BIOESTABILIZAÇÃO DE UM SOLO ARENOSO POR VIA ENZIMÁTICA E COM BIOPOLÍMERO: EFEITO DO TEMPO DE CURA

Biostabilisation of a sandy soil by enzymatic way and with a biopolymer: effect of curing time

Paulo J. Venda Oliveira^a, Joaquim A. Oliveira Rosa^b, Diogo J. R. Cabral^b

^a Universidade de Coimbra, ISISE, Departamento de Engenharia Civil, Coimbra, Portugal.

^b Universidade de Coimbra, Departamento de Engenharia Civil, Coimbra, Portugal.

RESUMO – Neste trabalho compara-se a eficiência de duas metodologias para bioestabilização de um solo arenoso: utilização da enzima *urease* (EICP) e do biopolímero xantano (XG). Com base nos resultados de ensaios UCS e edométricos para diferentes tempos de cura, avaliam-se as repercussões de ambas as metodologias, em termos de resistência à compressão não confinada, módulo de deformabilidade, índice de compressibilidade e tensão de cedência. Comparando ambas as metodologias, constata-se que o tratamento com *EICP* é mais eficiente na melhoria das propriedades mecânicas, induz um comportamento tensãodeformação mais frágil e conduz a ganhos de resistência e rigidez mais rápidos (\leq 14 dias). Em termos de compressibilidade confinada, constata-se com EICP o aumento da tensão de cedência com o tempo de cura, enquanto a utilização de XG origina a diminuição da tensão de cedência e um significativo aumento do índice de compressibilidade, em resultado da hidratação dos hidrogéis do XG.

ABSTRACT – This work compares the effectiveness of two methodologies for biostabilisation of a sandy soil: using the enzyme *urease* (EICP) and the biopolymer xanthan gum (XG). Based on the results of UCS and oedometer tests for different curing times, the repercussions of both methodologies are evaluated in terms of unconfined compressive strength, deformability modulus, compressibility index and yield strength. Comparing both methodologies, it can be seen that treatment with EICP is more efficient in improving mechanical properties, induces a more fragile stress-strain behaviour and leads to faster gains in strength and stiffness (\leq 14 days). In terms of confined compressibility, with EICP the yield strength increases with curing time, while the use of XG leads to a decrease in the yield strength and to a significant increase in the compressibility index, due to the hydration of the XG hydrogels.

Palavras Chave - Bioestabilização, enzima urease, biopolímero xantano.

Keywords - Biostabilisation, urease enzyme, biopolymer xanthan gum.

1 – INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas décadas, tem-se vindo a constatar uma tendência para as estruturas de engenharia civil (aterros, barragens, túneis, aeroportos, edifícios, etc), aplicarem solicitações de intensidade crescente em conjugação com a diminuição de deslocamentos admissíveis e a

E-mails: pjvo@dec.uc.pt (P. Oliveira), joaquim.orosa@infraestruturasdeportugal.pt (J. Rosa), d10go_93@hotmail.com (D. Cabral)

ORCID: orcid.org/0000-0001-8515-8664 (P. Oliveira)

utilização de formações geotécnicas com débeis propriedades mecânicas. Para viabilizar a construção em condições geotécnicas muito adversas, é necessário promover o melhoramento das propriedades mecânicas dos solos de fundação. Um dos métodos mais utilizados para melhorar as propriedades destes solos, consiste na estabilização química com ligantes, com particular destaque para a utilização de cimento Portland, cal viva, cinzas volantes, escórias granuladas de alto-forno, etc.

Apesar do cimento ser o ligante químico mais utilizado na engenharia geotécnica, devido às suas excelentes propriedades e ao reduzido custo, o seu impacto na pegada ecológica está longe de ser negligenciável, uma vez que a sua produção contribui para cerca de 2,6% das emissões globais de CO₂ (IPCC, 2022). Além disso, a utilização de cimento na geotecnia origina impactos significativos e permanentes no ambiente, associados ao aumento do pH, que tem um efeito prejudicial no desenvolvimento da vegetação e no microbioma. Adicionalmente, o material compósito obtido após estabilização é praticamente irreversível (Chang et al., 2016), o que coloca reservas à sua utilização em zonas sensíveis do ponto de vista ambiental.

Para mitigar esta pegada ecológica, nos últimos anos algumas técnicas alternativas têm vindo a ser exploradas, nomeadamente a utilização de materiais biodegradáveis (Nguyen et al., 2018; Mendonça et al., 2021a; Venda Oliveira e Reis, 2023), a reciclagem/reutilização de materiais de construção (Gomes et al., 2014; Neves et al., 2024) e a implementação de metodologias de origem biológica (Venda Oliveira e Rosa, 2020). As técnicas associadas à produção de um biocimento (biocimentação), através da utilização de bactérias ou enzimas, são algumas das alternativas mais estudadas e promissoras para substituir, em determinadas condições, a utilização intensiva do cimento.

Em geral, o processo de biocimentação consiste na precipitação de carbonato de cálcio (biocimento) e sua deposição nos poros do solo, promovendo em simultâneo a criação de ligações biocimentícias entre as partículas de solo. Este processo é usualmente designado de MICP ("Microbiologically induced calcite precipitation") ou EICP ("Enzyme induced calcium carbonate precipitation"), caso a precipitação de carbonato de cálcio seja induzida por micróbios ou por enzimas, respetivamente. Em geral, ambas as técnicas, MICP e EICP, possuem características de base semelhantes; na MICP a enzima *urease* é produzida por bactérias, enquanto a EICP utiliza a *urease* previamente extraída de plantas (Nemati e Voordouw, 2003; Yasuhara et al., 2012; Neupane et al., 2013, 2015a, 2015b; Putra et al., 2017; Carmona et al., 2018) ou de bactérias (Hoang et al., 2020). A principal vantagem da MICP é o seu reduzido custo, enquanto a EICP é mais fácil de usar em geotecnia, uma vez que esta técnica não implica o cultivo e armazenamento de bactérias (Venda Oliveira e Neves, 2019). Em ambas as técnicas, MICP e EICP, existe adição de enzima *urease* ao sistema, a qual catalisa a hidrólise da ureia (CO(NH₂)₂) (Blakeley e Zerner 1984) em iões amónio (NH_4^+) e carbonato (CO_3^{2-}), processo descrito pelas equações químicas seguintes (Hammes e Verstraete, 2002; Venda Oliveira e Rosa, 2020; Carmona et al., 2017, 2018).

