

Bioconcreto: bactérias gram-positivas retiradas do solo no autorreparo de fissuras, trincas e rachaduras no concreto

Bioconcrete: gram-positive bacteria removed from the soil in the self-repair of cracks in concrete

Biohormigón: bacterias grampositivas eliminadas del suelo en la autorreparación de grietas en el hormigón

Recebido: 19/04/2021 | Revisado: 23/04/2021 | Aceito: 27/04/2021 | Publicado: 11/05/2021

Michele Garcês Almeida Martins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2058-7163>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: mgamengenharia@gmail.com

Marcela Oliveira da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2692-2316>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: oliveira.marcela.2010@hotmail.com

Ligiane Aparecida Florentino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9092-3017>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: ligiane.florentino@unifenas.br

Diogo Gontijo Borges

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4375-3451>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: diogo.borges@unifenas.br

Resumo

O concreto é um material altamente utilizado na construção civil, apresenta alta resistência à compressão, porém quando tracionado tende a fissurar e romper. Com a ocorrência dessas fissuras e possível rompimento, há o receio de que a estrutura deixe de cumprir com os seus critérios de desempenho ou que tenha a sua vida útil reduzida. A partir dessa problemática tem se desenvolvido estudos sobre o bioconcreto, concreto capaz de realizar autorreparação a partir da adição de bactérias gram-positivas e seu meio de alimento em seu preparo por meio do processo de biomineralização. Ao entrar em contato com a água essa bactéria se alimenta e precipita uma camada de carbonato de cálcio, preenchendo, assim, suas fissuras. Logo, o bioconcreto se apresenta como uma nova alternativa na área da construção civil. O objetivo da pesquisa foi analisar um novo meio de reparação de fissuras por meio de bactérias extraídas do solo. A metodologia foi dividida nas etapas de preparação da bactéria, preparação do concreto, preparação das fissuras, trincas e rachaduras, preparação do meio de alimento e tratamento dessas fissuras, trincas e rachaduras. Os resultados foram analisados de forma qualitativa. Ainda que as fissuras não tenham se preenchido totalmente, obteve-se resultados significativos, no qual o ensaio A se destacou, pois visualmente ficou com suas fissuras mais preenchidas do que no ensaio B. No entanto, o tempo empregado na metodologia pode não ter sido suficiente para a reparação completa dessas fissuras.

Palavras-chave: Concreto; Biomineralização; Autorreparação; Bactéria gram-positiva.

Abstract

Concrete is a material highly used in civil construction, has high compressive strength, however when pulled it tends to crack and break. With the occurrence of these cracks and possible rupture, there is a fear that the structure will no longer meet its performance criteria or that its useful life will be reduced. Based on this problem, studies on bioconcrete have been developed, concrete capable of performing self-repair from the addition of gram-positive bacteria and their food medium in their preparation through the process of biomineralization. When in contact with water, this bacterium feeds and precipitates a layer of calcium carbonate, thus filling its cracks. Therefore, bioconcrete presents itself as a new alternative in the area of civil construction. The objective of the research was to analyze a new way of repairing cracks by means of bacteria extracted from the soil. The methodology was divided into the stages of preparing the bacteria, preparing the concrete, preparing the cracks, preparing the food medium and treating these cracks. The results were analyzed qualitatively. Although the cracks have not been completely filled, significant results were obtained, in which test A stood out, as it visually had its cracks more filled than in test B. However, the time used in the methodology may not have been sufficient for the complete repair of these cracks.

Keywords: Concrete; Biomineralization; Self-repair; Gram-positive bacteria.

Resumen

El hormigón es un material muy utilizado en la construcción civil, tiene alta resistencia a la compresión, sin embargo cuando se tira tiende a agrietarse y romperse. Con la ocurrencia de estas grietas y posible ruptura, existe el temor de que la estructura deje de cumplir con sus criterios de desempeño o que su vida útil se reduzca. A partir de esta problemática se han desarrollado estudios sobre biohormigón, hormigón capaz de auto-repararse a partir de la adición de bacterias grampositivas y su medio alimenticio en su preparación mediante el proceso de biomineralización. Al entrar en contacto con el agua, esta bacteria se alimenta y precipita una capa de carbonato cálcico, llenando así sus grietas. Por tanto, el biohormigón se presenta como una nueva alternativa en el ámbito de la construcción civil. El objetivo de la investigación fue analizar una nueva forma de reparar grietas mediante bacterias extraídas del suelo. La metodología se dividió en las etapas de preparación de las bacterias, preparación del hormigón, preparación de las grietas, preparación del medio alimentario y tratamiento de estas grietas. Los resultados se analizaron cualitativamente. Si bien las grietas no se han llenado por completo, se obtuvieron resultados significativos, en los que se destacó la prueba A, ya que visualmente tenía sus grietas más rellenas que en la prueba B. Sin embargo, el tiempo empleado en la metodología puede no haber sido suficiente para la completa reparación de estas grietas.

Palabras clave: Hormigón; Biomineralización; Autorreparación; Bacterias grampositivas.

