

## Biocementacja – ekologiczna alternatywa dla stabilizacji gruntów

Mgr. inż. Artur Ciechanowicz, dr inż. Witold Tisler, dr hab. Katarzyna Jankowska, prof. uczelni  
Politechnika Gdańska, Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska

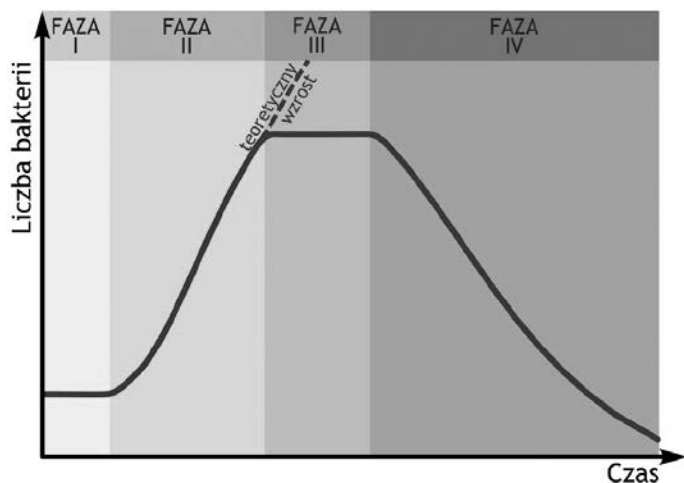
W ciągu ostatnich dziesięcioleci obserwuje się nieustanny i intensywny rozwój infrastruktury miejskiej. Terenów pod budowę jest coraz mniej, natomiast te które pozostały, rzadko charakteryzują się korzystnymi warunkami gruntowymi. Napędza to branżę geotechniczną, która zmuszona jest do udoskonalenia i wprowadzania nowych rozwiązań w zakresie wzmocnienia i stabilizacji podłoża gruntowego. Wraz ze wzrostem zainteresowania technologiami poprawiającymi nośność gruntu pojawia się potrzeba uwzględnienia aspektów ekologicznych. Tradycyjne metody wzmocnienia podłoża, takie jak kolumny czy iniekcje cementowe, nie należą do ekonomicznych ani przyjaznych środowisku. Produkcja cementu portlandzkiego jest wysoce energetyczna, ponieważ wytworzenie tony produktu pochłania 5,6 GJ energii. W przeliczeniu na emisję dwutlenku węgla daje 0,9 tony CO<sub>2</sub> i stanowi 6% całkowitej jego emisji z działalności człowieka [5, 10]. Unia Europejska planuje osiągnąć neutralność klimatyczną do 2050 roku. Dane opublikowane podczas szczytu klimatycznego COP27 wskazują, że w roku 2021 emisja CO<sub>2</sub> pochodzącego tylko z branży budowlanej to 10 Gt. Natomiast najnowsze fakty przedstawione podczas Światowego Forum Ekonomicznego pokazują, że budowa i eksploatacja obiektów inżynierskich stanowi 38% światowej emisji CO<sub>2</sub> [8]. Wagę problemu podkreśla fakt obserwowanych zmian klimatycznych oraz wzrastającego zanieczyszczenia środowiska. Obecnie wprowadzane są coraz to nowsze ograniczenia dotyczące minimalizacji negatywnego wpływu przemysłu na ekosystem. Działania te inspirują naukowców, którzy ukierunkowują swoje prace na poszukiwania materiałów oraz technologii charakteryzujących się mniejszą emisyjnością [2, 3, 6, 7, 12]. Coraz częściej mówi się o biocementacji, która polega na wykorzystaniu niepatogennych bakterii, wyekstrahowanych ze środowiska na-

turalnego. Bakterie reagują na odpowiednią pożywkę i zaczynają wytrącać kalcyt (węglan wapnia), który tworzy połączenia między ziarnami gruntu. Efektem końcowym jest przekształcenie gruntu w spójną i zwartą strukturę piaskowo-wapienną, której wytrzymałość na ścislenie może sięgać nawet 500 kPa [6].

