

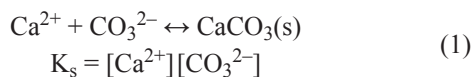
Barbara Krajewska, Kinga Raczak

Podstawy i możliwości wykorzystania procesu biomineralizacji węglanu wapnia

Węglan wapnia (CaCO_3) jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych związków chemicznych – stanowi około 4% składu skorupy ziemskiej, tworząc osady geologiczne, oceaniczne i biominerały [1–3]. Jest podstawowym składnikiem wielu skał, takich jak wapień, kreda, marmur, dolomit i trawertyn, jak również znajduje się w kościach i zębach, w szkieletach zewnętrznych skorupiaków, pancerzach ślimaków, koralach, perłach i muszlach. Węglan wapnia ma ogromne znaczenie praktyczne – od wieków stosowany jest jako materiał budowlany. Dzisiaj wykorzystuje się go w różnych gałęziach przemysłu i rolnictwa, a także w medycynie i kosmetologii oraz w nowo rozwijającej się dziedzinie – biomineralizacji na potrzeby inżynieryjne [1–10].

Wytrącanie węglanu wapnia w przyrodzie zachodzi na drodze chemicznej wskutek zmian parametrów otoczenia, lecz jego znacząca część powstaje w sposób biogeniczny podczas biomineralizacji z udziałem organizmów żywych. W procesach tych ważną rolę odgrywa strącanie indukowane mikrobiologicznie (microbiologically induced calcium carbonate precipitation – MICP). Wśród nich proces zachodzący z udziałem bakterii ureolitycznych jest szczególnie, gdyż stał się podstawą głównej techniki wykorzystującej biomineralizację CaCO_3 do zastosowań inżynieryjnych i technicznych [2–11]. Proces biomineralizacji węglanu wapnia realizowany biomimetycznie pozwala na przeprowadzenie strącania CaCO_3 w łagodnych warunkach i – co ważne – może być zastosowany w warunkach polowych w układzie *in situ*. W ten sposób proces ten stanowi ekologicznie przyjazną i energooszczędną technikę do wykorzystania w wielorakich obszarach inżynieryjnych w miejsce obecnie stosowanych praktyk, aby zminimalizować niekorzystny wpływ działalności człowieka na środowisko. W obszarach tych wytrącany CaCO_3 spełnia rolę czynnika remediacyjnego i cementującego [2–11], na przykład w celu oczyszczania wód z jonów metali śladowych i radionuklidów, wzmacniania i konsolidacji gruntu i piasku, uszczelniania formacji geologicznych, a także w celu ochrony i renowacji obiektów budowlanych.

Osad CaCO_3 wytrąca się wówczas, gdy stężenia jonów Ca^{2+} i CO_3^{2-} spełniają warunek iloczynu rozpuszczalności zgodnie z równaniem:



w którym K_s jest iloczynem rozpuszczalności (w temperaturze 25°C $K_s=3,7 \cdot 10^{-9}$ – $8,7 \cdot 10^{-9}$). Osad wytrąca się wówczas, gdy wartość iloczynu $[\text{Ca}^{2+}][\text{CO}_3^{2-}] > K_s$. Wytrącający się węglan wapnia krystalizuje w postaci odmian polimorficznych, do których zalicza się trzy formy bezwodne (kalcyt, aragonit i wateryt, z których najtrwalszy jest kalcyt) i dwie uwodnione (monohydrokalcyt $\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ oraz ikait $\text{CaCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) lub też tworzy fazy amorficzne.

Obok odpowiednich wartości stężeń jonów Ca^{2+} i CO_3^{2-} , wytrącanie i mineralizacja węglanu wapnia są zależne od wartości pH i dostępności centrów zarodkowania kryształów [12]. Proces ten wymaga zasadowego pH, po to by stworzyć warunki sprzyjające tworzeniu się jonów węglanowych z jonów wodorowęglanowych, podczas gdy centra zarodkowania umożliwiają kumulację jonów do krystalizacji. Mikroorganizmy mogą tworzyć węglan wapnia w obecności odpowiednio wysokich stężeń jonów Ca^{2+} , zmieniając każdy z tych parametrów [3, 7, 12] oddzielnie lub w kombinacjach, lecz uważa się, że ich podstawowym zadaniem jest zwiększanie wartości pH [1, 3, 7, 12]. Wiąże się je z aktywnością takich mikroorganizmów, jak fotosyntetyzujące cyjanobakterie i glony, bakterie redukujące siarczyn w procesie redukcji dysymilacyjnej oraz bakterie zaangażowane w cykl azotowy poprzez amonifikację aminokwasów, redukcję azotanów i hydrolizę mocznika [1, 12]. Spośród tych aktywności, najczęściej w badaniach do zastosowań inżynieryjnych wykorzystuje się – jako prostą, szybką i wydajną – metodę opartą na reakcji hydrolizy mocznika (ureolizy), która wykorzystuje bakterie wykazujące aktywność ureolityczną.

Aktywność ureolityczna mikroorganizmów

Aktywność ureolityczna mikroorganizmów jest wynikiem obecności w ich komórkach ureazy (amidohydrolaza mocznikowa, EC 3.5.1.5) katalizującej reakcję hydrolizy mocznika, której produktami są kwas karbaminowy i amoniak, lecz wskutek spontanicznej reakcji hydrolizy kwasu karbaminowego obserwowanymi produktami reakcji są kwas węglowy i amoniak [13, 14]:



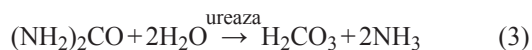
Ureaza jest enzymem szeroko rozpowszechnionym w przyrodzie – występuje w licznych bakteriach, roślinach, grzybach i glonach oraz w glebach (enzym glebowy). Ureazy są białkami wielkocząsteczkowymi, które w zależności od pochodzenia różnią się strukturą białkową. Jednak

niezależnie od pochodzenia, wspólną cechą ureaz jest obecność w ich strukturze charakterystycznego centrum aktywnego zawierającego dwa jony Ni^{2+} . W konsekwencji wszystkie ureazy spełniają tę samą funkcję katalityczną, jaką jest hydroliza mocznika i wykorzystują ten sam mechanizm katalityczny. Produkty reakcji i wynikający z nich wzrost wartości pH do około 9,2, są cechami charakterystycznymi reakcji o znaczących konsekwencjach, które – w zależności od uwarunkowań – są szkodliwe, jak w medycynie i w rolnictwie, albo korzystne – jak w przypadku biomineralizacji $CaCO_3$.

