

## A importância da fonte de cálcio para a precipitação de carbonato de cálcio induzida por microrganismos (MICP)

Isabelle Joanne Viana Coelho César

Discente, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Brasil, [isabellecesarufr@gmail.com](mailto:isabellecesarufr@gmail.com)

Victor Carlos Vital Cavalcanti

Discente, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Brasil, [victorcarlos2909@gmail.com](mailto:victorcarlos2909@gmail.com)

Érika Cristina Morais Carneiro

Discente, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Brasil, [eriika\\_morais12@hotmail.com](mailto:eriika_morais12@hotmail.com)

Mariana Ramos Chrusciak

Professora Adjunta, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Brasil, [mariana.chrusciak@ufr.br](mailto:mariana.chrusciak@ufr.br)

Bruna de Carvalho Faria Lima Lopes

Lecturer, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, Reino Unido, [bruna.lopes@newcastle.ac.uk](mailto:bruna.lopes@newcastle.ac.uk)

**RESUMO:** A estabilização de solos representa um desafio crítico na engenharia geotécnica, especialmente quando se busca incorporar práticas sustentáveis em face dos impactos ambientais negativos associados aos métodos convencionais de melhoramento de solos. Este artigo aborda a Precipitação de Carbonato de Cálcio induzida por microorganismos (MICP) como uma alternativa viável e ambientalmente amigável, focando na importância da fonte de cálcio para a eficácia do processo. Utilizando amostras de areia padrão enriquecidas com o meio B4, com diferentes concentrações de cálcio, este estudo visa elucidar a influência da fonte de cálcio na precipitação de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ). A análise estende-se a variáveis adicionais como o tipo de glicose utilizada e o tempo de incubação, fatores determinantes para a quantificação do carbonato de cálcio biologicamente produzido. Além do potencial de melhoramento das propriedades geotécnicas dos solos, este processo oferece a perspectiva de capturar  $\text{CO}_2$  atmosférico, contribuindo assim para esforços de mitigação das mudanças climáticas. Os resultados indicam a capacidade do meio B4 de precipitar  $\text{CaCO}_3$ , destacando a relevância das condições experimentais na otimização da bioprecipitação para aplicações geotécnicas sustentáveis. Este estudo pavimenta o caminho para futuras pesquisas focadas em maximizar a eficiência do MICP e explorar seu potencial tanto para a estabilização do solo quanto para a captura de carbono.

**PALAVRAS-CHAVE:** MICP, Precipitação de carbonato de cálcio, biocimentação, biomineralização, captura de carbono.

**ABSTRACT:** Soil stabilization represents a critical challenge in geotechnical engineering, especially when seeking to incorporate sustainable practices in the face of negative environmental impacts associated with conventional soil improvement methods. This paper addresses Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP) as a viable and environmentally friendly alternative, focusing on the importance of the calcium source for the process's efficiency. Using standard sand samples enriched with B4 medium, with different calcium concentrations, this study aims to elucidate the influence of calcium sources on the precipitation of calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ). The analysis extends to additional variables such as the type of glucose used and the incubation time, key factors for the quantification of biologically produced calcium carbonate. Beyond the potential for improving the geotechnical properties of soils, this process offers the perspective of capturing atmospheric  $\text{CO}_2$ , thus contributing to efforts to mitigate climate change. The results indicate the capability of the B4 medium to precipitate  $\text{CaCO}_3$ , highlighting the relevance of experimental conditions in optimizing bioprecipitation for sustainable geotechnical applications. This study paves the way

for future research focused on maximizing the efficiency of MICP and exploring its potential for both soil stabilization and carbon capture.