1. Introdução

O concreto é um material altamente consumido na construção civil. É composto por aglomerante (cimento), agregado miúdo (areia), agregado graúdo (brita) e água, podendo conter aditivos (Lima *et al.*, 2014). Apesar da sua versatilidade, durabilidade, e sua eficiência em relação a resistência à compressão, ele possui uma deficiência na resistência à tração, logo, com intuito de supri-la, ele é empregado junto a uma armadura para obter resistência em ambos os esforços (Jonkers *et al.*, 2010). Porém, algumas vezes quando é tracionado tende a fissurar ou se romper (Mânica, 2019). Através desse rompimento substâncias indutoras de corrosão podem adentrar e causar degradação do concreto, bem como a corrosão das armaduras de aço, reduzindo, assim, sua durabilidade (Van Belleghem *et al.*, 2016).

Silva (2018) ressalta a dificuldade da prevenção do aparecimento de danos no concreto, pois existem vários tipos de patologias, cuja formação depende de fatores internos e externos, que, são proporcionados pelo ambiente.

A partir de estudos realizados por Henk Jonkers, a vida útil do concreto pode ser melhorada com a adição de bactérias gram-positivas em sua preparação. Esse processo passou a ser conhecido como bioconcreto (Mors & Jonkers, 2012). A produção deste é realizada por meio de bactérias pelo processo de biomineralização, que consiste na sintetização de minerais inorgânicos através de organismos vivos (Gautam, 2018).

O bioconcreto reage para se autorreparar, pois é um tipo de concreto que pode produzir a precipitação do carbonato de cálcio para reparar as fissuras que aparecem na superfície de sua estrutura (Agarwal & Kadam, 2017). Com isso, sempre que ocorrerem fissuras, trincas ou rachaduras, e a água começar a penetrar por elas, a bactéria irá começar a se alimentar, consumirá oxigênio e se converterá de solúvel para insolúvel (Gautam, 2018). Ou seja, quando estiverem ativas elas poderão depositar o carbonato de cálcio e outros minerais inorgânicos para selar as fissuras abertas, assim consequentemente estarão também garantindo a integridade da estrutura e fechando o caminho para substâncias nocivas (Tziviloglou *et al.*, 2017). Quando as fissuras estiverem completamente preenchidas as bactérias retornam ao seu estagio de hibernação (Vijay & Murmu, 2018).

Neste contexto, de acordo com Jonkers e Schlangen (2008), tem-se que a ocorrência de fissuras no concreto deve ser minimizada por razões de durabilidade, não agredir o meio ambiente e por gerar economia com gastos de manutenção, já que o reparo convencional é caro e algumas vezes inviável.

Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi produzir o bioconcreto utilizando bactérias gram-positivas retiradas do solo para autorreparo de fissuras, trincas e rachaduras no concreto, e avaliar o seu autorreparo.

2. Metodologia

A metodologia utilizada foi baseada nos estudos de Arroyo *et al.* (2016), Borges (2015), Pelegrinello (2017) e Siqueira (2017), na qual foi dividida em etapas, sendo elas: preparação da bactéria, preparação do concreto, preparação das fissuras, trincas e rachaduras, preparação do meio de alimento e tratamento das fissuras, trincas e rachaduras. Foram realizadas duas formas de inserção das bactérias no concreto, ensaios A e B. Na primeira, os corpos de prova de concreto foram imersos na solução da bactéria com seu meio de alimento. Na segunda, a bactéria foi adicionada durante o processo de preparo do concreto e, posteriormente, os corpos de prova de concreto foram imersos no meio de alimento da bactéria.

A preparação da bactéria foi realizada em quatro etapas: confirmação do gram, preparação do meio de cultura, inoculação e reprodução bacteriana, os materiais utilizados para tal constam no Quadro 1.

Quadro 1 – Materiais para preparo do meio de cultura para crescimento da bactéria.

Material	Quantidade
Agar YM	2,5 L
Agar Monitol	25 g
K ₂ HPO ₄ – 10 %	2,5 mL
K H ₂ PO ₄	10 mL
MgSO ₄ 7H ₂ O – (10%)	5 mL
NaCl – (10%)	2,5 mL
Extrato de Levedura	1 g
Solução Azul de Bromotinol	12,5 mL
Agar	37,5 g

Fonte: Autores (2019).

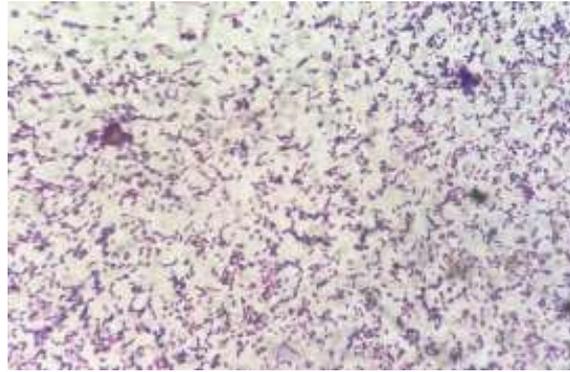
As bactérias utilizadas não podem ser patogênicas e devem resistir à alta alcalinidade por longos períodos (Euzébio *et al.*, 2017). Elas ainda devem reagir apenas na presença de O₂, precisam formar esporos para que possam permanecer inativas por anos, não devem desenvolver H₂S e CO₂, e devem realizar a precipitação de carbonato de cálcio após reagir com a água ou umidade (Agarwal & Kadam, 2017).