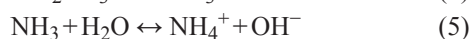
Mimo wielu badań, mechanizm katalityczny ureazy do dziś nie został ostatecznie rozwiązany [13, 15–17]. Jego rozwiązanie jest niezbędne do opracowania skutecznych metod kontroli aktywności ureazy zarówno w procesach naturalnych, jak i aplikacyjnych. Jedną z metod kontroli aktywności enzymu jest użycie inhibitorów [14, 18, 19]. Do podstawowych grup związków inhibitujących enzym należą amidy i estry kwasu fosforowego [15, 21], tiole [20, 21], kwasy hydroksamowe [20, 22], kwasy fosfinowe i tiofosfinowe [19], kwas borowy [21], fosforan [20, 21], jony metali śladowych [23, 29], chinony [24, 25] i fluorki [22, 26]. Inną metodą kontroli aktywności ureazy jest immobilizacja [27, 28], która polega na przekształceniu enzymów w formę unieruchomioną, zwykle poprzez ich osadzenie na/w nośniku stałym, dzięki czemu otrzymuje się układy, w których struktury enzymów są stabilizowane. Skutkuje to polepszeniem stabilności enzymów oraz ich trwałości operacyjnej i odporności na inhibicję [22, 27, 28].

Biomineralizacja $CaCO_3$ indukowana ureolitycznie

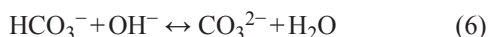
Proces biomineralizacji $CaCO_3$ indukowany ureolitycznie rozpoczyna się od reakcji hydrolizy mocznika katalizowanej przez ureazę [2–11, 30, 31]:



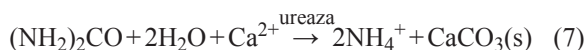
Produkty reakcji – kwas węglowy i amoniak – reagują z wodą tworząc odpowiednio jony wodorowęglanowe, amonowe i wodorotlenowe:



Jony wodorotlenowe wynikające z reakcji (5) wywołują zwiększenie wartości pH, co stwarza warunki sprzyjające tworzeniu się jonów węglanowych:



W środowisku zawierającym jony Ca^{2+} w stężeniu spełniającym warunki iloczynu rozpuszczalności, zgodnie z reakcją (1), wytrąca się osad $CaCO_3$. Sumaryczny proces wytrącania $CaCO_3$ w tych warunkach ma następującą postać:



Proces wytrącania osadu $CaCO_3$ z udziałem ureazy zachodzi dzięki dwóm charakterystycznym składowym enzymatycznej hydrolizy mocznika, czyli jonom węglanowym i zwiększonej wartości pH. Gdy proces przeprowadzany jest z użyciem bakterii ureolitycznych, ściany bakterii służą jako centra zarodkowania $CaCO_3$ dzięki temu, że mają one ujemnie naładowane grupy funkcyjne, które przyciągają jony Ca^{2+} , co skutkuje ich kumulacją. W rezultacie kryształki rosną na zewnętrznej powierzchni komórek, tworząc kolejne warstwy osadu, w wyniku czego komórki

finalnie zostają uwiecznione w osadzie [3, 31]. Strącanie węglanu wapnia indukowane ureolitycznie jest procesem szybkim, który może uzyskać dużą wydajność w stosunkowo krótkim czasie [3–11, 30, 31].

Procedury

W celu przeprowadzenia reakcji wytrącania $CaCO_3$ w miejscu rzeczywistym, trzy wymagane składniki mineralizacyjne, to jest bakterie/wolna ureaza oraz mocznik i jony Ca^{2+} w postaci roztworu wodnego, wprowadza się w miejsce planowanej aplikacji. W zależności od założonego efektu mineralizacyjnego, składniki te wstrzykuje się lub nanosi na powierzchnię w różnej kolejności. Na przykład wprowadzenie bakterii, mocznika i jonów Ca^{2+} w postaci jednego roztworu skutkuje zwykle natychmiastowym wytrąceniem kryształów $CaCO_3$ na powierzchni materiału [32]. W celu uzyskania homogenicznego wytrącania $CaCO_3$ w materiale stosuje się procedurę dwufazową [33, 34], wstrzykując do materiału w pierwszej kolejności mieszaninę bakterii i pożywek, następnie tak zwany roztwór fiksacyjny, a dopiero potem roztwór mocznika i jonów Ca^{2+} . Po wytrąceniu odpowiedniej ilości węglanu wapnia wewnątrz materiału użytkowana jest jego trwała stabilizacja/konsolidacja.

Bakterie ureolityczne/wolna ureaza

W procesie ureolitycznej biomineralizacji $CaCO_3$, jako czynnik ureolityczny wykorzystuje się opcjonalnie albo bakterie ureolityczne [3–10] albo wolną ureazę [11]. Spośród wielu bakterii możliwych do użycia najczęściej wykorzystuje się bakterię glebową *Sporosarcina pasteurii* [33–40], a spośród ureaz wolnych – ureazę roślinną pozyskiwaną z nasion kanawalii mieczokształtnej *Canavalia ensiformis* [41–46]. Jakkolwiek proces biomineralizacji $CaCO_3$ jest najczęściej badany i przeprowadzany w warunkach polowych z użyciem bakterii, to użycie wolnego enzymu ma wiele zalet. Przede wszystkim proces enzymatyczny jest znacząco prostszy i tańszy, ponieważ nie wymaga hodowli bakterii i ich przechowywania. Decydująca o skuteczności procesu jest również wielkość cząsteczek. Średnica cząsteczki ureazy roślinnej (około 12 nm) [11], w porównaniu z typową średnicą komórek bakterii (0,5–5 μm) [11, 47], pozwala na lepszą penetrację w głąb materiału. Ponadto zaobserwowano, że proces enzymatyczny skutkowało wytrąceniem większej ilości $CaCO_3$ niż odpowiadający mu proces bakteryjny. Zjawisko to przypisano wrażliwości bakterii na duże stężenia mocznika i/lub $CaCl_2$ [42] oraz obumieraniu komórek uwiecznionych w osadzie $CaCO_3$. Wolny enzym w warunkach biomineralizacji wyekspozowany jest natomiast na działanie inhibitorów, które również można wykorzystać do regulacji jego aktywności [14, 37], a trwałość enzymu można poprawić stosując jego formę unieruchomioną [27, 37]. Ponadto w odróżnieniu od bakterii, które mogą pozostać aktywne po zakończeniu procesu, stwarzając ryzyko niekontrolowanego wzrostu, enzym ulega degradacji nie powodując szkodliwych skutków w ekosystemie [11].

Odmiany polimorficzne $CaCO_3$

Choć najczęstszą odmianą polimorficzną obserwowaną w procesie biomineralizacji $CaCO_3$ jest kalcyt, to wykazano również tworzenie się waterytu i aragonitu w zależności od rodzaju użytych bakterii/ureazy i warunków procesu.

