

DOI: 10.11835/j.issn.2096-6717.2022.048



开放科学(资源服务)标识码 OSID:



土豆脲酶提取及基于酶诱导碳酸钙沉淀技术对风积沙改良的方法

褚文杰¹, 李驰¹, 武慧敏², 高瑜¹

(1. 内蒙古工业大学 土木工程学院; 沙旱区地质灾害与岩土工程防御自治区高等学校重点实验室; 呼和浩特 010051; 2. 内蒙古自治区水利水电勘测设计院, 呼和浩特 010021)

摘要: 基于酶诱导碳酸钙沉淀(EICP)技术, 使用植物脲酶对沙漠风积沙进行改良加固试验。为寻求价格低廉和操作简单的脲酶提取方法, 以土豆为原材料, 去离子水、甘油水溶液和乙醇水溶液为提取液, 通过破碎冷藏及高速离心方法成功地从土豆中分离提取出植物脲酶, 分析提取过程中不同提取液对脲酶提取效果的影响, 基于EICP技术, 利用土豆脲酶液对风积沙进行改良处理。结果显示, 在3种提取液中, 效果最优的是乙醇溶液, 甘油水溶液次之, 去离子水提取效果最差。而当固液比为1:6、乙醇溶液浓度为30%时, 脲酶活性值最高且提取效果最佳。在风积沙改良试验中, 试件表面形成了坚硬的结皮层并具有较高的抗压强度, 随着浸泡脲酶次数的增加, 无侧限抗压强度逐渐增强。

关键词: 酶诱导碳酸钙沉淀(EICP); 植物脲酶; 脲酶提取; 脲酶活性; 防风固沙

中图分类号: TU441 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-6717(2023)02-0074-07

Extraction of potato urease and improvement of aeolian sand based on EICP Technology

CHU Wenjie¹, LI Chi¹, WU Huimin², GAO Yu¹

(1. School of Civil Engineering; key Lab. of Geological Hazards and Geotechnical Engineering Defense in Sandy and Drought Regions, Inner Mongolia University of Technology, Hohhot 010051, P. R. China; 2. Inner Mongolia Water Conservancy and Hydropower Survey and Design Institute, Hohhot 010021, P. R. China)

Abstract: Based on enzyme induced calcium carbonate precipitation (EICP) technology, plant urease was used to improve and strengthen desert aeolian sand. In order to find a cheap and simple urease extraction method, potato was used as the raw material, deionized water, glycerol aqueous solution and ethanol aqueous solution

收稿日期: 2021-08-10

基金项目: 内蒙古自然科学基金(2019MS05075); 内蒙古自治区科技计划关键技术攻关项目(2021GG0344)。

作者简介: 褚文杰(1997-), 男, 主要从事环境岩土工程研究, E-mail: cwj3204783719@163.com。

李驰(通信作者), 女, 博士, 教授, 博士生导师, E-mail: tjdxlch2003@126.com。

Received: 2021-08-10

Foundation items: Inner Mongolia Natural Science Foundation Project (No. 2019MS05075); Key Technology Research Project of Science and Technology Plan of Inner Mongolia Autonomous Region (No. 2021GG0344).

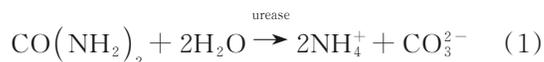
Author brief: CHU Wenjie (1997-), main research interest: environmental geotechnical engineering, E-mail: cwj3204783719@163.com.

LI Chi (corresponding author), PhD, professor, doctoral supervisor, E-mail: tjdxlch2003@126.com.

were used as extraction solution, and the plant urease in potato was separated and extracted by crushing, refrigeration and high-speed centrifugation, so as to study the influence of different extraction solutions on the extraction effect of urease; The results showed that the best of the three extracts was ethanol solution. When the solid-liquid ratio was 1:6 and the concentration of ethanol solution was 30%, the urease activity value was the highest and the extraction effect was the best. In the improvement experiment of aeolian sand, a hard crust is formed on the surface of the specimen and is of high compressive strength, and the unconfined compressive strength increases gradually with increase of cycles of soaking urease.