Com isso para atender estas necessidades, Pelegrinello (2017) citou em sua pesquisa uma seleção de bactérias gram-positivas do gênero *Bacillus*, sendo elas *Bacillus sphaericus*, *Bacillus pasteurii*, *Shewanella*, *Bacillus cohnii* e *Bacillus subtilis*.

Como não foi encontrada nenhuma das bactérias desse gênero na região, optou-se por quatro estirpes de bactérias gram-positivas retiradas do solo, isoladas e cedidas pelo o Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS, todas cadastradas no banco de dados da mesma.

Para confirmação do gram utilizou-se do Método de Gram, no qual o teste foi realizado fixando as células em uma lâmina para serem tingidas com violeta de Genciana, depois foram lavadas com água e cobertas com lugol (iodo), por fim foi realizada a lavagem com álcool 95°. Observou-se no microscópio ótico que a coloração foi azul-violeta, confirmando seu gram positivo, como mostra a Figura 1.

Figura 1 – Esporos de bactéria gram-positiva.



Fonte: Autores (2019).

O meio de cultura foi fracionado e colocado junto com o agar YM em quatro balões para se fazer a inoculação da bactéria. Em seguida, os balões foram esterilizados por autoclave até atingirem uma temperatura de 121 °C e depois passou para a temperatura ambiente aguardando 2 minutos.

Na etapa de reprodução bacteriana é necessário fornecer nutrientes, temperatura adequada e oxigênio para que seja possível obter uma reprodução elevada de microrganismos. Com isso, após a inoculação da bactéria no meio líquido como mostra a Figura 2, a mesma foi colocada em uma estufa a 35°C com tempo de 24-48h. O pH encontrado das bactérias foi 5,00.

Figura 2 – Bactérias no meio líquido.



Fonte: Autores (2019).

Para preparação do concreto foi escolhido o cimento CP II-Z-32, devido a suas propriedades atenderem estruturas em concreto armado e por ser ideal para obras com presença de água. Não foi encontrado na literatura estudos sobre como o tipo do cimento pode interferir na pesquisa. O agregado graúdo foi a brita 1 por ser a mais utilizada na construção civil, e o agregado miúdo foi a areia de rio. Tendo em vista que a água que se utiliza na produção do concreto diariamente é a água fornecida pelas concessionárias, optou-se por utilizar a água disponível, pois a água purificada não possuiria nenhum mineral ou contaminação, tendo em vista, a busca de manter o estudo mais próximo da realidade possível.

O método utilizado para dosagem do concreto foi do IBRACON, o qual consiste em se estimar um fck desejado, para obter o traço dos materiais que compõem o concreto. O fck requerido foi de 20 MPa, e o traço foi que para 1 kg de cimento utilizou-se 3,445 kg de agregado graúdo, 2,055 kg de agregado miúdo e 0,65 para o fator água/cimento.

Após determinados esses fatores, para o Ensaio A, foi adicionada a água no recipiente. Em seguida, foram adicionados e misturados manualmente o agregado miúdo e o cimento até que a mistura se tornou o mais uniforme possível.

Logo após, o agregado graúdo foi adicionado e misturado. Depois, o material preparado foi dividido em 12 moldes de corpos de prova cilíndricos com dimensões de 10 cm de altura e 5 cm de diâmetro. Após quatro dias os corpos de prova foram desmoldados, não havendo assim o tempo de cura, como mostra a Figura 3.

Figura 3 – Corpos de prova ensaio A (A), corpos de prova desmoldados ensaio A (B).



Fonte: Autores (2019).

Para o Ensaio B, a quantidade de material determinada anteriormente foi dividida em quatro partes, sendo uma parte para cada tipo de bactéria, como mostra a Figura 4. De acordo com a proporção de bactéria que Borges (2015) utilizou em sua pesquisa, em cada uma dessas partes foi adicionado 175 mL de água com bactéria. Em seguida, foram adicionados e misturados manualmente o agregado miúdo e o cimento até que a mistura se tornou o mais uniforme possível. Logo após esse procedimento, o agregado graúdo foi adicionado e misturado. Depois, cada material preparado foi dividido em três moldes de corpos de prova cilíndricos com dimensões de 10 cm de altura e 5 cm de diâmetro, e desmoldados após quatro dias. Assim como no ensaio A, também não houve tempo de cura, como mostra a Figura 5.

Figura 4 – Divisão de materiais.



Fonte: Autores (2019).

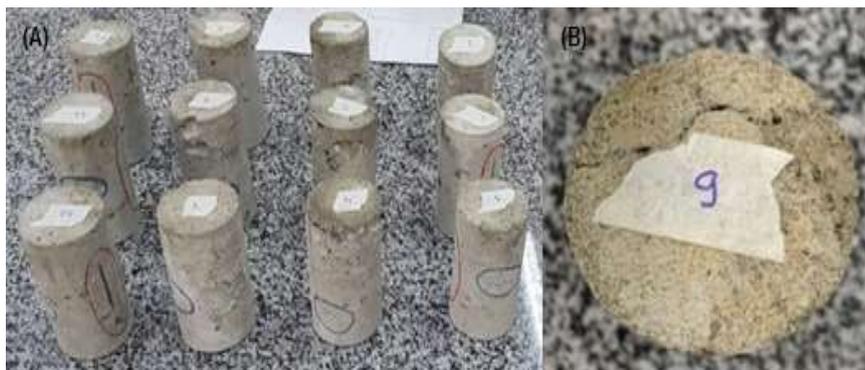
Figura 5 – Corpos de prova ensaio B (A), corpos de prova desmoldados ensaio B (B).