$$\underbrace{\text{CO(NH}_2)_2(s)}_{\text{Urea}} + 2\text{H}_2\text{O}(l) \xrightarrow{\text{Urease}} 2\text{NH}_3(aq) + \text{H}_2\text{CO}_3(aq)$$
(1)

$$NH_3(aq) + H_2O(l) \leftrightarrow NH_4^+(aq) + OH^-(aq)$$
(2)

$$H_2CO_3(aq) \leftrightarrow HCO_3^-(aq) + H^+(aq) \leftrightarrow 2H^+(aq) + CO_3^{2-}(aq)$$
(3)

Num ambiente com um pH elevado e na presença conjunta de iões de cálcio (Ca2+) e iões carbonato, o carbonato de cálcio (CaCO₃) precipita de forma espontânea (Chou et al., 2011; Burbank et al., 2013) de acordo:

$$Ca^{2+}(aq) + CO_3^{2-}(aq) \leftrightarrow CaCO_3(s)$$
(4)

Ambas as metodologias, EICP e MICP, promovem a diminuição de porosidade do solo (Whiffin et al., 2007) e do coeficiente de permeabilidade do solo (Chou et al., 2011; Al Qabany e Soga, 2013; Nemati e Voordouw, 2003; Yasuhara et al., 2012; Neupane et al., 2013). Paralelamente, a deposição do CaCO₃ nos vazios do solo cria também uma rede de ligações entre as partículas de solo que altera as características do material estabilizado, induzindo:

- Aumento de resistência (Al Qabany e Soga, 2013; Venda Oliveira et al., 2015; Venda Oliveira e Neves, 2019; Lin et al., 2016; Liu et al., 2018; Xiao et al., 2019; Venda Oliveira e Rosa, 2020; Yasuhara et al., 2012; Neupane et al., 2015a, 2015b; Carmona et al., 2017, 2018; Venda Oliveira et al., 2016).
- ii) Aumento de rigidez (van Paassen et al., 2010; Mortensen et al., 2011; Venda Oliveira e Rosa, 2020; Carmona et al., 2017, 2018; Venda Oliveira et al., 2016).
- iii) Diminuição de ductilidade do comportamento tensão-deformação (Venda Oliveira et al., 2015, 2016; Venda Oliveira e Neves, 2019).
- iv) Aumento de resistência à liquefação (Montoya et al., 2012; Burbank et al., 2013; Cheng et al., 2013).
- Aumento de resistência à erosão de misturas de cascalho e areia (Jiang e Soga, 2016), areias (Zomorodian et al., 2023), areias siltosas/argilosas (Shafii et al., 2019), solo residual granítico (Wang et al., 2023), siltes e argilas (Lajevardi e Shafiei, 2023).
- vi) Promove a estabilização de dunas de areia (Naeimi et al., 2023).
- vii) Altera o comportamento de areias soltas, induzindo a expansão volumétrica durante a fase de corte (Chou et al., 2011).

Em complemento aos aspetos anteriormente mencionados, a utilização da metodologia EICP tem revelado alguns aspetos específicos, em particular:

- Exibe maior eficiência em solos arenosos/siltosos bem graduados (Venda Oliveira et al., 2016).
- (ii) A eficiência do método depende diretamente da quantidade de CaCO₃ precipitado (Yasuhara et al., 2012; Neupane et al., 2015a; Carmona et al., 2018; Venda Oliveira e Neves, 2019).
- (iii) A atividade da *urease* é maximizada em ambientes com pH de aproximadamente 8,0 (Venda Oliveira et al., 2016).
- (iv) A metodologia EICP é viável para uma gama alargada de teores de matéria orgânica (MO), 0-11% (Venda Oliveira e Neves, 2019), embora se tenha observado a inibição da metodologia na presença cumulativa de valores de pH inferiores a 4,5 e teores de MO de cerca de 11.0% (Venda Oliveira et al., 2016).
- (v) A eficácia aumenta após injeções repetidas de solução estabilizadora (Yasuhara et al., 2012; Neupane et al., 2013, 2015a; Putra et al., 2017; Hoang et al., 2020).
- (vi) A eficiência do processo é maximizada para um tempo de cura de 7 dias, um teor de urease de 4 kU/L e um teor de ureia-cloreto de cálcio de 0.75-1,0 mol/L (Venda Oliveira et al., 2016; Carmona et al., 2018).
- (vii) A inclusão de sulfato de magnésio induz a formação de cristais de aragonite e gesso, para além da calcite, o que otimiza o processo (Putra et al., 2017).

Em alternativa à utilização das metodologias MICP e EICP, diversos biopolímeros (polissacáridos biodegradáveis produzidos por organismos vivos) têm vindo a ser utilizados para promover o melhoramento das propriedades de solos. Dentre os diversos biopolímeros (guar,

gellan, agar, quitosano, curdlan, β -Glucan, etc.), salienta-se o xantano (XG) por ser um dos mais utilizados e com maior eficiência em engenharia geotécnica, aliado à significativa diminuição de preço nos últimos anos (Mendonça et al., 2021a). Em termos de melhoramento de solos, a utilização de XG tem revelado os seguintes aspetos:

- (i) Induz aumento de resistência e rigidez de areias (Chang et al., 2015a; Cabalar et al., 2017), areias siltosas (Lee et al., 2019; Venda Oliveira e Cabral, 2023), solos argilosos (Chang et al., 2015a; Kwon et al., 2019), bentonite, caulinite (Latifi et al., 2017; Chang et al., 2015a, 2019; Chang et al., 2021) e solos residuais (Chang et al., 2015c; Sulaiman et al., 2022).
- (ii) Melhora as propriedades mecânicas de solos com uma gama de teores de MO entre 1,5% e 5,5%, tendo um efeito negativo para teores de MO mais elevados (> 7,7%) (Venda Oliveira e Reis, 2023).
- (iii) Diminui a resistência ao corte não drenado da argila montmorilonite (Chang et al., 2021).
- (iv) Contribui para a mitigação da erosão devido a dois efeitos cumulativos, aumento da resistência do solo e crescimento de vegetação (Chang et al., 2015b).
- (v) Reduz a porosidade e o coeficiente de permeabilidade do solo estabilizado, em resultado da hidratação dos hidrogéis (Khachatoorian et al., 2003; Bouazza et al., 2009; Cabalar et al., 2017; Dehghan et al., 2019; Mendonça et al., 2021b).
- (vi) A cura em ambientes secos promove uma maior eficiência que a cura em condições húmidas e também se constata uma elevada estabilidade ao longo do tempo em condições secas (Latifi et al., 2017; Chang et al., 2015a; Cabalar et al., 2017).
- (vii) A estabilização de uma areia siltosa submetida a cura em condições húmidas é potenciada para um tempo de cura de 7-14 dias e para um teor de XG de cerca de 1% (Venda Oliveira e Cabral, 2023), registando-se para tempos de cura inferiores a 3 dias um efeito negativo (Venda Oliveira e Cabral, 2023).
- (viii) É mais eficaz na estabilização de argilas do que em solos de granulometria grosseira, uma vez que nas argilas existe uma dupla contribuição, deposição de XG nos vazios (também verificada em solos grosseiros) e criação de ligações de hidrogénio entre o XG e a superfície das argilas (Chang et al., 2015a; Chang et al., 2016).