Keywords: enzyme induced calcium carbonate precipitation (EICP); plant urease; urease extraction; urease activity; windbreak and sand fixation

目前,土地荒漠化仍然是一个严重的环境问题。防风固沙是荒漠化治理的有效方案,目前采用的主要方法有工程治沙、化学治沙和生物治沙,但已逐渐不能满足新型、高效、经济和环保的要求。作为一种新型和环保技术,近年来,生物诱导碳酸钙沉淀技术被广泛应用于土木工程中。目前主要为微生物诱导碳酸钙沉淀(MICP)和酶诱导碳酸钙沉淀(EICP),二者机理较为相似:脲酶能将尿素分解为碳酸根离子^[1]并与氯化钙中的Ca²⁺结合,生成CaCO₃沉淀。区别在于MICP技术中脲酶由微生物产生,而EICP技术中脲酶是直接提供,反应见式(1)、式(2)。



近年来,这些技术广泛应用于各个领域。刘汉龙等^[2]综述了微生物岩土技术在土体加固、岩土体抗渗封堵、金属污染土修复等方面的研究及应用。Almajed等^[3]综述了MICP和EICP在土壤处理中的挑战、适用性、优点和缺点。张建伟等^[4]利用木质素EICP联合技术,改变了EICP产生分散碳酸钙的方式,为碳酸钙提供成核位点,在土颗粒间隙中将无规律的碳酸钙聚拢成型。董瑾等^[5]使用黄豆脲酶诱导碳酸钙沉淀来改良三合土的各项性能。张建伟等^[6]利用EICP技术固化土体表面,使其具有抗风侵蚀能力。Miao等^[7]采用EICP联合聚丙烯酰胺(PAM)的创新方法来改善沙地表面稳定性,有效减轻沙尘暴的发展和侵蚀。吴敏等^[8]利用黄原胶优化大豆脲酶诱导碳酸钙沉积来防风固沙,增强土体表面强度和抗风蚀强度。

为满足对于脲酶的大量需求和寻找脲酶提取途径,减少脲酶的使用成本,许多学者开展了相关研究,Nam等^[9]用磷酸缓冲液提取洋刀豆中的脲

酶,并对比了脲酶粗提物与市售纯化脲酶沉积碳酸钙的能力,指出该植物脲酶粗提物具有替代纯化脲酶用于提高材料强度的潜力。Javadi等^[10]从西瓜籽中提取脲酶,并将其用于砂土EICP固化。贾琦等^[11]在大豆种皮中提取脲酶,张铁军等^[12]在黄豆豆渣中提取脲酶并确定了提取脲酶的最佳条件。马锋等^[13]在双青豆中提取脲酶。土豆中有脲酶的存在,因此,若能从土豆中提取脲酶,既能为脲酶国产化问题提出新思路,又能提高土豆的附加值,具有巨大的经济效益。内蒙古自治区乌兰察布市被誉为“中国马铃薯之都”,土豆种植面积和总生产总值均居全国前三位,种植面积多年稳定在400万亩左右,年产量达到400~450万t,约占全国产量的10%,中国土豆播种面积占全球的29.88%,总产量占全球的25.26%,单产为世界平均水平的85.50%,土豆资源非常丰富^[14-15]。

以土豆为原材料,研究提取具有活性且有矿化作用的植物脲酶的可行性及其影响因素,利用EICP技术,使用土豆脲酶加钙源溶液对风积沙进行改良处理,通过室内试验研究其在沙漠中防风固沙的应用前景。

1 试验材料与方法

1.1 材料与仪器

材料:乌兰察布土豆、尿素、二水氯化钙、浓盐酸、无水乙醇、甘油和去离子水。

仪器:电子天平(型号1AZ003N)、pH计、粉碎机、低温高速离心机、冷藏冰箱和便携式电导率仪。

1.2 方法与工艺流程

土豆脲酶的具体提取方法:

1)土豆预处理之后洗净削皮备用。

2)称重10g土豆,并切成细小块状,放入容器内。

3)向容器内加入 40 mL 浓度为 30% 的乙醇溶液,固液比(土豆质量与提取液的比值)设定为 1:6。将土豆与乙醇混合液加入粉碎机中粉碎。静置 1 min 后倒入离心管内,放置在 4 °C 恒温冰箱内冷藏 24 h。