Fonte: Autores (2019).

Após o desmolde os corpos de provas tiveram fissuras, trincas (em azul) e rachaduras (em vermelho) como mostra a Figura 6. As fissuras foram causadas através da falta de cura do concreto e pelo desmolde dos corpos de prova, as trincas foram realizadas com serra manual e as rachaduras com serra mármore.

Figura 6 – Trincas e rachaduras (A), fissuras (B).



Fonte: Autores (2019).

O preparo do meio de alimento foi realizado de acordo com Borges (2015), constituído por extrato de levedura, sulfato de amônio (NH_4SO_4), ureia, cloreto de cálcio (CaCl_2), cloreto de amônio (NH_4Cl), bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e água destilada. As quantidades demonstradas na Tabela 1 foram para cada tipo de bactéria, logo, foram utilizados no total quatro vezes da quantidade para cada ensaio (A e B).

Tabela 1 – Componentes para o meio de alimento da bactéria.

Componente	Quantidades
extrato de levedura	2 g/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 g/L
Ureia	12.14 g
CaCl ₂	50.8 g/L
NH ₄ Cl	10 g/L
NaHCO ₃	2.12 g/L
água destilada	até 1 L

Fonte: Borges (2015).

A preparação desse meio baseia-se em misturar nas devidas quantidades todos os constituintes da solução em um recipiente de vidro e em seguida dissolvê-los, conforme Figura 7. Depois de pronto, o pH encontrado do meio de alimento foi 8,00.

Figura 7 – Materiais utilizados (A) e meio de alimento da bactéria (B).



Fonte: Autores (2019).

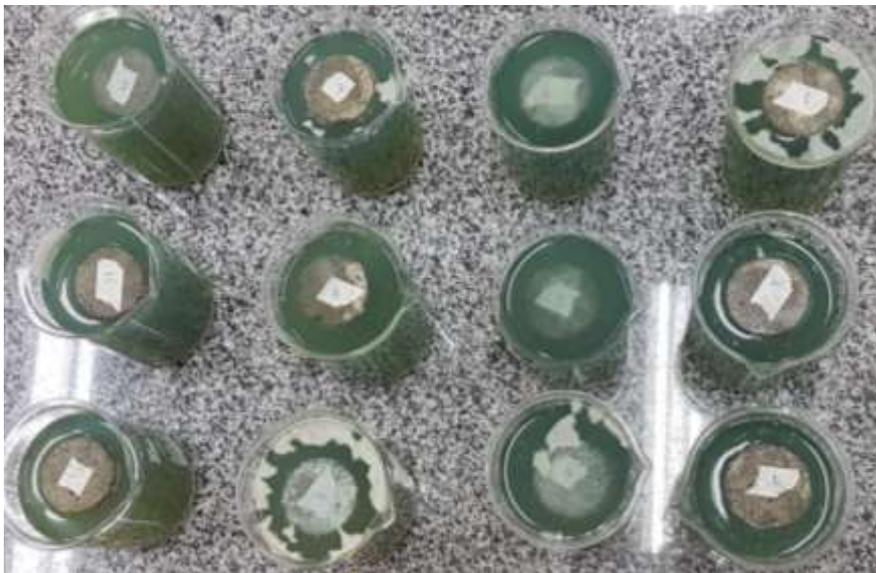
Para o tratamento das fissuras, trincas e rachaduras no ensaio A, misturou-se o meio de alimento com 175 mL de bactéria separadamente, como mostra a Figura 8. Depois de misturados, cada solução com sua bactéria foi dividida em três beakers de 550 mL. Em seguida os corpos de prova foram submersos nessas soluções, como mostra a Figura 9.

Figura 8 – Mistura do meio de alimento com a bactéria.



Fonte: Autores (2019).

Figura 9 – Ensaio A.



Fonte: Autores (2019).

Para o ensaio B, cada meio de alimento preparado foi dividido em três beakers de 600 mL. Em seguida os corpos de prova foram submersos, como mostra a Figura 10.

Figura 10 – Ensaio B.



Fonte: Autores (2019).

Segundo os estudos de Arroyo *et al.* (2016), os ensaios tiveram seus corpos de prova submersos por 24 horas, onde foi verificado novamente o pH da solução, e em ambos ensaios o mesmo aumentou de 8,00 para 10,00.

Depois que foram retirados da solução e do meio de alimento ambos ensaios ficaram expostos ao ar e em observação por 20 dias, para serem analisados, como mostra a Figura 11.

Figura 11 – Corpos de prova após 20 dias.



Fonte: Autores (2019).

3. Resultados e Discussão

Após 20 dias, os corpos de prova foram pesados, notando-se uma pequena variação no peso em ambos ensaios, conforme mostra o Quadro 2. Tal variação pode ser decorrente das trincas e rachaduras causadas nos corpos de prova, uma vez que eles foram pesados antes da realização das mesmas e devido ao tempo de secagem. Não foram encontrados na literatura dados que possam confirmar o motivo dessa redução de peso.

