Holm L , Sander C . An evolutionary treasure: unification of a broad set of amidohydrolases related to urease. Proteins Structure Function and Bioinformatics, 1997, **28**(1):72-82

[25] Jeffries C D . Urease activity of intact and disrupted bacteria. Archives of Pathology, 1964, **77**: 544-547

[26] Jeffries C D . Intracellular microbial urease. Nature, 1964, **202**(4935): 930-930

[27] 吴洋 . 基于巴氏芽孢八叠球菌的生物矿化现象及分子机理的研究[D]. 天津:天津大学, 2017
Wu Yang. Study on the biomineralization and molecular mechanism based on *Sporosarcinapasteurii*[D]. Tianjin: Tianjin University, 2017

[28] Kim S D . Molecular cloning and expression of *Bacillus pasteurii* urease gene in *Escherichia coli*. Korean Journal of Applied Microbiology & Bioengineering, 1985, **13**(3):297-302

[29] Gerlach G F , Clegg S , Nichols W A . Characterization of the genes encoding urease activity of *Klebsiella pneumoniae*. FEMS Microbiology Letters, 1988, **50**(2-3):131-135

[30] Christians S , Kaltwasser H. Nickel-content of urease from *Bacillus pasteurii*. Arch. Microbiol, 1986, **145**:51-55

[31] Karplus P A, Pearson M A, Hausinger R P. 70 years of crystalline urease: what have we learned?. Accounts of Chemical Research, 1997, **30**(8), 330-337

[32] Benini S, Kosikowska P, Cianci M, *et al*. The crystal structure of *Sporosarcina pasteurii* urease in a complex with citrate provides new hints for inhibitor design. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2013, **18**(3):391-399

[33] Benini S , Rypniewski W R , Wilson K S , *et al*. A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from *Bacillus pasteurii*: why urea hydrolysis costs two nickels. Structure (London), 1999, **7**(2): 205-216

[34] Mulrooney S B , Ward S K , Hausinger R P . Purification and properties of the *Klebsiella aerogenes* UreE metal-binding domain, a functional metallochaperone of urease. Journal of Bacteriology, 2005, **187**(10):3581-3585

[35] Zambelli B , Cremades N , Neyroz P , *et al*. Insights in the (un) structural organization of *Bacillus pasteurii* UreG, an intrinsically disordered GTPase enzyme. Molecular BioSystems, 2011, **8**(1): 220-228

[36] Palombo M , Bonucci A , Etienne E , *et al*. The relationship between folding and activity in UreG, an intrinsically disordered enzyme. Scientific Reports, 2017, **7**(1):5977-5986

[37] Sigel A, Sigel H, Sigel R K O. The Ubiquitous Roles of

Cytochrome P450 Proteins. Metal Ions in Life Sciences, 2007, **3**(1):319-359

[38] Colpas G J ,Brayman T G , Ming L J , *et al*. Identification of metal-binding residues in the *Klebsiellaaerogenes* urease nickel metallochaperone, UreE. Biochemistry, 1999, **38**(13):4078-4088

[39] Musiani F ,Zambelli B , Stola M , *et al*. Nickel trafficking: insights into the fold and function of UreE, a urease metallochaperone. Journal of Inorganic Biochemistry, 2004, **98**(5):803-813

[40] Won H-S. Nickel-binding properties of the c-terminal tail peptide of *Bacillus pasteurii* UreE. Journal of Biochemistry, 2004, **136**(5): 635-641

[41] Lee Y H , Won H S , Lee M H , *et al*. Effects of salt and nickel ion on the conformational stability of *Bacillus pasteurii* UreE. FEBS Letters, 2002, **522**(1-3):135-140

[42] Carlsson H, Nordlander E . Computational modeling of the mechanism of urease. Bioinorganic Chemistry and Applications, 2010, **2010**(1):219-228

[43] Liu X , Zhang Q , Zhou N , *et al*. Expression of an acid urease with urethanaseactivity in *E. coli* and analysis of urease gene. Molecular Biotechnology, 2017, **59**(2-3):84-97

[44] Whiffin V S . Microbial $CaCO_3$ precipitation for the production of biocement[D]. Austrilia: Murdoch University, 2004

[45] Salama N R , Hartung M L , Müller, Anne. Life in the human stomach: persistence strategies of the bacterial pathogen *Helicobacter pylori*. Nature Reviews Microbiology, 2013, **11**(6): 385-399

[46] Mobley H L T . Characterzation of urease from *Campylobacter pylori*. Journal of Clinical Microbiology, 1988, **26**(5):831-836