### DROBNOUSTROJE – CHARAKTERYSTYKA

Pierwsze organizmy prokariotyczne (bakterie) pojawiły się na Ziemi około 3,5 mld lat temu [11], rozpoczynając ewolucję organizmów żywych. Ich obecność wywołuje zarówno pozytywne, jak i negatywne oddziaływanie na ekosystemy oraz na ludzi. Od tysięcy lat człowiek wykorzystuje procesy, w których biorą udział bakterie, np. przy produkcji wina, piwa czy serów. Niestety jednak są one również źródłem wielu chorób i epidemii, które na przestrzeni lat dziesiątkowały ludzkość. Na przełomie XV i XVI wieku pojawiały się pierwsze prace wysuwające hipotezy dotyczące obecności bakterii oraz ich roli w całym ekosystemie. Jednak dopiero pod koniec XIX wieku Ludwik Pasteur zdefiniował bakterie jako organizmy żywe.

Bakterie to organizmy jednokomórkowe, nieposiadające jądra komórkowego (prokariota). Występują we wszystkich środowiskach na Ziemi: w wodzie słodkiej, morzach i oceanach, glebie i osadach. Zasadniają również środowiska ekstremalne, takie jak gorące źródła, kominy hydrogeotermalne na dnie oceanów oraz są w stanie przetrwać w odpadach radioaktywnych. Wiele gatunków występuje w organizmach ludzi i zwierząt. Bakterie stanowią nieodłączny element życia, są odpowiedzialne za wiele ważnych procesów życiowych fauny i flory oraz człowieka. Część z nich wywołuje choroby, produkując szko-



Rys. 1. Krzywa wzrostu bakterii [13]

dliwe metabolity lub atakując tkanki. Patogeny wywołują stany zapalne, które mogą prowadzić również do śmierci.

Komórki bakterii są różnej wielkości. Ich rozmiar waha się od  $0,2 \times 0,2$  do  $0,7 \mu\text{m}$  (bardzo małe komórki) do  $1,0$  do  $1,3 \mu\text{m} \times 3$  do  $10 \mu\text{m}$  (duże komórki). Mają wiele kształtów, takich jak ziarniaki (okrągłe), pałeczki i laseczki (formy podłużne). Wstępują również formy zakrzywione (przecinkowce) oraz formy nitkowate [9].

Jedną z unikalnych cech komórek bakteryjnych jest zdolność do szybkich podziałów i namnażania się. W zależności od warunków środowiska i dostępności substancji pokarmowych proces ten może zachodzić nawet co 20 minut, np. u *Escherichia coli*. Jako że z jednej komórki powstają dwie, wzrost odbywa się wykładniczo. Dostarczając komórkom odpowiednich składników pokarmowych oraz zapewniając właściwe warunki fizyczne, takie jak natlenienie lub jego brak, temperaturę i wilgotność, niektóre z gatunków bakteryjnych można hodować w warunkach laboratoryjnych.

Wzrost liczby komórek bakteryjnych można przedstawić za pomocą krzywej, którą dzieli się na 4 fazy. Faza I dotyczy okresu adaptacyjnego po przeniesieniu się komórki do nowego środowiska. Komórki przystosowują się, ale nie namnażają. Ten etap trwa zazwyczaj od kilku do kilkunastu godzin. Faza II, to wykładniczy wzrost liczby komórek poprzez ich podziały. Następnie dochodzi do fazy III (równowagi), w której liczba komórek tworzących się i obumierających w danej chwili jest w przybliżeniu podobna. Ten etap rozpoczyna się, gdy zaczynają wyczerpywać się źródła pokarmu i/lub stężenie produktów przemiany materii wzrasta do poziomu szkodliwego dla samych bakterii. Końcowym etapem hodowli laboratoryjnej jest faza IV wymierania (spadkowa), w której dominują procesy obumierania komórek, a część z nich zmienia kształt. Część gatunków może wtedy wytwarzać formy przetrwalne.

## ZASTOSOWANIE BAKTERII W PRZEMYŚLE

Zastosowanie hodowli bakteryjnych wzbudza coraz większe zainteresowanie w budownictwie [2, 3, 7]. Uwagę inżynierów oraz badaczy zwracają bakterie ureolityczne mające zdolność do wytwarzania enzymu ureazy. Dzięki temu enzymowi prze-

prowadzają one reakcję hydrolizy, w wyniku której jeden jon mocznika przekształcany jest w jeden jon kwasu karbaminowego i jeden jon amoniaku. W wyniku kolejnej reakcji hydrolizy kwasu karbaminowego powstaje jeden jon amoniaku i jeden jon kwasu węglowego. Otrzymane w ten sposób produkty są cały czas równoważone w środowisku wodnym, przez co powstaje jon wodorowęglanu, jony amonowe oraz wodorotlenkowe. Powodują one wzrost pH, co zmienia stan równowagi węglanów. Powstaje wtedy jon węglanowy, a to z kolei wiąże się z wytrącaniem jonów wapnia. Jony amoniaku również podnoszą pH, co prowadzi do nagłego wytrącania się węglanu wapnia. Przy wystarczającym wysyceniu jonami wapnia i węglanu na powierzchni bakterii tworzy się naturalny osad.

