

# 基于芽胞的混凝土微生物原位修复技术研究进展

徐建妙, 谢卡茜, 程峰, 贾东旭, 柳志强, 王远山

浙江工业大学 生物工程学院, 浙江 杭州 310014

徐建妙, 谢卡茜, 程峰, 等. 基于芽胞的混凝土微生物原位修复技术研究进展. 生物工程学报, 2021, 37(7): 2351-2365.

Xu JM, Xie KX, Cheng F, et al. Research progress in spore-based *in-situ* restoration technology of concrete with microorganisms. Chin J Biotech, 2021, 37(7): 2351-2365.

**摘要:** 混凝土是最广泛使用的现代建筑材料, 在应力作用下易于开裂, 使混凝土结构具有渗透性, 影响其耐用性和完整性, 进而缩短使用寿命。混凝土微生物原位修复技术是一种廉价、有效、绿色的方式, 因其具有良好的生物相容性、延长混凝土服役寿命、减少经济损失与环境污染等特点, 已成为研究热点。其中, 芽胞杆菌因良好的生物矿化能力且其芽胞具有极强的环境耐受能力和长期存活能力而备受关注。为推动微生物原位修复混凝土的研究开发及规模化应用, 文中综述了基于芽胞的混凝土原位修复机理、芽胞在混凝土中的生存情况、芽胞与外添加剂对混凝土机械性能的影响、修复剂的开发和修复效果等方面的进展, 并指出了将来的研究重点, 如提高芽胞在混凝土内部恶劣环境下的存活能力、降低外添加剂对混凝土机械性能的影响和强化实际现场应用的修复效果等。

**关键词:** 混凝土原位修复, 微生物修复机理, 芽胞, 自修复剂

## Research progress in spore-based *in-situ* restoration technology of concrete with microorganisms

Jianmiao Xu, Kaxi Xie, Feng Cheng, Dongxu Jia, Zhiqiang Liu, and Yuanshan Wang

College of Biotechnology and Bioengineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, Zhejiang, China

**Abstract:** Concrete is the most widely used modern building material. It is easy to crack under the action of stress, which makes the concrete structure permeable, affecting the durability and integrity of the structure, and thus shortening its service life. Microbial *in-situ* remediation technology is a low cost, effective and green way for concrete crack repairing. Due to its excellent biocompatibility, service life elongation, economic losses and environmental pollution reduction, microbial *in-situ* remediation technology has been intensively investigated. *Bacillus* has attracted much attention because of its excellent biomineralization ability, extremely strong environmental tolerance and long-term survival ability of its spores. In order to promote the research, development and large-scale application of microbial *in-situ* healing of concrete, the paper reviews the mechanism of spore-based *in-situ* healing of concrete, the survival of spores exposed in concrete, the influence of spores and external additives on the mechanical properties of concrete, progress in research and development of healing agent as well as healing effects. Moreover, future research focuses such as improving the survival ability of spores in the harsh environment of concrete, reducing the influence of external additives on the mechanical properties of concrete, and strengthening the healing effect of actual field applications are also summarized.

**Keywords:** concrete *in-situ* healing, microbial heal mechanism, spore, self-healing agent

Received: August 3, 2020; Accepted: October 28, 2020

Corresponding author: Yuanshan Wang. Tel: +86-571-88320391; Fax: +86-571-88320630; E-mail: yuanshan@zjut.edu.cn

混凝土是最广泛使用的现代建筑材料,在许多领域都发挥着不可或缺的作用,具有抗压强度高、耐久性强、种类多和价格便宜等优点<sup>[1]</sup>。但混凝土在内部和外部应力作用下仍易于开裂,使混凝土结构产生渗透,破坏其耐用性和完整性,从而缩短使用寿命,造成巨大经济损失<sup>[2]</sup>。混凝土结构的维护和保养需要大量劳力和资金<sup>[3]</sup>。传统的混凝土结构修复技术一般是较为被动、消极的事后补救或定期修复行为,高度依赖于定期检查和人类的感知,受到地理位置、人力、环境、时间以及后期污染等因素的制约,存在较大的难度。因此开发廉价、有效、绿色的修复方式意义重大<sup>[4-5]</sup>。

混凝土裂缝的微生物修复是一种新型修复技术,具有良好的生物相容性,能够延长混凝土的服役寿命,无需特意的人力控制就能在很大程度上提高混凝土结构的耐久性,是目前最有希望的修复技术,应用前景极为广阔。其机理是,裂缝产生后,由于微生物新陈代谢导致以碳酸钙为代表的难溶性矿物产生,这些矿物与混凝土的相容性极高,使裂缝得以修复<sup>[6]</sup>。Algaifi 等<sup>[7]</sup>在人造混凝土裂缝中填充了球形芽胞杆菌、营养物和钙源,经 X 射线衍射 (X-ray diffraction, XRD) 分析,微生物矿化沉积物质为碳酸钙,70 d 后宽度 0.4 mm 的裂缝被完全修复。

混凝土水化过程中会释放大量的热量,温度可达 60 °C,而且搅拌过程中会产生较高剪切力。此外,凝固后的混凝土内部是一个相对密闭的高碱、干燥环境,特别是在新浇筑的混凝土中<sup>[8]</sup>,pH 高达 12.0–13.0,因此生物原位修复混凝土的有效性严格取决于微生物的生存能力。芽胞具有极强的抗逆性,能够在极端恶劣条件存活,非常适合混凝土中的应用。又因为水泥水化会导致混凝土内部空隙细化,造成菌体的生存空间变小甚至消失,需要给芽胞提供一个合适的载体——既能增加其对外围环境的抗逆性,又能提高其在裂缝产生后的萌发效率。目前研究较多的载体主要有微胶囊、膨胀珍珠岩、硅藻土、陶粒、水凝胶和石墨纳米片等<sup>[9]</sup>。

笔者所在实验室已从土壤等环境样品中筛选到了一株脲酶活力较高的芽胞杆菌,对其进行芽胞耐碱性、耐高温驯化<sup>[10]</sup>,并研究了由膨胀珍珠岩、陶粒、硅藻土负载对短芽胞杆菌裂缝修复效果的影响,结果表明,三者均有促进混凝土裂缝修复的功效。后续将探究芽胞在混凝土环境下的真实萌发率,通过测量渗水率、最大修复宽度、修复百分比、抗压强度、抗弯强度等相关指标,建立完整的、系统的混凝土微生物原位修复效果评价体系。

结合实际研究和近年来的文献,本文综述了基于芽胞的混凝土原位修复技术机理、芽胞在混凝土中的生存情况、芽胞与外添加物对混凝土机械性能的影响、修复剂的开发和修复效果等方面的进展,并总结了将来的研究重点,以期为混凝土生物原位修复技术的研究提供借鉴。

## 1 基于芽胞的微生物原位修复技术的机理

微生物碳酸钙沉积有多种途径,包括有氧光合作用、产氧光合作用、甲烷氧化、硫循环、氮循环、有机化合物的代谢转化等<sup>[11]</sup>,其所适用的菌种、应用范围均有所不同,如表 1 所示。目前已有的途径并不是都适用于芽胞,基于芽胞的微生物修复技术的修复机理主要为氮循环和有机化合物的代谢转化。

### 1.1 氮循环

在这种情况下,有机氮通过细菌的参与被转化为矿物质,反之,有些细菌可通过反硝化作用产生矿物质。某些细菌,例如巴斯德芽胞杆菌、球形芽胞杆菌等,在以下途径中通过氮循环沉淀出碳酸钙。

#### 1.1.1 尿素降解

巴斯德芽胞杆菌、球形芽胞杆菌等细菌能够产生脲酶,脲酶将尿素水解,生成氨基甲酸酯和  $\text{NH}_3$ ,进一步形成碳酸钙沉淀<sup>[12-13]</sup>。此外,尿素的自发水解会生成碳酸和其他  $\text{NH}_3$ 。 $\text{NH}_3$  再与水反应生成氢氧根离子,后者与碳酸反应并生成碳