Na przykład w tych samych warunkach doświadczalnych ureaza z kanawalii mieczokształtnej wywołała tworzenie kalcytu, a ureaza z bakterii *Sporosarcina pasteurii* – waterytu [44]. W procesach prowadzonych z użyciem bakterii *Sporosarcina pasteurii* otrzymuje się z reguły kalcyt [31, 36, 38, 39]. Ponadto wykazano, że wielkość, morfologia i stopień krystaliczności otrzymywanych materiałów zależą od rodzaju użytej soli wapnia. Na przykład wykorzystując do biomineralizacji CaCO_3 bakterię *Sporosarcina pasteurii* zaobserwowano w przypadku CaCl_2 wytrącanie kalcytu, a w przypadku octanu, mleczanu i glukonianu – waterytu o różnych kształtach. Wielkość otrzymanych kryształów zmieniała się w następującej kolejności: mleczan > octan > CaCl_2 > glukonian [48]. Mimo wielu badań nad biomineralizacją węglanu wapnia w różnych warunkach, ze względu na udział licznych składowych biologicznych, chemicznych i materiałowych, nie udało się ustalić wiążącej zależności, która odpowiada za powstawanie materiałów węglanowych w określonych ilościach i o określonych właściwościach strukturalnych [3, 49].

Parametry procesu biomineralizacji

Do parametrów, które wpływają na przebieg ureolitycznego wytrącania CaCO_3 zalicza się przede wszystkim liczebność bakterii oraz stężenia ureazy, mocznika i jonów Ca^{2+} , jak również wartości pH i temperatury [30, 36, 41, 42, 46]. Wykazano, że wzrost stężenia ureazy przyspiesza reakcję wytrącania CaCO_3 [41, 42], podczas gdy wzrost stężenia mocznika i jonów Ca^{2+} powoduje wzrost ilości wytrąconego węglanu wapnia, jednak tylko do pewnej wartości [30, 36, 41, 42, 46]. W tym względzie wykazano, że przy określonych wartościach liczby bakterii i stężenia ureazy istnieją optymalne wartości stężenia mocznika i Ca^{2+} , powyżej których efekty niekorzystne, w tym hamowanie aktywności bakterii oraz kumulacja soli i mocznika w materiale, przeważają nad efektami korzystnymi [30, 41, 42].

Zasadowe pH, konieczne do wytrącania CaCO_3 zgodnie z równaniem (6), zapewnione jest w układzie ureolitycznym przez amoniak – równanie (3), który powoduje szybki wzrost pH do około 9,2 [31, 39]. Silnie zasadowe pH stanowi jednak ryzyko dezaktywacji bakterii, a tym bardziej wolnej ureazy, której maksimum aktywności przypada w obojętnym zakresie pH (około 7,2) [17]. Dane te wskazują, że warunki procesu biomineralizacji powinny być optymalizowane w odniesieniu do wybranego układu ureolitycznego. W przypadku temperatury wykazano, że jej wzrost nie ma praktycznie wpływu na szybkość procesu prowadzonego przez bakterie, natomiast przyspiesza on proces enzymatyczny [41, 42]. Efekt ten jest zgodny z faktem, że do momentu dezaktywacji temperaturowej enzymu szybkość reakcji enzymatycznych rośnie wraz z temperaturą – w przypadku ureazy do wartości 45–65 °C [27].

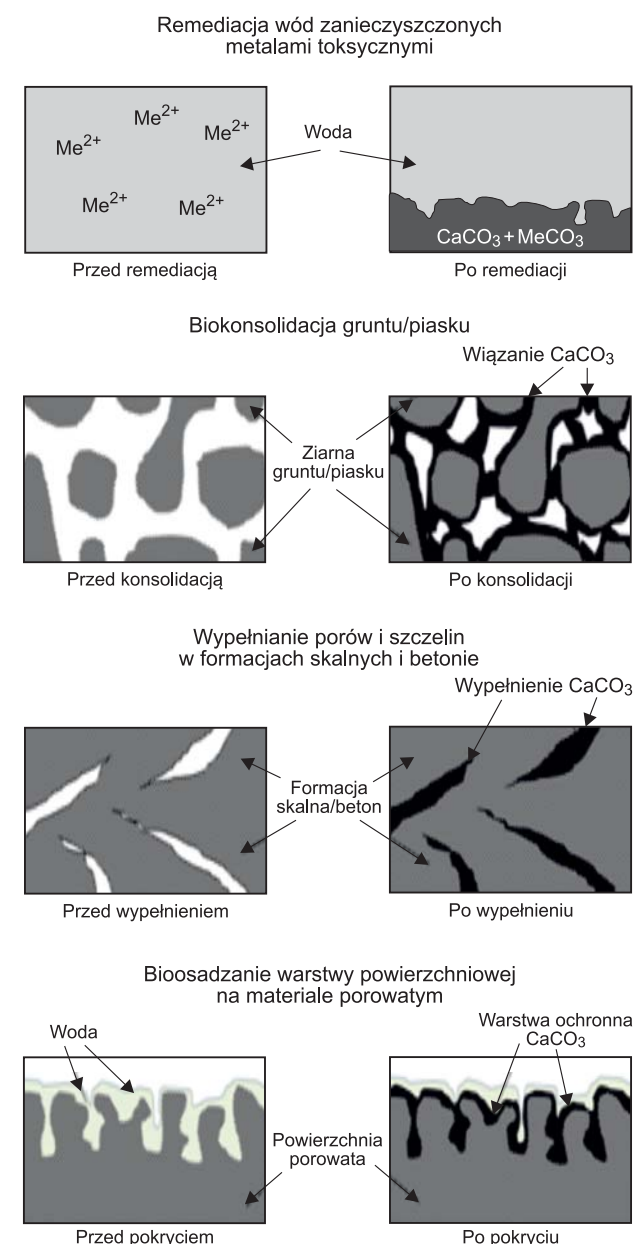
Produkty uboczne

Niezależnie od tego, czy biomineralizacja CaCO_3 prowadzona jest z użyciem bakterii czy wolnej ureazy, w procesie tym powstają takie same produkty uboczne. Jednym z nich są jony amonowe (NH_4^+) powstające w reakcji hydrolizy mocznika (5). Jony te mogą powodować zakwaszenie środowiska wynikające z nityfikacji NH_3 , a także przebarwienia powierzchni kamiennych [7, 30, 35], co można

próbować minimalizować przez zastosowanie w możliwie niewielkich ilościach mocznika lub przez dodatkowe operacje oczyszczające po procesie biomineralizacji [5, 7]. Produktem ubocznym tego procesu są także aniony zastosowanej soli wapnia, przy czym preferowaną solą jest CaCl_2 [30, 31, 33–35, 38, 39, 41–45]. Wyboru soli należy dokonać uwzględniając szkodliwość anionu w stosunku do danego materiału [7].