[47] Talaiekhozani A , Keyvanfar A , Andalib R , *et al*. Application of\r, Proteus mirabilis\r, and\r, Proteus vulgaris\r, mixture to design self-healing concrete. Desalination and Water Treatment, 2014, **52**(19-21):3623-3630

[48] OnalOkyay T , Frigi Rodrigues D . High throughput colorimetric assay for rapid urease activity quantification. Journal of Microbiological Methods, 2013, **95**(3):324-326

[49] Braissant O , Verrecchia E P , Aragno M . Is the contribution of bacteria to terrestrial carbon budget greatly underestimated?. Die Naturwissenschaften, 2002, **89**(8):366-370

[50] Schneider J, Kaltwasser H . Urease from *Arthrobacter oxydans*, a nickel-containing enzyme. Archives of Microbiology, 1984, **139**(4):355-360

[51] Nakano H , Takenishi S , Watamabe Y . Purification and properties of urease from *Brevibacterium ammoniagenes*. Agricultural and Biological Chemistry, 1984, **48**(6):1495-1502

[52] Todd M J , Hausinger R P . Purification and characterization of the nickel-containing multicomponent urease from *Klebsiella aerogenes*. Journal of Biological Chemistry, 1987, **262**(13): 5963-5967

[53] Mahadevan S , Sauer F D , Erfle J D . Purification and properities of urease from *Bovine Rumen*. Biochemical Journal, 1977, **163**(3): 495-501

[54] Jones B D , Mobley H L . *Proteus mirabilis* urease: genetic organization, regulation, and expression of structural genes. Journal of Bacteriology, 1988, **170**(8):3342-3349

[55] Magaña-Plaza I, Montes C , Ruiz-Herrera J . Purification and biochemical characteristics of urease from *Proteus rettgeri*. Biochimica et Biophysica Acta, 1971, **242**(1):230-237

[56] Mulrooney S B , Lynch M J , Mobley H L , *et al*. Purification, characterization, and genetic organization of recombinant *Providencia stuartii* urease expressed by *Escherichia coli*. Journal of Bacteriology, 1988, **170**(5):2202-2207

[57] Hausinger R P . Purification of a nickel-containing urease from the rumen anaerobe *Selenomonasruminantium*. Journal of Biological Chemistry, 1986, **261**(17):7866-7870

[58] Carvajal N, Fernández M, Rodríguez J P, *et al*. Urease of *Spirulina maxima*. Phytochemistry, 1980, **21**(12):2821-2823

[59] SchäFer U K , Kaltwasser H . Urease from *Staphylococcus saprophyticus*: purification, characterization and comparison to *Staphylococcus xylosusurease*. Archives of Microbiology, 1994, **161**(5):393-399

[60] Eng H , Robertson J A , Stemke G W . Properties of urease from *Ureaplasmaurealyticum* : kinetics, molecular weight, and demonstration of multiple enzyme isoelectric point forms. Canadian Journal of Microbiology, 1986, **32**(6):487-493

[61] Creaser E H , Porter R L . The purification of urease from *Aspergillus nidulans*. International Journal of Biochemistry, 1985, **17**(12):1339-1341

[62] Casey J R , Grinstein S , Orlowski J . Sensors and regulators of intracellular pH. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2009, **11**(1):50-61

[63] Cuzman OA, Richter K, Wittig L, Tiano P. Alternative nutrient sources for biotechnological use of *Sporosarcina pasteurii*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2015, **31**(6):897-906

[64] Masover G K , Razin S , Hayflick L . Localization of enzymes in *Ureaplasmaurealyticum*(T-strain mycoplasma). Journal of Bacteriology, 1977, **130**(1): 297-302

[65] 张欣康, 刘兴平, 曾玲, 等. 藤壶附着:从基底探测到胶的固化. 生物化学与生物物理进展, 2017, **44**(3):31-41
Zhang X K, Liu X P, Zeng L, *et al*. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2017, **44**(3):31-41

[66] Anbu P , Kang C H , Shin Y J , *et al*. Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. SpringerPlus, 2016, **5**(1):250-275

[67] Masover G K , Razin S , Hayflick L . Localization of enzymes in *Ureaplasmaurealyticum* (T-strain mycoplasma). Journal of Bacteriology, 1977, **130**(1):297-302

[68] Stocks-Fischer S , Galinat J K , Bang S S . Microbiological precipitation of $CaCO_3$. Soil Biology and Biochemistry, 1999, **31**(11):1563-1571

[69] Hammes F , Verstraete W . Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2002, **1**(1):3-7

[70] MaL, Pang A P, Luo Y S, *et al*. Benefcial factors for biomineralizationby ureolytic bacterium *Sporosarcinapasteurii*.

