

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO DE JOINVILLE  
CURSO DE ENGENHARIA CIVIL DE INFRAESTRUTURA

GABRIELA HANSEN LEMKE

ANÁLISE DO COMPORTAMENTO DE FISSURAS EM PASTA CIMENTÍCIA COM  
BIOMINERALIZAÇÃO DE *BACILLUS SUBTILIS*

Joinville

2019

GABRIELA HANSEN LEMKE

ANÁLISE DO COMPORTAMENTO DE FISSURAS EM PASTA CIMENTÍCIA COM  
BIOMINERALIZAÇÃO DE *BACILLUS SUBTILIS*

Trabalho apresentado como requisito para obtenção do título de bacharel no Curso de Graduação em Engenharia Civil de Infraestrutura do Centro Tecnológico de Joinville da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientadora: Me. Valéria Bennack

Joinville

2019

GABRIELA HANSEN LEMKE

ANÁLISE DO COMPORTAMENTO DE FISSURAS EM PASTA CIMENTÍCIA COM  
BIOMINERALIZAÇÃO DE *BACILLUS SUBTILIS*

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de bacharel em Engenharia Civil de Infraestrutura, na Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico de Joinville.

**Banca Examinadora:**

---

Me. Valéria Bennack  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dra. Helena Ravache Samy Pereira  
Centro Universitário Católica de Santa Catarina

---

Eng. Letícia de Souza  
Universidade Federal de Santa Catarina

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais por todo o suporte, apoio e compreensão durante todos esses anos. Reconheço todos os esforços que tiveram para fazer com que eu chegasse até aqui. Obrigada por todo o carinho e amor.

À minha orientadora Valéria Bennack, por ter aceitado minha proposta por esse assunto que sempre fui muito curiosa. Obrigada por todo apoio e por ter me ajudado a fazer este trabalho acontecer.

À todas as amigas que eu já tinha comigo e às que eu criei ao longo desses anos. Obrigada por estarem comigo nos momentos bons e nos momentos de dificuldade.

Agradeço a todos que me auxiliaram a concluir este trabalho, em especial à professora Derce de Oliveira Souza Recouvreux e à Letícia de Souza, que abraçaram o meu projeto. Agradeço também à professora Andréa Lima Schneider da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE), por ter cedido as bactérias para o uso neste trabalho.

Agradeço também a todo o corpo docente do curso de Engenharia Civil de Infraestrutura, pela formação acadêmica que fez com que eu chegasse até aqui.

“A natureza é a fonte do todo o conhecimento verdadeiro. Ela tem sua própria lógica, suas próprias leis, ela não tem efeito sem causa nem invenção sem necessidade. ”

Leonardo da Vinci.

## RESUMO

Materiais cimentícios como a argamassa e o concreto são utilizados em larga escala na construção civil mundialmente, porém um problema muito recorrente e difícil de ser evitado é o surgimento de fissuras. Independente do tamanho, as fissuras podem provocar danos à estrutura e à integridade da obra, seja pela ação da água ou por outros agentes químicos, o que pode ocasionar sérios danos, algumas vezes de difícil reparação ou não perceptíveis. Como a manutenção regular é muitas vezes negligenciada, vem-se pensando em soluções que diminuam essa necessidade, para tanto, este trabalho tem como proposta apresentar uma solução que consiste em utilizar bactérias que precipitem carbonato de cálcio, a fim de mitigar essas fissuras. Bactérias do gênero *Bacillus* tendem a ter bom funcionamento para biomineralização. Assim, foram preparadas em laboratório amostras de argamassa de controle, amostras com inserção de *Bacillus subtilis* na mistura e amostras que sofreram borrifamento da mistura de *B. subtilis*, com o objetivo foi verificar a eficiência do fechamento de fissuras através dessas técnicas. Resultados demonstraram a eficiência do uso da técnica de borrifamento sobre as fissuras, o mesmo resultado não foi obtido através da inserção da *B. subtilis* na mistura.

**Palavras-chave:** Fissura. Pasta cimentícia. *Bacillus subtilis*. Biomineralização.

## ABSTRACT

Cementitious materials such as mortar and concrete are widely used in construction worldwide, but a very recurring problem that is difficult to avoid are the appearance of cracks. Regardless of size, cracks can cause damage to the structure and integrity of the building, either by the action of water and other chemical agents, which can cause serious damage, sometimes difficult to repair or not noticeable. Since regular maintenance is often neglected, solutions that reduce this necessity have been thought of. Therefore, this work proposes to present a solution that consists of using bacteria that precipitate calcium carbonate in order to mitigate these cracks. *Bacillus* genus bacteria tend to function well for biomineralization. Thus, control mortar samples were prepared in the laboratory, samples with *Bacillus subtilis* insertion in the mixture and samples that were sprayed with *B. subtilis* mixture. Therefore, it is intended to verify the efficiency of crack closing through this technique. Preliminary results demonstrate the efficiency of the cracking technique, but the same result was not obtained by inserting *B. subtilis* into the mixture.

**Keywords:** Fissure. Cement paste. *Bacillus subtilis*. Biomineralization.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Seção de um corpo de prova de concreto .....	19
Figura 2 - Autocicatrização natural do concreto .....	24
Figura 3 - Esquema do processo de cicatrização de fissuras em concreto com o uso de bactérias.....	27
Figura 4 - Metodologia de pesquisa .....	29
Figura 5 - Ureia P.A (A) e cloreto de cálcio dihidratado (B).....	32
Figura 6 - <i>Bacillus subtilis</i> em meio PCA .....	33
Figura 7 - Solução líquida da <i>B. subtilis</i> juntamente com a solução de ativação.....	33
Figura 8 - Molde para os corpos de prova.....	34
Figura 9 - Misturador de argamassa .....	36
Figura 10 - Corpos de prova moldados .....	36
Figura 11 - Agitador magnético.....	37
Figura 12 - Corpos de prova desmoldados .....	37
Figura 13 - Prensa hidráulica.....	38
Figura 14 - Corpo de prova antes de ser fissurado (A) e corpo de prova com a fissura (B) .....	38
Figura 15 - Esterilização da solução.....	39
Figura 16 - Frasco de <i>spray</i> contendo a solução de <i>B. subtilis</i> , solução enzimática e solução nutriente.....	39
Figura 17 - Microscópio .....	40
Figura 18 - Gráfico da granulometria da areia utilizada.....	41
Figura 19 - Corpo de prova Controle (1).....	42
Figura 20 - Corpo de prova Controle (2).....	42
Figura 21 - Corpo de prova Controle (3).....	43
Figura 22 - Corpo de prova Controle (4).....	43
Figura 23 - Corpo de prova Controle (5).....	44
Figura 24 - Corpo de prova Mistura (1) .....	45
Figura 25 - Corpo de prova Mistura (2) .....	45
Figura 26 - Corpo de prova Mistura (3) .....	46
Figura 27 - Corpo de prova Mistura (4) .....	46
Figura 28 - Corpo de prova Mistura (5) .....	47
Figura 29 - Corpo de prova Borrif (1) .....	48
Figura 30 - Corpo de prova Borrif (2) .....	48

Figura 31 - Corpo de prova Borrif (3) .....	49
Figura 32 - Corpo de prova Borrif (4) .....	49
Figura 33 - Corpo de prova Borrif (5) .....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do PCA .....	31
Tabela 2 - Composição de um corpo de prova .....	35
Tabela 3 - Composição de um corpo de prova com substituição parcial da água.....	35
Tabela 4 - Apresentação da abertura das fissuras em cada ponto medido .....	51