Wykorzystanie biomineralizacji CaCO_3 indukowanej ureolitycznie

Liczne prace badawcze i inżynierskie dowodzą, że proces biomineralizacji węglanu wapnia indukowany ureolitycznie, jako ekologiczna alternatywa wobec obecnie stosowanych technik, może znaleźć zastosowanie w wielu procesach remediacyjnych i naprawczych, których schematy przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Schematy procesów przeprowadzanych z użyciem biomineralizacji CaCO_3
Fig. 1. Flow diagrams of processes based on CaCO_3 biomineralization

Remediacja wód gruntowych (usuwanie metali toksycznych i radionuklidów)

Zanieczyszczenie środowiska metalami toksycznymi i radionuklidami stanowi poważne zagrożenie zdrowia ludzi i stanu środowiska naturalnego. Obecność metali toksycznych (arsen, miedź, chrom, kadm, rtęć, ołów i inne) w glebie i wodach gruntowych wynika z działalności przemysłu, głównie górnictwa i metalurgicznego. Konwencjonalne techniki remediacji obejmują zarówno fitoremediację, chemiczne wymywanie zanieczyszczeń z gleby oraz bioremediację z użyciem bakterii opornych na działanie metali toksycznych [3, 4, 6, 8, 9], jak i typowe procesy fizykochemiczne, takie jak wytrącanie osadów, odparowywanie, adsorpcja, wymiana jonowa i separacja membranowa [6]. Techniki te są oceniane jako kosztowne i niewystarczająco sprawne w dłuższym czasie stosowania [3, 4, 6, 8]. Podobnie oceniane są tradycyjne techniki usuwania radionuklidów (^{90}Sr , UO_2^{2+} , ^{60}Co) oparte na metodzie „pompuj i oczyszczaj” (pump-and-treat) [3, 4, 6, 8, 9]. Ureolityczna indukowana biomineralizacja CaCO_3 stanowi skuteczną alternatywę usuwania metali toksycznych i radionuklidów poprzez ich wychwytywanie do fazy stałej [3, 4, 6, 8, 9, 38]. Polega ona na współstrącaniu osadów, w których usuwane kationy wbudowują się w sieć CaCO_3 , zastępując w niej kationy Ca^{2+} . Prowadzi to do unieruchomienia kationów w sieci węgla wapnia, co spowalnia ich przemieszczanie się w środowisku. Proces ten jest narażony na dezaktywujące działanie jonów metali śladowych na bakterie i ureazę [23], jednak możliwym rozwiązaniem tej przeszkody jest zastosowanie preparatów ureazy unieruchomionej na nośniku [22, 29].

Wzmacnianie i konsolidacja gruntu i piasku

Właściwości mechaniczne gruntów są wypadkową uwarunkowań naturalnych, procesów erozji oraz działalności człowieka. Wobec rosnących wymagań w obszarze inżynierii lądowej, grunt często nie spełnia warunków do użycia w przewidzianym projekcie konstrukcyjnym, na przykład pod budowę dróg czy do posadowienia budowli [2–6, 10, 34]. W takiej sytuacji grunt poddaje się wzmocnieniu i konsolidacji. Stosowane w tym celu techniki obejmują między innymi drenaż, zagęszczanie, techniki wibracyjne, kolumny piaskowe i kamienne oraz cementację chemiczną [5, 43], spośród których najpowszechniej stosowana jest ostatnia z tych metod. Technika ta polega na wstrzykiwaniu w grunt płynu cementującego, który twardniejąc wypełnia przestrzeń między ziarnami, odgrywając w ten sposób rolę spoiwa. Do substancji używanych w tym celu można zaliczyć cement, bentonit, krzemiany oraz żywice epoksydowe, akrylamid i poliuretan. Chemiczna cementacja gruntu, chociaż skuteczna, budzi poważne zastrzeżenia – należy tu wymienić kosztochłonność i szkodliwość ekologiczną związaną z takimi zjawiskami, jak nadmierne zmniejszenie wodoprzepuszczalności gruntu, zakłócenie ekosystemu przez wprowadzenie toksycznych/szkodliwych materiałów cementujących i znacznych ilości rozpuszczalników organicznych oraz zwiększenie wartości pH wód gruntowych [5, 43]. Ponadto cement – powszechnie używana substancja wzmacniająca – jest produktem ekologicznie problematycznym z uwagi na fakt, że jego roczna światowa produkcja, wynosząca obecnie 4,5 mld ton, jest odpowiedzialna aż za 5–7% globalnej emisji antropogenicznego CO_2 oraz około 5% globalnego zużycia energii do celów przemysłowych [50].

Mając na uwadze zasady zrównoważonego rozwoju, konieczne staje się zastąpienie lub co najmniej uzupełnienie stosowanych praktyk wzmacniania i konsolidacji gruntu/piasku nowymi, przyjaznymi ekologicznie materiałami i praktykami. W tym kontekście oczywistym rozwiązaniem jest proces ureolitycznej biomineralizacji węgla wapnia, w którym CaCO_3 wytrącony wewnątrz gruntu/piasku spełnia rolę substancji cementującej, słusznie nazywanej biocementem [3–6, 10]. Liczne badania laboratoryjne i próby pilotażowe w warunkach polowych [33–35, 42, 43, 46, 47] pokazują, że proces ten jest skuteczny i może być zastosowany do rozwiązywania takich zjawisk, jak erozja i wymywanie, niestabilność skarp i zboczy, niska nośność gruntu do posadowienia obiektów budowlanych, budowa tuneli, szczelność tam i wałów przeciwpowodziowych oraz płynność gruntów w obszarach sejsmicznych [3–5, 10]. Może być on również wykorzystywany do budowy podziemnych przesłon uszczelniających oraz do uszczelniania dna stawów i zbiorników wodnych [4, 10].

Szacuje się, że koszt surowców używanych w cementacji chemicznej 1 m^3 gruntu wynosi $1,8\div 64$ euro, natomiast w biocementacji przy użyciu tanich odpadowych materiałów organicznych (rolniczych i ogrodniczych) jako pożywek bakteryjnych – tylko $0,4\div 8$ euro [10]. Przy założeniu, że koszt wstrzykiwania surowców do gruntu w obu technikach jest porównywalny, to biocementacja (z użyciem tanich pożywek) przedstawia się jako proces znacznie bardziej ekonomiczny [10].