Quadro 2 – Peso dos corpos de provas.

Ensaio A			Ensaio B		
	Peso (g) Antes	Peso (g) Depois		Peso (g) Antes	Peso (g) Depois
1	415,0	405,7	1	430,0	416,4
2	424,0	414,5	2	433,0	419,7
3	434,0	425,9	3	444,0	434,7
4	439,0	431,0	4	436,0	423,2
5	430,0	420,2	5	442,0	427,5
6	427,0	417,0	6	426,0	413,1
7	429,0	417,7	7	435,0	422,1
8	424,0	414,8	8	426,0	412,5
9	431,0	422,4	9	433,0	420,8
10	421,0	411,0	10	436,0	419,0
11	421,0	408,5	11	432,0	416,4
12	424,0	413,4	12	420,0	405,9

Fonte: Autores (2019).

Após e durante o tratamento pode-se notar a formação de uma camada de um produto microcristalino nas fissuras, trincas e rachaduras, com isso os corpos de prova foram lavados para retirar quaisquer excessos da solução como mostra a Figura 12.

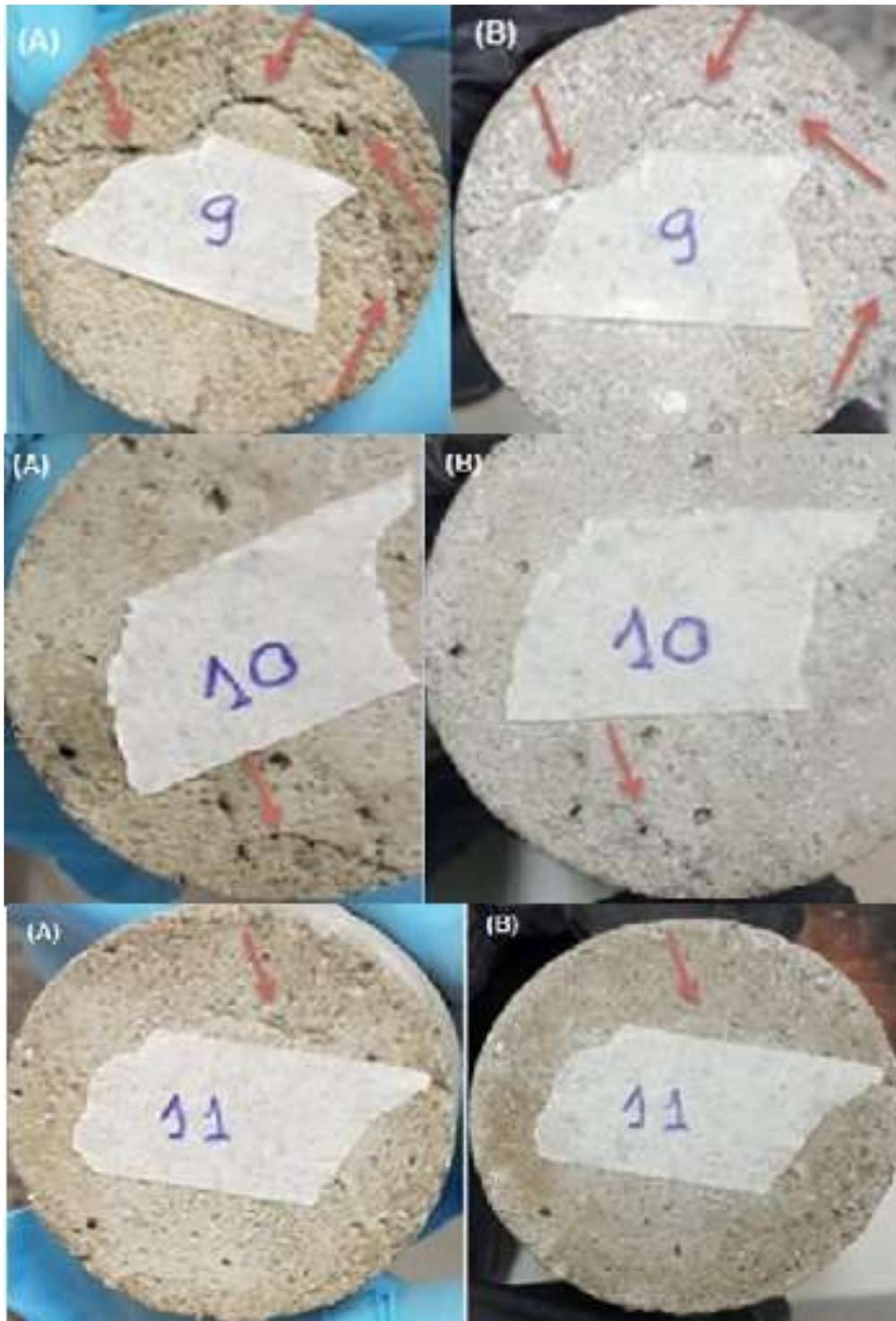
Figura 12 – Lavagem dos corpos de prova (A) e (B).



Fonte: Autores (2019).