**KEYWORDS:** MICP, Calcium carbonate precipitation, biocementation, biomineralization, carbon capture.

## 1 INTRODUÇÃO

Um dos maiores desafios no setor geotécnico na atualidade é a implementação de princípios de sustentabilidade na prática. Solos marginais, como areias fofas, argilas moles, solos orgânicos e sedimentos dragados, são materiais que carecem das características de engenharia necessárias para a construção. Esses solos precisam ser tratados ou estabilizados antes de serem utilizados como material de construção (Firoozi et al., 2017). Métodos tradicionais para enfrentar os desafios relacionados à solos marginais incluem a substituição do solo, compactação do solo, injeção de calda de cimento (grouting), drenagem e pré-compressão, entre outros. Dezenas de milhares de projetos de melhoria de solo são executados a cada ano, com um custo total superior a R\$30 bilhões por ano em todo o mundo (DeJong et al., 2010). Os métodos convencionais de estabilização de solos apesar de amplamente utilizados, estão sob crescente escrutínio principalmente devido às suas implicações ambientais. Isso porque a indústria de cimento, um componente chave dessas técnicas, é responsável por 10% das emissões globais de CO<sub>2</sub> (Firoozi et al., 2017). Nesse contexto, a biogeotecnologia que explora processos biogeoquímicos que acontecem naturalmente no solo, apresenta-se como alternativa promissora aos métodos tradicionais de estabilização de solos (Dejong et al., 2013).

Entre as tecnologias emergentes nesse campo, a Precipitação de Carbonato de Cálcio Induzida por Microorganismos (MICP) mostra-se como uma alternativa ambientalmente viável para melhorar as propriedades do solo. As aplicações da MICP dentro da biogeotecnia estão relacionadas principalmente ao aumento da resistência do solo, à mitigação da liquefação do solo, à melhoria da permeabilidade do solo e ao controle de erosão (Bu et al., 2022; He et al., 2019). Há diversos processos biogeoquímicos capazes de induzir a precipitação de carbonato de cálcio como, por exemplo, a hidrólise de ureia, a desnitrificação, a amonificação, a redução de sulfato, a fotossíntese e a oxidação de metano. No entanto, a maioria deles geram subprodutos indesejados (Osinubi et al., 2020), limitando sua aplicabilidade. A hidrólise de ureia, apesar de gerar amônio, um subproduto tóxico que precisa ser remediado, continua sendo o processo biogeoquímico mais utilizado para precipitação de carbonato de cálcio (Van Paassen, 2009).

Nesse contexto é importante destacar os processos naturais de intemperização como forma alternativa de precipitação de carbonatos, não apenas por sua importância biogeoquímica, mas também pelo seu potencial na captura de CO<sub>2</sub> atmosférico. Este fenômeno natural inicia-se com a dissolução de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) na água, formando ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>).



O ácido carbônico é instável e rapidamente se dissocia, liberando íons bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e íons hidrogênio (H<sup>+</sup>):



Os íons hidrogênio liberados desempenham um papel crucial na quebra de cátions, um processo que depende fundamentalmente da disponibilidade de fontes de cátions, como o cálcio (Ca<sup>2+</sup>), no sistema. Esses cátions ao serem mobilizados, podem reagir com íons bicarbonato, levando à formação de carbonatos.



Onde M representa cátions que podem ser cálcio, magnésio, e ferro, por exemplo.

A contribuição das bactérias à esse processo (biointemperismo), especialmente na formação de carbonato de cálcio no solo, apresenta aspectos ainda não totalmente elucidados. Enquanto a disponibilidade de CO<sub>2</sub> dissolvido é um fator chave para a carbonatação natural do solo (Renforth et al., 2011; Washbourne et al., 2012), as bactérias podem desempenhar várias funções que influenciam esse processo. Por um lado, elas podem produzir substâncias poliméricas extracelulares (SPE) (Hao et al., 2024), que aceleram a formação de carbonato de cálcio, ou até mesmo produzir o CO<sub>2</sub> necessário para facilitar essa precipitação. Por outro lado, as bactérias podem atuar fornecendo sítios de nucleação na superfície celular bacteriana facilitando assim as reações químicas necessárias (Stocks-Fischer et al., 1999). No entanto, a eficácia desses mecanismos bacterianos na promoção da precipitação de carbonato de cálcio pode ser limitada em ambientes com baixa concentração de matéria orgânica, onde a atividade bacteriana tende a ser reduzida (Castanier et al., 2000). Isso aponta para a importância de entender melhor como a interação entre bactérias e condições geoquímicas pode ser otimizada para capturar CO<sub>2</sub> atmosférico, realçando o potencial da biomineralização induzida biologicamente para aplicações geotécnicas sustentáveis.

Assim, este artigo dedica-se a explorar como diferentes concentrações da fonte de cálcio influenciam na capacidade de precipitação de carbonato de cálcio, por meio do processo de biomineralização. Para isso, utilizou-se o meio de enriquecimento B4, reconhecido pela sua eficácia em promover a bioprecipitação. Além da concentração da fonte de cálcio, este estudo também avaliou o impacto de variáveis como o tipo de glicose e o período de incubação na eficiência da biomineralização. A análise desses fatores é crucial para aprofundar o entendimento sobre os mecanismos subjacentes à bioprecipitação de carbonato de cálcio, abrindo caminho para otimizar esta tecnologia para aplicações geotécnicas sustentáveis.