Tak zwany biobeton to jeden z najnowocześniejszych materiałów budowlanych, który poprzez dodatek żywych mikroorganizmów nabywa zdolności regeneracyjnych. Pod wpływem amoniaku dochodzi do wytrącenia węglanu wapnia, który działając jako naturalne uszczelnienie wypełnia puste przestrzenie oraz zasklepia zarysowania. Ze względu na obecność węglanu wapnia biobeton wykazuje zwiększoną odporność na czynniki środowiskowe, zapobiegając wchłanianiu wody oraz odczynników chemicznych. Wprowadzone do betonu bakterie mogą przejść w stan uśpienia i przetrwać tak nawet kilkaset lat, o ile pozwolą na to warunki bytowe. Gdy pojawi się zarysowanie, bakterie pod wpływem czynników zewnętrznych zaczynają produkować węglan wapnia, który uszczelnia powstałe pęknięcia. Niestety wadą rozwiązania jest konieczność zapewnienia określonego poziomu pH i temperatury oraz ściśle określona (ograniczona) rozwarłość rys możliwych do zamknięcia [1].

W literaturze istnieją przykłady zastosowania mieszanek budowlanych (cementu i betonu) z hodowlami bakteryjnymi. W pracy [3] przedstawiono szczegółowe badania wytrzymałościowe bio-cementu oraz bio-betonu, do których wykorzystano technikę MICCP (ang. *Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation*). Celem badań było określenie wpływu roztworu bakteryjnego na właściwości fizyczne cementu oraz betonu. W tym celu zaprojektowano mieszankę betonową w następujących proporcjach: cement  $350 \text{ kg/m}^3$ , woda  $175 \text{ kg/m}^3$ , piasek  $860,78 \text{ kg/m}^3$ , kruszywo grube  $1140 \text{ kg/m}^3$ , gdzie wodę z kranu (Control) zastępowano roztworem kontrolnym zawierającym dodatkowo  $3 \text{ g/l}$  mocznika (Control I) oraz roztworem bakteryjnym (Bio-concrete). Mieszaninę Bio-concret przygotowano na bazie bakterii znajdujących się w przydomowym ogrodzie. Roztwór, poza glebą ogrodową, składał się z wody (pochodzącej bezpośrednio z kranu), sproszkowanych nasion soczewicy, ekstraktu mięsnego oraz cukru. Mieszaninę kontrolną przygotowano analogicznie, z wyłączeniem źródła bakterii. Całość inkubowano w temperaturze  $37^\circ\text{C}$  przez 24 h. Wszystkie próbki zagęszczono za pomocą maszyny wibrującej w formach, które otworzono po 24 h. Okres dojrzewania wyniósł 3, 7 oraz 28 dni. Badanie wykonano zgodnie z normą IS 4031 (dla mieszanki cementowej) oraz BIS 516 (dla mieszanki betonowej). W obu przypadkach odnotowano wzrost wytrzymałości próbek, w których znajdowały się bakterie, co przedstawiono w tabl. 1. Uzyskane w badaniach średnie przyrosty wytrzymałości na ściskanie są ponad 20% większe niż dla próbki kontrolnej.

Natomiast w pracy [7], również opierając się na MICCP, odseparowano bakterie produkujące enzym ureazy i wprowadzono do próbek gruntu. Przygotowane szczepy na wstępie rozmnoży-

Tabl. 1. Wyniki badań próbek cementowych oraz betonowych [3]

	Okres dojrzewania [dni]	Średnia wytrzymałość na ściskanie [MPa]			% wzrost średniej wytrzymałości na ściskanie w porównaniu do próbek kontrolnych
		Control	Control I	BIO-OPC	
Próbki cementowe	3	25,65	24,31	27,38	6,74
	7	28,76	26,81	33,92	17,92
	28	38,86	36,63	47,96	23,49
Próbki betonowe	3	16,54	15,86	18,77	13,48
	7	20,43	19,27	24,66	20,70
	28	27,67	27,55	34,20	23,60