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Propriedades e características dos compostos formadores do clínquer.....	20
Quadro 2 - Exigências de durabilidade relacionadas à fissuração e à proteção da armadura, em função das classes de agressividade ambiental.....	22
Quadro 3 - Aplicação de bactérias na área da construção civil.....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

CP – Corpo de prova

CTJ – Centro Tecnológico de Joinville

PCA – *Plate Agar Count*

PVA – Acetato de polivinila

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

## LISTA DE SÍMBOLOS

mm	Milímetro
%	Porcentagem
$CO_2$	Dióxido de carbono
$CaCO_3$	Carbonato de cálcio
$C_3S$	Silicato tricálcico
$C_2S$	Silicato bicálcico
$C_3A$	Aluminato tricálcico
$C_4AFe$	Ferro aluminato tetracálcico
kg	Quilograma
$Ca(OH)_2$	Hidróxido de cálcio
$CO(NH_2)_2$	Ureia
$H_2O$	Água
$NH_2COOH$	Ácido carbâmico
$NH_3$	Amônia
$H_2CO_3$	Ácido carbônico
$HCO_3^-$	Bicarbonato
$H^+$	Hídron
$NH_4^+$	Amônio
$OH^-$	Hidróxido
$Ca^{2+}$	Íon de cálcio
$CO_3^{2-}$	Carbonato
$CaC_6H_{10}O_6$	Lactato de cálcio
$O_2$	Oxigênio
°C	Graus Celsius
g	grama
L	Litro
$CaCl_2$	Cloreto de cálcio
$cm^3$	Centímetro cúbico
cm	Centímetro
h	Hora
ml	Mililitro

μm

Micrometro

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
1.1. OBJETIVOS .....	16
<b>1.1.1. Objetivo Geral</b> .....	<b>16</b>
<b>1.1.2. Objetivos Específicos</b> .....	<b>16</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>17</b>
2.1. ARGAMASSA E CONCRETO .....	17
2.2. MICROESTRUTURA DO CONCRETO .....	18
<b>2.2.1. Microestrutura do cimento Portland</b> .....	<b>19</b>
2.3. PATOLOGIAS .....	21
<b>2.3.1. Fissuras</b> .....	<b>22</b>
2.4. AUTOCICATRIZAÇÃO DO MATERIAL CIMENTÍCIO .....	23
2.5. BIOMINERALIZAÇÃO E BIODEPOSIÇÃO .....	24
<b>2.5.1. Biomineralização em materiais cimentícios com o uso de agentes bacterianos.</b>	<b>25</b>
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	<b>29</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
4.1 MATERIAIS .....	30
<b>4.1.1 Agente biológico</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1.2 Agente para o meio de conservação do microrganismo</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1.3 Reagentes para ativação da enzima urease</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1.4 Reagentes que compõem o meio de precipitação do carbonato de cálcio</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1.5 Materiais para produção dos corpos de prova</b> .....	<b>32</b>
4.2. MÉTODO DE EXECUÇÃO .....	32
<b>4.2.1. Meio de conservação da <i>B. subtilis</i></b> .....	<b>32</b>
<b>4.2.2. Ativação da enzima urease</b> .....	<b>33</b>
<b>4.2.3. Solução para precipitação do carbonato de cálcio</b> .....	<b>34</b>
<b>4.2.4. Corpos de prova</b> .....	<b>34</b>
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>41</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>52</b>
<b>7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>55</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Considerando o contexto relacionado à construção civil é possível perceber que misturas a partir de cimento Portland são os materiais mais utilizados mundialmente. Dessa forma, é necessário o desenvolvimento de novas tecnologias a fim de que esses materiais, de tão grande importância, sejam utilizados de forma otimizada (EUZÉBIO; ALVES; FERNANDES, 2017). Por estar muito suscetível às ações do ambiente, sofrem, ao longo do tempo, degradação, que pode acarretar em uma mudança no seu comportamento mecânico. Falhas como alta porosidade ou fissuras podem causar danos também à estrutura de aço dentro do concreto (BERTOLINI, 2010).

As fissuras são inevitáveis nesses materiais e uma vez formadas, podem diminuir a sua vida útil. Há várias maneiras de se fazer esses reparos, porém demandam tempo, além do alto custo (VIJAY; MURMU; DEO, 2017). A mistura cimentícia, seja o concreto ou a argamassa, por si só, auto regenera pequenas fissuras (da ordem de 0,2mm), mas isso acaba sendo uma opção pouco viável, visto que funciona apenas para pequenas fissuras.

Para quaisquer casos de reparos de fissuras, o usual é que se faça o monitoramento, detecção do problema e então o reparo. Esse reparo é feito por uma aplicação do material cimentício do lado de fora da falha e este então vai lentamente penetrando na estrutura. Porém esse é um processo demorado e custoso, além de ser de difícil acesso para estruturas subterrâneas ou em grandes obras de infraestrutura (ZHANG et al., 2017).

Uma nova abordagem para solucionar o problema de fissuras é pelo uso de bactérias. Estas demandam de baixa energia, visto que suas ações ocorrem naturalmente à temperatura ambiente (EUZÉBIO et al., 2017). Segundo Jonkers (2011), a ação das bactérias inseridas no concreto ocorre pela conversão metabólica do lactato de cálcio ( $\text{CaC}_6\text{H}_{10}\text{O}_6$ ) em carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ). Esse é, portanto, um método mais eficiente e sustentável de minimizar as fissuras. Há também o uso de microrganismos ureolíticos, em que a conversão metabólica se dá através da ureia ( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ). A precipitação do  $\text{CaCO}_3$  promovida pelas bactérias é classificada como mineralização biologicamente induzida, e esse processo resulta em minerais formados a partir de três formas: hidrólise enzimática da ureia, dissimilação de nitratos e conversão metabólica aeróbica de sais de cálcio, sendo que este último resulta em minerais (SCHWANTES-CEZARIO et al., 2018).

O  $\text{CaCO}_3$  produzido através de bactérias é considerado ecológico e econômico, por possuir potencial para grande aplicação na engenharia. Além do fechamento de fissuras no concreto, também promove essa ação em rochas, sendo utilizado em reparos de obras de arte, por exemplo (WANG et al., 2013).

Este trabalho seguirá a fim de analisar o fechamento de fissuras em amostras de concreto com microrganismos, quando comparadas às amostras de controle, sem o uso das bactérias, em imagens microscópicas.

Essa pesquisa experimental será realizada no Laboratório Interdisciplinar de Construção Sustentável, para a elaboração das amostras e no Laboratório de Microfluídica, para a obtenção das imagens em microscópio, todos localizados no Centro Tecnológico de Joinville (CTJ), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Serão executados ao todo, 15 corpos de provas (CP), sendo 5 de controle, 5 com a adição do *Bacillus subtilis* na mistura e 5 com borrifamento de uma solução de *B. subtilis*, a fim de verificar o fechamento das fissuras pelo uso das duas técnicas de biomineralização.

## 1.1. OBJETIVOS

Com o intuito de minimizar a demanda de manutenções em estruturas de concreto, propõe-se neste trabalho os seguintes objetivos.

### 1.1.1. Objetivo Geral

Analisar o comportamento de fissuras em pasta cimentícia com biomineralização de *Bacillus*.

### 1.1.2. Objetivos Específicos

- Definir o traço e a dosagem de *Bacillus*;
- Avaliar o comportamento do *Bacillus* nas fissuras da argamassa já curada após 7, 14 e 28 dias;
- Analisar dois diferentes processos de fechamento de fissuras por biomineralização;
- Indicar a eficiência do uso do bioconcreto.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

Neste capítulo serão apresentadas informações relacionadas à pasta cimentícia e sua microestrutura, assim como a microestrutura do cimento Portland. Também serão apresentadas as patologias em materiais cimentícios, com ênfase às fissuras e por fim, a autocicatrização da pasta e a atuação dos agentes bacterianos.