酸根离子。其中,细菌在碳酸钙的沉淀中起着非常重要的作用<sup>[14]</sup>。细菌为碳酸钙沉淀提供了成核位点。由于细菌细胞壁带负电,因此细菌可以从环境中吸收阳离子,包括带正电的钙离子,这些离子沉积在细胞壁表面。钙离子与碳酸根离子反应产生碳酸钙,导致  $\text{CaCO}_3$  在细菌细胞表面沉淀<sup>[15-16]</sup>。然后,该沉淀物也用作成核位点,以促进修复过程。借助于局部细菌沉淀,可以填充水泥复合材

料的开裂面(图 1-2)。

### 1.1.2 反硝化

假单胞菌属、硫杆菌属、脱氮菌属、产碱菌属、微球菌属和电杆菌属等属的厌氧细菌将硝酸盐还原为氮气<sup>[1]</sup>。以  $\text{NO}_3^-$  代替  $\text{O}_2$  作为电子受体,在有机物的微生物氧化过程中发生  $\text{NO}_3^-$  的生物还原<sup>[17]</sup>。在足量的钙离子存在下,  $\text{NO}_3^-$  的还原会引起碳酸钙的沉淀。

表 1 用于混凝土结构的具有相应细菌和合适环境条件的  $\text{CaCO}_3$  沉积机制

Table 1  $\text{CaCO}_3$  deposition mechanism for concrete structures with corresponding bacteria and suitable environmental conditions

Pathway	Bacterial	Mechanism	Applicable environment	References
Oxygenic photosynthesis	Cyanobacteria	$\text{CH}_3\text{C(=O)C(=O)O}^- + \text{HSCoA} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{C(=O)SCoA} + \text{NADH} + \text{CO}_2$ $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$ $\text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ $\text{Ca}^{2+} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}^+$	Concrete structure in sea water or alkaline lake	[18-20]
Anoxygenic photosynthesis	Green sulphur bacteria, acidobacteria and purple bacteria	$6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 12\text{S} + 6\text{H}_2\text{O}$ $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$ $\text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ $\text{Ca}^{2+} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}^+$	This approach has not been used for microbial concrete. If this path is used, it can be used for concrete structures with high $\text{H}_2\text{S}$ content	[21]
Oxidation of methane	Methanotrophs	$\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{HS}^- + \text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}^{2+} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}^+$ or $\text{CH}_4 + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$ $\text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ $\text{Ca}^{2+} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}^+$	This approach is also not used in concrete. If this path is used, this mechanism is particularly useful for concrete structures required for dumping solid waste	[22-23]
Sulphur cycle	Sulphate-reducing bacteria	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}^{2+} + \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}_2\text{O}$ $2(\text{CH}_2\text{O}) + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{H}_2\text{S} + 2\text{HCO}_3^- + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}^{2+} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}^+$ or $\text{CaSO}_4 + 2(\text{CH}_2\text{O}) \rightarrow \text{CaS} + 2\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{CaS} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca(OH)}_2 + \text{H}_2\text{S}$ $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$ $\text{Ca(OH)}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{CaCO}_3 + 2\text{H}_2\text{O}$	Due to the generation of $\text{H}_2\text{S}$ , it is not recommended to use this approach in the internal matrix of concrete. It is suitable for biological removal of black skin on historical stone artworks	[24-26]
Nitrogen cycle (Urea degradation)	<i>Sporosarcina pasteurii</i> , <i>Bacillus sphaericus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , etc	$\text{CO(NH}_2)_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_2\text{COOH} + \text{NH}_3$ $\text{NH}_2\text{COOH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{CO}_3$ $2\text{NH}_3 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + 2\text{OH}^-$ $2\text{OH}^- + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}^{2+} + \text{Cell} \rightarrow \text{Cell-Ca}^{2+}$ $\text{Cell-Ca}^{2+} + \text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{Cell-CaCO}_3$	Microbial concrete	[11]
Nitrogen cycle (Denitrification)	<i>Pseudomonas</i> , <i>Thiobacillus</i> , <i>Denitrobacillus</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Diaphorobacter</i> , etc	$2\text{HCOO}^- + 2\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ \rightarrow 2\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{NO}_2^-$ $\text{HCOO}^- + 2\text{NO}_2^- + 3\text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{NO} + 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{HCOO}^- + 2\text{NO} + \text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{N}_2\text{O} + 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{HCOO}^- + 2\text{N}_2\text{O} + \text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + \text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}^{2+} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CaCO}_3 + 2\text{H}^+$	Microbial concrete	[1,17]
Metabolic conversion of organic compound	<i>Bacillus pseudofirmus</i> , <i>Bacillus cohnii</i> , etc	$\text{Ca}^{2+} + \text{Cell} \rightarrow \text{Cell-Ca}^{2+}$ $\text{Cell-Ca}^{2+} + \text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{Cell-CaCO}_3$	Microbial concrete	[1,27]

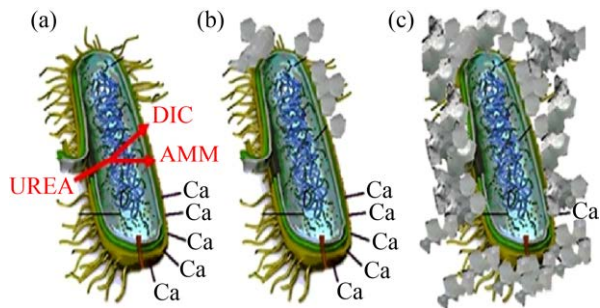


图1 细菌细胞壁上  $\text{CaCO}_3$  的形成<sup>[28]</sup>

Fig. 1  $\text{CaCO}_3$  formation on bacterial cell wall<sup>[28]</sup>. DIC: dissolved inorganic carbon; AMM: ammonia.

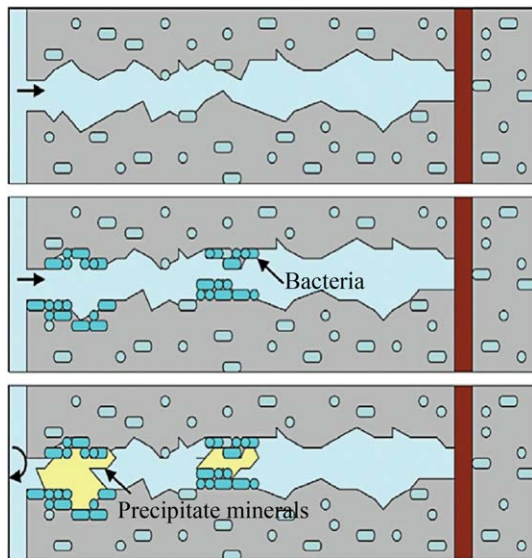


图2 芽胞杆菌修复混凝土裂缝的过程<sup>[29]</sup>

Fig. 2 The process of *Bacillus* healing concrete cracks<sup>[29]</sup>.