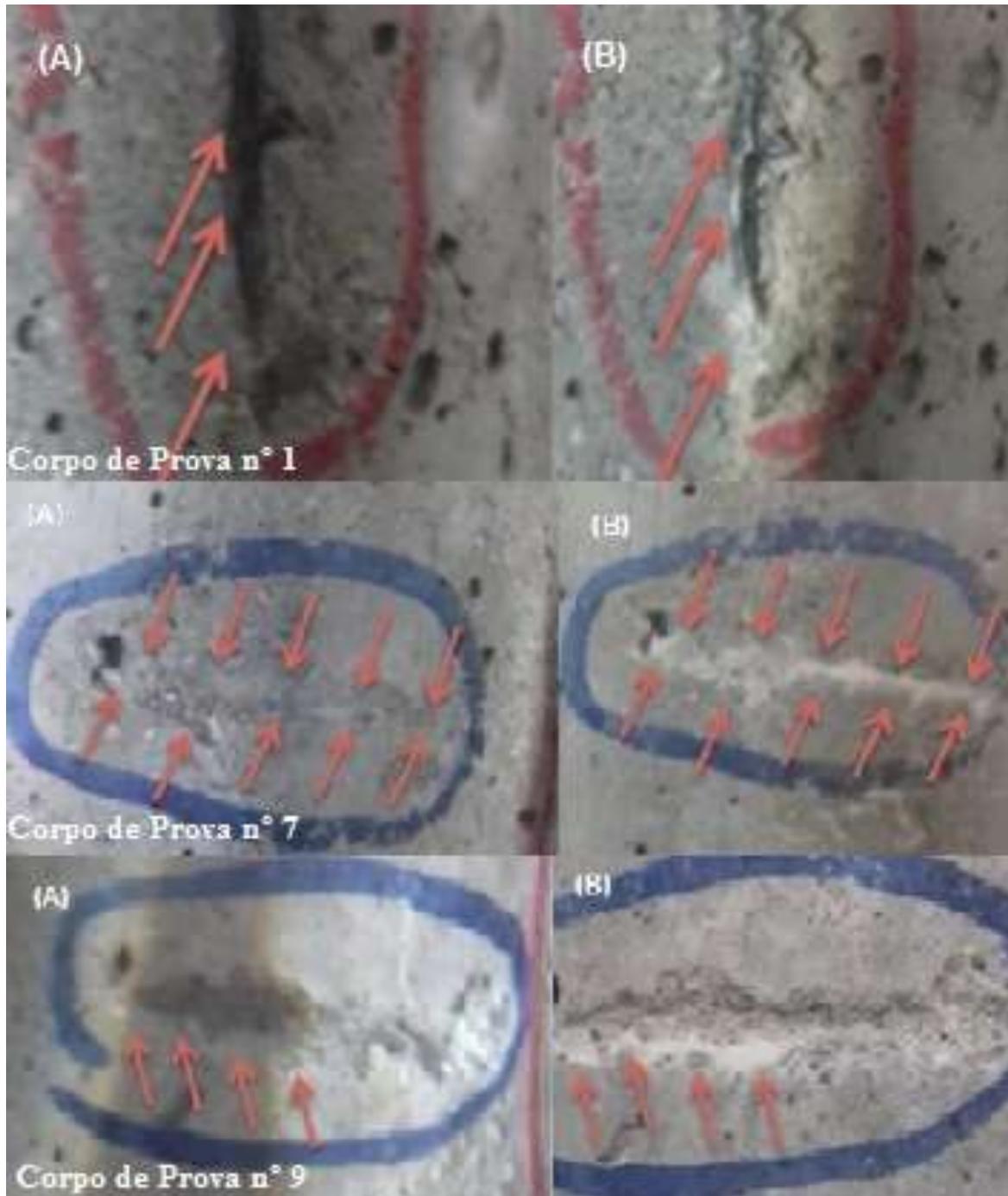
Em seguida, com o auxílio do microscópio e da lupa foi verificado, fotografado e analisado as fissuras, trincas e rachaduras dos corpos de prova. Em ambos ensaios alguns corpos de prova obtiveram resultados perceptíveis pelas fotos, como mostram as Figuras 13 e 14.

Figura 13 – Antes (A) e depois (B) da fissura nos corpos de prova n° 9, 10 e 11 do ensaio A.



Fonte: Autores (2019).

Figura 14 – Antes (A) e depois (B) da trinca no corpo de prova n° 1, 7 e 9 do ensaio B.



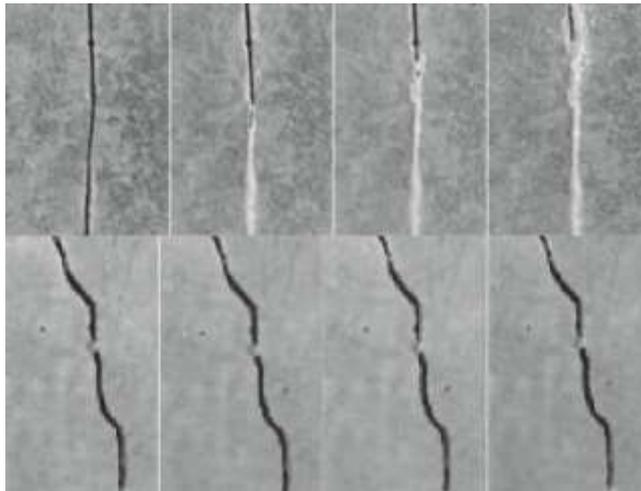
Fonte: Autores (2019).