### 2.1. ARGAMASSA E CONCRETO

A Norma Brasileira NBR 7200:1997, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), define argamassa como sendo a mistura homogênea de agregados miúdos, aglomerante e água. Essa mistura deverá ter um traço que a permita ter capacidade de endurecimento e aderência. Essa mistura pode conter aditivos, conferindo-a diferentes características. Ambrozewicz (2012), cita que o aglomerante pode ser de cimento Portland, cal ou mista (cimento e cal), além da argamassa de gesso. Pode ser utilizada tanto para assentamento quanto para revestimento.

O agregado é o material granular, como areia, pedregulho, pedra britada ou escória de alto forno. Partículas maiores que 4,8 mm são classificadas como graúdas, já as miúdas são aquelas que têm valores menores que este (GROSSI, 1996).

Segundo Ambrozewicz (2012), o concreto, sendo um material de construção que resulta da mistura de cimento, agregados e água, deve possuir um traço ideal de quantidades para que o concreto fresco possua a consistência correta para o manuseio, transporte e lançamento. A pasta é a mistura do cimento com a água, a argamassa é a mistura da pasta com o agregado miúdo e o concreto é obtido através da argamassa adicionada de agregado graúdo.

Brunauer e Copeland (1964, apud Mehta; Monteiro, 2008), mostram que no ano anterior a sua publicação houve um consumo mundial estimado de concreto de cerca de três bilhões de toneladas, ou em torno de uma tonelada por pessoa à época, um consumo humano que pode se equivaler à água. Em 2008, Mehta e Monteiro estimaram que esse consumo era ainda maior, por volta de onze bilhões de toneladas por ano.

Ainda segundo Mehta e Monteiro (2008), o concreto é um material menos resistente ou forte quanto ao aço, por exemplo, porém seu uso se justifica por três principais características. A primeira é porque o concreto possui grande resistência à água,

diferentemente da madeira ou do aço. O segundo motivo apontado, é pela facilidade de moldar o concreto em diferentes tamanhos e formas, isso se dá pela consistência plástica que o concreto fresco possui. O último motivo seria o econômico, visto que é um material feito a partir de água, cimento Portland e agregado, tendo uma mistura muito menos custosa quando comparada a outras opções de material.

O concreto é muito resistente às tensões de compressão, porém possui baixa resistência à tração. Para solucionar esse impasse, são adicionadas barras de aço, de modo a compor a armadura da estrutura, fazendo com que o conjunto seja capaz de suportar a compressão e a tração. O termo concreto armado é, portanto, o somatório desses dois materiais (GONÇALVES, 2015).

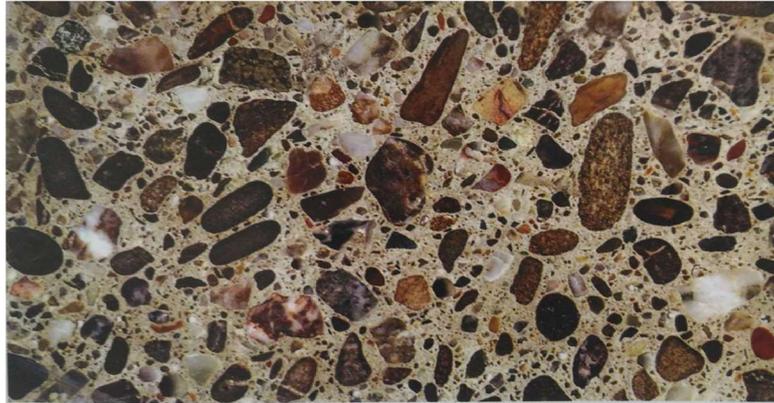
## 2.2. MICROESTRUTURA DO CONCRETO

Segundo Grossi (1996), as propriedades macroscópicas de um material dependem totalmente de sua estrutura interna. Tendo-se o conhecimento da microestrutura e a relação da mesma com as propriedades macroscópicas, pode-se otimizar essa estrutura, obtendo um material com melhores propriedades.

A microestrutura de um sólido é constituída pelo tipo, quantidade, tamanho, forma e distribuição das fases presentes no mesmo, características estas que podem ser visualizadas somente com o auxílio de microscópio, diferentemente dos elementos macroscópicos, que podem ser facilmente vistos a olho nu em uma seção transversal (MEHTA; MONTEIRO, 2008).

O concreto é considerado bifásico em nível macroscópico, por ter duas fases que podem ser facilmente distinguidas. Essas são as partículas de agregados e a pasta de cimento hidratada, como mostrada na (EUZÉBIO et al., 2017). Na Figura 1 pode-se observar as duas fases da seção transversal de um corpo de prova de concreto, onde os agregados ficam destacados da pasta de cimento.

Figura 1 - Seção de um corpo de prova de concreto



Fonte: Mehta e Monteiro (2008, p. 22).

A nível microscópico, essa seção é muito mais complexa, de modo a ser clara a não homogeneidade dessas duas fases e não homogeneidade entre si. Como exemplo, Mehta e Monteiro (2008) citam que na pasta de cimento hidratada, quando vista em um microscópico eletrônico com ampliação de 200x, é possível notar regiões densas e outras porosas. A microestrutura do concreto é heterogênea e bastante complexa e ainda não há o total conhecimento das suas relações com as propriedades do concreto (MEHTA; MONTEIRO, 2008).

### **2.2.1. Microestrutura do cimento Portland**

O cimento anidro é um pó composto de partículas com dimensões entre 1 a 50  $\mu\text{m}$  e é obtido através da moagem do clínquer. A composição química do clínquer é de aproximadamente alita ( $\text{C}_3\text{S}$ ), belita ( $\text{C}_2\text{S}$ ), aluminato ( $\text{C}_3\text{A}$ ) e ferrita ( $\text{C}_4\text{AFe}$ ) (MEHTA; MONTEIRO, 2008).

Na Tabela 1 está descrita a característica de cada um dos componentes presentes no clínquer, bem como sua porcentagem aproximada.

Quadro 1 - Propriedades e características dos compostos formadores do clínquer

Compostos	Fórmula química	Abreviação	% No clínquer	Propriedade
<b>ALITA Silicato Tricálcio</b>	$3\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$	$\text{C}_3\text{S}$	50-65	Endurecimento rápido. Alto calor de hidratação. Alta resistência inicial.
<b>BELITA Silicato Bicálcio</b>	$2\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$	$\text{C}_2\text{S}$	15-25	Endurecimento lento. Baixo calor de hidratação. Baixa resistência inicial.
<b>ALUMIANATO Aluminato Tricálcio</b>	$3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$	$\text{C}_3\text{A}$	6-10	Acelera a pega e alto calor de hidratação. Suscetível ao ataque de sulfatos. Aumenta a retração e reduz a resistência final.
<b>FERRITA Ferro Aluminato</b>	$4\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$	$\text{C}_4\text{AFe}$	3-8	Endurecimento lento. Não contribui para a resistência.
<b>Tetracálcio</b>	$\text{Fe}_2\text{O}_3$			Resiste a sulfatos e coloração escura.
<b>Cal Livre</b>	$\text{CaO}$	C	3-8	Admitindo em pequenas quantidades. Em elevadas quantidades, provocam expansibilidade e fissuração

Fonte: Ambrozewicz (2012, p. 80).