Microbial Cell Factories, 2020, **19**:12

[71] Muynck W D , Belie N D , Verstraete W . Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review. Ecological Engineering, 2010, **36**(2):118-136

[72] Ehrlich H L . How Microbes influence mineral growth and dissolution. Chemical Geology, 1996, **132**(1-4):5-9

[73] McConnaugheya T A, Whelanb J F. Calcification generates protons for nutrient and bicarbonate uptake. Earth-Science Reviews, 1997, **42**(1-2): 95-117

[74] Tittelboom K V , Belie N D , Muynck W D , *et al*. Use of bacteria to repair cracks in concrete. Cement and Concrete Research, 2010, **40**(1):157-166

[75] Kim I G , Jo B H , Kang D G , *et al*. Biomineralization-based conversion of carbon dioxide to calcium carbonate using recombinant carbonic anhydrase. Chemosphere, 2012, **87**(10): 1091-1096

[76] Graddy C M R, Gomez M G, Kline L M, *et al*. Diversity of sporosarcina-like bacterial strains obtained from meter-scale augmented and stimulated biocementation experiments. Environmental Science & Technology Es & T, 2018, **52**(7), 3997-4005

[77] Dhami N K , Reddy M S , Mukherjee A . Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: a review[J]. Frontiers in Microbiology, 2013, 4(October)

[78] 钱春香, 罗勉, 潘庆峰, 等 . 自修复混凝土中微生物矿化方解石的形成机理 . 硅酸盐学报, 2013, **41**(05): 620-626
Qian C X, Luo M, Pan Q F, *et al*. Journal of The Chinese Ceramic Society, 2013, **41**(05): 620-626

[79] 荣辉, 钱春香, 李龙志 . 微生物水泥胶结机理 . 硅酸盐学报, 2013, **41**(3):314-319
Rong H, Qian C X, Li L Z. Journal of The Chinese Ceramic Society, 2013, **41**(3):314-319

[80] Yu X N , Qian C X , Wang X . Cementing mechanism of bio-phosphate cement. Science China Technological Sciences, 2015, **58**(6):1112-1117

[81] Rong H , Qian C X . Binding functions of microbe cement. Advanced Engineering Materials, 2015, **17**(3):334-340

[82] Qian C X , Yu XN . A study on the cementation interface of bio-cement. Materials Characterization, 2018, **136**:122-127

[83] Chu J , Ivanov V , Naeimi M , *et al*. Optimization of calcium-based bioclogging and biocementation of sand. Acta Geotechnica, 2013, **9**(2), 277-285

[84] OnalOkyay T , Frigi Rodrigues D . Optimized carbonate micro-particle production by *Sporosarcinapasteurii* using response surface methodology. Ecological Engineering, 2014, **62**:168-174

[85] Sookie S Bang, Johnna K Galinat, V Ramakrishnan. Calcite precipitation induced by polyurethane-immobilized *Bacillus pasteurii*. Enzyme and Microbial Technology, 2001, **28**(4): 404-409

[86] Ma Y F , Gao Y H , Feng Q L . Effects of pH and temperature on $CaCO_3$ crystallization in aqueous solution with water soluble matrix of pearls. Journal of Crystal Growth, 2010, **312**(21): 3165-3170

[87] Hu Y B , Wolthers M , Wolf-Gladrow D A , *et al*. Effect of pH and phosphate on calcium carbonate polymorphs precipitated at near-freezing temperature. Crystal Growth & Design, 2015, **15**(4): 1596-1601

[88] Abo-El-Enein S A, Ali A H, Talkhan F N, *et al*. Utilization of microbial induced calcite precipitation for sand consolidation and mortar crack remediation. HBRC Journal, 2012, **8**(3):185-192

[89] Achal V , Pan X . Influence of calcium sources on microbially induced calcium carbonate precipitation by*Bacillussp*. CR2. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, **173**(1):307-317

[90] Zhang Y , Guo H X , Cheng X H . Influences of calcium sources on microbially induced carbonate precipitation in porous media. Materials Research Innovations, 2014, **18**(S2):S2-79-S2-84

[91] Zhang Y , Guo H X , Cheng X H . Role of calcium sources in the strength and microstructure of microbial mortar. Construction and Building Materials, 2015, **77**:160-167