## 1.2 有机化合物的代谢转化

在这种方法中, 碳酸钙的沉淀取决于嗜碱芽胞杆菌、科氏芽胞杆菌等需氧细菌利用碳源 (如乳酸钙等有机化合物) 产生二氧化碳或碳酸根离子的能力, 细菌为碳酸钙沉淀提供成核位点, 二氧化碳与碳酸根离子与细菌细胞壁上的钙离子反应形成细菌碳酸钙沉淀<sup>[1]</sup>。

## 2 芽胞的固载

### 2.1 裸芽胞在混凝土基体恶劣条件下的存活

前节中已经叙述了芽胞相较于营养细胞的优

势, 所以在混凝土原位修复中以芽胞形式掺入混凝土中以提高生物修复剂的存活能力是更好的也更常见的选择。但混凝土基体具有致密结构, 孔径  $< 1 \mu\text{m}$ , 且随着时间的延长, 孔有变小的趋势<sup>[27]</sup> (图3)。而芽胞的大小一般为  $0.8\text{--}1.0 \mu\text{m}$ 。因此, 在水泥水化过程中芽胞有可能被压缩致死<sup>[30]</sup>。

巴氏芽胞杆菌在水泥浆中放置 1 d 后, 活细胞数量减少了 80%。7 d 和 28 d 后, 分别只有 1% 和 0.4% 的细胞存活<sup>[31]</sup>。球形芽胞杆菌芽胞在混凝土中仅存活了 2 d<sup>[32]</sup>。笔者实验室的短芽胞杆菌芽胞在混凝土中的存活情况也不理想, 3 周后几乎没有芽胞存活。目前已报道的芽胞在混凝土中最长存活时间是 4 个月<sup>[27]</sup>。以上结果突显了裸细胞/芽胞在混凝土条件下的不适应性。尽管使用芽胞可以提高存活率, 但混凝土的逐渐收缩最终也会破坏芽胞。因此, 没有某种形式的保护或封装, 细菌细胞和芽胞通常无法在混凝土基体恶劣条件下长期生存, 用载体保护芽胞很有必要。Wang 等<sup>[33]</sup>考察了在模拟混凝土环境中载体添加对球形芽胞杆菌存活能力的影响, 以尿素分解量作为指标, 水泥浆中游离细菌仅分解了 5% 的尿素, 经硅藻土负载的细菌分解了约 60% 的尿素, 表明载体可以显著提高微生物的存活能力。

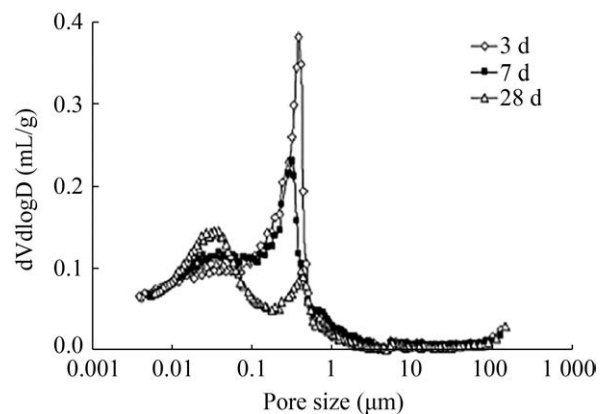


图3 混凝土 (无细菌) 的孔径分布<sup>[27]</sup>

Fig. 3 Pore size distribution of concrete (without bacteria)<sup>[27]</sup>.

## 2.2 相关载体及其在混凝土中的应用

混凝土原位修复的理想载体应具有以下特性：(1) 具有生物相容性；(2) 不影响混凝土本身的机械性能；(3) 具有足够的机械强度以承受混凝土形成过程中的外力作用，不会在裂缝形成之前破裂并释放微生物<sup>[34]</sup>。

### 2.2.1 微胶囊

微胶囊应符合以下要求：1) 足够坚固以在水化阶段保持微生物的存活率并在裂缝形成时破裂；2) 与周围的水泥浆有良好的黏合；3) 破裂时能够将微生物和养分释放到裂缝中<sup>[35]</sup>。微胶囊法原位修复过程是：裂缝发生并在混凝土中扩散时，沿裂缝路径中的微胶囊破裂，修复剂释放到裂缝中，从而实现裂缝的原位修复<sup>[36]</sup> (图 4)。

Wang 等<sup>[37]</sup>研究了微胶囊对原位修复混凝土的强度、渗透性和长期收缩的影响。结果表明，

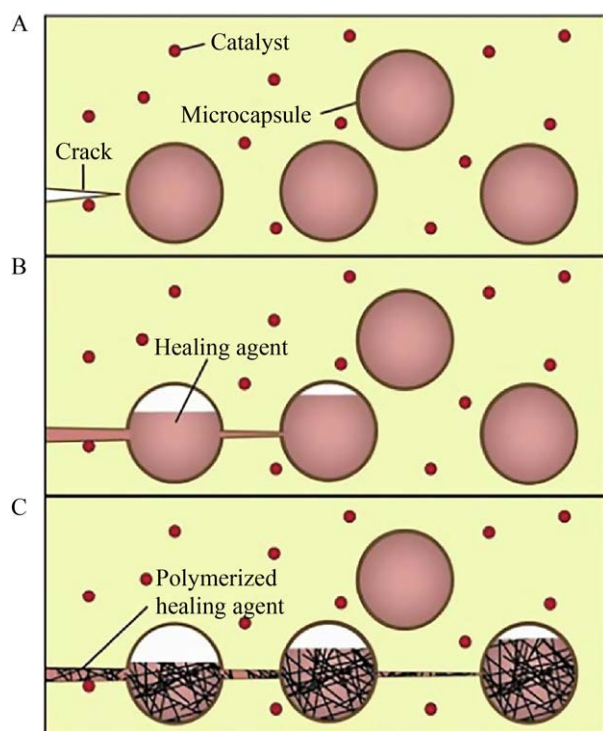


图 4 微胶囊固载微生物修复混凝土裂缝的过程<sup>[29]</sup>

Fig. 4 The process of healing concrete cracks with microcapsule immobilized microorganisms<sup>[29]</sup>. (A) Formation of cracks in concrete. (B) Process of releasing healing agent. (C) Process of crack healing.

含微胶囊的混凝土的原位修复功能随时间延长逐渐增加。微胶囊的长期使用导致混凝土收缩量增加，但收缩的量对于实际应用是可以接受的。在野外试验中，实验组与对照组的收缩量没有显著差异，这充分说明基于微胶囊的混凝土原位修复的可行性。

目前，微胶囊技术在混凝土修复方面的研究较多，已经证实了微胶囊固载微生物能提高修复效果<sup>[9,37-38]</sup>。通过调节胶囊内修复剂种类及胶囊掺量以用于不同情况下裂缝的原位修复。未来仍需加强对微胶囊壁材的寻找，既要具有一定机械强度，为芽胞提供保护，又要具有一定通透性，维持芽胞的萌发活性。

### 2.2.2 多孔材料

当混凝土裂缝出现时，水分和空气随着裂缝的纹路扩散并触发到多孔材料中的芽胞，此时芽胞萌发形成营养细胞，营养细胞通过一系列新陈代谢活动并利用混凝土中的钙源生成碳酸钙以修复裂缝<sup>[29]</sup>。

#### (1) 膨胀珍珠岩 (Expanded perlite, EP)

EP 是一种广泛应用的具有高孔隙率和高吸水率的建筑材料，在混凝土原位生物修复中被认为是一种理想的微生物载体材料。Zhang 等<sup>[39]</sup>研究了 EP 作为载体固定芽胞在混凝土裂缝修复中的可行性。结果表明，掺有 EP 固定芽胞的标本具有最有效的裂缝修复能力。此发现证明了 EP 作为新型载体在微生物原位修复混凝土研发中的应用潜力。

#### (2) 硅藻土 (Diatomaceous earth, DE)

硅藻土高度多孔、化学稳定，主要用作油漆和塑料的过滤剂和功能性填料，如今也被选作微生物载体，用于混凝土原位修复。Wang 等<sup>[33]</sup>以 DE 为球形芽胞杆菌载体，研究 DE 固定的细菌在裂缝原位修复中的潜在用途。研究发现固定细菌的 DE 样品吸水率最低，这说明 DE 对细菌具有保护作用。

#### (3) 陶粒

Xu 等<sup>[40]</sup>以陶粒为微生物载体，评价了修复剂

组分与混凝土的相容性并研究了混凝土裂缝的修复效果, 结果发现将芽胞、养分固载于陶粒中并将其掺入混凝土, 开裂破坏后的试件养护 28 d 后, 其抗压强度恢复率达到 62.9%, 吸水率明显低于基准组, 裂缝中的白色沉淀经 XRD 图谱分析确定为方解石型  $\text{CaCO}_3$ , 且裂缝最大修复宽度达 0.51 mm。