A composição química da pasta de cimento hidratada varia de acordo com a relação água/cimento, temperatura e tempo de hidratação (EUZÉBIO et al., 2017).

Mehta e Monteiro (2008) definem que a pasta de cimento hidratada de forma homogênea, possui agregação das partículas no formato silicato de cálcio hidratado ou C-S-H.

Existem quatro principais fases sólidas na pasta de cimento hidratada e estas só podem ser analisadas com o uso de um microscópio eletrônico. O primeiro é o C-S-H, que compõe de 50 a 60% do volume dos sólidos na pasta de cimento. O segundo é o hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), que constitui de 20 a 25% de volume de sólidos. Os sulfoaluminatos de cálcio ocupam de 15 a 20% e por isso possuem um papel secundário nas relações das propriedades com a microestrutura. E por último, os grãos de clínquer não hidratados (MEHTA; MONTEIRO, 2008).

### 2.3. PATOLOGIAS

Com o acelerado crescimento da construção civil, houve a necessidade de inovações tecnológicas e foi necessário maior conhecimento acerca de estudos e análises sobre o estruturas e materiais. Entre essas o estudo de patologia das estruturas, que estuda a origem, forma de manifestação, consequências e mecanismos de ocorrência das falhas em estruturas (SOUZA; RIPPER, 1998).

A patologia na construção está relacionada a qualidade do projeto e da sua execução e apesar do crescente avanço tecnológico para a construção, os casos de patologias não diminuíram na mesma proporção ao longo dos anos. As estruturas de concreto devem ser projetadas e construídas visando sua durabilidade, sem que tenham custos imprevistos de manutenção e reparos (GROSSI, 1996).

Segundo Lapa (2008), os processos de degradação do concreto são complexos e podem ser agrupados, de acordo com sua natureza, em mecânicos, físicos, químicos, biológicos e eletromagnéticos. Muitas vezes, a deterioração ocorre por uma combinação de fatores externos e internos. A patologia altera o desempenho do material e nem sempre são visíveis a olhos nu. As três principais formas de serem percebidos são pela fissuração, destacamento e a desagregação.

Tratando-se das causas mecânicas e físicas, pode-se destacar os ciclos de gelo-degelo, que apesar de não serem comuns no Brasil, são importantes em países onde há baixas temperaturas. Pode afetar o endurecimento da mistura cimentícia, caso o fenômeno ocorra antes da total hidratação do cimento, ou sua resistência final, se o congelamento acontecer após o endurecimento. Outra causa são as tensões térmicas, onde a variação brusca de temperatura pode ocasionar uma mudança volumétrica na estrutura de concreto, podendo ocasionar fissuras posteriormente. A deformação por retração e fluência é outra causa de patologia classificada em mecânica e física, pois estão ligadas à remoção da água da pasta de cimento pelo meio ambiente (LAPA, 2008).

As causas químicas são ainda mais extensas, e estão intimamente ligadas aos problemas das grandes cidades, como as chuvas ácidas e os gases poluentes. O ácido destrói o sistema poroso do concreto, produzindo uma total transformação na pasta de cimento endurecida. Estes fluídos podem penetrar nos poros através de difusão, pressão hidrostática ou por forças capilares (LAPA, 2008).

Souza e Ripper (1998), destacam também como causas de patologias as falhas humanas durante a construção. Essas podem ser a deficiência de concretagem, inadequação

de escoramentos e formas, deficiência nas armaduras, utilização incorreta dos materiais de construção e até mesmo a inexistência do controle de qualidade. Há também a motivação por falha humana durante a utilização, como a ausência de manutenção, por exemplo.

### 2.3.1. Fissuras

As fissuras se manifestam na estrutura de concreto de cimento Portland pela ocorrência de tensões e tração acima do que poderia resistir. Pode ocorrer no estado fresco ou no estado endurecido da pasta de cimento. Identificar o que ocasionou a fissura costuma ser difícil, uma vez que na maior parte dos casos há mais de uma causa para o seu surgimento. Com o envelhecimento das edificações, este fenômeno torna-se inevitável, facilitando a entrada de agentes agressivos. Estes chegam à armadura de aço causando sua corrosão e prejudicando a total integridade da estrutura (EUZÉBIO et al., 2017).

Para Figueiredo (1989), as fissuras podem ser classificadas de acordo com sua origem ou por sua atividade na estrutura. A primeira classificação, pela origem, pode ser feita de duas formas: no concreto em estado plástico ou em estado endurecido. Quando classificada por sua atividade na estrutura, pode ser ativa ou passiva. Fissuras ativas, são as que apresentam variações de abertura e comprimento ao longo do tempo. Já as passivas, são fissuras estabilizadas, onde sua causa provavelmente já foi extinguida.

A NBR 6118:2014, da ABNT, traz uma tabela (Tabela 2) com a abertura máxima das fissuras, sem que elas cheguem a ser nocivas para a estrutura, de acordo com o tipo de concreto e sua classe de agressividade ambiental.

Quadro 2 - Exigências de durabilidade relacionadas à fissuração e à proteção da armadura, em função das classes de agressividade ambiental

Tipo de concreto estrutural	Classe de agressividade ambiental (CAA)	Exigências relativas à fissuração
Concreto simples	CAA I a CAA IV	Não há
Concreto armado	CAA I	$w_k \leq 0,4 \text{ mm}$
	CAA II e CAA III	$w_k \leq 0,3 \text{ mm}$
	CAAIV	$w_k \leq 0,2 \text{ mm}$

Fonte: ABNT (2014).

Euzébio et al. (2017), citam que no estado fresco ou em início de endurecimento, os surgimentos das fissuras ocorrem devido ao impedimento às deformações da massa, ao

assentamento dos componentes e à retração do volume por perda de água. Já no caso de fissuras no estado endurecido do concreto, é o trabalho da estrutura juntamente com os esforços atuantes ao longo do tempo os responsáveis. As ações que podem gerar tais fissuras são:

- Cargas atuantes excessivas;
- Concentrações de esforços devido a falhas de execução;
- Recalques diferenciais em fundações;
- Variações de temperatura;
- Expansão do concreto;
- Corrosão das armaduras; e
- Ação do fogo nas estruturas.

O projeto estrutural deve considerar essas ações e utilizar limites aceitáveis de estabilidade e segurança.

#### 2.4. AUTOCICATRIZAÇÃO DO MATERIAL CIMENTÍCIO

A cicatrização natural em materiais cimentícios já é conhecida há muitas décadas. Essa recuperação de fissuras se dá por porções anidras de cimento Portland contidas no concreto ou argamassa já curado. A água penetra na fissura e atingindo essas porções, consegue realizar o fechamento de pequenas fissuras (EUZÉBIO et al., 2017). Misturas com alto teor de aglutinante mostram uma notável cura natural, quando formadas as fissuras. Porém, só é eficiente para aberturas da ordem de 0,2 mm. Fissuras dessa magnitude não costumam ser classificadas como problemáticas (JONKERS, 2011).

O C-S-H e o hidróxido de cálcio (CH) são os produtos de hidratação mais frequentes formados quando há a penetração da água. Caso haja a presença de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), a fissura se fecha por completo pela carbonatação dos álcalis formados (EUZÉBIO et al., 2017).

A Figura 2 mostra um corpo de prova de concreto que, após gerada a fissura, essa foi regenerada quase por completo. Na imagem, as fotografias foram registradas no dia em que ocorreu a fissura, 7 dias após e 28 dias após, respectivamente.

Figura 2 - Autocicatrização natural do concreto



Fonte: Zhang et al. (2017).