## 2 METODOLOGIA

Amostras de solo de uma areia padrão foram compactadas em seringas de 60 ml, em 3 diferentes camadas, na qual cada camada continha 17 g de solo, ocupando um volume de aproximadamente 10 ml. Para a confecção do *setup* Figura 1, a parte inferior das seringas foi cortada e, com auxílio de rolhas de borracha, a parte inferior das seringas foi devidamente vedada. As rolhas possuíam um furo central, permitindo o encaixe de um tubo capaz de realizar a drenagem de líquidos do sistema. Além disso, entre a rolha de borracha e a amostra de solo, havia uma camada de fibra abrasiva e outra de papel filtro, para evitar passagem de areia da seringa para o tubo durante a percolação de soluções (Roth et al., 2022).



Figura 1. *Setup* das amostras montado

Para a produção do meio de enriquecimento B4 foram utilizados, para 1 L de água destilada, 4 g de extrato de leveduras, 5 g de glicose e 2,5 g e 15 g de acetato de cálcio para concentrações de 0,25% e 1,5% da fonte de cálcio, respectivamente. Duas variações da solução para a concentração de 1,5% de acetato de cálcio foram realizadas, uma usando dextrose pura e outra utilizando o composto de alta concentração de glicose *Modified Eagle Medium* (DMEM), enquanto a solução de 0,25% foi produzida apenas com o uso de dextrose. Além disso, foi adicionada às soluções uma pequena quantidade de hidróxido de sódio (NaOH), à 0,5M, a fim de ajustar o pH entre 8,2 e 8,5 e propiciar um ambiente favorável para a proliferação bacteriana (Boquet et al., 1973; Lee Y, 2003).

Após a montagem do *setup* das seringas, as amostras de solo foram saturadas com água destilada, e drenadas pelo tubo inferior até que não houvesse mais presença de bolhas de ar. Posteriormente, em se tratando

das soluções B4 feitas com dextrose, foram produzidas duas duplicatas (4 amostras) para cada proporção, sendo uma delas incubada por 15 dias e outra por 22 dias. Já para solução de B4 de 1,5% feita com DMEM, foram feitas três duplicatas (6 amostras) para incubação de 15, 22 e 29 dias. É válido destacar que, para cada duas amostras de solo tratadas com a solução de enriquecimento, havia uma amostra controle tratada apenas com água destilada. 60ml da solução de tratamento (ou água destilada para o caso das amostras controle) foi aplicada e drenada de forma com o que nível da solução se mantivesse 5 ml acima do nível do solo e, conforme a necessidade, foram feitas reaplicações para que esse nível permanecesse constante.

Ao final do tempo de incubação, as amostras foram submetidas ao ensaio de perda de massa por ignição, a fim de quantificar o carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) presente no solo tratado. Para isso, as amostras de solo foram retiradas das seringas e divididas em três camadas (superior, intermediária e inferior) a fim de conferir a heterogeneidade do processo e depois colocadas para secar na estufa à  $105^\circ\text{C}$  por 24 horas. Posteriormente, as amostras secas foram transferidas para cadinhos de massa conhecida e a massa do conjunto 1 ( $M_{105}$ ) foi registrada. Os cadinhos foram então aquecidos na mufla à  $550^\circ\text{C}$  por 5 horas para queimar a matéria orgânica e à  $950^\circ\text{C}$  por 3 horas a fim de liberar o dióxido de carbono, transformando-se, de acordo com a equação 4, apenas em óxido de cálcio de composto sólido.