与其他材料相比, 陶粒粒径较大, 不易均匀分散到混凝土中, 在混凝土制作过程中通常会被搅拌器打碎, 可能导致破碎面的芽胞直接面临高碱环境与搅拌挤压的冲击。所以在选择陶粒时既要考虑陶粒的粒径, 也要考虑其硬度, 生产工艺、原料不同, 抗剪切能力也会不同<sup>[41]</sup>。

### 2.2.3 其他材料

Khaliq 等<sup>[42]</sup>研究了轻质骨料 (Light weight aggregate, LWA) 和纳米石墨片 (Graphite nanoplatelet, GNP) 作为载体对混凝土机械性能及修复效果的影响。发现含 GNP 的标本对早期的预开裂样品修复效果较好, 这是因为 GNP 粒径小, 能够均匀分布在水泥中, 从而实现了最大裂缝修复效率。但是, 对于晚期预开裂的样品而言, 含 GNP 试样的裂缝修复效果明显下降, 可能是由于混凝土内部空隙细化, 对负载剂产生压力, GNP 强度较弱而被破坏, 降低了芽胞的存活率, 所以 GNP 的修复效果不如 LWA。

水是微生物生命活动必不可少的物质, 充足的水分供应是微生物原位修复系统中影响修复效果的决定性因素。在没有人为干预的情况下, 获得足够的水分用于微生物活动和自体修复对于实现自我修复至关重要。水凝胶是具有聚合物链网络的亲水性凝胶, 具有高吸水性, 并且能保留大量水或水溶液。因此, 水凝胶用作负载剂既可保护芽胞又可用作储水剂。Wang 等<sup>[43]</sup>将芽胞封装于水凝胶中, 然后加入混凝土样本中研究其修复效率。结果表明利用水凝胶包埋的芽胞进行原位修复能够提高裂缝填充量和降低透水性。

修复剂应用于实际混凝土后调控难度较大, 基于芽胞的混凝土原位修复技术的调控范围限于前期载体、芽胞、养分、钙源的筛选及其掺入量的优化。通过改变上述因素以调控碳酸钙的晶型、形貌与沉积速率, 进而调控混凝土裂缝的修复效果<sup>[10]</sup>。此外, 可通过固化剂固化<sup>[44]</sup>、生产工艺改变<sup>[45]</sup>、外包装处理<sup>[46]</sup>等方法提高载体的生物相容性或机械强度。

近年来, 除上述材料以外, 研究者们基于微生物载体的需求, 对载体进行了改良并开发了新材料, 如磁性氧化铁纳米粒子、纤维素纤维等, 不仅在混凝土原位修复中获得了良好的修复效果, 也拓宽了载体的选择范围 (表 2)。笔者也对目前大部分载体作了比较 (表 3)。

表 2 近 3 年新型材料作为载体的原位修复剂对混凝土修复的影响

Table 2 Influence of self-healing agents with new materials as carriers on concrete restoration in last three years

Year	Bacteria	Carrier	Result	References
2018	<i>Bacillus sphaericus</i>	Magnetic iron oxide nanoparticles	There is significant fracture healing behavior	[47]
2019	<i>Bacillus subtilis</i>	Iron oxide nanometer/particle	The repair width is up to 1.2 mm and the compressive strength is restored to 85%	[48]
2019	<i>Bacillus pasteurii</i> ATCC11859	Rubber particles	The maximum healing width is 0.86 mm	[49]
2020	<i>Bacillus subtilis</i> 168	Cellulosic fiber	The degree of healing is 12.04%, and the degree of damage ranging from 0.1 to 0.2	[50]
2020	<i>Bacillus subtilis</i> 11774	Synergetic circulation of coarse aggregate and primary fine aggregate	Strength recovery of 76%, with a maximum healing width of 1.1 mm	[51]

表3 各种载体的比较

Table 3 Comparison of various carriers

Carrier	Advantages of carrier	Disadvantages of carrier	References
Microcapsule	(1) High elasticity (high humidity); (2) Brittleness (low humidity)	Microcapsules are mainly manufactured using bulk emulsion polymerization technology, which requires advanced equipment and complicated procedures	[38]
Expanded perlite (EP)	(1) Large specific surface area; (2) Excellent water imbibition; (3) Low cost; (4) Be evenly distributed in concrete	There may be loss of self-healing agent and excessive damage due to insufficient carrier strength, which will affect the repair effect	[52]
Diatomaceous earth (DE)	(1) Multihole, large specific surface area; (2) Stable quality; (3) High activity of urease can be maintained under high alkali environment		[33]
Ceramsite	(1) Multihole; (2) Relative surface density		[53]
Porous expanded clay particles	Extend the length of time the bacteria remain active		[54]
Graphite nanosheet	(1) Appropriate size; (2) The bacteria can be dispersed evenly in the concrete; (3) Stop the propagation of cracks		[43]
Zeolite	(1) Multihole, large specific surface area; (2) Low cost; (3) Improve the durability of concrete		[55]
Synergetic circulation of coarse aggregate and primary fine aggregate	(1) High water absorption; (2) Porous structure		[51]
Silica gel	(1) Stable quality; (2) Excellent mechanical properties; (3) Appropriate porosity; (4) Maintain spore germination	Waste materials cannot be recycled, which increases costs and is not conducive to environmental protection and sustainable development	[12]
Hydrogel	(1) Protective effect; (2) Be able to reuse; (3) High water absorption and retention	Uneven network structure and poor mechanical performance	[56]
IONs	(1) Improve the ability of bacteria to survive; (2) Improve the performance of concrete and simplify the mixing process	The preparation of materials and the process of fixing with microorganisms are cumbersome	[47]
INMP	(1) Biocompatibility; (2) Large specific surface area; (3) Strong adsorption capacity; (4) Chemical inertness		[48]
Rubber particles	Surface roughness and high porosity	Reduce concrete strength	[49]
Cellulosic fiber	(1) High porosity; (2) Fiber helps reduce brittleness; (3) Suitable for concrete mixing equipment	High cost of regenerated cellulose fiber, general cellulose fiber is not environmentally friendly	[50]

### 2.3 原位修复剂修复混凝土裂缝的耐久性问题

目前大多数研究仅考察了早期裂缝的修复效果,且很少有后续跟进,因此掺入的原位修复剂和修复后裂缝的耐久性仍是一个空白。

#### 2.3.1 原位修复剂的耐久性

虽然载体在某些程度上提高了芽胞的存活率以及混凝土的机械性能,但由载体和芽胞形成的原位修复剂的耐久性或时效性还有待进一步确定。目前文献中的裂缝均属于早期的小裂缝,这与混凝土的使用寿命不匹配,对于几年后甚至几十年后出现的裂缝的修复效果不得而知。

#### 2.3.2 已修复裂缝的耐久性

现有文献也较少提及过经原位修复剂修复后的裂缝部位的结构性能,与其他部位相比该处再次开裂的几率大小,以及该部位再次开裂后的修复效果。

## 3 基于芽胞的混凝土原位修复剂对混凝土机械性能的影响

大量的研究表明,混凝土裂缝的修复效果取决于添加的芽胞数<sup>[57-59]</sup>。根据前述,芽胞在载体中才能长期存活。而这些载体及养分会影响混凝土机械性能,因此需要系统研究芽胞种类、养分、钙源及其添加量之间的最适搭配以科学调控混凝土裂缝的修复效果。