2 – ÂMBITO DO TRABALHO

No ponto anterior, descreveram-se as potencialidades e principais características de duas metodologias de bioestabilização de solos (EICP e a utilização de XG) para mitigar algumas fragilidades de diversos solos em diferentes condições, com foco na composição granulométrica, teor de matéria orgânica e condições de cura (seco/húmido), entre outras. Todavia, a comparação da eficiência de ambas as metodologias (EICP e XG) para melhoramento das propriedades de solos é praticamente inexistente na bibliografia, pretendendo o presente trabalho contribuir para a mitigação desta lacuna.

Tendo com base os resultados de ensaios laboratoriais de resistência à compressão não confinada (UCS) e de compressibilidade unidimensional (edométricos) para diversos tempos de cura (3, 7, 14 e 28 dias), o presente trabalho visa analisar o efeito da metodologia de bioestabilização (EICP e XG) e do tempo de cura na resistência à compressão não confinada, rigidez, tensão de cedência e índice de compressibilidade. No Quadro 1 apresenta-se o plano de ensaios considerado no presente trabalho. A opção pela realização de ensaios UCS para avaliação do comportamento mecânico resulta do facto destes ensaios serem frequentemente utilizados para controlo de resistência de solos estabilizados, apesar de não permitirem considerar o efeito da tensão de confinamento, nem garantirem a saturação dos provetes durante o ensaio. Para

caracterizar a compressibilidade utilizaram-se ensaios edométricos, por serem os mais usuais para analisar a compressibilidade em condições confinadas e em simultâneo garantirem a saturação dos provetes.

	Tempo de cura	Número de ensaios	
Metodo de estabilização	(dias)	UCS	Edométricos
Solo não estabilizado		3	2
Enzima <i>urease</i> (EICP)	3	3	2
	7	3	2
	14	3	2
	28	3	2
Biopolímero xantano (XG)	3	3	2
	7	3	2
	14	3	2
	28	3	2

Quadro 1 – Programa de ensaios UCS e edométricos

3 – MATERIAIS

3.1 - Características do solo

As principais características do solo utilizado neste trabalho experimental são apresentadas no Quadro 2. O solo exibe uma distribuição granulométrica relativamente extensa (Figura 1), é inorgânico, não plástico e apresenta um pH de aproximadamente 8,0, enquadrando-se na gama de valores que potencia a atividade da enzima *urease* e, consequentemente, maximiza a precipitação de carbonato de cálcio (Stockes-Fischer et al., 1999; Declet et al., 2016). O solo é fundamentalmente composto por areia (77,4%), embora também apresente um teor não



Fig. 1 – Curva granulométrica do solo ensaiado.

ISSN 0379-9522; e-ISSN 2184-8394 – Geotecnia nº 161–julho/julio/july 2024 – pp. 25-42 https://doi.org/10.14195/2184-8394 161 2 – © 2024 Sociedade Portuguesa de Geotecnia

Propriedade		Valor
Distribuição granulométrica	Areia (%)	77,4
	Silte (%)	16,1
	Argila (%)	6,5
Coeficiente de uniformidade, Cu [D ₆₀ /D ₁₀]		32,3
Coeficiente de curvatura, Cc $[D_{30}^2/(D_{60} \times D_{10})]$		4,1
Densidade específica, G		2,65
Limites de consistência		NP ^(**)
Ensaio Proctor Normal (ASTM D698, 2003)	Peso volúmico seco máximo, γ _{dmax}	19,3
	Teor em água ótimo w _{opt}	9,5
Teor de matéria orgânica, OM (%)		0,0
pH		7,95
Teor de carbonato de cálcio, CaCO ₃ (%)		0,0
Classificação do solo, USCS(*) (ASTM D2487, 2000)		SM

Quadro 2 – Principais propriedades do solo utilizado no programa experimental.

(*) Sistema de classificação unificado; (**) Não plástico

negligenciável de silte (16,1%) e argila (6,5%), sendo classificado como uma areia siltosa, SM (ASTM D2487, 2000).

3.2 - EICP: Agentes estabilizadores

A metodologia EICP consiste em misturar o solo com um agente estabilizador composto pela enzima *urease*, ureia (grau de pureza de 99,5%) e cloreto de cálcio (grau de pureza de 95,0%). A enzima *urease* utilizada foi extraída do feijão preto (*Canavalia ensiformis*), sendo utilizada em forma de pó, possuindo uma atividade de 34.310 U/g (ou seja, 1U hidrolisa 1,0 μ mol/min de ureia para pH 7,0 a 25 °C). No presente trabalho foram utilizadas as seguintes concentrações para os agentes estabilizadores: *urease* 4 kU/L, ureia 0,75 mol/L e CaCl₂ 0.75 mol/L.

3.3 – Biopolímero xantano

O xantano (XG) é um biopolímero produzido pela bactéria *Xanthomonas campestris*, utilizado em forma de pó, apresentando uma grande estabilidade sob uma ampla gama de valores de pH (1-13) e temperatura (10°-80°). Em contacto com a água, ocorre a hidratação de hidrogéis do XG induzindo um aumento da viscosidade (Bouazza et al., 2009; Kwon et al., 2019), o que potencia a sua utilização em diversos setores económicos como agente espessante, nomeadamente na indústria alimentar, farmacêutica, cosmética e para lubrificação de equipamentos (Garcia-Ochoa et al., 2000; Bouazza et al., 2009). Neste trabalho, os provetes ensaiados foram estabilizados com um teor de xantano de 1%.