[92] 梁仕华, 牛九格, 房采杏, 等 . 钙源对微生物沉积碳酸钙固化砂土的试验研究 . 工业建筑, 2018, **48** (7):15-20
Liang S H, NiuJ G, Fang C X, *et al*. Industrial Construction, 2018, **48** (7):15-20

[93] 朱纪康,周杨,王殿龙,等 . 基于微生物诱导矿化的钙质砂加固影响因素 . 地质科技情报, 2019, **38**(06): 206-211
Zhu J K, Zhou Y, Wang D L, *et al*. Geological Science and Technology Information, 2019, **38**(06): 206-211

[94] Salwa Al-Thawadi, Ralf Cord-Ruwisch, Mohamed Bououdina. Consolidation of sand particles by nanoparticles of calcite after concentrating ureolytic bacteria in situ. International Journal of Green Nanotechnology, 2012, **4**(1): 28-36

[95] Qabany A A, Soga K, SantanarinaC. Factors affect-ing efficiency of microbially induced calcite precipitation. Journal of Geo technical and Geo environmental Engineering, 2011, **138**(8): 922-1001

[96] Dworatzek S, Gomez M G, Martinez B C, *et al*. Field-scale bio-cementation tests to improve sands. Proceedings of the Institutuion Civil Engineers: Ground Improvement, 2014, **168**(3), 206-216

[97] Omoregie A I , Khoshdelnezamiha G , Senian N , *et al*. Experimental optimisation of various cultural conditions on urease activity for isolated *Sporosarcinapasteurii* strains and evaluation of their biocement potentials. Ecological Engineering, 2017, **109**:65-75

[98] 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*. Materials Science& Engineering C-Biomimeticand Supramolecular Systems, 2009, **29**(4):1273-1280

[99] Mortensen B M , Haber M J , Dejong J T , *et al*. Effects of environmental factors on microbial induced calcium carbonate precipitation. Journal of Applied Microbiology, 2011, **111**(2): 338-349

[100] Terzis D, Laloui L . 3-D micro-architecture and mechanical response of soil cemented *via* microbial-induced calcite precipitation. Scientific Reports, 2018, **8**(1):1416-1426

[101] 欧益希, 方祥位, 张楠, 等. 溶液盐度对微生物固化珊瑚砂的影响. 后勤工程学院学报, 2016, **32**(1):78-82
OuY X, Fang X W, Zhang N, *et al*. Journal of Logistics Engineering College, 2016, **32**(1): 78-82

[102] Kantzas A, Ferris F G, Stehmeier L G, *et al*. Bacteriogenic mineral plugging. Journal of Canadian Petroleum Technology, 1997, **36**(09):56-61

[103] WhiffinV , Paassen L V , Harkes M . Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. Geomicrobiology Journal, 2007, **24**(5):417-423

[104] Qian C X, Rong H, Yu X N, *et al*. Experiments on and predictions about properties of sand bonded by microbe cement. Science in China: Technical Science(English version), 2016, **59**(8): 1186-1193

[105] Rong H , Qian C X , Li L Z . Influence of molding process on mechanical properties of sandstone cemented by microbe cement. Construction & Building Materials, 2012, **28**(1):238-243

[106] Qabany A A, Soga K. Effect of chemical treatment used in MICP on engineering properties of cemented soils. Geo Technique, 2013, **63**(4):331-339

[107] Tobler D J , Maclachlan E , Phoenix V R . Microbially mediated plugging of porous media and the impact of differing injection strategies. Ecological Engineering, 2012, **42**: 270-278

[108] Zhao Q, Li L, Li C, *et al*. Factors affecting improvement of engineering properties of MICP-treated soil catalyzed by bacteria and urease. J Mater Civ Eng, 2014, **26**(12): 04014094

[109] Kang C H , Choi J H , Noh J G , *et al*. Microbially induced calcite precipitation-based sequestration of strontium by *Sporosarcina pasteurii* WJ-2. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, **174**(7):2482-2491

[110] van Paassen L A, Ghose R, Linden T, *et al*. Quantifying biomediatedground improvement by ureolysis: large-scale biogroutexperiment. J Geotech Geoenviron Eng, 2010, **136**: 1721-1728

[111] Mörsdorf G, Kaltwasser H . Ammonium assimilation in *Proteus vulgaris*, *Bacillus pasteurii*, and *Sporosarcinaureae*. Archives of Microbiology, 1989, **152**(2):125-131