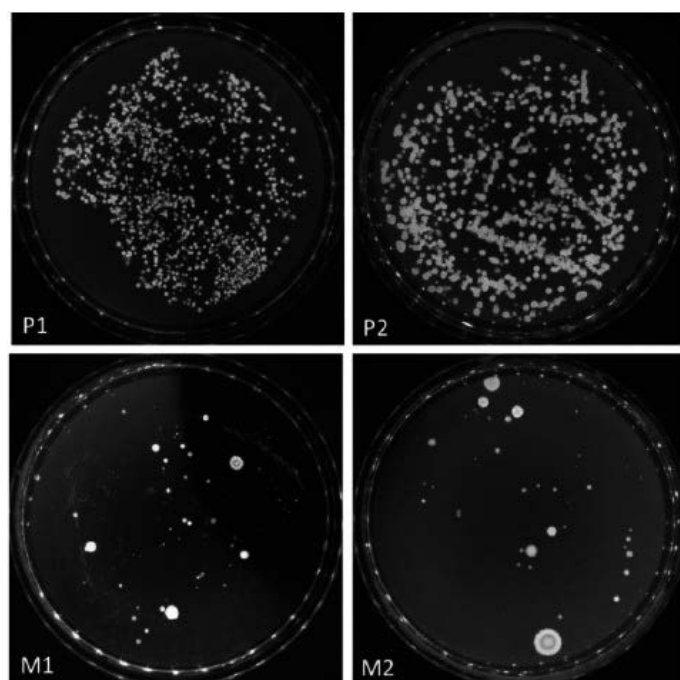
no, odżywiając pożywką w postaci mieszaniny bulionu odżywczego oraz mocznika. Do gruntu niespoistego wprowadzono trzy różne szczepy bakterii (*Sporosarcina pasteurii*, *Lysinibacillus sphaericus*, *Bacillus pasteurii*), zachowując jedną próbkę kontrolną. Mieszaniny inkubowano przez 12 h w temperaturze 28°C w celu zbudowania szkieletu między ziarnami piasku. Następnie, utrzymując stałą temperaturę próbki, dokarmiano pożywką co 6 h przez 4 doby. Na ostatnie pięć dni temperaturę zmniejszono do 25°C. Niestety nie przedstawiono wyników własnych badań wykonanych w aparacie bezpośredniego ścinania, a odniesiono się do pracy [2], w której przebadano analogiczne próbki. Ścinanie odbywało się pod naprężeniami normalnymi 13,6 kPa, 20,4 kPa, oraz 27,2 kPa. Autorzy odnotowali przyrost spójności oraz kąta tarcia wewnętrznego odpowiednio o 23 i 21%. Niestety nie podane zostały szczegółowe parametry badania, takie jak czas przewidziany na konsolidację próbki pod zadaniem obciążeniem czy prędkość ścinania. Zdecydowanie większą uwagę skupiono na części mikrobiologicznej oraz pochodzeniu bakterii. Zarówno w pracach dotyczących mieszanki cementowej, jak i gruntowej, autorzy podkreślają, że aby metoda mogła być zastosowana w przemyśle, należy utrzymać ściśle określoną temperaturę oraz odczyn pH. Parametry te są odpowiedzialne za proces namnażania się bakterii, który z kolei jest konieczny, aby wyprodukowany węgiel wapnia stanowił realne wzmocnienie betonu lub gruntu.

## BADANIA WŁASNE – CZĘŚĆ MIKROBIOLOGICZNA

Analizując badania wykonane w pracach [2, 7], zaplanowano własny program badawczy mający na celu określenie wpływu hodowli bakteryjnych na wytrzymałość na ścinanie gruntów niespoistych. Program był przedmiotem pracy magisterskiej [4], której celem było określenie, jak wzrost bakterii znajdujących się w środowisku plaży piaszczystej może wpływać na wytrzymałość na ścinanie gruntów niespoistych. W artykule [7] zaznaczono, że bakterie znajdujące się w strefach aktywnej działalności człowieka i zwierząt charakteryzują się silniejszym procesem cementacji. Na tej podstawie jako miejsce pobrania próbek, wybrano teren kąpieliska miejskiego w Sopocie, między wejściem nr 26 i 27. Pobrano powierzchnię warstwę osadów piaszczystych do głębokości 5 cm z zastosowaniem jałowych łyżek metalowych. W ten sposób pobrano 7 próbek o masie 100 g, które zmieszano razem w sterylnym worku plastikowym.