4)将冷藏好的混合液摇晃均匀后放入低温高速离心机中离心(4 °C、4 000 r/min、15 min)。离心完成后,离心管中上部的上清液为粗脲酶溶液,底部为残留沉淀。

5)分离离心管中底部沉淀,加入乙醇溶液,摇晃均匀,冷藏 1 h 后摇匀,再次放入低温高速离心机中离心,取离心管中上部的粗脲酶溶液。

土豆脲酶的提取工艺流程如图 1 所示。

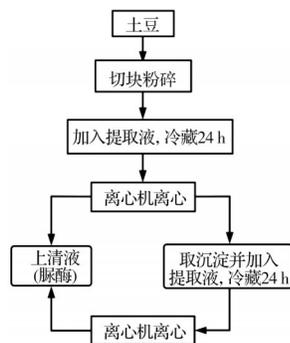


图 1 脲酶提取工艺流程图

Fig. 1 Flow chart of urease extraction process

1.3 脲酶活性测定

溶液的电导率与尿素的水解量成正比,通过测定脲酶溶液每分钟电导率变化值来衡量脲酶的活性^[16]。

在室温条件下配置 2 mol/L 的尿素溶液待用,在容器内加入 25 mL 的 2 mol/L 的尿素溶液和 20 mL 的无菌蒸馏水,搅拌稀释后投放 5 mL 的待测物并迅速搅拌,使用便携式电导率仪测试反应液的电导率(μS),在反应前 5 min 内,每隔 30 s 记录一次电导率数值,最后,计算平均每 30 s 的电导率变化值 $K(\mu\text{S}/\text{min})$ 。通过测定脲酶液平均每 30 s 的电导率变化值 $K(\mu\text{S}/\text{min})$,由式(3)确定脲酶活性值 $U(\mu\text{mol}/\text{min})$ 。

$$U = 2 \times 10 \times KA \quad (3)$$

式中: A 为尿素水解量与溶液电导率变化量二者之间换算的经验系数,一般取 11.11。

1.4 试件的制备

为了确保更好的固化效果,试验开始前需对试验用土进行清洗。清洗方法为:将试验沙土放入桶中,加入 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液均匀搅拌,静置 12 h 后搓洗干净,将浸泡液倒出,加入去离子水,将

沙粒冲洗至中性,然后再加入 0.1 mol/L 的 HCl 溶液,静置 12 h 后,重复上述过程,搓洗干净,用去离子水再清洗一遍,清洗完成后将 pH 值调至 7,放入烘箱中烘干待用^[1]。

将烘干待用土体装入尺寸为 40 mm×80 mm 的圆柱形模具,具体制作过程:

1)准备反应所需的钙源溶液待用。钙源溶液为 30 g/L 尿素和 73.5 g/L 二水氯化钙(尿素与钙离子的摩尔比为 $\text{Urea}:\text{Ca}^{2+}=1:1$)的混合溶液。

2)制备土豆脲酶备用。在自制的圆柱形模具中直接装满风积沙,将制备好的 40 mL 土豆脲酶溶液缓慢均匀地倒入模具中,把模具放入钙源溶液中浸泡,静置反应 2 d,作为矿化反应的第 1 个周期。另外,将 40 mL 的去离子水缓慢均匀地倒入装满风积沙的自制圆柱形模具内作为空白对照组,每组设置 3 个平行试样。

3)完成第 1 个周期后,将上述模具放入土豆脲酶溶液中浸泡 30 min,浸泡完成后再次放入钙源溶液中浸泡,静置反应 2 d,作为矿化反应的第 2 个周期。重复此试验步骤,作为矿化反应的第 3 个周期,待反应完全后,将试验模具取出,养护并自然风干。

2 土豆脲酶的提取及影响因素

2.1 土豆中脲酶提取的可行性研究

在室温条件下,把从土豆中提取出的上清液备用。在容器内倒入 25 mL 的尿素溶液,加入 20 mL 的无菌蒸馏水,搅拌稀释后倒入 5 mL 的上清液继续搅拌,通过电导率仪测量发现,脲酶活性发生变化,并确定土豆中有脲酶的存在,证明了方案的可行性。