### 3.1 芽胞的影响

Nosouhian等<sup>[57]</sup>发现加入 $2 \times 10^9$  CFU/mL 枯草芽胞杆菌芽胞的混凝土抗压强度比对照混凝土高20%。Jagannathan等<sup>[58]</sup>考察了球形芽胞杆菌和巴斯德芽胞杆菌对混凝土强度和耐久性的影响。结果表明,含球形芽胞杆菌的混凝土强度高于含巴斯德芽胞杆菌的混凝土和对照混凝土。在压缩试验中,含球形芽胞杆菌的混凝土抗压强度、抗拉强度和抗弯曲强度分别比对照混凝土高10.8%、29.4%和5.1%。而含巴斯德芽胞杆菌的混凝土与对照混凝土相比,上述3个指标均有所下降<sup>[59]</sup>。

Jonkers等<sup>[27]</sup>的研究也证实考虑芽胞对混凝土机械性能影响很有必要。

在含有和不含芽胞的情况下,混凝土样品的孔径分布是不同的。在对照样品中,孔径大多集中在10–100 nm之间,而添加了芽胞的样品中100–1 000 nm之间的孔隙率有所增加,但掺入不同的芽胞也可能同时致使直径小于10 nm的小孔增多<sup>[60]</sup>。这也就解释了为什么不同的芽胞对混凝土的机械性能的影响不同。结合前述的原位修复机理和芽胞在混凝土基体恶劣条件下存活情况,应用于混凝土原位修复技术的细菌应具有以下特性:1)能够利用尿素分解、反硝化或有机代谢途径形成碳酸钙;2)为芽胞杆菌属并以芽胞形式掺入到混凝土中;3)在混凝土环境下具有较强的存活能力;4)所选芽胞对混凝土的机械性能无负面影响。应加强合适细菌的筛选和改良工作,探究芽胞休眠与萌发之间的联系,以提高其适用性。

目前绝大部分相关研究都采用单一菌种,其在混凝土试件复杂多变的工作环境下很可能降低甚至丧失活性,进而降低裂缝的修复效果。可以尝试采用多种微生物协作提高抵御环境变化能力,并提高修复效果<sup>[61]</sup>。

### 3.2 芽胞的预埋量

尽管细菌浓度越高,碳酸钙沉淀就越多,但需考虑芽胞浓度对混凝土机械性能的影响,确定最适芽胞添加量。

Mondal等<sup>[62]</sup>研究了不同芽胞添加量( $10^3$  CFU/mL、 $10^5$  CFU/mL和 $10^7$  CFU/mL)对微生物原位修复混凝土抗压强度和修复效果的影响。结果表明,混凝土的最佳抗压效果和最佳修复效果所需的芽胞量不一致,添加量为 $10^5$  CFU/mL和 $10^7$  CFU/mL的处理分别具有最好的抗压和修复效果。Chahal等<sup>[63]</sup>考察了添加不同量芽胞( $10^3$  CFU/mL、 $10^5$  CFU/mL和 $10^7$  CFU/mL)的水泥的抗压强度和吸水率,发现添加量为 $10^5$  CFU/mL的水泥抗压强度提高幅度最大(22%),吸水率



(3.25%) 与对照组相比显著降低。Andalib 等<sup>[64]</sup>考察了巨大芽胞杆菌芽胞添加量 ( $1 \times 10^6$ – $5 \times 10^6$  CFU/mL) 对混凝土抗压强度的影响, 发现添加量为  $3 \times 10^6$  CFU/mL 时抗压强度显著提高。Jonkers 等<sup>[27]</sup>发现芽胞添加量为  $6 \times 10^8$  细胞/cm<sup>3</sup> 时混凝土的抗压强度降低了 10%。由上述研究可知, 芽胞添加量为  $10^5$ – $10^6$  CFU/mL 时混凝土具有最大的抗压强度。但在个别文献<sup>[65]</sup>中, 也报道了芽胞添加量为  $10^7$  CFU/mL 的处理抗压强度最高。

综上所述, 当芽胞添加量在  $10^5$ – $10^7$  CFU/mL 之间时, 混凝土具有较好的抗压强度, 而在  $10^8$ – $10^9$  CFU/mL 时, 裂缝的修复效果较好。裂缝修复效果取决于通过芽胞杆菌的矿化作用导致的方解石的形成情况, 而方解石沉淀速率取决于  $\text{CO}_3^{2-}$  的缓慢释放程度, 这又与细菌活力或脲酶活力有关, 在认为细胞膜对  $\text{CO}_3^{2-}$  的通透性无明显阻遏作用的情况下,  $\text{CaCO}_3$  的沉积速率完全取决于细菌的类型和芽胞的数量<sup>[10]</sup>, 并且细菌本身也可作为  $\text{CaCO}_3$  沉淀提供成核位点。但目前尚不了解在较高芽胞浓度下抗压强度降低的原因。混凝土微生物原位修复技术的主要目的是修复裂缝, 但不应对抗压强度产生不利影响。因此, 有必要找出影响微生物混凝土抗压强度的原因, 从而可以根据需要选择芽胞浓度, 并针对性地进行改进。

### 3.3 养分与钙源的影响

程文凤等<sup>[66]</sup>的研究表明养分的存在不会抑制芽胞萌发, 而养分的存在会加快萌发后细菌的新陈代谢, 更多更快地产生  $\text{CaCO}_3$ , 从而加快混凝土裂缝的修复速度。但需考虑混凝土实际应用中的一个问题是养分的加入是否会影响混凝土的机械性能, 目前只有极少数的研究在较大程度上比较了养分对混凝土机械性能的影响, 而且结果差异悬殊。

Schreiberová 等<sup>[67]</sup>将养分 (酵母提取物、尿素、硝酸钙、甲酸钙和乳酸钙) 直接添加到混凝土中, 并进行了弯曲和压缩测试。结果表明, 所

有的钙源 (3%)、尿素 (2.5%) 在合适的浓度下对混凝土的机械强度没有任何的负面影响, 甲酸钙和乳酸钙的加入甚至明显提高了混凝土的抗压强度和弯曲强度, 但添加酵母提取物 (0.85%) 会导致混凝土的抗压强度和弯曲强度均有所下降。在已有文献和专利中, 酵母提取物与蛋白胨经常作为混凝土原位修复中芽胞的营养物质, 但蛋白胨也会降低混凝土的抗压强度<sup>[27]</sup>。针对此问题, 可添加其他养分来制衡这一负面作用。

此外, 还需考察钙源的含量对混凝土机械性能的影响。Tziviloglou 等<sup>[68]</sup>考察了添加 5 种不同含量的乳酸钙和乙酸钙对混凝土抗压强度的影响, 发现添加 1.1% 的乳酸钙和乙酸钙效果最好, 分别使混凝土抗压强度增加 8% 和 13.4%。因此, 可以将甲酸钙、乙酸钙和乳酸钙用作混凝土中芽胞的钙源。在将钙源添加至混凝土中时, 需考虑其含量。另外, 若将养分固定在载体中, 则可以避免养分的负面影响<sup>[69]</sup>。Bundur 等<sup>[70]</sup>对上述观点进行了验证, 将芽胞和养分固定在预先润湿的轻质细膨胀页岩骨料中, 结果表明, 混凝土的抗压强度并无下降。Xu 等<sup>[45]</sup>指出, 当将养分和芽胞同时固定在陶粒中时, 芽胞更容易获取养分。

### 3.4 芽胞种类/数量、养分和钙源与混凝土的相容性问题

芽胞种类/数量对于混凝土裂缝修复效果无疑是一个非常重要的参数, 芽胞数过多会加大混凝土机械性能的负面影响, 过少可能会导致裂缝无法及时被修复 (裂缝位置没有芽胞或芽胞数量极少), 降低灵敏度; 养分过多会造成与芽胞数过多一样的结果, 过少会影响到修复效果 (芽胞萌发后新陈代谢缓慢)。因此, 上述因素的优选和掺入量优化工作仍十分艰巨。

表 4 汇总了细菌及其浓度、养分、钙源对混凝土机械性能的影响。显然四者对混凝土机械性能的影响能够对生物原位修复混凝土的实际适用性产生深远影响。如果混凝土的机械性能被外源