Intensyfikacja wydobycia ropy naftowej

Ropa naftowa ma podstawowe znaczenie w gospodarce światowej jako surowiec w przemyśle chemicznym, a przede wszystkim jako jeden z najważniejszych surowców energetycznych. W wydobyciu ropy naftowej konwencjonalnie stosuje się metody pierwotne (wykorzystujące energię złożową i pompowanie) oraz nawadnianie, które pozwalają na wydobycie ok. 25–30% zawartości złoża. Oznacza to, że złoża uznane za wyeksploatowane zawierają ciągle około 65% niewydobytej ropy [1, 51]. W świetle oszacowań ekonomicznych, które wskazują, że wydobycie ropy pozostającej w wyeksploatowanych złożach zwiększa zasoby surowca szybciej niż poszukiwanie nowych złóż, stosuje się dodatkowe – bardziej zaawansowane – metody, określane jako intensyfikacja wydobycia ropy naftowej [1, 41, 42, 51]. Są to zwykle metody termiczne i chemiczne, których użycie jest jednak kwestionowane ze względu na wysokie koszty i szkodliwość środowiskową. Ich alternatywą są metody mikrobiologiczne, w tym selektywne wypełnianie porów w podłożu skalnym złoża ropy naftowej węglanem wapnia biomineralizowanym *in situ*, pozwalające na wypełnianie obszarów skalnych zawierających pory o dużych rozmiarach, z których ropa została usunięta metodami pierwotnymi. Powoduje to przekierowanie przepływu wody wymywającej ropę w obszary o porach mniejszych, z których niewyeksplorowana ropa jest w ten sposób pozyskiwana [41, 42].

Sekwestracja geologiczna dwutlenku węgla

Celem sekwestracji geologicznej CO_2 (wychwytywanie i przechowywanie CO_2) jest ograniczenie emisji CO_2 , pochodzącego ze spalania paliw kopalnych, do atmosfery, aby zmniejszyć jego udział w globalnym ociepleniu i zakwaszaniu oceanów [1, 40]. W procesie tym CO_2 jest

wychwytywany z dużych przemysłowych źródeł emisji, na przykład elektrowni zasilanych paliwami kopalnymi, następnie sprężany do stanu nadkrytycznego i transportowany do miejsca składowania, gdzie jest wtryskiwany do gruntu, zwykle na głębokość około 1 km. Jako miejsca składowania służą wyeksploatowane złoża ropy naftowej i gazu, solankowe warstwy wodonośne lub pozabilansowe pokłady węgla. Miejsca składowania CO₂ powinno charakteryzować się wysoką porowatością i przepuszczalnością, lecz warstwa skalna powyżej winna mieć małą przepuszczalność, aby zapobiec wydostawaniu się gazu na powierzchnię. W tym kontekście prowadzone są badania nad wdrożeniem biomineralizacji CaCO₃ jako techniki uszczelniania warstw skalnych zamykających miejsca składowania CO₂ oraz cementu zamykającego odwierty, poprzez wypełnianie porów i szczelin tych materiałów węglanem wapnia wytrącanym *in situ* [40]. Ważny dla tego zastosowania jest fakt, że ani bakteria *Sporosarcina pasteurii* [52], ani wolny enzym [16] nie tracą aktywności w warunkach ciśnienia i temperatury w miejscach składowania ($p > 8,9 \text{ MPa}$, $t \geq 32^\circ\text{C}$) [52].

Renowacja i ochrona materiałów budowlanych

Materiały budowlane ulegają niszczeniu wskutek fizycznych, chemicznych i biologicznych procesów wietrzenia [7, 32], które obecnie uległy znacznemu przyspieszeniu z uwagi na zanieczyszczenie powietrza tlenkami siarki i azotu. Wietrzenie prowadzi do postępującego osłabienia struktury budowli, budynków, pomników i rzeźb z wapienia/marmuru, betonu czy cegieł. Do ich renowacji, konserwacji i ochrony stosuje się liczne techniki [7]. Podczas gdy repelenty wody stosuje się, aby chronić powierzchnię materiałów przed wnikaniem wody, substancje cementujące stosuje się po to, aby wzmocnić strukturę wewnętrzną materiałów. Żadna z tych technik nie jest jednak uznawana jako w pełni satysfakcjonująca. Zabiegi powierzchniowe przeprowadzane z użyciem żywic akrylowych i epoksydowych skutkują zbyt dużym uszczelnieniem materiału prowadzącym do jego destrukcji, a gdy stosuje się je do cementacji, tworzą wypełnienia porów o właściwościach termicznych i mechanicznych innych niż materiał, w wyniku czego powstają naprężenia skutkujące jego pękaniem. Oczywistą wadą tych zabiegów jest konieczność używania dużych ilości rozpuszczalników organicznych. Z kolei zabiegi przeprowadzane z użyciem związków nieorganicznych, na przykład metodą wody wapiennej lub barytovej, nie są skuteczne w wytworzeniu wzmocnienia strukturalnego materiału, a powstałe warstwy powierzchniowe są krucho i łatwo się złuszcza. W tej sytuacji indukowana ureolitycznie biomineralizacja CaCO₃, przeprowadzana w materiale *in situ*, jest korzystnym rozwiązaniem, szczególnie do zastosowania w sektorze restauracji dziedzictwa kulturowego do konserwacji zabytków kamiennych, do ich cementacji strukturalnej, lecz głównie do osadzania warstw powierzchniowych [7, 32].

Wapień jest materiałem najlepiej nadającym się do renowacji z użyciem biomineralizacji CaCO₃ [7, 32, 53], ponieważ jest on tym samym produktem mineralnym co materiał poddawany renowacji oraz – co ważne – otrzymuje się go w naturalny sposób, co gwarantuje całkowitą zgodność obu materiałów i ich trwałe scalenie. Pionierskim wykonaniem tego procesu była renowacja wieży kościoła św. Medarda w Thouars we Francji w 1993 r. [32]. Stwierdzono wówczas, że wodoprzepuszczalność wapienia zmniejszyła się

dwukrotnie, wygląd zewnętrzny ścian nie uległ zmianie, przy czym procedura wymagała wielokrotnego powtórzenia. Od tego czasu prowadzone są w różnych ośrodkach akademickich [7, 32, 53] intensywne badania nad optymalizacją procedur biorenowacji wapienia, głównie do bioosadzania warstw ochronnych, gdzie obserwowane grubości warstw wynoszą 2–5 μm [7, 32]. Renowacja ta znajduje uznanie głównie we Francji [7].