Há pesquisas que mostram outras formas de autocicatrização do concreto. Como exemplo, o uso de fibras de acetato de polivinila (PVA), carbono, metálicas e vegetais podem ser incorporadas ao concreto, a fim de aumentar sua capacidade regenerativa. Porém a cicatrização nesses casos ocorre da mesma forma já apresentada, pela carbonatação dos álcalis formados. Outra forma é pela autocicatrização com retentores de água, em que agentes retentores de água, como polímeros superabsorventes promovem o fechamento de fissuras internas. Esse método, porém, não é aconselhado para estruturas aquáticas (EUZÉBIO et al., 2017).

## 2.5. BIOMINERALIZAÇÃO E BIODEPOSIÇÃO

O processo de formação de cristais biogênicos é denominado biomineralização. O seu estudo tem por objetivo compreender a relação entre a matriz orgânica e o crescimento de cristais, uma vez que envolve o depósito de minerais por organismos vivos (PAULA, 2006). Carbonatos e fosfatos são os biominerais mais identificados na natureza, sendo o carbonato de cálcio o mais abundante. Na natureza, essa precipitação pode ocorrer das seguintes formas: precipitação física a partir da evaporação de uma solução saturada; formação de esqueleto interno ou externo em células eucariontes; processos de fotossíntese e metanogênese; através de fungos; ou através de bactérias heterotróficas (VIEIRA, 2017).

Biodeposição é um termo com significado semelhante à biomineralização, na engenharia civil. Este termo, de forma geral, refere-se à habilidade de bactérias, ao estarem em um ambiente rico em cálcio, induzirem a produção de  $\text{CaCO}_3$ , a fim de fechar, ou preencher, microfissuras (ZHU et al., 2019). É uma técnica que tem como principal objetivo vedar a superfície de materiais como rochas, construções ornamentais, tijolos e concretos, a fim de que se evite a penetração da água nos mesmos, evitando danos

prematuretos à estrutura. Para tal, utiliza-se microrganismos que depositam resíduos biológicos sob estas superfícies. Os estudos na área de biodeposição nas áreas de materiais em engenharia civil ocorre há cerca de três décadas (VIEIRA, 2017).

Algumas limitações para o uso da biodeposição foram apontadas em 2003 por Rodriguez-Navarro et al. A primeira é de que a técnica seria ineficiente para grandes profundidades (de ordem maior que 500  $\mu\text{m}$ ). Outra desvantagem seria que, devido às condições ideais de nutrientes, água e temperatura, levaria ao crescimento excessivo de biofilme, o que não colaboraria para o preenchimento das fissuras.

### **2.5.1. Biomineralização em materiais cimentícios com o uso de agentes bacterianos**

A cada tonelada de concreto produzida, estima-se que 100 kg de  $\text{CO}_2$  é emitido para a atmosfera. Apesar de que durante sua vida, o concreto absorve lentamente  $\text{CO}_2$  (no processo de carbonatação, no qual o  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  é convertido em  $\text{CaCO}_3$ ), a quantidade que é emitida ainda é muito superior. A fim de tentar minimizar a emissão de  $\text{CO}_2$ , vários novos métodos foram surgindo, entre os quais, a incorporação de esporos de bactérias na mistura de concreto (KNOBEN, 2011). O elevado custo com manutenções em estruturas de concreto, devido ao surgimento de fissuras, também foi delimitador para que ocorresse a busca por novos meios de reparos. Estima-se que nos Estados Unidos, no ano de 2001, foram gastos cerca de 4 bilhões de dólares no reparo e manutenção de concreto apenas em viadutos (JONKERS et al., 2008).

O uso de bactérias como um recurso renovável pode trazer uma nova abordagem aos problemas geotécnicos ou de engenharia ambiental, além de trazer benefícios à indústria da construção civil. O bioconcreto é produzido a partir de micro-organismos que ocorrerem naturalmente à temperatura ambiente, o que demanda baixa energia para serem produzidos. As bactérias utilizadas são não patogênicas e não nocivas ao meio ambiente (EUZÉBIO et al., 2017).

O uso de bactérias para o reparo em diversas áreas de engenharia já vem sendo usado há alguns anos. Como exemplo, há estudos que comprovam a remoção de agentes químicos em rios feito pela utilização de micro-organismos, biorremediação de solos contaminados e remoção de gases que provocam o efeito estufa em aterros sanitários. Na última década as pesquisas com o uso de bactérias começaram a ser realizadas em concreto pela aplicabilidade desses micro-organismos em produzir minerais para reparos de estruturas (JONKERS et al., 2008).

Estruturas construídas em ambientes aquáticos, como pontes ou plataformas petrolíferas, estão muito mais sujeitas à corrosão da armadura quando há formação de fissuras. O reparo dessas estruturas é de difícil execução, além de ser custoso. O uso de bioconcreto seria uma boa solução para esses casos (ARNOLD, 2011).

As bactérias utilizadas na engenharia civil são em grande parte do gênero *Bacillus*, e estão dispostas a seguir, na Tabela 3, de acordo com a sua aplicação e referência em estudos já realizados.

Quadro 3 - Aplicação de bactérias na área da construção civil

Aplicação	Organismo	Referência
Argamassa	<i>Bacillus cereus</i>	Le Metayer-Leverel et al. (1999)
	<i>Bacillus sp. CT-5</i>	Achal et al. (2011)
	<i>Bacillus pasteurii</i>	Ramachandran et al. (2001)
	<i>Shewanella</i>	Ghosh et al. (2005)
	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	Achal et al. (2011)
Remediação de fissuras em concreto	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	Bang et al. (2001)
	<i>Bacillus pasteurii</i>	Ramachandran et al. (2001)
	<i>Bacillus pasteurii</i>	Ramakrishnan (2007)
	<i>Bacillus sphaericus</i>	De Belie et al. (2008)
Autocicatrização	<i>Bacillus sphaericus</i>	D. Mumyck et al. (2008)
	<i>Bacillus pseudofirmus</i>	Jonkers et al. (2007)
	<i>Bacillus cohnii</i>	Jonkers et al. (2007)

Fonte: Vekariya e Pitroda (2013, p. 4133).

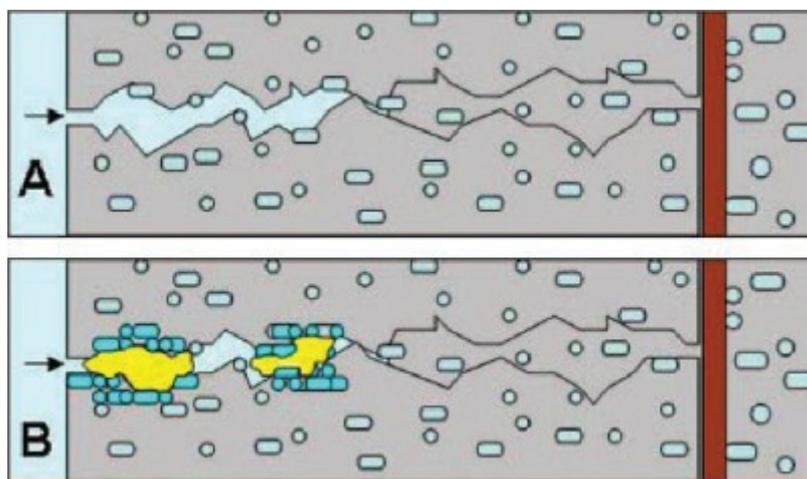
Há dois principais mecanismos de precipitação do  $\text{CaCO}_3$  na literatura. O primeiro, é pela hidrólise bacteriana da ureia, onde são usadas bactérias ureolíticas como *Sporosarcina pasteurii* e *Lysinibacillus sphaericus*. Porém, as bactérias ureolíticas funcionam apenas para rachaduras externas, fazendo como que alguns autores não a classifiquem como uma autocura, além de gerarem íons de amônio, que é prejudicial à saúde humana e ao meio ambiente (ZHANG, 2017). Mais recentemente, foram utilizadas bactérias que metabolizam compostos orgânicos, como o lactato de cálcio para a produção do  $\text{CaCO}_3$ . São bactérias como *Bacillus cohnii*, *Bacillus alkalinitrilicus* e *Bacillus pseudofirmus* (ZHANG, 2017). As bactérias germinadas convertem os nutrientes em  $\text{CaCO}_3$  em cerca de 7 dias, em laboratório. Em ambientes externos esse tempo pode variar devido a diferenças de temperatura e pressão (EUZÉBIO et al., 2017).