4 - PREPARAÇÃO E ENSAIO DE AMOSTRAS

Neste trabalho utilizaram-se amostras remoldadas com o objetivo de reduzir a variabilidade inerente à utilização de solos naturais, permitindo manter a composição mineralógica e a distribuição granulométrica. Assim, previamente à preparação dos provetes, as partículas de maior dimensão do solo foram removidas com recurso a um peneiro de malha #2,0mm. A preparação dos provetes bioestabilizados utilizados nos ensaios UCS e edométricos (Quadro 1) foram preparados de acordo com a seguinte metodologia:

- Preparação da solução estabilizadora (que depende da metodologia utilizada, MICP ou EICP) de acordo com o Quadro 1 e a secção anterior.
- (ii) Os provetes de solo e a solução estabilizadora, correspondente a um teor em água de 9,5 % (teor em água ótimo, Quadro 2) foram misturados de modo a obter uma pasta homogénea.
- (iii) A pasta homogeneizada foi introduzida no interior de moldes de PVC para ensaios UCS
 (37 mm de diâmetro, 76 mm de altura) em oito camadas e em moldes de PVC para ensaios edométricos (70 mm de diâmetro, 20 mm de altura) em duas camadas.
- (iv) Cada camada foi compactada com uma energia equivalente à do ensaio Proctor Normal, de modo a se obter um peso volúmico seco de cerca de 19,3 kN/m³ (Quadro 2).
- (v) Cada camada foi escarificada superficialmente para promover a ligação com a camada seguinte.
- (vi) Os provetes no interior de moldes PVC foram armazenados em sacos de plástico durante o tempo de cura indicado no Quadro 1, numa sala com controlo de humidade (95±5%) e temperatura (20±2°C).
- (vii) Após o tempo de cura, os provetes foram retirados dos moldes e inspecionados visualmente para verificar a qualidade das amostras.
- (viii) Os provetes foram colocados no equipamento para realização de ensaios UCS e edométricos. No caso de ensaios edométricos, o atrito entre o anel edómetrico, em aço inoxidável polido, e o provete foi minimizado com a aplicação de uma fina película de massa lubrificante.
- (ix) O sistema automático de aquisição de dados foi ativado e os dispositivos eletrónicos de medição (transdutores de deslocamento e célula de carga) foram verificados e ajustados.
- (x) Finalmente, os ensaios UCS e edométrico foram realizados.

Os ensaios UCS foram efetuados com uma velocidade de corte de 1%/min (ASTM D2166, 2005). Nos ensaios edométricos, as amostras foram submetidas a incrementos de tensão de 2 na fase de carga e de 4 na fase de descarga (ASTM D2435-04, 2004), durante o tempo necessário (6 horas) para se atingir o fim da consolidação primária. A tensão de cedência vertical (ou seja, a pressão de pré-consolidação, σ'_{vp}) foi calculada de acordo com a metodologia de Casagrande.

De forma a garantir a fiabilidade da metodologia adotada e a qualidade/reprodutibilidade dos resultados obtidos, os ensaios UCS foram repetidos três vezes, tendo os ensaios edométricos sido duplicados (Quadro 1).

5 – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

5.1 - Ensaios UCS

Na Figura 2 apresentam-se as curvas tensão-deformação obtidas nos ensaios UCS para ambas metodologias estudadas (EICP e XG) e diversos tempos de cura. Em termos gerais, os resultados mostram com a utilização de ambas as metodologias de bioestabilização o aumento de resistência à compressão não confinada (q_u) e do módulo de deformabilidade, obtendo-se com a utilização de *urease* (EICP) uma maior eficiência em relação à bioestabilização com XG. Na Figura 2a também se observa que quanto maior for o incremento de q_u induzido pelo processo de estabilização, maior é a perda de resistência pós-pico, ou seja, ao aumento da eficiência do processo de bioestabilização com *urease* está associado um comportamento cada vez mais frágil.

Na Figura 3 compara-se a extensão na rotura ($\varepsilon_{ax-rotura}$) do solo não estabilizado com o solo estabilizado com EICP e XG para diversos tempos de cura. Apesar da dispersão de resultados, constata-se com a utilização da enzima *urease* valores inferiores de $\varepsilon_{ax-rotura}$ do que com a utilização de XG, o que permite inferir uma maior rigidez na rotura dos provetes estabilizados com

urease. Em termos da evolução de $\varepsilon_{ax-rotura}$ com o tempo de cura, nos provetes EICP regista-se uma descida significativa de $\varepsilon_{ax-rotura}$ com o incremento temporal, tendo-se obtido para tempos de cura de 14 e 28 dias valores de $\varepsilon_{ax-rotura}$ inferiores aos obtidos com o solo não estabilizado. Em contraponto, nos provetes tratados com XG, a diminuição de $\varepsilon_{ax-rotura}$ com o tempo de cura é menos significativa, registando-se sempre valores de $\varepsilon_{ax-rotura}$ superiores ao do solo não estabilizado, estando este facto associado a uma diminuição de rigidez na rotura.



Fig. 2 – Ensaios UCS. Curvas tensão-deformação para diversos tempos de cura: a) solo estabilizado com *urease*; b) solo estabilizado com *xantano*.

O efeito do tempo de cura na evolução de q_u e do módulo secante para 0,5×q_u (E_{u-50}) para ambas as metodologias de bioestabilização (ilustrado na Figura 4), mostra claramente, que apesar da existência de alguma dispersão, ambas as metodologias contribuem para o incremento das propriedades mecânicas ao longo do tempo de cura, bem como uma maior eficácia da EICP (t_{cura}=28 dias: $\Delta q_u = +82\%$, $\Delta E_{u50} = +171\%$) em relação à bioestabilização com XG (t_{cura}=28 dias: $\Delta q_u = +60\%$, $\Delta E_{u50} = +83\%$). Adicionalmente, também se constata com a utilização de *urease* um ganho mais rápido das propriedades mecânicas, observando para um tempo de cura de 3 dias incrementos de resistência e de rigidez já com algum significado ($\Delta q_u = +44\%$, $\Delta E_{u50} = +26\%$), sendo o ganho de q_u para tempos de cura superiores a 14 dias negligenciável. Esta evolução de q_u está em linha com os resultados obtidos por Carmona et al. (2017, 2018).



Fig. 3 – Ensaios UCS. Efeito do tempo de cura na extensão axial na rotura do solo natural e estabilizado com enzima *urease* e biopolímero *xantano*.



Fig. 4 – Ensaios UCS. Efeito do tempo de cura na resistência e deformabilidade do solo natural e estabilizado com enzima *urease* e biopolimero xantano: a) q_u ; b) E_{u-50} .

O tratamento com XG induz uma incipiente melhoria das propriedades mecânicas a curto prazo (t_{cura}=3 dias: $\Delta q_u = +5\%$, $\Delta E_{u50} = -3\%$), o que parece ser uma consequência direta da hidratação dos hidrogéis do XG, que ocorre imediatamente após a mistura. Adicionalmente, constata-se que a eficácia do tratamento com XG tende a aumentar com o tempo de cura, registando-se ganhos significativos de q_u e de E_{u50}; naturalmente, este comportamento está associado à ação cumulativa da desidratação dos hidrogéis e da aglomeração das partículas do solo, fenómenos que tendem a ocorrer ao longo do tempo (Venda Oliveira e Cabral, 2023).