Kolejnym popularnym materiałem budowlanym jest beton, którego roczna światowa produkcja wynosi około 7 mld m³. Jest to materiał tani, powszechnie dostępny, mocny, lecz niestety podatny na uszkodzenia, przede wszystkim pod wpływem cykli zamarzania i topnienia. Powstające w ten sposób pęknięcia ułatwiają wnikanie wilgoci do jego wnętrza, co prowadzi do korozji zbrojenia. Szacuje się, że tylko na terenie Unii Europejskiej naprawa konstrukcji betonowych (zwykle metodami chemicznymi) pochłania rocznie 5,8 mld euro. W tym kontekście wypełnianie uszkodzeń drogą biomineralizacji CaCO₃ stanowi nową, oszczędną i ekologiczną propozycję naprawy konstrukcji betonowych [54–56]. W procesie tym należy koniecznie chronić bakterie/ureazę przed dezaktywacją charakterystycznym w przypadku betonu silnie zasadowym pH (11–13), stosując na przykład immobilizowane preparaty bakterii lub enzymu [37], a także chronić zbrojenie przed korodującym działaniem jonów Cl⁻, stosując na przykład octan wapnia w miejsce CaCl₂ [4, 7]. Otrzymywane grubości warstw ochronnych na materiałach betonowych wynoszą 10–50 μm [7, 54]. Szacowany całkowity koszt procesu bioosadzania (bakterie – 2,2–3,3 euro/m², pożywki bakteryjne – 7–15 euro/m² + powtórzenia procesu) wynosi zwykle 23–28 euro/m², a w przypadku powierzchni silnie zdegradowanych – 35–40 euro/m² [7]. Liczby te wskazują, że proces ten, w porównaniu z tradycyjnymi procesami chemicznymi, nie jest ekonomiczny. Jednak, jeśli obniżyć koszt pożywek, stosując na przykład namok kukurydziany (cena 1,5 euro/dm³), to całkowity koszt procesu ogranicza się do 0,3–0,7 euro/m², co czyni go w pełni ekonomicznym [55].

Samonaprawiający się beton (biobeton) jest ekologiczną odpowiedzią na zapotrzebowanie na beton i na podatność betonu na erozję [57]. Biobeton tworzy się dodając do typowego betonu w procesie mieszania kapsułkowane bakterie wraz z pożywką (mleczan wapnia). W chwili, gdy wskutek pęknięcia w betonie pojawia się woda, uwalnia ona bakterie, które używając mleczan wapnia wytwarzają węglan wapnia. W ten sposób następuje samodzielne wypełnienie pęknięć w betonie. Aby uniknąć wpływu jonów amonowych na korozję zbrojeń, zastosowano alkalofilowe bakterie z rodzaju *Bacillus*, które w postaci zarodników są zdolne do przeżycia bez tlenu i substancji pokarmowych. Nie stwierdzono zmian właściwości wytrzymałościowych betonu wskutek obecności bakterii. Szacuje się, że biobeton jest o połowę droższy niż zwykły, lecz jego koszt zrekompensują oszczędności na remontach zwykłych konstrukcji betonowych. Wynalazek ten wydaje się szczególnie pożądany w konstrukcjach podziemnych lub podwodnych oraz w konstrukcjach służących do przechowywania odpadów niebezpiecznych, których naprawa nie będzie wymagała obecności ludzi. Interesująca jest również możliwość zastosowania biobetonu do oczyszczania wody zarówno w zbiornikach sztucznych (domowe, przemysłowe, fontanny, baseny) jak i naturalnych akwenach (jeziora, stawy, rzeki, kanały). Wprowadzenie biobetonu będzie skutkowało zmniejszeniem zapotrzebowania na cement i w konsekwencji ograniczeniem emisji CO₂ i zużycia energii [50].

Podsumowanie

Zamysł użycia biomineralizacji CaCO_3 indukowanej ureolitycznie, jako techniki inżynierskiej do remediacji, wzmacniania i uszczelniania materiałów, jest innowacyjnym i obiecującym krokiem w kierunku zastąpienia obecnych technik metodą energooszczędną i przyjazną środowisku, zgodną z wymaganiami jego ochrony. Ekologiczne znaczenie tej techniki, w porównaniu do obecnie stosowanych metod, polega na tym, że nie korzysta się z cementu, polimerów i rozpuszczalników organicznych, a używaną substancją jest węglan wapnia, minerał naturalny wytrącony *in situ* z roztworów wodnych w sposób biomimetyczny. Dalszy rozwój i wdrożenie tej metody do praktyki zależne są od rozwiązania jej ograniczeń, do których należą produkty uboczne, czas życia bakterii, kosztowność pożywek bakteryjnych i stopień skomplikowania zależny od licznych czynników biologicznych, chemicznych i geologicznych, trudnych do ujęcia modelowego. Jest to problem interdyscyplinarny, który może być rozwiązany we współpracy inżynierów środowiska i budownictwa, geologów, chemików i mikrobiologów, czego efektem będzie pełna eksploatacja tej techniki oraz jej wprowadzenie na rynek technik stosowanych w inżynierii środowiska, inżynierii lądowej i geotechnicznej oraz w konserwacji zabytków.