Zhang (2017) também explica que o encapsulamento da bactéria é necessário para que os esporos sobrevivam por longo período de tempo. Essa imobilização pode ser feita de diferentes formas, como em argila expandida, perlita expandida ou até em cápsulas de

poliuretano e sílica em gel. Os esporos de bactéria, juntamente com o seu nutriente, encapsulados, podem permanecer em estado dormente por até 200 anos, vindo a produzir o  $\text{CaCO}_3$  apenas quando hidratados (ARNOLD, 2011).

Na Figura 3 é possível entender de forma simplificada e esquemática o processo da cicatrização do concreto pelo uso de bactérias. Em “A”, a água, através da fissura, penetra no concreto, ativando os esporos de bactérias. E em “B”, a bactéria então hidratada e após o consumo do seu nutriente, precipita o  $\text{CaCO}_3$ , fechando a fissura e protegendo a barra de aço da oxidação (ARNOLD, 2011).

Figura 3 - Esquema do processo de cicatrização de fissuras em concreto com o uso de bactérias



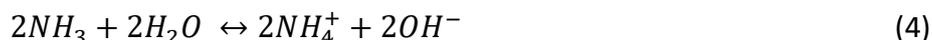
Fonte: Arnold (2011).

#### 2.5.1.1. Mecanismo de precipitação de carbonato de cálcio através da ureia

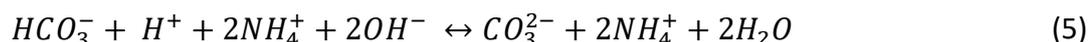
O método mais comumente utilizado na literatura é a hidrólise bacteriana da ureia, a qual induz a precipitação de  $\text{CaCO}_3$ . A hidrólise da ureia ocorre de acordo com as Equações 1 e 2.



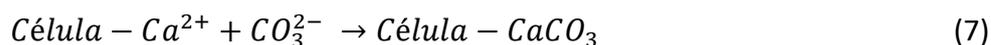
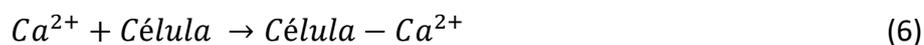
Esses produtos são equilibrados em água, e resultam em bicarbonato, amônio e íons de hidroxila (Equações 3 e 4).



O equilíbrio do bicarbonato ocorre gerando aumento do pH e gerando íons carbonato (Equação 5).



Com o aumento na concentração de carbonato, ocorre a precipitação de  $CaCO_3$  ao redor da célula, na presença de íons de cálcio solúveis (Equações 6 e 7).



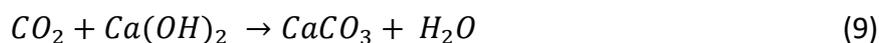
Os íons de cálcio da solução são atraídos para a parede celular da bactéria, devido à sua carga negativa (EUZÉBIO et al., 2017).

#### 2.5.1.2. Mecanismo de precipitação de carbonato de cálcio através do lactato de cálcio

O processo que gera o carbonato de cálcio pela metabolização do lactato de cálcio é dado através das Equações 8 e 9.



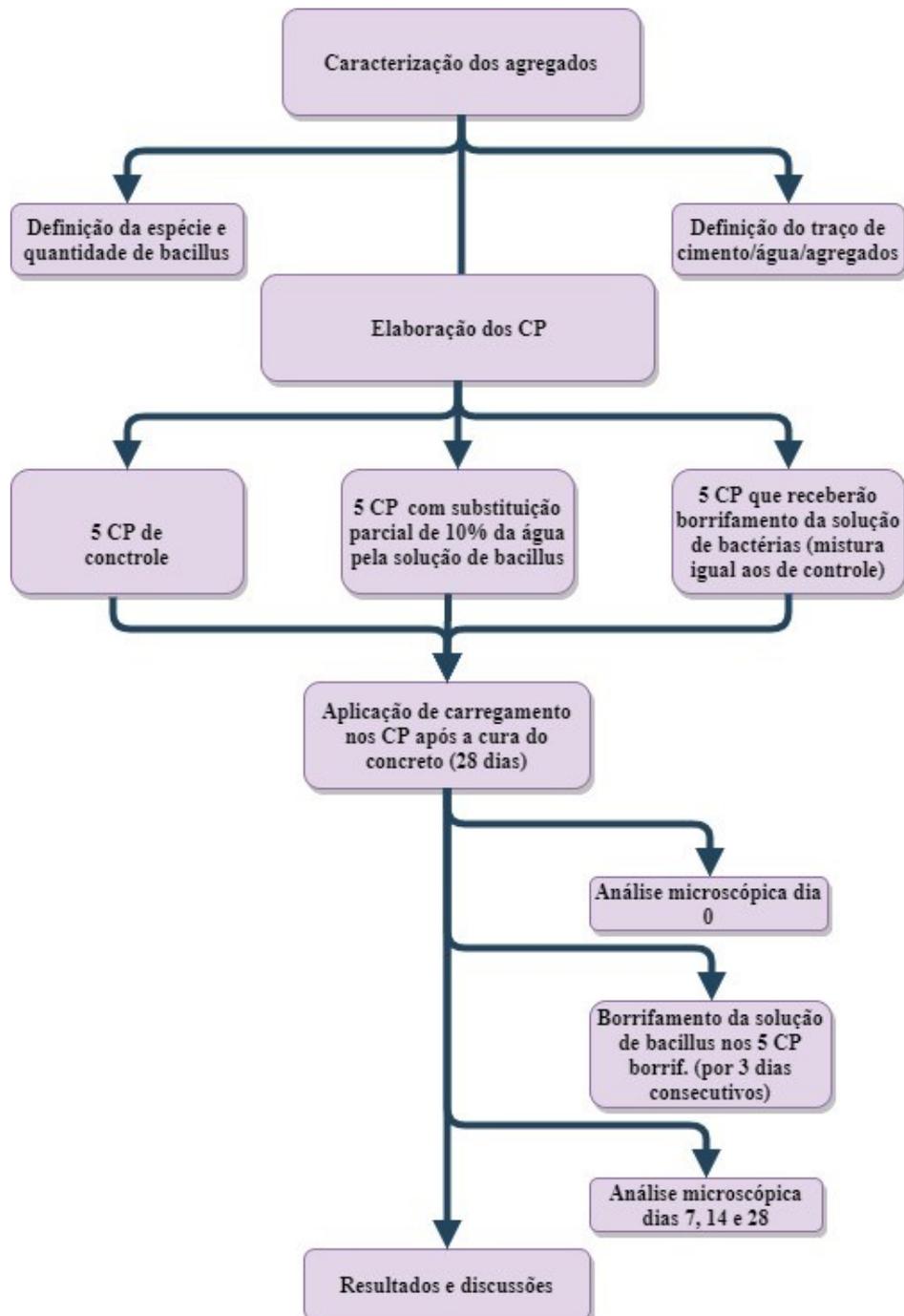
As moléculas de  $CO_2$ , provenientes da metabolização do lactato de cálcio, reagem com o  $Ca(OH)_2$  (Equação 9) e produzem ainda mais  $CaCO_3$ . Isso justifica grandes precipitações minerais em fissuras jovens, observadas por Jonkers (2011).