Apesar dos resultados obtidos com XG serem interessantes, o nível de estabilização obtido no presente trabalho fica aquém do relatado noutros trabalhos (Chang et al., 2015a; Cabalar et al., 2017; Lee et al., 2019). Estas diferenças parecem advir da utilização de distintas condições de humidade durante o processo de cura; de facto, no presente trabalho, a cura foi realizada numa uma sala com elevada humidade (95±5%) para evitar a perda de água, atrasar a desidratação dos hidrogéis e, fundamentalmente, reduzir o fenómeno de sucção. No entanto, nos trabalhos mencionados anteriormente, as amostras utilizadas nos ensaios UCS foram geralmente secas ao ar à temperatura ambiente, de cerca de 20°C (Chang et al., 2015a; Dehghan et al., 2019; Lee et al., 2019). Resultados de Chang et al. (2015c) mostraram que na presença de água a resistência do solo tratado com XG pode diminuir para cerca de 1/10, o que vem corroborar a explicação anterior.

5.2 – Ensaios de compressão uniaxial (edométricos)

Na Figura 5 apresentam-se gráficos que ilustram o comportamento e-log σ_v obtido em ensaios de compressão unidimensional (edométricos) em ambas as metodologias de bioestabilização e para diferentes tempos de cura. Como expetável, as várias curvas exibem um comportamento qualitativo semelhante traduzido por uma menor compressibilidade no troço inicial, seguido de um aumento da compressibilidade, que ocorre para tensões verticais superiores à tensão de cedência vertical (σ'_{vp}).

Os resultados da Figura 5a também mostram que o processo de biocimentação e o consequente preenchimento parcial dos poros do solo com CaCO₃ não altera de forma visível o índice de vazios inicial (10 kPa). Por outro lado, a estabilização com XG (Figura 5b) induz, para



Fig. 5 – Resultados de ensaios edométricos. Curvas $e - \log_{10} \sigma'_v$ para diversos tempos de cura: a) solo estabilizado com enzima *urease*; b) solo estabilizado com biopolímero *xantano*.

todos os tempos de cura, um aumento significativo do índice de vazios inicial ($\sigma'_v = 10$ kPa), este comportamento parece ser devido à hidratação dos hidrogéis, que induzem o deslocamento ascendente das curvas e-log σ'_v .

A representação do efeito da variação do tempo de cura na evolução da tensão de cedência vertical (σ'_{vp}), ilustrado na Figura 6, mostra claramente que a evolução de σ'_{vp} depende da metodologia utilizada; enquanto a bioestabilização com EICP induz o acréscimo de σ'_{vp} com o tempo de cura, o tratamento com XG origina um efeito oposto, traduzido na diminuição de σ'_{vp} em relação ao solo não tratado, sendo este valor praticamente independente do tempo de cura. Na Figura 7 apresenta-se a influência da metodologia de bioestabilização e do tempo de cura no índice de compressibilidade (Cc). Em termos gerais, constata-se que ambas as metodologias induzem o aumento de Cc em relação ao solo não estabilizado, sendo este efeito mais preponderante nos provetes tratados com XG.



Fig. 6 – Resultados de ensaios edométricos. Efeito do tempo de cura na tensão de cedência do solo natural e estabilizado com EICP e XG.



Fig. 7 – Resultados de ensaios edométricos. Efeito do tempo de cura no índice de compressibilidade (Cc) do solo natural e estabilizado com EICP e XG.

Os resultados do solo tratado com *urease* mostram um aumento do σ'_{vp} durante os primeiros 14 dias de cura, corroborando a variação do q_u ao longo do tempo (Figura 2). Esta tendência está em linha com os resultados de Carmona et al. (2017, 2018), estando associados à ocorrência de precipitação de CaCO₃ fundamentalmente durante os primeiros 14 dias de cura. De facto, o aumento do σ'_{vp} com o nível de cimentação (devido a um maior número de ligações entre as partículas do solo) é em termos qualitativos também observado em amostras estabilizadas quimicamente com ligantes (Lemos et al., 2021; Venda Oliveira et al., 2012, 2013).

A diminuição em σ'_{vp} e o aumento de Cc nos solos tratados com XG parecem estar associados à hidratação dos hidrogéis do XG. De facto, o aumento de Cc após tratamento com XG também foi observado num solo arenoso (Cabalar et al., 2017) e num solo marinho fino (com 70-80% de finos) (Know et al., 2019).

6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em consideração o trabalho experimental relativo ao estudo do efeito do tempo de cura no comportamento de uma areia siltosa, bioestabilizada com EICP (*urease* = 4 kU/L, ureia = 0,75 mol/L, cloreto de cálcio = 0,75 mol/L) e com o biopolímero xantano (dosagem de 1%), em condições não confinadas (ensaios UCS) e confinadas (ensaios edométrico), realizados com provetes submetidos a cura em condições de humidade elevada, podem-se retirar as seguintes conclusões:

- Em termos de comportamento tensão-deformação, a estabilização com EICP induz um aumento de fragilidade, enquanto que o tratamento com XG tende a induzir um aumento da ductilidade, quando comparados com o comportamento do solo não estabilizado.
- ii) A metodologia EICP apresenta uma maior eficácia na estabilização de areia siltosa, com ganhos apreciáveis de q_u (+82%) e de E_{u-50} (+171%) para 28 dias de cura, enquanto que o tratamento com XG induz ganhos mais moderados ($\Delta q_u = +60\%$; $\Delta E_{v-50} = +83\%$).
- iii) Para ambas as metodologias de bioestabilização, constata-se que o aumento do tempo de cura tem um efeito positivo na resistência à compressão não confinada (q_u) e no módulo de deformabilidade (E_{u-50}) .
- iv) Com EICP, os ganhos de resistência ocorrem fundamentalmente a curto prazo (até 7-14 dias), enquanto que o XG tende a ser mais eficiente para tempos de cura mais longos (maiores que 7-14 dias). De facto, com XG observa-se para um tempo de cura de 3 dias um efeito incipiente ($\Delta q_u = +5\%$) ou mesmo negativo ($\Delta E_{v-50} = -3\%$), o que parece estar associado à hidratação instantânea dos hidrogéis do XG.
- v) O tipo de metodologia de bioestabilização (EICP ou XG) tem uma influência significativa na evolução qualitativa das curvas e-logσ_v. Enquanto que o tratamento com *urease* induz um efeito negligenciável no índice de vazios inicial e na evolução qualitativa das curvas elogσ_v, a bioestabilização com XG induz o aumento significativo do índice de vazios inicial e o consequente deslocamento ascendente das curvas e-logσ_v, o que parece ser uma consequência da hidratação dos hidrogéis.
- vi) Com EICP, constata-se um ligeiro aumento do índice compressibilidade (Cc) e o incremento da tensão de cedência (σ'_{vp}) com o tempo de cura, estando esta tendência em linha com a evolução de q_u e com o efeito positivo da criação de ligações entre as partículas, induzidas pelo processo de biocimentação.
- vii) A influência da hidratação dos hidrogéis do XG parece ter uma grande influência na compressibilidade em condições confinadas, obtendo-se com o tratamento com XG a diminuição de σ'_{vp} e o aumento do índice de compressibilidade (Cc) em relação ao solo natural.