2.2 不同提取液对脲酶活性的影响

选取去离子水、质量分数为 30% 的乙醇溶液、质量分数为 30% 的甘油作为提取液,分别设置固液比为 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9 和 1:10,将不同的混合溶液粉碎并摇晃均匀后,放入 4 °C 冰箱中冷藏 24 h,之后放入低温高速离心机中离心,得到土豆脲酶溶液,通过电导率仪测得不同提取液下单位时间内土豆脲酶的变化情况。

2.3 不同浓度的乙醇溶液对脲酶活性的影响

配置成质量分数分别为 10%、20%、30%、40% 和 50% 的乙醇溶液,将不同质量分数的乙醇溶液与土豆粉碎搅拌,放入 4 °C 冰箱中冷藏 24 h 后放入低温高速离心机中离心,得到土豆脲酶溶液。通过电导率仪测得不同浓度的乙醇溶液在单位时间内土豆脲酶的变化情况。

3 结果与分析

3.1 提取液的选取

经离心后发现,以去离子水和乙醇溶液为提取液时,离心后分为上下两层溶液,下层为沉淀,上层为脲酶溶液。以甘油为提取液时,离心完成后溶液分为3层,下层为沉淀,中层为脲酶溶液,上层有少量的黏稠层。在不同提取液和不同固液比条件下,通过电导率仪测得对应溶剂下单位时间内土豆脲酶的变化情况,如图2所示。

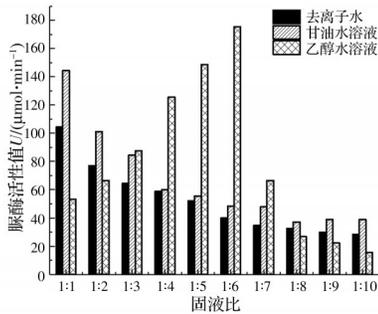


图2 不同提取液下脲酶单位活性变化

Fig. 2 Changes of urease activity in different extracts

由图2可知,去离子水作为提取液时,提取到的脲酶活性最差,其活性会随着固液比的增大而减小;甘油作为提取液时,脲酶溶液活性比水作为提取液时普遍要高,但也会随着固液比的增大而减小。乙醇溶液作为提取液时,脲酶活性随固液比(土豆的质量与提取液的比值)的增大而表现出先升后降的趋势,固液比为1:6时脲酶活性达到最高值。综上所述,相比较而言,在固液比为1.6时,3种提取液中乙醇的脲酶活性最高,提取效果最佳。脲酶的本质是蛋白质,属于蛋白类酶^[17],蛋白质在水中溶解度较小,而在甘油溶液和乙醇溶液等有机溶剂中的溶解度远高于水中,这也是选用甘油和乙醇溶液作提取液的重要原因。使用甘油溶液和乙醇溶液作提取液时提取的脲酶活性普遍高于去离子水的结论也符合这一规律。

3.2 乙醇溶液最优浓度

3种提取液中,乙醇溶液做提取液时固液比在1:6时最优。在最优条件下,设置乙醇浓度为10%、20%、30%、40%、50%、60%和70%,测得单位时间内不同浓度下乙醇溶液土豆脲酶酶活变化情况,如图3所示。

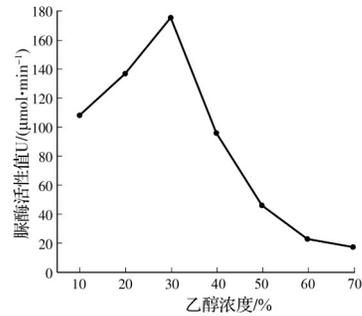


图3 不同乙醇浓度下脲酶活性的变化

Fig. 3 Changes of urease activity under different ethanol concentrations

由图3可知,在其他条件相同的情况下,脲酶活性值随着乙醇浓度的增加呈先上升后下降趋势。主要是因为低浓度乙醇溶液可以有效提取混合液中的脲酶,但高浓度乙醇溶液会使蛋白质迅速脱水从而失活,导致酶活大幅度降低。由图3可以看出,在乙醇浓度达到30%时,测得的脲酶活性最佳,其值为175.38 μmol/min。即固液比为1:6、乙醇溶液浓度为30%时,土豆脲酶活性最佳。