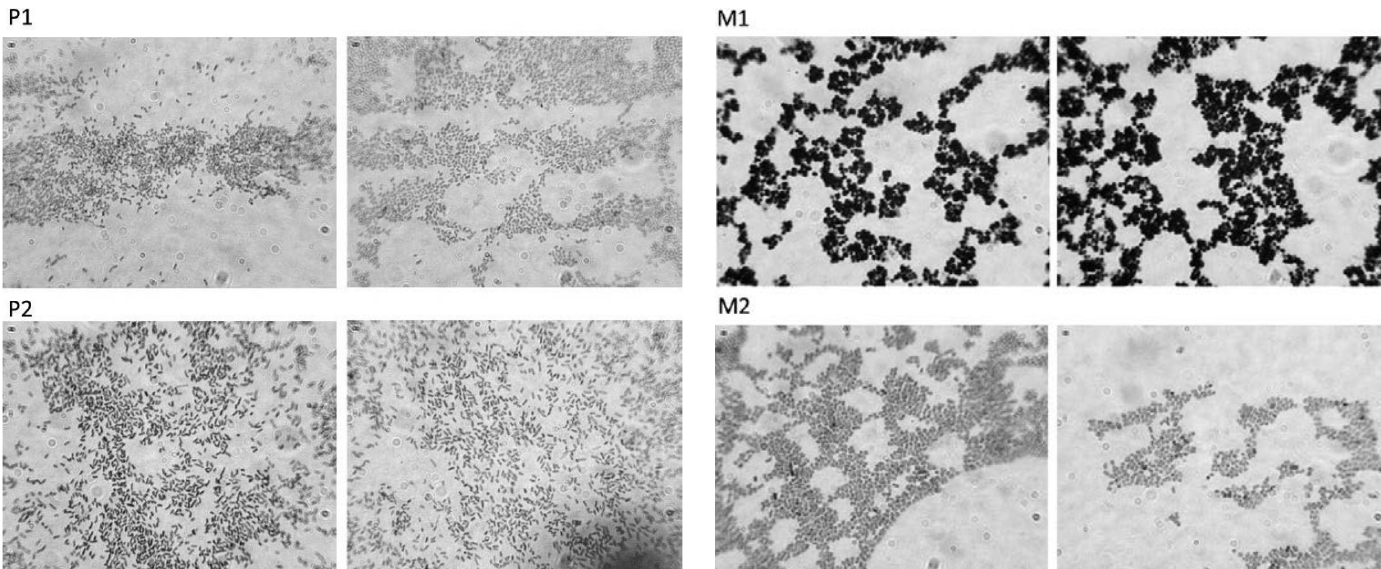
Zebrany materiał spakowano do termotoreb utrzymujących temperaturę <10°C i przewieziono do laboratorium mikrobiologicznego Katedry Technologii w Inżynierii Środowiska Wydziału Inżynierii Łądowej i Środowiska Politechniki Gdańskiej.

Pierwszym etapem badań była hodowla komórek bakteryjnych wyizolowanych z osadów piaszczystych. Mokry piasek o masie 100 g zmieszano z 100 ml płynu Ringera o rozcieńczeniu 1:4 z dodatkiem 0,28% pirofosforanu sodowego ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ). Zawiesinę wstawiono do wytrząsarki na 40 min, gdzie utrzymywano prędkość 330 obrotów na minutę. Otrzymaną zawiesinę odstawiano na 2 min i dekantowano, oddzielając ciecz od piasku. Następnie jedną jednostkę stężonego roztworu rozcieńczono w 10 jednostkach płynu Ringera i wykonano posiew na płytce Petriego z podłożem Agar drożdżowy. Posiewy inkubowano dla bakterii psychrofilnych w temperaturze 20°C przez 72 h, a dla bakterii mezofilnych w temperaturze 37°C przez 24 h. Dla każdej z grup bakterii wykonano dwa powtórzenia. Płytki oznaczono jako P1 i P2 (bakterie psychrofilne) oraz M1 i M2 (bakterie mezofilne), (rys. 2).