[112] Kristiansen, B. Process economics//Ratledge C, Kristiansen B. Basic Biotechnology. 2nd. Cambridge: Cambridge University Press, 2001: 239-252

[113] Yoosathaporn S , Tiangburanatham P , Bovonsombut S, *et al*. A cost effective cultivation medium for biocalcification of *Bacillus pasteurii* KCTC 3558 and its effect on cement cubes properties. Microbiological Research, 2016, **186-187**: 132-138

[114] Ferris F G , Stehmeier L G , Kantzas A , *et al*. Bacteriogenic mineral plugging. Can Petr Technol, 1996, **35**(8):56-61

[115] Ramachandran S K , Ramakrishnan V , Bang S S . Remediation of concrete using microorganisms. ACI Materials, 2001, **98**: 3-9

[116] 王瑞兴, 钱春香, 王剑云, 等. 水泥石表面微生物沉积碳酸钙覆膜的不同工艺. 硅酸盐学报, 2008, **36**(10):1378-1384
Wang R X, Qian C X, Wang J Y, *et al*. Journal of The Chinese Ceramic Society, 2008, **36**(10):1378-1384

[117] 王瑞兴, 钱春香. 微生物沉积碳酸钙修复水泥基材料表面缺陷. 硅酸盐学报, 2008, **36**(4):37-44
Wang R X, Qian C X.. Journal of The Chinese Ceramic Society, 2008, **36**(4):37-44

[118] Jonkers H M . Self healing concrete: a biological approach. Self Healing Materials, 2007, **100**: 195-204

[119] Jonkers H M , Thijssen A , Muyzer G , *et al*. Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. Ecological Engineering, 2010, **36**(2):230-235

[120] Ednie-Brown Pia, Burry Mark, Burrow Andrew. BioMASON and the speculative engagements of biotechnical architecture. Architectural Design, 2013, **83**(1): 84-91

[121] Randall DG, Naidoo V. Urine: The liquid gold of wastewater. Journal of Environmental Chemical Engineering. 2018, **6**(2): 2627-2635

[122] Harkes M , Booster J, Van Paassen L, *et al*. Microbial inducedcarbonate precipitation as ground improvement method-bacterial fixation and empirical correlation $CaCO_3$ *vs* strength. Proceedings of the 1st International Conference on Bio-Geo-Civil Engineering, 2008, **1**(1):23-25

[123] Larson M . Professor uses bacteria to make ecofriendly bricks. Architectural Record, 2010, **198**(8):29

[124] Macherone A, Ranganathan N, Patel B, *et al*. *Bacillus pasteurii*: a small microbe with huge potential. Journal of The American Society of Nephrology, 2002, **13**(1):766

[125] 荣辉, 钱春香, 王欣. 微生物水泥基材料抗冻性和抗冲刷性. 功能材料, 2014, **45**(11):11091-11095
Rong H Qian C X, Wang X. Functional Materials, 2014, **45**(11): 11091-11095

[126] Chen H J , Huang Y H , Chen C C , *et al*. Microbial induced calcium carbonate precipitation (MICP) using pig urine as an alternative to industrial urea. Waste and Biomass Valorization, 2019, **10**: 2887-2895

# Progress on Mineralization Mechanism and Application Research of *Sporosarcina pasteurii*

PEI Di[1)], LIU Zhi-Ming[1,2)*], HU Bi-Ru[1)], WU Wen-Jian[1)]

([1)]*College of Science, National University of Defense Technology, Changsha* 410073, China;

[2)]*Academy of Chemical Defense, Academy of Military Science, Beijing* 102205, China)

**Abstract** The *Sporosarcina pasteurii* which has the function of inducing calcium carbonate mineralization is discussed, together with the structure and function of its mineralizingcore enzyme urease. The microbial mineralization mechanism of *Sporosarcina pasteurii* and its related molecular mechanismsis summarized systematically. The current research status and typical application cases of mineralization applications of *Sporosarcina pasteurii* are introduced briefly in many fields around the world. The application prospects of corresponding microbial mineralization technology in specific environments and their deficiencies in future applications are discussed.The related analyses and discussions are of great significance for further facilitating the application of microbial mineralization technology.

**Key words** *Sporosarcina pasteurii*, mineralization, urease, calciumcarbonate, MICP

**DOI**：10.16476/j.pibb.2020.0012

* Corresponding author.

Tel：86-731-87001815，E-mail：lzm@nudt.edu.cn.

Received：January 10，2020 Accepted：March 27，2020