7 – AGRADECIMENTOS

Os autores expressam o seu agradecimento à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT/MCTES) pelo apoio financeiro a esta investigação através de fundos nacionais (PIDDAC) no âmbito do projeto de investigação PTDC/ECI-CON/28382/2017, do Instituto para a Sustentabilidade e Inovação em Engenharia de Estruturas (ISISE), com a referência UIDB/04029/2020, e no âmbito do Laboratório Associado de Produção Avançada e Sistemas Inteligentes (ARISE) com a referência LA/P/0112/2020.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al Qabany, A.; Soga, K. (2013). Effect of chemical treatment used in MICP on engineering properties of cemented soils. Géotechnique, 63 (4), pp. 331–339. <u>https://doi.org/10.1680/geot.SIP13.P.022</u>
- ASTM D2487 (2000). Standard practice for classification of soils for engineering purposes (unified soil classification system). ASTM International, West Conshohocken, PA, USA.
- ASTM D698 (2003). Standard test methods for laboratory compaction characteristics of soil using standard effort [12,400 ft-lbf/ft3(600 kN-m/m3)]. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA.
- ASTM D2435-04 (2004). One-dimensional consolidation properties of soils using incremental loading. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA.
- ASTM D2166 (2005). Standard test method for unconfined compressive strength of cohesive soil. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA.
- Blakeley, R.L.; Zerner, B. (1984). Jack bean urease: the first nickel enzyme. Journal of molecular Catalysis, 23 (2-3), pp. 263-292. <u>https://doi.org/10.1016/0304-5102(84)80014-0</u>
- Bouazza, A.; Gates, W.P.; Ranjith, P.G. (2009). *Hydraulic conductivity of biopolymer-treated silty* sand. Géotechnique 59 (1), pp. 71–72. <u>https://doi.org/10.1680/geot.2007.00137</u>
- Burbank, M.; Weaver, T.; Lewis, R.; Williams, T.; Williams, B.; Crawford, R. (2013). Geotechnical tests of sands following bioinduced calcite precipitation catalyzed by indigenous bacteria. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 139 (6), pp. 928-936. <u>https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000781</u>
- Cabalar, A.F.; Wiszniewski, M.; Skutnik, Z. (2017). Effects of Xanthan Gum Biopolymer on the Permeability, Odometer, Unconfined Compressive and Triaxial Shear Behaviour of a Sand. Soil Mechanics and Foundation Engineering, 54 (5), pp. 356–361. https://doi.org/10.1007/s11204-017-9481-1
- Carmona, J.P.S.F.; Venda Oliveira, P.J.; Lemos, L.J.L. (2017). *Biocimentação de um solo arenoso com recurso a enzimas: efeito de diversos fatores*. Geotecnia, 141, pp. 03-18. https://doi.org/10.24849/j.geot.2017.141.01
- Carmona, J.P.S.F.; Venda Oliveira, P.J.; Lemos, L.J.; Pedro, A.M.G. (2018). Improvement of a sandy soil by enzymatic CaCO₃ precipitation. ICE – Geotechnical Engineering, 171 (GE1), pp. 3-15. <u>https://doi.org/10.1680/jgeen.16.00138</u>
- Chang, I.; Im. J.; Cho, G.C. (2016). Introduction of microbial biopolymers in soil treatment for future environmentally-friendly and sustainable geotechnical engineering. Sustainability, 8 (3), pp. 251. <u>https://doi.org/10.3390/su8030251</u>

- Chang, I., Im, J., Prasidhi, A.K.; Cho, G.C. (2015a). Effects of Xanthan gum biopolymer on soil strengthening. Construction and Building Materials, 74, pp. 65–72. https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.10.026
- Chang, I., Prasidhi, A.K., Im, J., Shin, H.D.; Cho, G.C. (2015b). Soil treatment using microbial biopolymers for anti-desertification purposes. Geoderma, 253–254, pp. 39–47. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.04.006.
- Chang, I.; Jeon, M.; Cho, G.C. (2015c). Application of microbial biopolymers as an alternative construction binder for earth buildings in underdeveloped countries. International Journal of Polymer Science, Article ID 326745. <u>https://doi.org/10.1155/2015/326745</u>
- Chang, I.; Kwon, Y.M.; Im, J.; Gye-Chun Cho, G.C. (2019). Soil consistency and interparticle characteristics of Xanthan gum biopolymer-containing soils with pore-fluid variation. Canadian Geotechnical Journal, 56 (8), pp. 1206–1213. https://doi.org/10.1139/cgj-2018-0254
- Chang, I.; Kwon, Y.M.; Cho, G.C. (2021). Effect of Pore–Fluid Chemistry on the Undrained Shear Strength of Xanthan Gum Biopolymer-Treated Clays. Journal of Geotechnical & Geoenvironmental Engineering, 147 (11), pp. 1-11. https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0002652
- Cheng, L.; Cord-Ruwisch, R.; Shahin, M.A. (2013). Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation. Canadian Geotechnical Journal, 50 (1), pp. 81-90. https://doi.org/10.1139/cgj-2012-0023
- Chou, C.W., Seagren, E.A., Aydilek, A.H.; Lai, M. (2011). Biocalcification of sand through ureolysis. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 137 (12), pp. 1179-1189. <u>https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000532</u>
- Declet, A.; Reyes, E.; Suárez, O.M. (2016). Calcium carbonate precipitation: a review of the carbonate crystallization process and applications in bioinspired composite. Reviews on Advanced Materials Science, 44 (1), pp. 87-107. <u>https://www.ipme.ru/e-journals/RAMS/no 14416/07 14416 declet.pdf</u>.
- Dehghan, H.; Tabarsa, A.; Latifi, N.; Bagheri, Y. (2019). Use of Xanthan and guar gums in soil strengthening. Clean Technologies and Environmental Policy, 21 (1), pp. 155–165. <u>https://doi.org/10.1007/s10098-018-1625-0</u>
- García-Ochoa, F., Santos, V.E.; Casas, J.Á.; Gómez, E. (2000). Xanthan gum: Production, recovery, and properties. Biotechnology Advances, 18 (7), pp. 549–579. <u>https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00050-1</u>
- Gomes, C.; Lopes, M.L.; Venda Oliveira, P.J. (2014). *Stiffness parameters of municipal solid waste*. Bulletin of Engineering Geology and the Environment, 73, (4), pp. 1073-1087. <u>https://doi.org/10.1007/s10064-014-0621-9</u>
- Hammes, F.; Verstraete, W. (2002). Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 1 (1), pp. 3-7. <u>https://doi.org/10.1023/A:1015135629155</u>
- Hoang, T.; Alleman, J.; Cetin, B.; Choi, S.G. (2020). Engineering Properties of Biocementation Coarse- and Fine-Grained Sand Catalyzed by Bacterial Cells and Bacterial Enzyme. Journal of Materials of Civil Engineering, 32 (4), pp. 04020030. https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0003083