Rys. 2. Płytki po inkubacji z widocznymi koloniami bakterii psychro- i mezofilnych





Rys. 3. Preparaty mikroskopowe wybarwione metodą Grama dla kolonii bakterii psychro- i mezofilnych

Bakterie psychrofilne charakteryzują się zdolnością do wzrostu i rozmnażania w niskich temperaturach w zakresie  $0 \div 25^{\circ}\text{C}$ , czyli w zimnych wodach mórz, oceanów czy też obszarach wiecznej zmarzliny. Bakterie mezofilne są to z kolei drobnoustroje ciepłolubne. Optymalna temperatura ich wzrostu oraz rozmnażania wynosi między  $25$  a  $40^{\circ}\text{C}$ . Do tak zwanych mezofili zalicza się większość bakterii chorobotwórczych oraz patogenów. Kolejnym krokiem była izolacja oraz barwienie komórek bakteryjnych. Z każdej płytki wyizolowano po jednej charakterystycznej kolonii, której czystość sprawdzono w posiewie redukcyjnym. Następnie w celu określenia morfologii komórek wykonano preparaty mikroskopowe metodą barwienia złożonego Grama, która pozwala zróżnicować bakterie na dwie grupy – Gram-dodatnie (G+) oraz Gram-ujemne (G-). Bakterie z grupy G- mają w ścianie komórkowej warstwę lipidową, natomiast sama ściana komórkowa jest cieńsza oraz zawiera mniej mureiny niż w bakteriach grupy G+. Bakterie wyizolowane z płytki P1 oznaczono jako Gram-ujemne pałeczki, natomiast z płytki P2 jako Gram-dodatnie laseczki. Na płytce M1 oznaczono Gram-dodatnie ziarniaki, a na M2 Gram-ujemne pałeczki. Ostatnim etapem badań mikrobiologicznych była hodowla wybranych szczepów na wcześniej przygotowanym i sterylnym podłożu piaszczystym umieszczonym w ramach aparatu skrzynkowego. W tym celu namnożono wyizolowane kolonie w bulionie odżywczym przez 24 h, tak by uzyskać fazę wzrostu wykładniczego. Po zmierzeniu gęstości optycznej w densytometrze (tabl. 2) bakterie przeniesiono do sterylnych ramek aparatu skrzynkowego i inkubowano w cieplarni, utrzymując temperatury odpowiednie dla danej grupy bakterii przez 21 dni.

Tabl. 2. Gęstość optyczna dla wyizolowanych szczepów bakterii

Kolonia	Gęstość optyczna [McF]
P1	3,46
P2	2,22
M1	1,47
M2	2,15

By utrzymać hodowlę w fazie wzrostu w celu zachowania odpowiedniej wilgotności oraz zapewnienia składników odżywczych wymaganych do wzrostu kolonii, hodowle zwilżano bulionem co 2 dni.

## BADANIA WŁASNE – CZĘŚĆ GEOTECHNICZNA

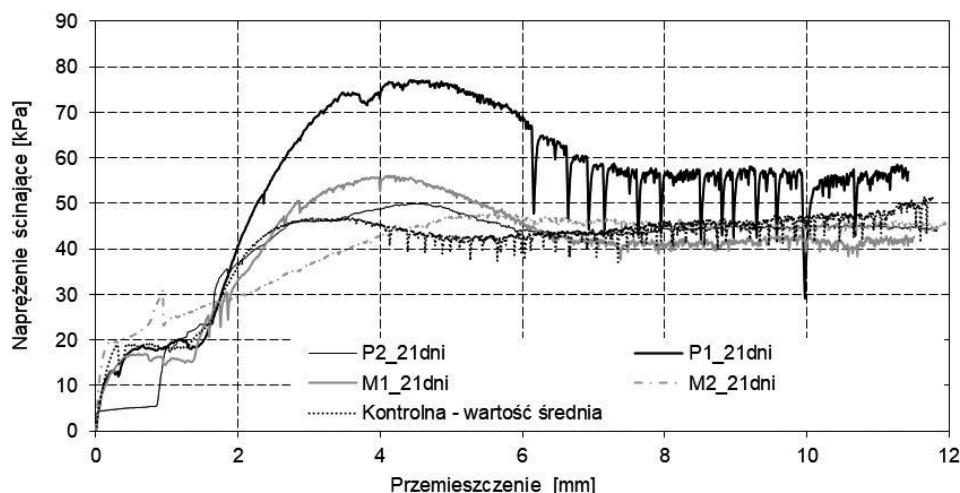
Po zakończonej hodowli wykonano badania w aparacie skrzynkowym firmy „Shermatic” w laboratorium Katedry Geotechniki i Inżynierii Wodnej Politechniki Gdańskiej. Przed przystąpieniem do badań urządzenie skalibrowano, a płytki aparatu oraz wszystkie inne elementy wyjąłowiono w celu uniknięcia zakażenia badanego szczepu. Ramki aparatu skrzynkowego po wyjęciu z cieplarki umieszczono w kuwecie urządzenia badawczego. W programie badania przewidziano przyłożenie naprężenia normalnego początkowego na próbkę gruntu o wartości  $5$  kPa (tzw. ang. *Preload*). Po jego osiągnięciu usunięto śruby zabezpieczające ramki i przyłożono naprężenie docelowe o wartości  $50$  kPa. Ścinanie próbki przeprowadzono z prędkością  $0,1$  mm/min i kontynuowano je do osiągnięcia przemieszczenia  $12$  mm, co dało dwugodzinny czas badania. Pomiar siły ścinającej przy zadanym przemieszczeniu poziomym wykonywano co sekundę. Wartość naprężenia ścinającego wyznaczono na podstawie wzoru:

$$\tau_i = \frac{T_i}{(a - u_i) \cdot a} \quad (1)$$

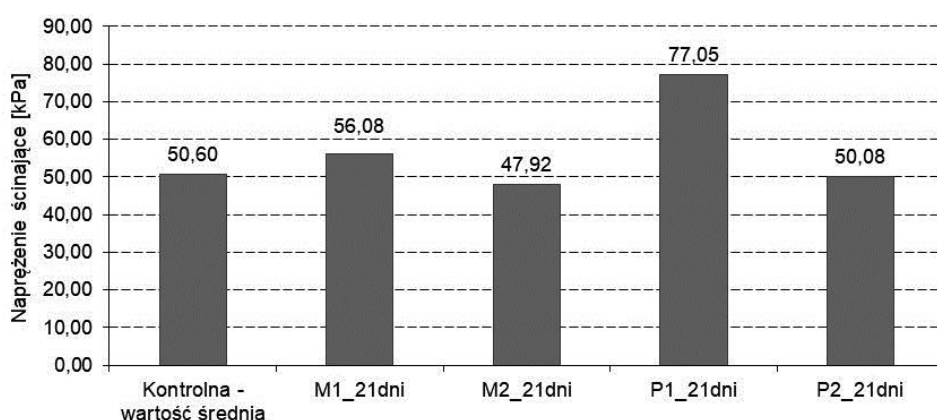
gdzie:

- $\tau_i$  – naprężenie ścinające zależne od  $i$ -tego przemieszczenia [kPa],
- $T_i$  – siła ścinająca zależna od  $i$ -tego przemieszczenia [kN],
- $a = 0,06$  – długość boku wymuszonej powierzchni ścięcia [m],
- $u_i$  – zadane  $i$ -te przemieszczenie [m].

Badania wykonano łącznie na siedmiu próbkach: P1, P2, M1, M2 oraz trzech kontrolnych z czystym piaskiem, z których wyciągnięto średnią wartość. Zbiorcze zestawienie krzywych zależności naprężenie ścinające – przemieszczenie przedstawiono na rys. 4, natomiast na rys. 5 pokazano maksymalne wartości wytrzymałości na ścinanie uzyskane w badaniu. Średnie naprę-



Rys. 4. Zmiana napężenia ścinającego w zależności od przemieszczenia



Rys. 5. Maksymalne wartości naprężeń ścinających dla badanych próbek

żenie ścinające dla piasku czystego wynosiło 50,6 kPa. Wartość ta jest zbliżona do pozostałych próbek, w których znajdowały się bakterie z wyjątkiem P1, dla której napężenie wyniosło 77,05 kPa. Daje to przyrost wytrzymałości o 52%. Szczep bakterii P1 (Gram ujemne pałeczki) wyselekcjonowano do dalszych badań, których zamiarem było sprawdzenie czy dłuższy czas inkubacji (44 dni) poprawi wytrzymałość na ścinanie. Próbkę w drugim etapie badań wykonywane były w ten sam sposób, zachowując temperaturę w cieplarni oraz częstotliwość podawania bulionu odżywczego. Ścinając dwie próbki po 44 dniach otrzymano odpowiednio 55,55 kPa oraz 56,65 kPa, co daje średnią na poziomie 56,1 kPa. Wartość ta jest tylko nieznacznie większa niż uzyskana z próbek kontrolnych i daleka od poziomu uzyskanego w pierwszym etapie badań dla czasu inkubacji wynoszącego 21 dni.