LITERATURA

1. T. ZHU, M. DITTRICH: Carbonate precipitation through microbial activities in natural environment, and their potential in biotechnology: A review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 2016, Vol. 4, Art. 4.
2. S.P. CHAPARRO-ACUÑA, M.L. BECERRA-JIMÉNEZ, J.J. MARTÍNEZ-ZAMBRANO, H.A. ROJAS-SARMIENTO: Soil bacteria that precipitate calcium carbonate: mechanism and applications of the process. *Acta Agronomica* 2018, Vol. 67, pp. 277–288.
3. N.K. DHAMI, M.S. REDDY, A. MUKHERJEE: Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications. *Frontiers in Microbiology* 2013, Vol. 4, Art. 314.
4. A.J. PHILLIPS, R. GERLACH, E. LAUCHNOR, A.C. MITCHELL, A.B. CUNNINGHAM, L. SPANGLER: Engineered applications of ureolytic biomineralization: A review. *Biofouling* 2013, Vol. 29, pp. 715–733.
5. D. MUJAH, M.A. SHAHIN, L. CHENG: State-of-the-art review of biocementation by microbially induced calcite precipitation (MICP) for soil stabilization. *Geomicrobiology Journal* 2017, Vol. 34, pp. 524–537.
6. P. ANBU, C.-H. KANG, Y.-J. SHIN, S.-S. SO: Formation of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. *SpringerPlus* 2016, Vol. 5, Art. 250.
7. W. de MUYNCK, N. de BELIE, W. VERSTRAETE: Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review. *Ecological Engineering* 2010, Vol. 36, pp. 118–136.
8. D. KUMARI, X.-Y. QIAN, X. PAN, V. ACHAL, Q. LI, G.M. GADD: Microbially-induced carbonate precipitation for immobilization of toxic metals. *Advances in Applied Microbiology* 2016, Vol. 94, pp. 79–108.
9. D. ARIAS, L.A. CISTERNAS, M. RIVAS: Biomineralization mediated by ureolytic bacteria applied to water treatment: A review. *Crystals* 2017, Vol. 7, Art. 345.
10. V. IVANOV, J. CHU: Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil *in situ*. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 2008, Vol. 7, pp. 139–153.
11. R.A.N. DILRUKSHI, S. KAWASAKI: Effective use of plant-derived urease in the field of geoenvironmental/geotechnical engineering. *Journal of Civil & Environmental Engineering* 2016, Vol. 6, Art. 207.
12. F. HAMMES, W. VERSTRAETE: Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 2002, Vol. 1, pp. 3–7.
13. L. MAZZEI, F. MUSIANI, S. CIURLI: Urease. *RSC Metallobiology* 2017, Vol. 10, pp. 60–97.
14. B. KRAJEWSKA: Ureases. I. Functional, kinetic and catalytic properties: A review. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2009, Vol. 59, pp. 9–21.
15. S. BENINI, W.R. RYPNIEWSKI, K.S. WILSON, S. MILLETTI, S. CIURLI, S. MANGANI: 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* 1999, Vol. 7, pp. 205–216.
16. B. KRAJEWSKA, R. van ELDIK, M. BRINDELL: Temperature- and pressure-dependent stopped-flow kinetic studies of jack-bean urease. Implications for the catalytic mechanism. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* 2012, Vol. 17, pp. 1123–1134.
17. B. KRAJEWSKA: A combined temperature-pH study of urease kinetics. Assigning pK_a values to ionizable groups of the active site involved in the catalytic reaction. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2016, Vol. 124, pp. 70–76.
18. L.V. MODOLO, C.J. DA-SILVA, D.S. BRANDÃO, I.S. CHAVES: A minireview on what we have learned about urease inhibitors of agricultural interest since mid-2000s. *Journal of Advanced Research* 2018, Vol. 13, pp. 29–37.
19. P. KAFARSKI, M. TALMA: Recent advances in design of new urease inhibitors: A review. *Journal of Advanced Research* 2018, Vol. 13, pp. 101–112.
20. M.J. TODD, R.P. HAUSINGER: Competitive inhibitors of *Klebsiella aerogenes* urease. Mechanisms of interaction with the nickel active site. *Journal of Biological Chemistry* 1989, Vol. 264, pp. 15835–15842.
21. B. KRAJEWSKA, M. BRINDELL: Thermodynamic study of competitive inhibitors' binding to urease. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2016, Vol. 123, pp. 2427–2439.
22. B. KRAJEWSKA, W. ZABORSKA, M. LESZKO: Inhibition of chitosan-immobilized urease by slow binding inhibitors: Ni^{2+} , F^- and acetohydroxamic acid. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2001, Vol. 14, pp. 101–109.
23. B. KRAJEWSKA: Mono- (Ag, Hg) and di- (Cu, Hg) valent metal ions effects on the activity of jack bean urease. Probing the modes of metal binding to the enzyme. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 2008, Vol. 23, pp. 535–542.
24. B. KRAJEWSKA, W. ZABORSKA: Double mode of inhibition-inducing interactions of 1,4-naphthoquinone with urease. Arylation vs oxidation of enzyme thiols. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 2007, Vol. 15, pp. 4144–4151.
25. L. MAZZEI, M. CIANCI, F. MUSIANI, S. CIURLI: Inactivation of urease by 1,4-benzoquinone: Chemistry at the protein surface. *Dalton Transactions* 2016, Vol. 45, pp. 5455–5459.
26. S. BENINI, M. CIANCI, L. MAZZEI, S. CIURLI: Fluoride inhibition of *Sporosarcina pasteurii* urease: Structure and thermodynamics. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* 2014, Vol. 19, pp. 1243–1261.
27. B. KRAJEWSKA: Ureases. II. Properties and their customizing by enzyme immobilizations: A review. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2009, Vol. 59, pp. 22–40.
28. B. KRAJEWSKA: Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: A review. *Enzyme and Microbial Technology* 2004, Vol. 35, pp. 126–139.
29. B. KRAJEWSKA: Urease immobilized on chitosan membrane. Inactivation by heavy metal ions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 1991, Vol. 52, pp. 157–162.
30. W. de MUYNCK, K. VERBEKEN, N. de BELIE, W. VERSTRAETE: Influence of urea and calcium dosage on the effectiveness of bacterially induced carbonate precipitation on limestone. *Ecological Engineering* 2010, Vol. 36, pp. 99–111.
31. S. STOCKS-FISCHER, J.K. GALINAT, S.S. BANG: Microbiological precipitation of CaCO_3 . *Soil Biology and Biochemistry* 1999, Vol. 31, pp. 1563–1571.