3.3 X射线衍射(XRD)和扫描电镜(SEM)试验

为验证从土豆提取的脲酶在与钙源溶液反应时是否能产生碳酸钙,进行了XRD与SEM试验,具体步骤如下:

1)在开始验证反应前,准备反应所需的钙源溶液待用。钙源溶液为30 g/L的Urea和73.5 g/L的CaCl₂·2H₂O(尿素与钙离子的摩尔比为Urea:Ca²⁺=1:1)溶于去离子水中。

2)将制备好的土豆脲酶溶液和钙源溶液混合,搅拌均匀(1:3)并静置,反应完全后有沉淀生成;同时,将对照土豆脲酶溶液与不含尿素的钙源溶液混合,搅拌均匀(1:3)并静置,结果无矿化产物生成。

3)将反应完全的混合液移去上清液,并向里面加入稀盐酸溶液,有泡沫和气泡生成,初步证明沉淀中存在碳酸钙。为进一步确定生成的矿物成分,将试样表面生成的物质进行扫描电镜(SEM)和X射线衍射(XRD)试验。

图4、图5所示分别为SEM和XRD试验结果。由4可知,生成物为方解石和球霏石,都是碳酸钙,因此可以判断反应所产生矿物为CaCO₃。由图5可以发现,土豆脲酶诱导的碳酸钙晶体形状为大小不一的球形和方形。结合图4、图5可知,土豆脲酶可以诱导碳酸钙沉淀生成,生成的碳酸钙以方解石和球霏石方式存在。

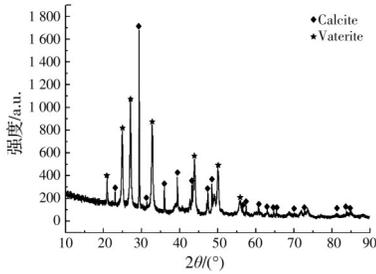


图 4 沉积物 XRD 图谱

Fig. 4 XRD spectrum of sediments

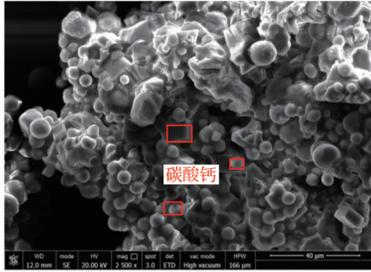


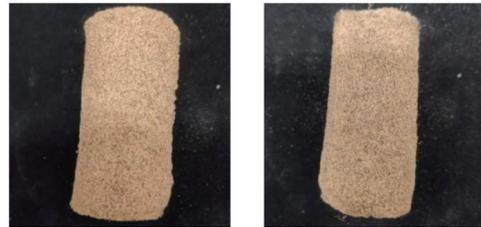
图 5 沉积物 SEM 图

Fig. 5 SEM of sediment

3.4 无侧限抗压强度测试

试件制备、养护、风干和拆模完成后(图6)进行碳酸钙含量试验与无侧限压缩试验,按照《土工试验方法标准》(GB/T 50123—2019)的要求,采用无侧限抗压强度试验对经EICP技术处理不同次数的试件进行力学性能测试。由图7所示无侧限抗压强度的结果可知,与空白对照组相比,无侧限抗压强度均有所提高,且随脲酶浸泡次数的增加,无侧限抗压强度有增强的趋势。

由图6可以看出,空白对照组无白色碳酸钙产生。经过EICP技术处理后,随着浸泡次数的增加,碳酸钙含量与无侧限抗压强度均随之提高,二者具有很好的一致性(图7)。结合图8中碳酸钙含量与无侧限抗压强度变化曲线可以看出,碳酸钙的含量与试样的强度有很大关系,碳酸钙含量越高的试样无侧限抗压强度越大。其因为碳酸钙晶体在砂土颗粒间起到胶结和填充作用,直接影响了EICP技术改良土体的力学性质,碳酸钙含量越高,胶结颗粒及填充的空隙越大,使得固化试样的力学性能得以提升,因而无侧限抗压强度越大。该结论与吴林玉等^[18]研究结果一致。因此,结合XRD和SEM试验及无侧限抗压强度测试结果可知,基于EICP技术,土豆中提取的脲酶固化风积沙后所产生的物质为碳酸钙,具有固化能力,随着浸泡次数的增加,