## PODSUMOWANIE

Wyniki badań eksperymentalnych pokazują, że biocementacja może być alternatywą dla innych technologii stabilizacji podłoża gruntowych. Otrzymany wzrost napężenia ścinającego dla próbki, w której znajdowały się bakterie Gram-ujemne (P1) był

większy o około połowę w stosunku do średniej wytrzymałości próbek kontrolnych, w których znajdował się czysty piasek. Nie udało się jednak potwierdzić tego w kolejnej próbie, w której na wzrost bakterii przeznaczono dwukrotnie więcej czasu, a otrzymany wzrost wytrzymałości na ścinanie wyniósł jedynie 10%. Może być to spowodowane różnicą w liczbie komórek bakteryjnych (różnice w gęstości optycznej), które namnażane były ponownie w drugim etapie badań. Decydującą rolę mógł również odegrać zbyt długi czas wzrostu, kiedy to wzmożona produkcja metabolitów spowodowała obumieranie komórek i przejście do fazy IV spadkowej (rys. 1).

Biocementacja gruntu wywołana przez wzrost komórek bakteryjnych to z pewnością interesująca, a zarazem ekologiczna metoda stabilizacji gruntu. Nie należy jednak zapominać, że ma ona kilka wad, które powodują, że może być trudna do zastosowania w terenie. Wiąże się to z zapewnieniem odpowiedniej temperatury i czasu hodowli oraz koniecznością jej cyklicznego odżywiania. Ponadto, w celu upewnienia się, że bakterie generują związki niezbędne do tworzenia wiązań między ziarnami gruntu, konieczne jest przeprowadzenie szczegółowych badań identyfikacji komórek bakteryjnych. Takie badania mają na celu potwierdzenie właściwości bakterii, które są pożądane w kontekście ich zastosowań inżynierskich.

## LITERATURA

1. Beściak G., Śmiszek-Lindert W., Lewicka S.: Biobeton – materiał budowlany przyszłości? *Cement Wapno Beton*, 21 (83, nr 2), 2018, 137-143.
2. Canakci H., Sidik W., Kilic I. H.: Effect of bacterial calcium carbonate precipitation on compressibility and shear strength of organic soil. *Soils and Foundations*, 55(5), 2015, 1211-1221.
3. Charpe A. U., Latkar M. V.: Effect of biocementation using soil bacteria to augment the mechanical properties of cementitious materials. *Materials today: proceedings*, 21, 2020, 1218-1222.
4. Ciechanowicz A.: Wpływ bakterii na wytrzymałość biocementowanych gruntów niespoistych. *Praca magisterska*, 2023.
5. Dan Song, Jin Yang, Bin Chen: Life cycle environmental impact analysis of a typical cement production chain. *Applied Energy*, 164, 2016, 916-923.
6. Filet A. E., Gutjahr I., Sapin L., Lépine L. : Biocalcis, le renforcement des sols par cimentation biologique. *Travaux-Sols et Fondations*, 933, 2017.
7. Misiólek K.: Rola bakterii ureolitycznych w procesach biocementacji gruntów – aktualny stan badań. *Budownictwo i Inżynieria Środowiska*, 9(2), 2018.
8. Piasecki M., Geryło R.: Zagadnienia dekarbonizacji budownictwa w Polsce. *Materiały Budowlane*, 2021.
9. Salton M. R., Kim K. S., Baron S.: *Medical microbiology*. University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996.
10. Saravanan V. K.: Cost effective and sustainable practices for piling construction in the UAE. *Disertasi Heriot Watt University*, 2011.
11. Schopf J. W., Packer B. M.: Early Archean (3.3-billion to 3.5-billion-year-old) microfossils from Warrawoona Group, Australia. *Science*, 237(4810), 1987, 70-73.
12. Whiffin V. S., Van Paassen L. A., Harkes M. P.: Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiology Journal*, 24(5), 2007, 417-423.
13. Zwietering M. H., Jongenburger I., Rombouts F. M., K. van't Riet: Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and environmental microbiology*, 56(6), 1990, 1875-1881.