### 3. METODOLOGIA

A metodologia de experimento em laboratório está representada na Figura 4.

Figura 4 - Metodologia de pesquisa



Fonte: Autora (2019).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Baseando-se em resultados de trabalhos já publicados em que se utilizou *Bacillus subtilis*, foram escolhidos os materiais e a metodologia para a verificação da ação da bactéria no fechamento de fissuras em materiais cimentícios. Visto que esse é o primeiro trabalho em que se utilizou microrganismos em mistura cimentícia no Centro Tecnológico Joinville (CTJ) na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), foi decidido moldar corpos de prova de argamassa, a fim de se ter uma mistura sem o agregado graúdo, utilizando corpos de prova menores, que ao receberem pequenas cargas permitissem a geração de microfissuras sem o rompimento total das peças.

### 4.1 MATERIAIS

Os tópicos a seguir descrevem o agente biológico utilizado; o agente para o meio de conservação; os reagentes para ativação da enzima urease; os reagentes que compõem o meio de precipitação do carbonato de cálcio e os materiais utilizados na produção dos corpos de prova.

#### 4.1.1 Agente biológico

O agente biológico utilizado foi o *Bacillus subtilis*, cedida pelo Laboratório de Biotecnologia I da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE).

As bactérias do gênero *Bacillus* são formadores de endósporos, muito resistentes e adequados para a sobrevivência em ambientes inóspitos. O gênero engloba 70 espécies, sendo a *B. subtilis* uma delas (THWAITE; ATKINS, 2012). É amplamente utilizada para fins biotecnológicos industriais, na produção de antibióticos e produtos agroativos. É uma bactéria mesófila por ter maior atividade em temperaturas de 25 a 35°C. A espécie *B. subtilis* apresenta dimensões entre 0,6 e 0,8 micron, possuindo forma cilíndrica (PELCZAR; REID; CHAN, 1981). Possui composição enzimática e química que lhe permite sobreviver na ausência de água, nutrientes, extremos de temperatura, pH, produtos químicos, dessecação e radiação UV (VIEIRA, 2017).

Toda a preparação de agentes biológicos, ativação da enzima e solução nutriente citados a seguir foram elaborados no Laboratório de Polímeros e Materiais Compósitos da UFSC CTJ.

#### 4.1.2 Agente para o meio de conservação do microrganismo

As bactérias foram conservadas em um meio de cultura *Plate Agar Count* – PCA. O PCA é constituído por peptona de caseína, extrato de levedura, glucose e ágar, suas concentrações estão mostradas na Tabela 4. É um meio rico em nutrientes, além de fornecer fonte de energia para o crescimento das bactérias. A solução utilizada para a composição dos corpos de prova foi o PCA líquido, ou seja, sem adição do ágar.

Tabela 1 - Composição do PCA

Composição	Quantidade
Peptona de caseína	5 g/L
Extrato de levedura	2,5 g/L
D(+) glucose	1 g/L
Ágar	14 g/L

Fonte: Vieira (2017).

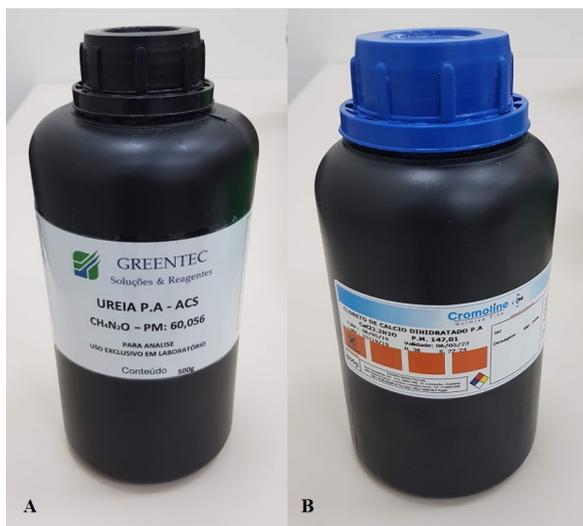
#### 4.1.3 Reagentes para ativação da enzima urease

Para a precipitação do  $\text{CaCO}_3$ , é necessária a liberação da enzima urease pela *B. subtilis*. Esse meio teve composição de 20 g/L de extrato de levedura e 20 g/L de ureia P.A. Essa mistura do PCA líquido juntamente com os reagentes para a ativação da enzima urease será chamada de solução de ativação.

#### 4.1.4 Reagentes que compõem o meio de precipitação do carbonato de cálcio

Há o uso de diferentes fontes de sais para a precipitação do  $\text{CaCO}_3$  na literatura, porém o cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) é o mais utilizado. A fonte de cálcio influencia a forma final do cristal, o que leva a maior utilização do  $\text{CaCl}_2$ , por promover um cristal mais estável (VIEIRA, 2017). Nesta pesquisa, os reagentes utilizados foram ureia P.A e cloreto de cálcio dihidratado (Figuras 4A e 4B, respectivamente). A mistura líquida de ativação do  $\text{CaCO}_3$  será chamada de solução nutriente.

Figura 5 - Ureia P.A (A) e cloreto de cálcio dihidratado (B)



Fonte: Autora (2019).

#### 4.1.5 Materiais para produção dos corpos de prova

As argamassas foram constituídas de cimento, água e areia média como agregado miúdo. Ao todo foram moldados 15 corpos de prova, onde 5 destes tiveram substituição parcial da água pela solução de *B. subtilis*.

#### 4.2. MÉTODO DE EXECUÇÃO

##### 4.2.1. Meio de conservação da *B. subtilis*

A amostra cedida de bactéria *B. subtilis* foi replicada em placas de Petry, previamente esterilizadas em autoclave a 121°C por 15 minutos, contendo o PCA. As placas foram mantidas em estufa a 28°C. Para a solução líquida, o procedimento foi o mesmo, porém não foi utilizado o meio PCA sem ágar. Essa solução líquida foi mantida em estufa por 24h antes do seu uso na mistura da pasta cimentícia.

Figura 6 - *Bacillus subtilis* em meio PCA



Fonte: Autora (2019).

#### 4.2.2. Ativação da enzima urease

A solução que possibilita a *B. subtilis* de produzir a enzima urease, foi ativada em meio líquido, com composição de 20g/L de extrato de levedura e 20g/L de ureia P.A. Esta foi autoclavada a 121°C por 20 minutos antes da inoculação da bactéria.

Figura 7 - Solução líquida da *B. subtilis* juntamente com a solução de ativação



Fonte: Autora (2019).

#### 4.2.3. Solução para precipitação do carbonato de cálcio

Utilizando uma proporção de 1:2,5 (cloreto de cálcio dihidratado:ureia P.A), foi elaborada 50ml dessa solução nutriente, que foi autoclavada a 121°C por 15 minutos e mantida em estufa a 28°C até ser utilizada, a uma proporção de 5 vezes a da solução de bactérias.