表 4 不同种类细菌、细菌浓度和养分对混凝土机械性能的影响

Table 4 Effects of different types of bacteria, bacterial concentration and nutrients on mechanical properties of concrete

Influencing factors	Bacteria	Bacterial concentration	Nutrients	Increase of compressive strength	Increase of tensile strength	References
Bacterial type	<i>Bacillus subtilis</i>	/	/	9.16%	14.41%	[59]
	<i>Bacillus sphaericus</i>			52.42%	2.76%	
	<i>Bacillus pasteurii</i>			29.97%	—	
	<i>Bacillus sphaericus</i>	/	/	10.80%	29.37%	[58]
	<i>Bacillus pasteurii</i>			-9.80%	-13.40%	
Bacterial concentration	<i>Bacillus sphaericus</i>	10 <sup>3</sup> cells/mL	Nutrient broth and urea	9.40%	9.56%	[58]
		10 <sup>5</sup> cells/mL		15.83%	18.59%	
		10 <sup>7</sup> cells/mL		12.30%	16.66%	
	<i>Bacillus subtilis</i>	10 <sup>3</sup> cells/mL	/	15.00%	/	[62]
		10 <sup>5</sup> cells/mL		27.00%	/	
		10 <sup>7</sup> cells/mL		19.00%	/	
	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	10 <sup>3</sup> cells/mL	/	4.10%	/	[63]
		10 <sup>5</sup> cells/mL		20.00%	/	
		10 <sup>7</sup> cells/mL		8.70%	/	
	<i>Bacillus megaterium</i>	2×10 <sup>6</sup> CFU/mL	/	3×10 <sup>6</sup> CFU/mL was found to be ideal	/	/
3×10 <sup>6</sup> CFU/mL			/		/	
4×10 <sup>6</sup> CFU/mL			/		/	
Nutrients	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	/	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> & urea	Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> were best	13.00%	[71]
			Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> & urea		18.00%	
			CaCl <sub>2</sub> & urea		18.60%	
	Species of <i>Bacillus</i>	/	Calcium lactate and yeast extract	8.00%	/	[68]
			Calcium acetate and yeast extract	13.40%	/	

添加物破坏,那么基于芽胞的修复混凝土裂缝的行为就没有实际意义。所以养分、添加量、比例以及钙源的选择等都需要实验验证和优化。当前文献很少提到钙源浓度的影响,但过高或过低浓度的钙源可能会对其他性能(例如凝结时间和(最终)强度)产生负面影响,因此钙源的浓度应当有个最适值。

#### 4 基于芽胞的混凝土原位修复评价体系

目前尚未建立一种标准的通用方法来评估修复效率。大部分文献通过 XRD 与扫描电镜检测沉

积物质,测量抗压强度、抗弯强度、渗水率与最大修复宽度来评价修复效果。尽管修复评价指标已渐渐完善,但仍较为零散,缺乏系统性的整合与比较,如对于不同应用领域和应用环境选用的评价方式就有差异。修复能力评价可分为两类,一类为微观尺度上的测量,另一类为宏观上的测量。微观结构测试多使用光学显微镜在局部(即微观)水平评估裂缝修复程度,该测试无法检测混凝土内部修复效率。内部修复情况可用冲击回波法、雷达法、超声波法<sup>[10]</sup>进行检测。沉积物质的化学性质和形态结构可以利用 X 射线衍射、热重分析(Thermogravimetric analysis, TGA)、傅立叶变换

红外光谱 (Fourier transform infrared spectrum, FT-IR)、扫描电子显微镜 (Scanning electron microscope, SEM)、能量色散 X 射线 (Energy dispersive X-ray, EDX) 或透射电子显微镜 (Transmission electron microscope, TEM) 进行表征。宏观测量旨在确定混凝土的总体性能, 不仅可以修复的外部可见性检查裂缝闭合性, 还可以间接评估试件内部裂缝的填充。测试指标包括渗水率、氯离子渗透率、空气渗透率、最大修复宽度、修复率以及机械性能的恢复<sup>[72]</sup>。结合上述多种测试指标, 可以开发多种评估模型, 如 Sidiq 等<sup>[73]</sup>将 X 射线断层扫描图像重建为三维截面, 并通过孔隙率、球形度、单个裂缝宽度的减小和体积尺寸评估原位修复的恢复能力。

## 5 当前存在的问题

目前基于芽胞的混凝土原位修复技术已成为混凝土微生物原位修复的热门, 国内外对此技术的研究也取得了一定的成效, 但仍有诸多问题尚待解决<sup>[9,29,74]</sup>: 1) 目前所用菌株为天然菌株, 侧重点在于通过外添加物提高混凝土修复效果, 而在菌株改良、休眠和萌发的控制基因及其调控方法等科学理论方面的研究极少, 造成了科学机理层面与技术应用方面的不匹配; 2) 芽胞、养分、钙源与混凝土的相容性问题有待进一步研究, 且尚不清楚其影响混凝土机械性能的科学内在原因; 3) 混凝土修复中的耐久性问题; 4) 该技术能够修复的裂缝宽度有限 (2 mm 以内); 5) 当前该技术仍处于起步阶段, 绝大多数研究停留在实验室层面, 缺乏现场试验, 其实用性还有待进一步验证。

## 6 总结与展望

混凝土裂缝修复问题是一个全球性的问题, 在经济、环境等各方面的促使下, 混凝土原位修复技术研发目前处于快速发展阶段。从工程应用、

环境保护和经济效益这 3 个方面来看, 混凝土原位修复技术具有光明的前景。高效的裂缝修复和混凝土机械性能的改善提高了微生物混凝土结构的耐久性。本文对微生物混凝土当前已有工作的回顾表明, 所选用的微生物主要是尿素分解、代谢转化和反硝化途径的细菌, 又因芽胞在恶劣条件下的良好抗逆性故选择以芽胞形式掺入到混凝土中。出于进一步提高芽胞存活率的考虑, 通过采用多孔材料和微胶囊等载体对芽胞进行包裹。并考虑了芽胞本身及其浓度、养分、钙源与混凝土的相容性问题。

在将该技术广泛应用前, 必须克服某些限制。需投入更多的资源来改善暴露于混凝土内部恶劣条件下芽胞的低存活率, 应设计出新方法评估芽胞在此环境中生存的可行性以及其嵌入混凝土后的生物活性。尽管混凝土原位修复技术的实验室研究十分广泛, 但仍缺乏现场评估。未来对微生物混凝土的研究应主要侧重于: 1) 提高芽胞在混凝土恶劣环境中的存活能力, 揭示芽胞的休眠、萌发调控基因, 探明休眠、萌发时长的预测方法; 2) 开展多菌种协作修复裂缝实验; 3) 寻找合适的营养体系、钙源和载体及确定最佳添加量; 4) 填补耐久性问题这一方面的空白; 5) 鉴于该技术修复裂缝宽度较小, 为保证修复效果, 可将该技术与其它原位修复技术 (如基于化学原理的原位修复与基于物理原理的原位修复) 相结合; 6) 建立完善的、系统的修复评价体系; 7) 通过环境模拟和现场试验, 开展该技术在混凝土结构方面的应用和研究。如果上述问题得以解决, 将会极大地推动生物原位修复混凝土的研究开发和规模化应用。

## REFERENCES

- [1] Seifan M, Samani AK, Berenjian A. Bioconcrete: next generation of self-healing concrete. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, 100(6): 2591-2602.
- [2] Seifan M, Ebrahimezhad A, Ghasemi Y, et al.