- IPCC (2022). *Climate Change 2022 Mitigation of Climate Change , IPCC AR6 WG III*. Working Group III contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.
- Jiang, N.J.; Soga, K. (2016). The applicability of microbially induced calcite precipitation (MICP) for internal erosion control in gravel–sand mixtures. Géotechnique, 67 (1), pp. 42-55. https://doi.org/10.1680/jgeot.15.P.182
- Khachatoorian, R.; Petrisor, I.G.; Kwan, C.C.; Yen, T.F. (2003). Biopolymer plugging effect: laboratory-pressurized pumping flow studies. Journal of Petroleum Science and Engineering, 38, pp. 13–21. <u>https://doi.org/10.1016/S0920-4105(03)00019-6</u>
- Kwon, Y.M.; Chang, I.; Lee, M.; Cho, G.C. (2019). Geotechnical engineering behaviour of biopolymer-treated soft marine soil. Geomechanics and Engineering, 17 (5), pp. 453-464. <u>https://doi.org/10.12989/gae.2019.17.5.453</u>
- Lajevardi, S.H.; Shafiei, H. (2023). Investigating the biological treatment effect on fine-grained soil resistance against wind erosion: An experimental case study. Aeolian Research, 60, pp. 100841. <u>https://doi.org/10.1016/j.aeolia.2022.100841</u>
- Latifi, N.; Horpibulsuk, S.; Meehan, C.L.; Abd Majid, M.Z.; Tahir, M.M.; Mohamad, E.T. (2017). Improvement of problematic soils with biopolymer-an environmentally friendly soil stabilizer. Journal of Materials in Civil Engineering, 29 (2), pp. 04016204. <u>https://ascelibrary.org/doi/10.1061/%33SCE%29MT.1943-5533.0001706</u>
- Lee, S.; Chung, M.; Park, H.M.; Song, K.I.; Chang, I. (2019). Xanthan gum Biopolymer as Soil-Stabilization Binder for Road Construction Using Local Soil in Sri Lanka. Journal of Materials in Civil Engineering, 31 (11), pp. 06019012. https://ascelibrary.org/doi/10.1061/%33SCE%29MT.1943-5533.0002909
- Lemos, L.J.L.; Correia, A.A.S.; Venda Oliveira, P.J. (2021). Comportamento de solos estabilizados quimicamente e reforçados com fibras sob ações monotónicas e cíclicas. Geotecnia, 152, pp. 509-529. <u>https://doi.org/10.14195/2184-8394_152_16</u>
- Lin, H.; Suleiman, M.T.; Brown, D.G.; Kavazanjian, Jr.E. (2016). Mechanical behaviour of sands treated by microbially induced carbonate precipitation. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 142 (2), pp. 04015066. <u>https://ascelibrary.org/doi/10.1061/%33SCE%29GT.1943-5606.0001383</u>
- Liu, L.; Liu, H.; Stuedlein, A.W.; Evans, T.M.; Xiao, Y. (2018). Strength, Stiffness, and Microstructure Characteristics of Biocemented Calcareous Sand. Canadian Geotechnical Journal, 56 (10), pp. 1502-1513. https://doi.org/10.1139/cgj-2018-0007
- Mendonça, A.; Morais, P.V.; Pires, A.C.; Chung, A.P.; Venda Oliveira, P.J. (2021a). A Review on the Importance of Microbial Biopolymers Such as Xanthan Gum to Improve Soil Properties. Applied Sciences, 11, pp. 170. <u>https://doi.org/10.3390/app11010170</u>
- Mendonça, A.; Morais, P.V.; Pires, A.C.; Chung, A.P.; Venda Oliveira, P.J. (2021b). Reducing Soil Permeability Using Bacteria-Produced Biopolymer. Applied Sciences, 11, pp. 7278. <u>https://doi.org/10.3390/app11167278</u>
- Montoya, B.; DeJong, J.; Boulanger, R.; Wilson, D.; Gerhard, R.; Ganchenko, A.; Chou, J. (2012). Liquefaction mitigation using microbial induced calcite precipitation. Proceedings of GeoCongress 2012, pp. 1918-1927, Oakland, California, USA.