As massas das amostras submetidas à mufla, em ambas as temperaturas, também foram registradas ( $M_{550}$  e  $M_{950}$ ). Os cálculos do percentual de perda por ignição ( $\text{LOI}_{950}$ ) à  $950^\circ\text{C}$  da amostra de solo foram realizados de forma semelhante ao processo feito por (Heiri et al., 2001), conforme equação 5, representando a massa de  $\text{CO}_2$  perdida devido à reação térmica. Posteriormente, para determinar o percentual de carbonato de cálcio, o valor da  $\text{LOI}_{950}$  foi dividido por 0,44, que corresponde à fração de  $\text{CO}_2$  no  $\text{CaCO}_3$  (Dean, 1974).

$$\text{LOI}_{950} = \left( \frac{M_{550} - M_{950}}{M_{105}} \right) * 100 \quad (5)$$

Por fim, a partir da comparação dos resultados dos percentuais de  $\text{CaCO}_3$  obtidos através do ensaio de perda por ignição, foi possível correlacionar a influência da fonte de cálcio do meio de enriquecimento e as demais variáveis envolvidas tanto no processo de biocimentação quanto no processo de quantificação do carbonato de cálcio.

### 3 RESULTADOS

Este estudo examinou o impacto de diferentes tratamentos em amostras de areia, com foco na precipitação de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ). Os resultados de perda de ignição apresentados na Figura 2 destacam as análises conduzidas na parte superior das seringas. Adicionalmente, é importante ressaltar que os resultados das amostras tratadas com a solução B4 representam as médias das medições realizadas nas partes superiores das duplicatas produzida e o desvio padrão entre as duas amostras.

Amostras de solo não tratado (solo natural) revelaram um teor de carbonato de cálcio de aproximadamente 0,023%. Todas as amostras submetidas a tratamentos, com exceção da amostra de B4 com 0,25%, superaram o teor de  $\text{CaCO}_3$  do solo natural após 15 dias de incubação (Figura 2a). Destaca-se que as amostras tratadas com a solução B4 com concentração de 1,5%, principalmente aquelas com adição de DMEM, mostraram uma precipitação de  $\text{CaCO}_3$  consideravelmente maior em comparação com aquelas tratadas com solução de 0,25%. É válido mencionar que a média das amostras superiores tratadas com B4 de 0,25%, com tempo de incubação de 15 dias, foi negativa. Isso ocorreu porque uma das amostras obteve valor de massa após a perda de ignição de  $950^\circ\text{C}$  superior à massa após a perda de ignição de  $550^\circ\text{C}$ , quando na verdade o esperado seria o inverso.

Após 22 dias de incubação (Figura 2b), as amostras tratadas com solução B4 a 0,25% obtiveram um pequeno aumento no percentual de  $\text{CaCO}_3$  em relação ao solo natural enquanto que aquelas tratadas com água

destilada não apresentaram carbonato de cálcio. Em contrapartida, as amostras tratadas com B4 a 1,5%, independente da composição da glicose utilizada, obtiveram um desempenho melhor, beneficiando-se de uma semana adicional de incubação.

Para o período de incubação estendido até 29 dias, dispondo apenas de dados para a concentração de 1,5% com uso de DMEM (Figura 2c), observou-se que esse tratamento alcançou o maior nível de precipitação de  $\text{CaCO}_3$  entre todas as amostras testadas.

A partir da Figura 2d é possível observar que as amostras tratadas com maiores proporções de acetato de cálcio apresentaram maiores quantidades de  $\text{CaCO}_3$ . Além disso, o fator tempo de incubação também influenciou diretamente na capacidade de precipitação de  $\text{CaCO}_3$ , tendo em vista que os resultados provenientes das amostras de 1,5% com uso de DMEM incubadas por 29 dias foram maiores do que os resultados referentes às amostras incubadas por 15 dias. Adicionalmente, observou-se que o tipo de glicose também interfere nos resultados, já que todas as amostras com adição de DMEM, independentemente do período de incubação, destacaram-se em relação às demais.