- Amine-modified magnetic iron oxide nanoparticle as a promising carrier for application in bio self-healing concrete. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(1): 175-184.
- [3] Souradeep G, Kua HW. Encapsulation technology and techniques in self-healing concrete. *J Mater Civil Eng*, 2016, 28(12): 04016165.
- [4] 张士萍, 刘俊亮. 混凝土裂缝自修复技术的研究现状. *混凝土*, 2017(6): 17-20.  
Zhang SP, Liu JL. Research progress on self-sealing of cracking in concrete. *Concrete*, 2017(6): 17-20 (in Chinese).
- [5] 陈胜利, 张译允, 黄文辉, 等. 混凝土微裂缝自修复技术研究进展及展望. *广州建筑*, 2019, 47(5): 3-8.  
Chen SL, Zhang YY, Huang WH, et al. Self-repairing technological research of concrete microcracks: recent developments, future directions. *Guangzhou Architect*, 2019, 47(5): 3-8 (in Chinese).
- [6] Seifan M, Sarmah AK, Samani AK, et al. Mechanical properties of bio self-healing concrete containing immobilized bacteria with iron oxide nanoparticles. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(10): 4489-4498.
- [7] Algaifi HA, Abu Bakar S, Sam ARM, et al. Numerical modeling for crack self-healing concrete by microbial calcium carbonate. *Constr Build Mater*, 2018, 189: 816-824.
- [8] Wang JY, Jonkers HM, Boon N, et al. *Bacillus sphaericus* LMG 22257 is physiologically suitable for self-healing concrete. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017, 101(12): 5101-5114.
- [9] Nery MEE, Pulido DEC, Oliveros PAC, et al. Mechanisms of encapsulation of bacteria in self-healing concrete: review. *DYNA*, 2019, 86(210): 17-22.
- [10] 钱春香, 王瑞兴, 詹其伟. 微生物矿化的工程应用基础. 北京: 科学出版社, 2017.  
Qian CX, Wang RX, Zhan QW. Basis of microbial mineralization applied in engineering. Beijing: Science Press, 2017 (in Chinese).
- [11] Mondal S, Ghosh A. Review on microbial induced calcite precipitation mechanisms leading to bacterial selection for microbial concrete. *Constr Build Mater*, 2019, 225: 67-75.
- [12] Van Tittelboom K, De Belie N, De Muynck W, et al. Use of bacteria to repair cracks in concrete. *Cem Concr Res*, 2010, 40(1): 157-166.
- [13] Dick J, De Windt W, De Graef B, et al. Bio-deposition of a calcium carbonate layer on degraded limestone by *Bacillus* species. *Biodegradation*, 2006, 17(4): 357-367.
- [14] Fortin D, Ferris FG, Beveridge TJ. Surface-mediated mineral development by bacteria//Banfield JF, Nealson KH, Geomicrobiology: interactions between microbes and minerals: reviews in Mineralogy. Washington DC: Mineralogical Society of America, 1997, 35: 161-180.
- [15] Douglas S, Beveridge TJ. Mineral formation by bacteria in natural microbial communities. *FEMS Microbiol Ecol*, 1998, 26(2): 79-88.
- [16] B uerlein E. Biomineralization of unicellular organisms: an unusual membrane biochemistry for the production of inorganic nano- and microstructures. *Angew Chem Int Ed*, 2003, 42(6): 614-641.
- [17] Ersan YC, Verbruggen H, De Graeve I, et al. Nitrate reducing  $\text{CaCO}_3$  precipitating bacteria survive in mortar and inhibit steel corrosion. *Cem Concr Res*, 2016, 83: 19-30.
- [18] Kamennaya NA, Ajo-Franklin CM, Northen T, et al. Cyanobacteria as biocatalysts for carbonate mineralization. *Minerals*, 2012, 2(4): 338-364.
- [19] Benzerara K, Skouri-Panet F, Li JH, et al. Intracellular Ca-carbonate biomineralization is widespread in cyanobacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(30): 10933-10938.
- [20] Hammes F, Verstraete W. Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. *Rev Environ Sci Biotechnol*, 2002, 1(1): 3-7.
- [21] Gutiérrez-Padilla GD, Bielefeldt A, Ovtchinnikov S, et al. Biogenic sulfuric acid attack on different types of commercially produced concrete sewer pipes. *Cem Concr Res*, 2010, 40(2): 293-301.
- [22] Knittel K, Boetius A. Anaerobic oxidation of methane: progress with an unknown process. *Annu Rev Microbiol*, 2009, 63: 311-334.
- [23] Ganendra G, De Muynck W, Ho A, et al. Formate oxidation-driven calcium carbonate precipitation by

- Methylocystis parvus* OBBP. Appl Environ Microbiol, 2014, 80(15): 4659-4667.
- [24] Dhama NK, Reddy MS, Mukherjee A. Application of calcifying bacteria for remediation of stones and cultural heritages. Front Microbiol, 2014, 5: 304.
- [25] Cappitelli F, Zanardini E, Ranalli G, et al. Improved methodology for bioremoval of black crusts on historical stone artworks by use of sulfate-reducing bacteria. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(5): 3733-3737.
- [26] Ranalli G, Chiavarini M, Guidetti V, et al. The use of microorganisms for the removal of sulphates on artistic stoneworks. Int Biodeter Biodegr, 1997, 40(2/4): 255-261.
- [27] Jonkers HM, Thijssen A, Muyzer G, et al. Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. Ecol Eng, 2010, 36(2): 230-235.
- [28] Vijay K, Murmu M, Deo SV. Bacteria based self healing concrete—A review. Constr Build Mater, 2017, 152: 1008-1014.
- [29] Li LW, Zheng QF, Li Z, et al. Bacterial technology-enabled cementitious composites: a review. Compos Struct, 2019, 225: 111170.
- [30] Wang JY, Ersan YC, Boon N, et al. Application of microorganisms in concrete: a promising sustainable strategy to improve concrete durability. Appl Microbiol Biotechnol, 2016, 100(7): 2993-3007.
- [31] Basaran Z. Biomineralization in cement based materials: inoculation of vegetative cells[D]. Austin: The University of Texas at Austin, 2013.
- [32] Silva FB, Boon N, De Belie N, et al. Industrial application of biological self-healing concrete: challenges and economical feasibility. J Commer Biotechnol, 2015, 21(1): 31-38.
- [33] Wang JY, De Belie N, Verstraete W. Diatomaceous earth as a protective vehicle for bacteria applied for self-healing concrete. J Ind Microbiol Biotechnol, 2012, 39(4): 567-577.
- [34] Lee YS, Park W. Current challenges and future directions for bacterial self-healing concrete. Appl Microbiol Biotechnol, 2018, 102(7): 3059-3070.
- [35] Wiktor V, Jonkers HM. Bacteria-based concrete: from concept to market. Smart Mater Struct, 2016, 25(8): 084006.
- [36] Du W, Yu JY, Gu Y, et al. Preparation and application of microcapsules containing toluene-di-isocyanate for self-healing of concrete. Constr Build Mater, 2019, 202: 762-769.
- [37] Wang XF, Huang YJ, Huang YX, et al. Laboratory and field study on the performance of microcapsule-based self-healing concrete in tunnel engineering. Constr Build Mater, 2019, 220: 90-101.
- [38] Wang JY, Soens H, Verstraete W, et al. Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores. Cem Concr Res, 2014, 56: 139-152.
- [39] Zhang JG, Liu YZ, Feng T, et al. Immobilizing bacteria in expanded perlite for the crack self-healing in concrete. Constr Build Mater, 2017, 148: 610-617.
- [40] 徐晶, 王彬彬. 陶粒负载微生物的混凝土开裂自修复研究. 材料导报, 2017, 31(14): 127-131.  
Xu J, Wang BB. Research on self-healing of concrete cracks by ceramsite immobilized microorganism. Mater Rev, 2017, 31(14): 127-131 (in Chinese).
- [41] 龚洛书. 高强陶粒和高性能轻集料混凝土. 混凝土, 2000(2): 7-11.  
Gong LS. High-strength ceramsite and high-performance lightweight aggregate concrete. Concrete, 2000(2): 7-11 (in Chinese).
- [42] Khaliq W, Ehsan MB. Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques. Constr Build Mater, 2016, 102: 349-357.
- [43] Wang JY, Snoeck D, Van Vlierberghe S, et al. Application of hydrogel encapsulated carbonate precipitating bacteria for approaching a realistic self-healing in concrete. Constr Build Mater, 2014, 68: 110-119.
- [44] 罗园春, 朱光明, 汤皎宁, 等. 环氧树脂及其固化剂对生物微胶囊性能的影响. 深圳大学学报(理工版), 2015, 32(4): 371-377.  
Luo YC, Zhu GM, Tang JN, et al. Influence of epoxy resin and its curing agent on the properties of biomicrocapsule. J Shenzhen Univ (Sci Eng), 2015, 32(4): 371-377 (in Chinese).
- [45] Xu J, Wang XZ, Zuo JQ, et al. Self-healing of concrete cracks by ceramsite-loaded microorganisms. Adv Mater Sci Eng, 2018, 2018: 5153041.