32. G. le MÉTAYER-LEVREL, S. CASTANIER, G. ORIAL, J.-F. LOUBIÈRE, J.-P. PERTHUISOT: Applications of bacterial carbonatogenesis to the protection and regeneration of limestones in buildings and historic patrimony. *Sedimentary Geology* 1999, Vol. 126, pp. 25–34.
33. V.S. WHIFFIN, L.A. van PAASSEN, M.P. HARKES: Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiology Journal* 2007, Vol. 24, pp. 417–423.
34. M.P. HARKES, L.A. van PAASSEN, J.L. BOOSTER, V.S. WHIFFIN, M.C.M. van LOOSDRECHT: Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation for ground reinforcement. *Ecological Engineering* 2010, Vol. 36, pp. 112–117.
35. L.A. van PAASSEN, R. GHOSE, T.J.M. van der LINDEN, W.R.L. van der STAR, M.C.M. van LOOSDRECHT: Quantifying biomediated ground improvement by ureolysis: Large-scale biogROUT experiment. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 2010, Vol. 136, pp. 1721–1728.
36. G.D.O. OKWADHA, J. LI: Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere* 2010, Vol. 81, pp. 1143–1148.
37. K.L. BACHMEIER, A.E. WILLIAMS, J.R. WARMINGTON, S.S. BANG: Urease activity in microbiologically-induced calcite precipitation. *Journal of Biotechnology* 2002, Vol. 93, pp. 171–181.
38. Y. FUJITA, F.G. FERRIS, R.D. LAWSON, F.S. COLWELL, R.W. SMITH: Calcium carbonate precipitation by ureolytic subsurface bacteria. *Geomicrobiology Journal* 2000, Vol. 17, pp. 305–318.
39. F.G. FERRIS, V. PHOENIX, Y. FUJITA, R. SMITH: Kinetics of calcium precipitation induced by ureolytic bacteria at 10 and 20°C in artificial groundwater. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2003, Vol. 68, pp. 1701–1710.
40. A.J. PHILLIPS, E.G. LAUCHNOR, J. ELDRING, R. ESPPOSITO, A.C. MITCHELL, R. GERLACH, A.B. CUNNINGHAM, L.H. SPANGLER: Potential CO₂ leakage reduction through biofilm-induced calcium carbonate precipitation. *Environmental Science & Technology* 2013, Vol. 47, pp. 142–149.
41. M. NEMATI, G. VOORDOUW: Modification of porous media permeability, using calcium carbonate produced enzymatically in situ. *Enzyme Microbial Technology* 2003, Vol. 33, pp. 635–642.
42. M. NEMATI, E.A. GREENE, G. VOORDOUW: Permeability profile modification using bacterially formed calcium carbonate: Comparison with enzymic option. *Process Biochemistry* 2005, Vol. 40, pp. 925–933.
43. D. NEUPANE, H. YASUHARA, N. KINOSHITA, T. UNNO: Applicability of enzymatic calcium carbonate precipitation as a soil-strengthening technique. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 2013, Vol. 139, pp. 2201–2211.
44. I. SONDI, B. SALOPEK-SONDI: Influence of the primary structure of enzymes on the formation of CaCO₃ polymorphs: A comparison of plant (*Canavalia ensiformis*) and bacterial (*Bacillus pasteurii*) ureases. *Langmuir* 2005, Vol. 21, pp. 8876–8882.
45. I.H. NAM, C.M. CHON, K.-Y. YUNG, S.-G. CHOI, H. CHOI, S.S. PARK: Calcite precipitation by ureolytic plant (*Canavalia ensiformis*) extracts as effective biomaterials. *KSCCE Journal of Civil Engineering* 2015, Vol. 19, pp. 1620–1625.
46. S.-S. PARK, S.-G. CHOI, I.H. NAM: Effect of plant-induced calcite precipitation on the strength of sand. *Journal of Materials in Civil Engineering* 2014, Vol. 26, pp. 1–5.
47. N. HAMDAN, R. KAVAZANJIAN Jr, S. O'DONNELL: Carbonate cementation via plant derived urease. In: P. DELAGE, J. DESRUES, R. FRANK, A. PUECH, F. SCHLOSSER [Eds.]: Proceedings of the 18th International Conference on Soil Mechanics and Geotechnical Engineering, Presses des Ponts, Paris (France) 2013, pp. 2489–2492.
48. C.M. GOROSPE, S.-H. HAN, S.-G. KIM, J.-Y. PARK, C.-H. KANG, J.-H. JEONG, J.-S. SO: Effects of different calcium salts on calcium carbonate crystal formation by *Sporosarcina pasteurii* KCTC 3558. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 2013, Vol. 18, pp. 903–908.
49. F. HAMMES, N. BOON, J. de VILLIERS, W. VERSTRAETE, S.D. SICILIANO: Strain-specific ureolytic microbial calcium carbonate precipitation. *Applied and Environmental Microbiology* 2003, Vol. 69, pp. 4901–4909.
50. E. WORREL, L. PRICE, N. MARTIN, C. HENDRIKS, L.O. MEIDA: Carbon dioxide emissions from the global cement industry. *Annual Review of Energy and the Environment* 2001, Vol. 26, pp. 303–329.
51. H. SUTHAR, K. HINHURAO, A. DESAI, A. NERURKAR: Selective plugging strategy-based microbial-enhanced oil recovery using *Bacillus licheniformis* TT33. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2009, Vol. 19, pp. 1230–1237.
52. A. MITCHELL, A. PHILLIPS, J. KASZUBA, W. HOLLIS, A. CUNNINGHAM, R. GERLACH: Microbially enhanced carbonate mineralization and the geologic containment of CO₂. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2008, Vol. 72, p. A636.
53. J. DICK, W. de WINDT, B. de GRAEF, H. SAVEYN, P. van der MEEREN, N. de BELIE, W. VERSTRAETE: Bio-deposition of a calcium carbonate layer on degraded limestone by *Bacillus* Species. *Biodegradation* 2006, Vol. 17, pp. 357–367.
54. W. de MUYNCK, D. DEBROUWER, N. de BELIE, W. VERSTRAETE: Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials. *Cement and Concrete Research* 2008, Vol. 38, pp. 1005–1014.
55. V. ACHAL, A. MUKHERJEE, M.S. REDDY: Effect of calcifying bacteria on permeation properties of concrete structures. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 2011, Vol. 38, pp. 1229–1234.
56. S. JOSHI, S. GOYAL, A. MUKHERJEE, M.S. REDDY: Microbial healing of cracks in concrete: a review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 2017, Vol. 44, pp. 1511–1525.
57. V. VIKTOR, H.M. JONKERS: Bacteria-based concrete: From concept to market. *Smart Materials and Structures* 2016, Vol. 25, Art. 084006.

Krajewska, B., Raczak, K. Principles and Possible Applications of Calcium Carbonate Biomineralization. *Ochrona Środowiska* 2019, Vol. 41, No. 1, pp. 31–37.

Abstract: Calcium carbonate (CaCO₃) is a substance widespread in nature and used in numerous practical applications. In nature, its biomineralization relies, among others, on microbially induced precipitation processes. One of such processes is precipitation induced by ureolytic bacteria. If performed in a biomimetic manner, the process is carried out under mild conditions and, most importantly, can be employed in field applications *in situ*. Therefore, the process constitutes an eco-friendly and energy-saving technique to be used as an ecological alternative to conventional techniques in a variety of engineering fields. In these fields, CaCO₃ serves as a remediating and cementing agent, for instance to (1) clean waste- and groundwater from toxic metals and radionuclides, (2) strengthen and consolidate soil and sand, (3) seal geological formations to enhance oil recovery and geologic CO₂ sequestration, (4) repair stone and

concrete structures, and (5) cover surfaces of these structures with protective layers. Although already in use in the sector of protection and renovation of stone monuments, to date the technique has remained mostly under research and optimization. To become fully implementable as a reliable and economically viable technique, it still requires further research in order to address its limitations, focus on parametrical optimization, up-scaling and life-size field experiments. All these, in an interdisciplinary effort of geologists, microbiologists, chemists, civil engineers and conservators of historic monuments, will move this eco-friendly and innovative branch of engineering from laboratory to field applications in the environmental and civil engineering, geotechnology and conservation of historic buildings. Given its eco-potential and innovativeness, in this study the principles of the technique, advantages, possible applications and challenges are reviewed.

Keywords: Biomineralization, CaCO₃, bacteria, urease, engineering, groundwater, soil, oil recovery, CO₂ sequestration, historic monuments.