(a) 空白对照

(b) 处理1次



(c) 处理2次

(d) 处理3次

图 6 养护完成后的试件

Fig. 6 Specimen after curing

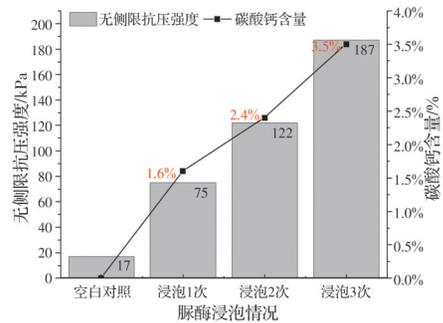


图 7 试样的碳酸钙含量与无侧限抗压强度

Fig. 7 Calcium carbonate content and unconfined compressive strength of samples

固化试样的无侧限抗压强度可达75、122、187 kPa。

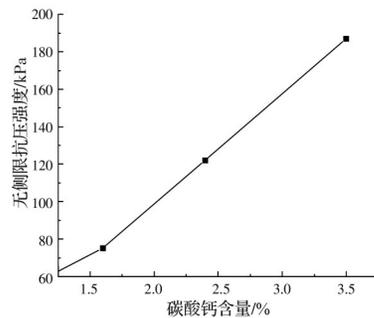


图 8 抗压强度与碳酸钙含量关系图

Fig. 8 Relationship between compressive strength and calcium carbonate content

EICP技术处理后的试件表面有一层坚硬的结皮层,经无侧限抗压强度试验破坏的试件更明显,如图9(a)所示。结合图5,分析其为土豆脲酶通过

水解尿素生成的碳酸盐沉淀在土颗粒间形成的大量(CaCO_3)晶体,这些晶体填充于沙土颗粒之间,能够增强相邻土颗粒间的连接,胶结沙土颗粒。经土豆脲酶多次浸泡,大量晶体在试件表面生成,土体颗粒间的空隙逐渐减少,试件渗透性降低,导致试件内部 Ca^{2+} 减少,生成的碳酸盐晶体比较少,因而出现图9(a)中试件表面有一层坚硬的结皮层。结皮层具有一定的厚度(图9)以及强度,强度随着碳酸钙含量的增加而提高,风积沙表皮强度的增加增强了抗风侵蚀能力,因而可以通过提高脲酶处理次数来提高抗风侵蚀能力;同样可以通过提高表皮的强度来减少质量损失量^[6],从而更好地起到防风固沙作用,减少沙漠地区表面扬沙。可见,采用EICP技术,利用土豆提取的脲酶治理风积沙表面扬沙是可行的。高玉峰等^[19]、张建伟等^[6]分别用微生物和大豆脲酶两种固化方法证实了其方案的可行性。土豆提取脲酶的方法不仅绿色无污染,流程简便,而且不会破坏土壤中原微生物群落的平衡,对环境几乎没有负面影响。加之内蒙古自治区土豆资源丰富,价格低廉,有利于土豆提取脲酶方法和EICP技术的推广,为沙漠地区防风固沙、遏制沙尘暴等环境问题提供了新的治理方案。



(a) 处理3次的试样

(b) 处理1次的试样

图9 无侧限抗压强度中试件的破坏形式

Fig. 9 Failure mode of specimens in unconfined compressive strength

在脲酶(植物)固化砂的无侧限抗压强度试验中,Zhao等^[20]采用的试样强度约为330~430 kPa,在植物源脲酶(大豆脲酶)诱导碳酸钙固化砂土试验中,吴林玉等^[18]分别采用了固化颗粒粒径为 <0.25 mm、 $0.25\sim 0.5$ mm、 $0.5\sim 1$ mm的砂土,无侧限抗压强度分别为400、1 210、620 kPa。可见,影响试样强度的因素有很多,如提取脲酶时的温度及pH值以及反应时胶凝液浓度、pH值、温度和反应时间等,都对试样的固化强度有很大影响^[18]。试验中没有控制这些因素,因而在今后的研究中需进一步深入探讨。