- [46] Jiang L, Jia GH, Jiang C, et al. Sugar-coated expanded perlite as a bacterial carrier for crack-healing concrete applications. *Constr Build Mater*, 2020, 232: 117222.
- [47] Seifan M, Sarmah AK, Ebrahimezhad A, et al. Bio-reinforced self-healing concrete using magnetic iron oxide nanoparticles. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(5): 2167-2178.
- [48] Shaheen N, Khushnood RA, Khaliq W, et al. Synthesis and characterization of bio-immobilized nano/micro inert and reactive additives for feasibility investigation in self-healing concrete. *Constr Build Mater*, 2019, 226: 492-506.
- [49] Xu HY, Lian JJ, Gao MM, et al. Self-healing concrete using rubber particles to immobilize bacterial spores. *Materials*, 2019, 12(14): 2313.
- [50] Singh H, Gupta R. Cellulose fiber as bacteria-carrier in mortar: self-healing quantification using UPV. *J Build Eng*, 2020, 28: 101090.
- [51] Khushnood RA, Ali Qureshi Z, Shaheen N, et al. Bio-mineralized self-healing recycled aggregate concrete for sustainable infrastructure. *Sci Total Environ*, 2020, 703: 135007.
- [52] 李珠, 冯涛, 周梦君, 等. 基于科式芽孢杆菌矿化沉积的混凝土裂缝自修复性能试验研究. *混凝土*, 2017(6): 5-8.  
Li Z, Feng T, Zhou MJ, et al. Experimental study on self-healing performance of concrete cracks based on mineralization of *Bacillus cohnii*. *Concrete*, 2017(6): 5-8 (in Chinese).
- [53] 钱春香, 李瑞阳, 潘庆峰, 等. 混凝土裂缝的微生物自修复效果. *东南大学学报(自然科学版)*, 2013, 43(2): 360-364.  
Qian CX, Li RY, Pan QF, et al. Microbial self-healing effects of concrete cracks. *J Southeast Univ (Nat Sci Ed)*, 2013, 43(2): 360-364 (in Chinese).
- [54] Wiktor V, Jonkers HM. Quantification of crack-healing in novel bacteria-based self-healing concrete. *Cem Concr Compos*, 2011, 33(7): 763-770.
- [55] Kurtay M, Gerengi H, Kocak Y, et al. The potency of zeolite and diatomite on the corrosive destruction of reinforcing steel in 1M HNO<sub>3</sub> environment. *Constr Build Mater*, 2020, 236: 117572.
- [56] Wang JY, Mignon A, Trenson G, et al. A chitosan based pH-responsive hydrogel for encapsulation of bacteria for self-sealing concrete. *Cem Concr Compos*, 2018, 93: 309-322.
- [57] Nosouhian F, Mostofinejad D, Hasheminejad H. Concrete durability improvement in a sulfate environment using bacteria. *J Mater Civil Eng*, 2016, 28(1): 04015064.
- [58] Jagannathan P, Narayanan KSS, Arunachalam KD, et al. Studies on the mechanical properties of bacterial concrete with two bacterial species. *Mater Today Proceed*, 2018, 5(2): 8875-8879.
- [59] Bashir J, Kathwari I, Tiwary A, et al. Bio concrete—The self-healing concrete. *Indian J Sci Technol*, 2016, 9(47): 1-5.
- [60] Luo M, Qian CX. Influences of bacteria-based self-healing agents on cementitious materials hydration kinetics and compressive strength. *Constr Build Mater*, 2016, 121: 659-663.
- [61] 张家广, 许顺顺, 冯涛, 等. 不同矿化微生物对混凝土裂缝自修复效果影响. *清华大学学报(自然科学版)*, 2019, 59(8): 607-613.  
Zhang JG, Xu SS, Feng T, et al. Effect of mineralized bacteria type on concrete crack self-healing capacity. *J Tsinghua Univ: Nat Sci Ed*, 2019, 59(8): 607-613 (in Chinese).
- [62] Mondal S, Ghosh A. Investigation into the optimal bacterial concentration for compressive strength enhancement of microbial concrete. *Constr Build Mater*, 2018, 183: 202-214.
- [63] Chahal N, Siddique R, Rajor A. Influence of bacteria on the compressive strength, water absorption and rapid chloride permeability of fly ash concrete. *Constr Build Mater*, 2012, 28(1): 351-356.
- [64] Andalib R, Majid MZA, Hussin MW, et al. Optimum concentration of *Bacillus megaterium* for strengthening structural concrete. *Constr Build Mater*, 2016, 118: 180-193.
- [65] Kumari C, Das B, Jayabalan R, et al. Effect of nonureolytic bacteria on engineering properties of cement mortar. *J Mater Civil Eng*, 2017, 29(6): 06016024.
- [66] 程文凤, 彭慧, 刘冰, 等. 混凝土修复功能菌 *Bacillus cohnii* DSM6307 芽孢萌发条件探究. *科技通报*, 2016, 32(5): 219-223, 227.

- Cheng WF, Peng H, Liu B, et al. Study on the condition of spore germination of concrete self-healing bacterium *Bacillus cohnii* DSM6307. *Bull Sci Technol*, 2016, 32(5): 219-223, 227 (in Chinese).
- [67] Schreiberová H, Bílý P, Fládr J, et al. Impact of the self-healing agent composition on material characteristics of bio-based self-healing concrete. *Case Stud Constr Mater*, 2019, 11: e00250.
- [68] Tziviloglou E, Wiktor V, Jonkers HM, et al. Selection of nutrient used in biogenic healing agent for cementitious materials. *Front Mater*, 2017, 4: 15.
- [69] Xu J, Wang XZ, Wang BB. Biochemical process of ureolysis-based microbial  $\text{CaCO}_3$  precipitation and its application in self-healing concrete. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(7): 3121-3132.
- [70] Bundur ZB, Kirisits MJ, Ferron RD. Use of pre-wetted lightweight fine expanded shale aggregates as internal nutrient reservoirs for microorganisms in bio-mineralized mortar. *Cement Concrete Comp*, 2017, 84: 167-174.
- [71] Zhang Y, Guo HX, Cheng XH. Role of calcium sources in the strength and microstructure of microbial mortar. *Constr Build Mater*, 2015, 77: 160-167.
- [72] Rajczakowska M, Habermehl-Cwirzen K, Hedlund H, et al. Autogenous self-healing: a better solution for concrete. *J Mater Civil Eng*, 2019, 31(9): 03119001.
- [73] Sidiq A, Setunge S, Gravina RJ, et al. Self-repairing cement mortars with microcapsules: a microstructural evaluation approach. *Constr Build Mater*, 2020, 232: 117239.
- [74] Wang XF, Yang ZH, Fang C, et al. Evaluation of the mechanical performance recovery of self-healing cementitious materials—its methods and future development: a review. *Constr Build Mater*, 2019, 212: 400-421.

(本文责编 陈宏宇)