- Mortensen, B.M.; Haber, M.J.; DeJong, J.T.; Caslake, L.F.; Nelson, D.C. (2011). *Effects of environmental factors on microbial induced calcium carbonate precipitation*. Journal of Applied Microbiology, 111, pp. 338-349. <u>https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05065</u>
- Naeimi, M.; Chu, J.; Khosroshahi, M.; Kashi, Z.L. (2023). Soil stabilization for dunes fixation using microbially induced calcium carbonate precipitation. Geoderma, 429, pp. 116183. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.116183
- Nemati, M.; Voordouw, G. (2003). Modification of porous media permeability, using calcium carbonate produced enzymatically in situ. Enzyme and Microbial Technology, 33, pp. 635-642. <u>https://doi.org/10.1016/S0141-0229(03)00191-1</u>
- Neves, J.; João Moutinho, J.; Freire, A.C.; Paixão, A.; Monteiro, B.; Parente, M.; Cristelo, N.; Correia, A.G. (2024). *A geotecnia na transição eco-digital das infraestruturas de transporte*. Geotecnia, Nº extra (2024), pp. 41-78. <u>https://doi.org/10.14195/2184-8394_extra2024_1_3</u>
- Neupane, D.; Yasuhara, H.; Kinoshita, N.; Unno, T. (2013). Applicability of enzymatic calcium carbonate precipitation as a soil-strengthening technique. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 139 (12), pp. 2201-2211. https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000959
- Neupane, D.; Yasuhara, H.; Kinoshita, N.; Unno, T. (2015a). *Distribution of mineralized carbonate and its quantification method in enzyme mediated calcite precipitation technique*. Soils and Foundations, 55 (2), pp. 447-457. <u>https://doi.org/10.1016/j.sandf.2015.02.018</u>
- Neupane, D.; Yasuhara, H.; Kinoshita, N. (2015b). Evaluation of enzyme mediated calcite grouting as a possible improvement technique. Proceedings of the Conference: Computer Methods and Recent Advances in Geomechanics, pp. 1169-1172, Kyoto, Japan. Taylor & Francis Group, London.
- Nguyen, T.T.; Indraratna, B.; Carter, J. (2018). Laboratory investigation into biodegradation of jute drains with implications for field behaviour. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering 144(6), pp. 04018026-1:15. https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0001885
- Putra, H.; Yasuhara, H.; Kinoshita. N.; Hirata, A. (2017). Optimization of Enzyme-Mediated Calcite Precipitation as a Soil-Improvement Technique: The Effect of Aragonite and Gypsum on the Mechanical Properties of Treated Sand. Crystals, 7 (2), pp. 59. https://doi.org/10.3390/cryst7020059
- Shafii, I.; Shidlovskaya, A.; Briaud, J.L. (2019). Investigation into the Effect of Enzymes on the Erodibility of a Low-Plasticity Silt and a Silty Sand by EFA Testing. Journal Geotechnical Geoenvironmental Engineering, 145 (3), pp. 04019001. <u>https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0002019</u>
- Stocks-Fisher, S.; Galinat, J.K.; Bang, S.S. (1999). Microbiological precipitation of CaCO₃. Soil Biology and Biochemistry, 31 (11), pp. 1563-157. <u>https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00082-6</u>
- Sulaiman, H.; Taha, M.R.; Rahman, N.A.; Taib, A.M. (2022). Performance of soil stabilized with biopolymer materials - xanthan gum and guar gum. Physics and Chemistry of the Earth, 128, pp. 103276. <u>https://doi.org/10.1016/j.pce.2022.103276</u>
- van Paassen, L.A.; Ghose, R.; van der Linden, T.J.M.; van der Star, W.R.L.; van Loosdrecht, M.C.M. (2010). *Quantifying biomediated ground improvement by ureolysis: large-scale*

biogrout experiment. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 136 (12), pp. 1721–1728. <u>https://ascelibrary.org/doi/abs/10.1061/%33SCE%29GT.1943-5606.0000382</u>

- Venda Oliveira, P.J.; Cabral, D.J.R. (2023). Behaviour of sand stabilised with xanthan gum under unconfined and confined conditions. Proceedings of the Institution of Civil Engineers – Ground Improvement, 176 (1), pp. 3-13. <u>https://doi.org/10.1680/jgrim.20.00065</u>
- Venda Oliveira, P.J.; Neves, J.P.G. (2019). Effect of Organic Matter Content on Enzymatic Biocementation Process Applied to Coarse-Grained Soils. Journal of Materials in Civil Engineering, 31 (7), pp. 04019121. https://ascelibrary.org/doi/abs/10.1061/%33SCE%29MT.1943-5533.0002774
- Venda Oliveira, P.J.; Reis, M.J.F.C.C. (2023). Effect of the Organic Matter Content on the Mechanical Properties of Soils Stabilized with Xanthan Gum. Applied Sciences, 13, pp. 4787. <u>https://doi.org/10.3390/app13084787</u>
- Venda Oliveira, P.J.; Rosa, J.A.O. (2020). Confined and unconfined behaviour of a silty sand improved by the enzymatic biocementation method. Transportation Geotechnics, 24, pp. 100400. <u>https://doi.org/10.1016/j.trgeo.2020.100400</u>
- Venda Oliveira, P.J.; Correia, A.A.S.; Garcia, M.R. (2012). Effect of Organic Matter Content and Curing Conditions on the Creep Behavior of an Artificially Stabilized Soil. Journal of Materials in Civil Engineering, 24 (7), pp. 868–875. https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0000454
- Venda Oliveira, P.J.; Correia, A.A.S.; Garcia, M.R. (2013). Effect of stress level and binder composition on secondary compression of an artificially stabilized soil. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 139 (5), pp. 810–820. https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000762
- Venda Oliveira, P.J.; Costa, M.S.; Costa, J.N.P.; Nobre, M.F. (2015). Comparison of the ability of two bacteria to improve the behaviour of a sandy soil. Journal of Materials in Civil Engineering, 27 (1), pp. 06014025. https://ascelibrary.org/doi/abs/10.1061/%33SCE%29MT.1943-5533.0001138
- Venda Oliveira, P.J.; Freitas, L.D.; Carmona, J.P.S.F. (2016). Effect of Soil Type on the Enzymatic Calcium Carbonate Precipitation Process Used for Soil Improvement. Journal of Materials in Civil Engineering, 29 (4), pp. 04016263. https://ascelibrary.org/doi/10.1061/%33SCE%29MT.1943-5533.0001804
- Wang, Y.N.; Li, S.K.; Li, Z.Y.; Garg, A. (2023). Exploring the application of the MICP technique for the suppression of erosion in granite residual soil in Shantou using a rainfall erosion simulator. Acta Geotechnica, 18 (6), pp. 3273-3285. https://doi.org/10.1007/s11440-022-01791-3
- Whiffin, V.S.; van Paassen, L.A.; Harkes, M.P. (2007). Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. Geomicrobiology Journal, 24 (5), pp. 417-423. <u>https://doi.org/10.1080/01490450701436505</u>
- Xiao, Y.; He, X.; Evans, T.M.; Stuedlein, A.W.; Liu, H. (2019). Unconfined Compressive and Splitting Tensile Strength of Basalt Fiber-Reinforced Biocemented Sand. Journal Geotechnical Geoenvironmental Engineering, 145 (9), pp. 04019048. <u>https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0002108</u>

- Yasuhara. H.; Neupane, D.; Hayashi, K.; Okamura, M. (2012). Experiments and predictions of physical properties of sand cemented by enzymatically-induced carbonate precipitation. Soils and Foundations, 52 (3), pp. 539-549. <u>https://doi.org/10.1016/j.sandf.2012.05.011</u>
- Zomorodian, S.M.A.; Nikbakht, S.; Ghaffari, H.; O'Kelly, B.C. (2023). Enzymatic-Induced Calcite Precipitation (EICP) Method for Improving Hydraulic Erosion Resistance of Surface Sand Layer: A Laboratory Investigation. Sustainability, 15, pp. 5567. https://doaj.org/article/9d0150dad1ba4127939f53a438966c5b