4 结论

1)首次从土豆中成功提取出土豆脲酶,并初步建立了提取流程,即采取恒温高速离心方式获取土豆脲酶溶液。经检测发现,提取出的土豆脲酶具有活性,且能进行矿化反应,反应产物为碳酸钙。

2)提取液分别为去离子水、甘油及乙醇溶液时,乙醇溶液的提取效果最好,甘油溶液的提取效果次之,去离子水的提取效果最差;以质量分数为30%的乙醇溶液作提取液,固液比为1:6时,脲酶的提取效果最佳。

3)以土豆脲酶为脲酶来源,可以经EICP技术固化后处理风积沙,固化试样的无侧限抗压强度随脲酶浸泡次数的增加而逐渐增强,处理3次后试样的无侧限抗压强度可达187 kPa。同时也验证了采用EICP技术,利用土豆提取的脲酶治理风积沙表面扬沙的可行性,为沙漠地区防风固沙、遏制扬沙等环境问题提供了新的治理方案。

参考文献

- [1] 史冠宇. 脲酶沉积碳酸钙在土中发挥固化效用的试验研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古工业大学, 2020.
SHI G Y. Experimental study on the solidification effect of calcium carbonate deposited by urease in soil [D]. Hohhot: Inner Mongolia University of Technology, 2020. (in Chinese)
- [2] 刘汉龙, 肖鹏, 肖杨, 等. 微生物岩土技术及其应用研究新进展[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2019, 41(1): 1-14.
LIU H L, XIAO P, XIAO Y, et al. State-of-the-art review of biogeotechnology and its engineering applications [J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2019, 41(1): 1-14. (in Chinese)
- [3] ALMAJED A, LATEEF M A, MOGHAL A A B, et al. State-of-the-art review of the applicability and challenges of microbial-induced calcite precipitation (MICP) and enzyme-induced calcite precipitation (EICP) techniques for geotechnical and geoenvironmental applications [J]. Crystals, 2021, 11(4): 370.
- [4] 张建伟, 王小锯, 李贝贝, 等. EICP-木质素联合固化粉土的试验研究[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2021, 43(2): 201-202.
ZHANG J W, WANG X J, LI B B, et al. Experimental study on silt reinforced by EICP-lignin technology [J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2021, 43(2): 201-202. (in Chinese)
- [5] 董瑾, 刘效彬. EICP技术改良传统三合土性能研究[J/OL]. 建筑材料学报. [2021-08-03]. <http://kns.cnki.net/>