Os demais corpos de prova que não foram citados não tiveram resultados visíveis pelas fotos. Com isso, em paralelo com o estudo de Siqueira (2017) a produção do carbonato pode não ter sido o suficiente para ocorrer a remediação total das fissuras, trincas e rachaduras. Uma vez que as condições que influenciam na precipitação para o bioconcreto são o pH, a temperatura, a quantidade de ureia, os nutrientes utilizados no crescimento das bactérias, bem como o tempo para a precipitação do carbonato de cálcio. Dessa forma é necessário ter atenção com essas condições, já que a produção do bioconcreto depende do comportamento da bactéria (Borges, 2015). Neste caso específico, acredita-se que o tempo de tratamento foi um grande fator a ser levado em conta, já que devido ao tempo disponível para realização da pesquisa, foi possível apenas 20 dias, e o tempo de tratamento utilizado por Borges (2015) foi de 100 dias.

Porém, ainda sim é possível comparar alguns dados encontrados nesta pesquisa com os do Arunachalam *et al.* (2010), que a partir dos seus resultados pode-se confirmar que para obter precipitação de carbonato de cálcio em boas quantidades é necessário possuir um pH alcalino, como o encontrado foi 10,00, tal informação está dentro dos parâmetros necessários citados anteriormente.

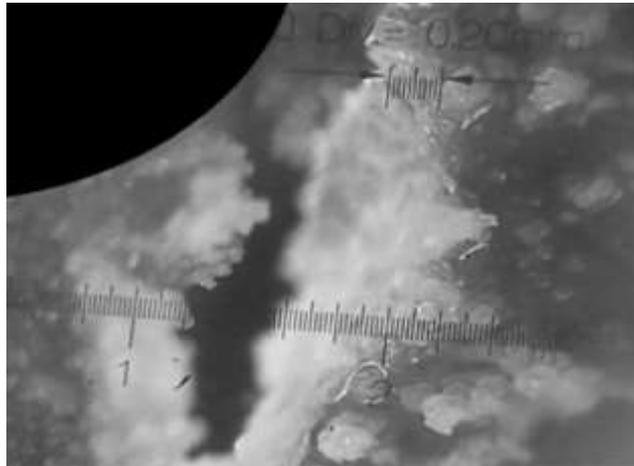
Ao realizar uma análise visual dos resultados desta pesquisa, é perceptível que a mesma corrobora com as pesquisas de Luo *et al.* (2015), Khaliq e Ehsan (2016), De Belie (2016) e Van Tittelboom *et al.* (2010) como mostram as Figuras 15, 16, 17 e 18.

Figura 15 – Autorreparo de fissuras.



Fonte: Luo *et al.* (2015).

Figura 16 – Formação de carbonato de cálcio visto pelo microscópio.



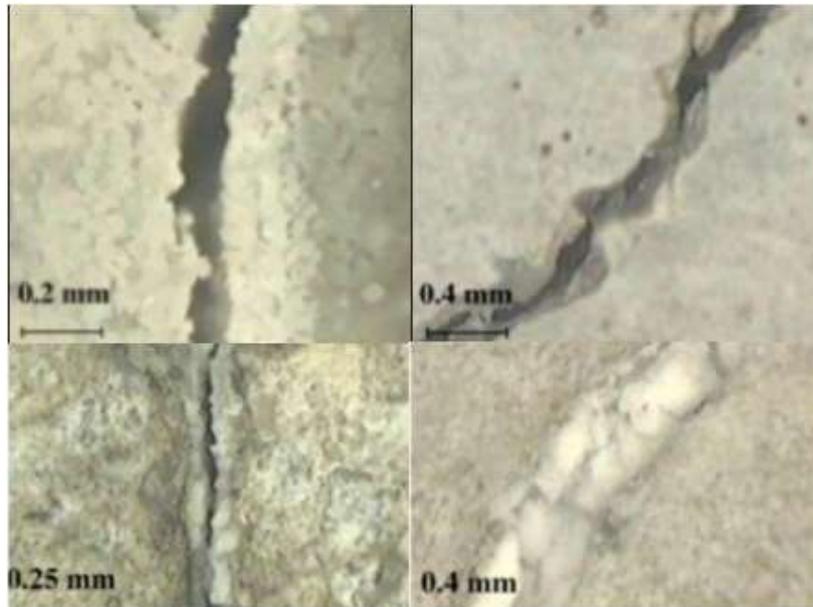
Fonte: Khaliq e Ehsa (2016).

Figura 17 – Autorreparo de fissuras.



Fonte: De Belie (2016).

Figura 18 – Autorreparo de fissuras.



Fonte: Van Tittelboom *et al.* (2010).

Ainda que se tenha a comprovação da remediação parcial dessas fissuras, trincas e rachaduras, quando comparado com os autores citados acima, tem-se que os resultados estão próximos da remediação total. Com isso, a partir de novos critérios, como aumento no tempo de espera para o carbonato de cálcio se manifestar, é possível se obter melhores resultados, como o preenchimento maior dessas fissuras.