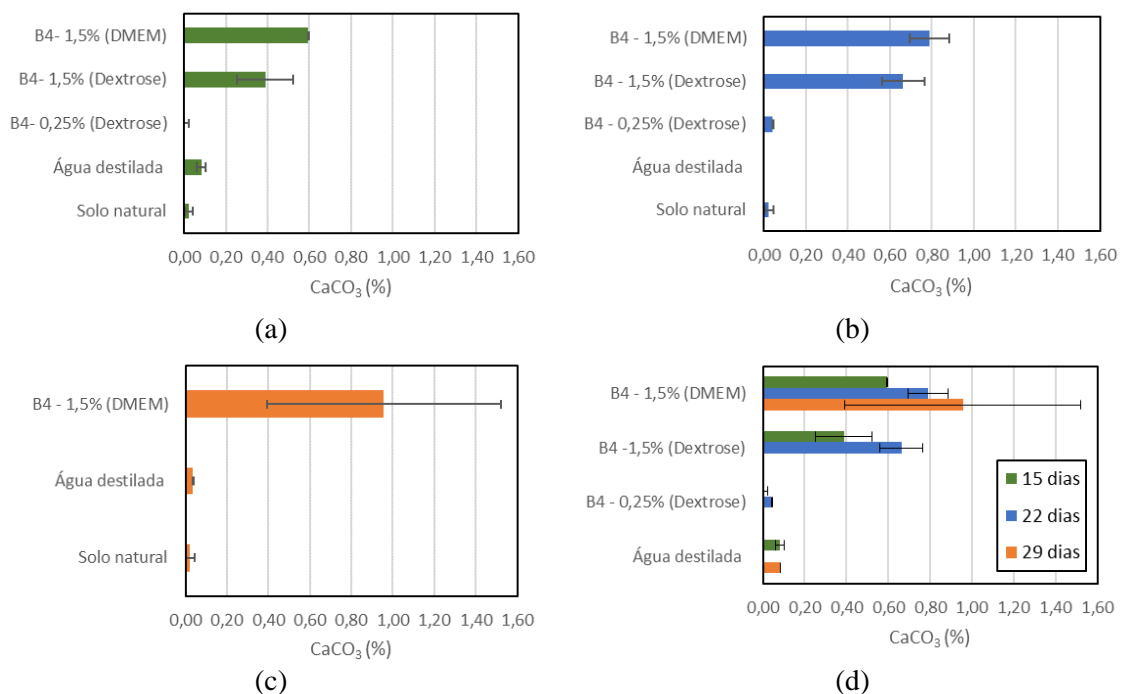


Figura 2. Percentual médio de carbonato de cálcio das amostras superiores tratadas (a) por 15 dias, (b) por 22 dias, (c) por 29 dias e (d) sob uma perspectiva geral ao longo do tempo

## 5 DISCUSSÕES

É importante destacar que os resultados apresentados acima correspondem às partes superiores das seringas, visto que o ensaio de perda de massa por ignição, confirmou a hipótese de que o processo de bioprecipitação de carbonato de cálcio não é homogêneo. A Figura 3a ilustra essa heterogeneidade em 6 amostras distintas. Acredita-se que a presença de um biofilme na parte superior das amostras (Figura 3b) contribuiu para uma maior concentração de  $\text{CaCO}_3$  nessas áreas.

A precisão do método de perda de ignição para determinar a porcentagem de  $\text{CaCO}_3$  em amostras de solo leva a questionamentos, especialmente diante da evidente heterogeneidade no processo de bioprecipitação. O estudo realizado por Heiri et al. (2001) lança luz sobre esta questão, indicando que variáveis tais como o tamanho da amostra, manuseio e pesagem nos laboratórios, duração e temperaturas aplicadas na mufla, bem como a configuração física dentro desta, podem influenciar os resultados obtidos. Neste contexto, o presente estudo adotou as diretrizes propostas por Heiri et al. (2001), empregando amostras com massas

pequenas (inferiores a 6g) e submetendo-as à temperaturas de 550°C e 950°C durante períodos de 5 e 3 horas, respectivamente, visando maximizar a precisão do ensaio.



Figura 3. (a) Distribuição de  $\text{CaCO}_3$  nas diferentes camadas da amostra, e (b) Presença de biofilme na parte superior de uma amostra tratada durante 22 dias com B4 a 1,5% e uso de DMEM.

Contudo, a presença de  $\text{CaCO}_3$  indicada nos resultados do teste de perda de ignição, tanto para o solo natural, composto 100% de quartzo, quanto nas amostras controle - nas quais fontes adicionais de cálcio seriam inesperadas - destaca a complexidade adicional para interpretação dos resultados desse ensaio.

Dentre os questionamentos acerca das variáveis capazes de influenciar os resultados da perda de ignição, notou-se que o manuseio da amostra durante a pesagem está intrinsecamente ligado à precisão dos resultados. Nesse viés, o possível ganho de umidade durante as medições que sucedem as perdas de ignição de 550°C e 950°C podem caracterizar resultados negativos ou nulos, devido ao ganho de massa indesejado durante o processo, especialmente quando o ensaio é feito por meio de balanças de alta precisão.