- kcms/detail/31.1764.TU.20210802.1708.004.html.
- DONG J, LIU X B. Study on the performance of EICP technology to improve traditional triad [J/OL]. Journal of Building Materials. [2021-08-03] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1764.TU.20210802.1708.004.html>. (in Chinese)
- [6] 张建伟, 韩一, 边汉亮, 等. 大豆脲酶诱导碳酸钙固化粉土抗风侵蚀性能的试验研究[J]. 工业建筑, 2020, 50(12): 19-24, 118.
- ZHANG J W, HAN Y, BIAN H L, et al. Experimental research on wind resistance of silty soil cemented by soybean urease induced calcium carbonate precipitation [J]. Industrial Construction, 2020, 50(12): 19-24, 118. (in Chinese)
- [7] MIAO L C, WU L Y, SUN X H, et al. Method for solidifying desert sands with enzyme-catalysed mineralization [J]. Land Degradation & Development, 2020, 31(11): 1317-1324.
- [8] 吴敏, 高玉峰, 何稼, 等. 大豆脲酶诱导碳酸钙沉积与黄原胶联合防风固沙室内试验研究[J]. 岩土工程学报, 2020, 42(10): 1914-1921.
- WU M, GAO Y F, HE J, et al. Laboratory study on use of soybean urease-induced calcium carbonate precipitation with xanthan gum for stabilization of desert sand against wind erosion [J]. Chinese Journal of Geotechnical Engineering, 2020, 42(10): 1914-1921. (in Chinese)
- [9] NAM I H, CHON C M, JUNG K Y, et al. Calcite precipitation by ureolytic plant (*Canavalia ensiformis*) extracts as effective biomaterials [J]. KSCE Journal of Civil Engineering, 2015, 19(6): 1620-1625.
- [10] JAVADI N, KHODADADI H, HAMDAN N, et al. EICP treatment of soil by using urease enzyme extracted from watermelon seeds [C]//IFCEE 2018. March 5-10, 2018, Orlando, Florida. Reston, VA, USA: American Society of Civil Engineers, 2018: 115-124.
- [11] 贾琦, 李兆祥, 杜永霞, 等. 大豆种皮中大豆脲酶的提取及精制[J]. 中外食品, 2014(2): 37-42.
- JIA Q, LI Z X, DU Y X, et al. Extraction and purification of soybean urease from soybean seed coat [J]. Global Food Industry Information, 2014(2): 37-42. (in Chinese)
- [12] 张铁军, 施圆圆, 孔令漪, 等. 黄豆豆渣中脲酶的提取精制及其影响因素研究[J]. 生物技术进展, 2017, 7(3): 253-257.
- ZHANG T J, SHI Y Y, KONG L Y, et al. Study on the extraction and factors affecting enzyme activity of urease from soybean dregs [J]. Current Biotechnology, 2017, 7(3): 253-257. (in Chinese)
- [13] 马锋, 李阳, 冯佰利. 双青豆脲酶提取工艺研究[J]. 陕西农业科学, 2010, 56(5): 56-58.
- MA F, LI Y, FENG B L. Study on the extraction process of urease from shuangqingdou [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2010, 56(5): 56-58. (in Chinese)
- [14] 王滨. 乌兰察布: 中国马铃薯之都[J]. 黑龙江粮食, 2016(12): 47-51.
- WANG B. Wulanchabu: Potato capital of China [J]. Heilongjiang Grain, 2016(12): 47-51. (in Chinese)
- [15] 徐宁, 张洪亮, 张荣华, 等. 中国马铃薯种植业现状与展望[J]. 中国马铃薯, 2021, 35(1): 81-96.
- XU N, ZHANG H L, ZHANG R H, et al. Current situation and prospect of potato planting in China [J]. Chinese Potato Journal, 2021, 35(1): 81-96. (in Chinese)
- [16] 许燕波, 钱春香, 陆兆文. 甘油提高巴氏芽孢杆菌脲酶的热稳定性[J]. 东南大学学报(自然科学版), 2013, 43(1): 147-151.
- XU Y B, QIAN C X, LU Z W. Study on enhancing urease thermostability of bacillus pasteurii by glycerol [J]. Journal of Southeast University (Natural Science Edition), 2013, 43(1): 147-151. (in Chinese)
- [17] SUMNER J B. The isolation and crystallization of the enzyme urease: Preliminary paper [J]. Journal of Biological Chemistry, 1926, 69(2): 435-441.
- [18] 吴林玉, 缪林昌, 孙潇昊, 等. 植物源脲酶诱导碳酸钙固化砂土试验研究[J]. 岩土工程学报, 2020, 42(4): 714-720.
- WU L Y, MIAO L C, SUN X H, et al. Experimental study on sand solidification using plant-derived urease-induced calcium carbonate precipitation [J]. Chinese Journal of Geotechnical Engineering, 2020, 42(4): 714-720. (in Chinese)
- [19] 高玉峰, 杨恩杰, 何稼. 基于微生物诱导碳酸钙沉积的防风固沙试验研究[J]. 河南科学, 2019, 37(1): 144-150.
- GAO Y F, YANG E J, HE J. Wind-breaking and sand-fixing experimental research based on microbial induced carbonate precipitation [J]. Henan Science, 2019, 37(1): 144-150. (in Chinese)
- [20] ZHAO Q, LI L, LI C, et al. Factors affecting improvement of engineering properties of MICP-treated soil catalyzed by bacteria and urease [J]. Journal of Materials in Civil Engineering, 2014, 26(12): 04014094.