4. Considerações Finais

O bioconcreto se apresenta como uma nova alternativa na área da construção civil. O presente estudo possibilitou entender como funciona o processo de liberação do carbonato de cálcio quando as bactérias são ativadas, ou seja, processo que ocorre através da biomineralização. Esse processo na área da construção civil necessita de especialistas de diferentes áreas como microbiologia, química e engenharia, para que seja possível a compreensão dos processos que envolvem a ação das bactérias como a precipitação do carbonato de cálcio e efeitos sobre as propriedades do material submetido ao tratamento.

Os progressos em biotecnologia da construção têm sido recorrentes e é um avanço tecnológico importante para a sociedade, pois partem de técnicas efetivas e sustentáveis que podem ser aplicadas para resolverem diversos problemas como reparação de fissuras, trincas e rachaduras.

Com isso, o objetivo da pesquisa foi buscar analisar um novo meio de reparação de fissuras, uma vez que vem se desenvolvendo inúmeros estudos em outros países, como acima destacado. Logo, o novo método de reparação de fissuras, trincas e rachaduras proposto por meio de bactérias extraídas do solo, apresentou resultados parciais positivos em ambos ensaios.

Portanto, não obstante apenas a comprovação parcial dos ensaios, é de se destacar a relevância do ensaio A, no qual os corpos de prova de concreto foram imersos na solução da bactéria com seu meio de alimento, pois através dele fez-se possível averiguar as comprovações de que as bactérias podem ser utilizadas no bioconcreto, em que pese ser necessário para melhores resultados uma maior dedicação temporal na pesquisa.

Referências

- Agarwal, G., & Kadam, R. (2017) Bacterial concrete - a solution to crack formation. *International Journal of Innovative Research in Advanced Engineering*, 4(10), 1-6.
- Arroyo, L. F., Tanaka, K. Y. M., Teixeira, T. M., Alves, C. E. S., & Felix, G. A. A. (2016) Concreto biológico: uma proposta sustentável.
- Arunachalam, K. D., Sathyanarayanan, K. S., Darshan, B. S., & Raja, R. B. (2010). Studies on the characterisation of Biosealant properties of *Bacillus sphaericus*. *International Journal of Engineering Science and Technology*, 2(3), 270-277.
- Borges, H. M. R. R. (2015) Bio-cimentação como técnica de reparação de argamassas cimentícias. Dissertação de Mestrado, Instituto Superior Técnico, Lisboa, Portugal.
- De Belie, N. (2016). Application of bacteria in concrete: a critical review *Technical Letters. RILEM*, 56-61.
- Euzébio, L. A., Alves, T. R., & Fernandes, V. A. (2017) Bioconcreto: estudo exploratório de concreto com a introdução de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, acetado de cálcio e ureia. Monografia de Graduação, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.
- Gautam, B. R. (2018). Bacteria based self healing concrete—a bacterial approach. *Constr. Build. Mater.*, 57-61.
- Jonkers, H. M., & Schlangen, E. (2008) Development of a bacteria-based self healing concrete, 425-430.
- Jonkers, H. M., Thijssen, A., Muyzer, G., Copuroglu, O., & Schlangen, E. (2010) Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete, 10 (2), 230-235.
- Khaliq, W., & Ehsan, M. B. (2016). Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques. *Construction and Building Materials*, 102, 349-357.
- Lima, S. F., Lima, C. I. V., Coutinho, C. O. D., Azevedo, G. G. C., Barros, T. Y. G., & Tauber, T. C. (2014). Concreto e suas inovações. *Caderno De Graduação - Ciências Exatas E Tecnológicas - UNIT - ALAGOAS*, 1(1), 31-40.
- Luo, M., Qian, C. X., & Li, R. Y. (2015). Factors affecting crack repairing capacity of bacteria-based self-healing concrete. *Construction and building materials*, 87, 1-7.
- Mânica, G. (2019) Utilização de microrganismo autógeno para a recuperação de fissuras em corpos de prova de argamassa de cimento Portland. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIVATES, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Mors, R. M., & Jonkers, H. M. (2012) Bacteria-based self-healing concrete-introduction, 32-39.
- Pelegriello, M. (2017) Estudo da influência do uso de bactérias na biocalcificação de argamassas. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.
- Silva, A. M. D. (2018). Avaliação da viabilidade técnica e econômica do uso do bioconcreto em substituição ao concreto comum. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, FUCAMP, Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil.
- Siqueira, G. N. (2017) Aplicação da biomineralização em recuperação de fissuras. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, Faculdade de Engenharia e Arquitetura UFP, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Tziviloglou, E., Wiktor, V., Jonkers, H., & Schlangen, E. (2017). Selection of Nutrient Used in Biogenic Healing Agent for Cementitious Materials. *Frontiers in Materials*, 4 (15).
- Van Belleghem, B., Van den Heede, P., Van Tittelboom, K., & De Belie, N. (2016). Quantification of the Service Life Extension and Environmental Benefit of Chloride Exposed Self-Healing Concrete. *Materials (Basel, Switzerland)*, 10(1).

Van Tittelboom, K., De Belie, N., De Muynck, W., & Verstraete, W. (2010). Use of bacteria to repair cracks in concrete. *Cement and Concrete Research*, 40(1), 157-166.

Vijay, K., & Murmu, M. (2018) Effect of calcium lactate on compressive strength and self-healing of cracks in microbial concrete, 1-11.