Além disso, a heterogeneidade da bioprecipitação evidenciada pela variável distribuição de biofilmes, pode comprometer a representatividade e, por conseguinte, a confiabilidade dos dados de perda de ignição. Assim, a interpretação dos resultados requer cautela, e há uma clara necessidade de métodos analíticos complementares que permitam uma avaliação mais precisa e holística do conteúdo de  $\text{CaCO}_3$  em futuras investigações.

No entanto, ainda que a técnica utilizada esteja sob escrutínio e o percentual máximo de  $\text{CaCO}_3$  precipitado com o tratamento indicado por este ensaio seja de apenas 1,36%, observa-se visualmente que as amostras tratadas com a solução B4 a 1,5% não desagregam facilmente. De fato, após o tratamento e a secagem na estufa à 105°C por 24 horas, enquanto as amostras com água destilada se desagregaram (Figura 4a), as amostras tratadas com a solução de enriquecimento permaneceram com o formato cilíndrico, precisando de uma leve pressão para serem desagregadas (Figura 4b).



Figura 4. Comparação entre as amostras tratadas, durante 29 dias, com (a) água destilada e (b) B4 a 1,5% e uso de DMEM.

Adicionalmente, é importante considerar o papel crucial do CO<sub>2</sub> dissolvido no solo para a eficácia da precipitação de CaCO<sub>3</sub>, um aspecto fundamental no processo de biomineralização induzida biologicamente. A escolha de utilizar areia padrão, caracterizada por baixos níveis de CO<sub>2</sub> dissolvido, em vez de uma amostra indeformada de solo, que naturalmente contém quantidades maiores de CO<sub>2</sub>, pode ter influenciado negativamente o potencial de precipitação de CaCO<sub>3</sub>. Esse fator, possivelmente limitante, reforça a necessidade de avaliações mais detalhadas sobre as condições ótimas para a biomineralização.

Por último, é válido apontar ainda que a ocorrência da precipitação de carbonato de cálcio no solo não necessariamente se traduz em aumento de resistência. Isso porque o aumento de resistência está diretamente ligado à capacidade do carbonato de cálcio de criar ligações nos contatos intergranulares do solo, tornando-o mais coesivo. Por isso, a depender dos índices de vazios do solo a ser tratado, somado ao fato de a bioprecipitação do carbonato de cálcio ser heterogênea, há a possibilidade de o carbonato de cálcio precipitado não ser suficiente para proporcionar essa coesão. Assim, esse estudo focou na quantificação de CaCO<sub>3</sub> bioprecipitado. Entretanto, embora seja evidente que o solo tratado com B4 tornou-se consideravelmente mais coesivo, a avaliação precisa de seu aumento de resistência é algo a ser investigado em pesquisas futuras.

## 5 CONCLUSÕES

A aplicação do meio de enriquecimento B4 mostrou-se capaz de precipitar carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) em amostras de areia padrão. Foram analisados, por meio desta pesquisa, os fatores capazes de influenciar no processo e nos resultados de determinação do percentual de CaCO<sub>3</sub>, tais como: a heterogeneidade da bioprecipitação, a escassez de CO<sub>2</sub> nas amostras de areia, as intercorrências enfrentadas durante os ensaios de perda de ignição, a escolha do tipo de glicose a ser utilizada no meio de enriquecimento e a proporção da fonte de cálcio.

O percentual máximo de CaCO<sub>3</sub> precipitado com o tratamento, indicado pelo ensaio de perda de ignição, foi de 1,36% para a amostra com 1,5% de acetato de cálcio e glicose composta *Modified Eagle Medium* (DMEM) incubada por 29 dias. Por fim, ainda que os resultados de quantificação tenham sido menores do que o esperado, as amostras mostraram-se visualmente mais resistentes após a bioestimulação. Por essa razão, espera-se investigar em pesquisas futuras a relação entre a precipitação de carbonato induzida por microorganismos e o aumento de resistência do solo, bem como a associação de outros métodos capazes de quantificar o CaCO<sub>3</sub>.

## AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela ISPF ODA institutional funding da Newcastle University e pela Coalition for Disaster Resilient Infrastructure (CDRI) por meio da CDRI Fellowship 2023/24, como parte do projeto "NATURE: Nature-based solutions To Unpaved Roads Engineering". Os autores expressam seu agradecimento ao CDRI e ISPF ODA (Newcastle University) pelo apoio recebido, fundamental para a realização deste trabalho. Além disso a primeira autora também gostaria de agradecer a Universidade Federal de Roraima pelo apoio financeiro recebido através da bolsa de iniciação científica (Programa PIBIC/UFRR).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boquet E, B. A. R.-C. A. (1973). Production of Calcite (Calcium Carbonate) Crystals by Soil Bacteria is a General Phenomenon. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 25(1), 527–529.
- Bu, C., Lu, X., Zhu, D., Liu, L., Sun, Y., Wu, Q., Zhang, W., & Wei, Q. (2022). Soil improvement by microbially induced calcite precipitation (MICP): a review about mineralization mechanism, factors, and soil properties. *Arabian Journal of Geosciences*, 15(9). <https://doi.org/10.1007/s12517-022-10012-w>
- Castanier, S., Le Metayer-Levrel, G., Oriol, G., Loubiere, J.-F., & Perthuisot, J.-P. (2000). Bacterial carbonatogenesis and applications to preservation and restoration of historic property. In *Of Microbes and Art* (pp. 203–218).
- Dean, W. E. (1974). Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary

- rocks by loss on ignition: comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Petrology*, 44, 242–248.
- DeJong, J. T., Mortensen, B. M., Martinez, B. C., & Nelson, D. C. (2010). Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36(2), 197–210. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.029>
- Dejong, J. T., Soga, K., Kavazanjian, E., Burns, S., Van Paassen, L. A., AL Qabany, A., Aydilek, A., Bang, S. S., Burbank, M., Caslake, L. F., Chen, C. Y., Cheng, X., Chu, J., Ciurli, S., Esnault-Filet, A., Fauriel, S., Hamdan, N., Hata, T., Inagaki, Y., ... Weaver, T. (2013). Biogeochemical processes and geotechnical applications: Progress, opportunities and challenges. *Geotechnique*, 63(4), 287–301. <https://doi.org/10.1680/geot.SIP13.P.017>
- Firoozi, A. A., Guney Olgun, C., Firoozi, A. A., & Baghini, M. S. (2017). Fundamentals of soil stabilization. *International Journal of Geo-Engineering*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40703-017-0064-9>
- Hao, Z., Su, Y., Liu, S., & Zhang, X. (2024). Roles of bacteria and extracellular polymeric substance in calcium carbonate formation: insights from the effects of calcium source and deposition rate on nucleation. *Biochemical Engineering Journal*, 202. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2023.109160>
- He, J., Chu, J., Gao, Y., & Liu, H. (2019). Research advances and challenges in biogeotechnologies. *Geotechnical Research*, 6(2), 144–155. <https://doi.org/10.1680/jgere.18.00035>
- Heiri, O., Lotter, A. F., & Lemcke, G. (2001). Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results. *Journal of Paleolimnology*, 25, 101–110.
- Lee Y. (2003). Calcite production by bacillus amyloliquefacies CMB01. *The Journal of Microbiology*, 41(4), 345–348.
- Osinubi, K. J., Eberemu, A. O., Ijimdiya, T. S., Yakubu, S. E., Gadzama, E. W., Sani, J. E., & Yohanna, P. (2020). Review of the use of microorganisms in geotechnical engineering applications. *SN Applied Sciences*, 2(2). <https://doi.org/10.1007/s42452-020-1974-2>
- Renforth, P., Washbourne, C. L., Taylder, J., & Manning, D. A. C. (2011). Silicate production and availability for mineral carbonation. *Environmental Science and Technology*, 45(6), 2035–2041. <https://doi.org/10.1021/es103241w>
- Roth, M. J. S., Asce, M., Caslake, L. F., & Mcguire, M. P. (2022). Biocementation for All, Anywhere: A New Experiment for Introductory Soil Mechanics Courses. In *Advances in monitoring and sensing; embankments, slopes, and dams; pavements; and geo-education* (pp. 472–484).
- Stocks-Fischer, S., Galinat, J. K., & Bang, S. S. (1999). Microbiological precipitation of CaCO<sub>3</sub>. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1563–1571.
- Van Paassen, L. (2009). *BiogROUT Ground Improvement by Microbially Induced Carbonate Precipitation*. Technische Universiteit Delft.
- Washbourne, C. L., Renforth, P., & Manning, D. A. C. (2012). Investigating carbonate formation in urban soils as a method for capture and storage of atmospheric carbon. *Science of the Total Environment*, 431, 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.05.037>