#### 4.2.4. Corpos de prova

A fim de comprovar o fechamento de fissuras em materiais cimentícios, foram elaborados corpos de prova prismáticos de base circular de argamassa. Foram preparados ao todo 15 corpos de prova, desses, 5 foram para controle (sem adição da *B. subtilis*), 5 tiveram substituição parcial de 10% de água pela solução de bactérias e 5 tiveram a adição da solução de bactérias por borrifamento, após o tempo de cura da argamassa.

Os corpos de prova foram moldados com Cimento Portland CII Z-32 (Votorantim, Todas as Obras) e areia média

Os moldes utilizados foram elaborados à partir de papelão duro, revestidos com fita adesiva (Figura 7), com 11 cm de diâmetro e 2 cm de altura.

Figura 8 - Molde para os corpos de prova



Fonte: Autora (2019).

Os traços foram escolhidos com base na dissertação de Vieira (2017), sendo feitos os ajustes necessários. Os corpos de prova de controle e os CP que estiveram expostos ao

borrifamento com *spray*, tiveram o mesmo traço e sua composição é apresentada na Tabela 5.

Tabela 2 - Composição de um corpo de prova

Corpo de prova	Cimento (g)	Areia (g)	Água (g)
Controle e <i>spray</i>	123,37	275,77	63,27

Fonte: Autora (2019).

Para os 5 restantes, foi utilizado o mesmo traço de cimento e areia, porém a água foi substituída parcialmente por 10% da solução de bactérias. Como já fora citado na seção 4.2.3, a solução de precipitação do  $\text{CaCO}_3$  foi utilizada a uma proporção de 1:5 da solução de *B. subtilis*. Desta forma, os traços desses corpos de prova ficaram da forma apresentada na Tabela 6.

Tabela 3 - Composição de um corpo de prova com substituição parcial da água

Corpo de prova	Cimento (g)	Areia (g)	Água (g)	Solução de <i>B. subtilis</i> (g)	Solução nutriente (g)
Substituição parcial de 10% de água	123,37	275,77	25,31	6,33	31,63

Fonte: Autora (2019).

Para a elaboração dos corpos de prova, cada componente foi pesado em uma balança de precisão e misturados no equipamento apropriado mostrado na Figura 8. Primeiramente foram adicionados o cimento e a areia, e misturados por cerca de 1 minuto. Após este tempo e com a máquina ainda ligada, foi adicionada a água aos poucos, até obter-se uma mistura homogênea. Essa mistura foi então moldada nas formas (Figura 9).

Figura 9 - Misturador de argamassa



Fonte: Autora (2019).

Figura 10 - Corpos de prova moldados



Fonte: Autora (2019).

Para a mistura com substituição parcial da água, foi medido a massa de solução de *B. subtilis* e da solução nutriente. Devido à não-homogeneidade da mistura de cloreto de cálcio dihidratado e ureia P.A, esta foi misturada juntamente com a solução de *B. subtilis* antes de incorporar à mistura da argamassa. Essa mistura foi feita através de um agitador magnético (Figura 10), a fim de se ter uma mistura final uniforme.

Figura 11 - Agitador magnético



Fonte: Autora (2019).

Após 7 dias os corpos de prova foram desmoldados (Figura 11) e então foram aguardados 28 dias para o tempo de cura dos mesmos.

Figura 12 - Corpos de prova desmoldados



Fonte: Autora (2019).

Quando os corpos de prova completaram 28 dias foram realizadas as fissuras dos mesmos. Estas foram geradas com o uso da prensa hidráulica (Figura 12) do Laboratório de Caracterização de Materiais, da UFSC CTJ.

Figura 13 - Prensa hidráulica



Fonte: Autora (2019).

Os corpos de prova foram colocados sobre duas placas de madeira e prensados até o aparecimento da fissura (Figura 13).

Figura 14 - Corpo de prova antes de ser fissurado (A) e corpo de prova com a fissura (B)



Fonte: Autora (2019).

No mesmo dia em que foi realizado o rompimento, foi preparada outra vez a solução de *B. subtilis*, a solução enzimática e a solução nutriente. Ambas foram acondicionadas em um frasco de *spray* e esterilizadas com radiação ultravioleta (Figura

14). A solução que continha as bactérias não foi esterilizada, pois isso ocasionaria a morte das mesmas.

Figura 15 - Esterilização da solução



Fonte: Autora (2019).

Após 24h, foi realizado o borrifamento (Figura 15) da solução de bactérias, enzima e nutriente nos 5 corpos de prova que sofreriam a borrifamento da solução de *B. subtilis*. Esse processo foi realizado por 3 dias consecutivos, em intervalos de 24h.

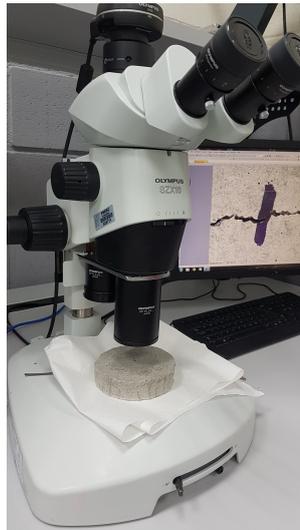
Figura 16 - Frasco de *spray* contendo a solução de *B. subtilis*, solução enzimática e solução nutriente



Fonte: Autora (2019).

Antes de se realizar o primeiro borrifamento para a biodeposição dos microrganismos, foi realizada a primeira microscopia (Figura 16) nos corpos de prova, a fim de se mensurar o tamanho das fissuras em pontos escolhidos de forma aleatória, para que futuramente fosse observado a correlação entre o fechamento das fissuras com o seu tamanho de abertura. Esse processo foi repetido após 7, 14 e 28 dias. A microscopia foi realizada no Laboratório de Microfluídica da UFSC CTJ.

Figura 17 - Microscópio

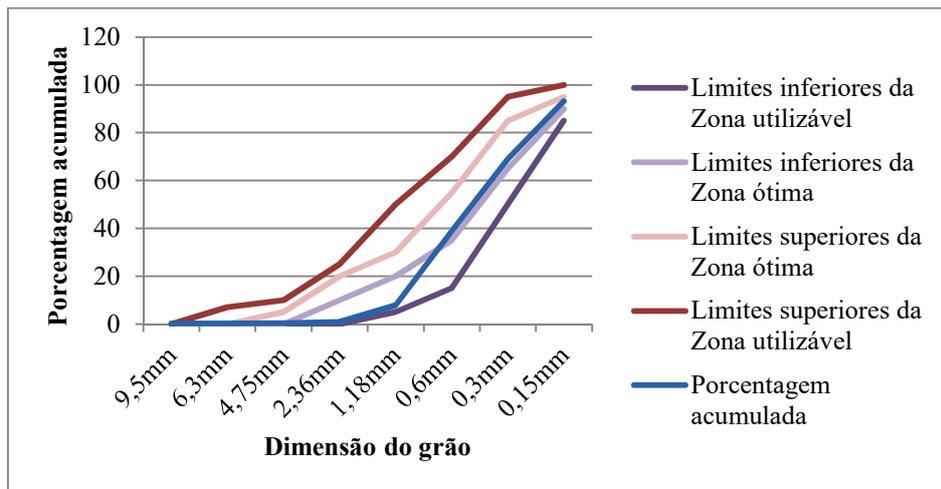


Fonte: Autora (2019).

#### 4. RESULTADOS

A areia utilizada para a composição dos corpos de prova foi classificada como areia média após realizados os ensaios seguindo especificações das normas NBR NM 248, da ABNT (Figura 18). Sua massa específica foi de  $2,61\text{g/cm}^3$ .

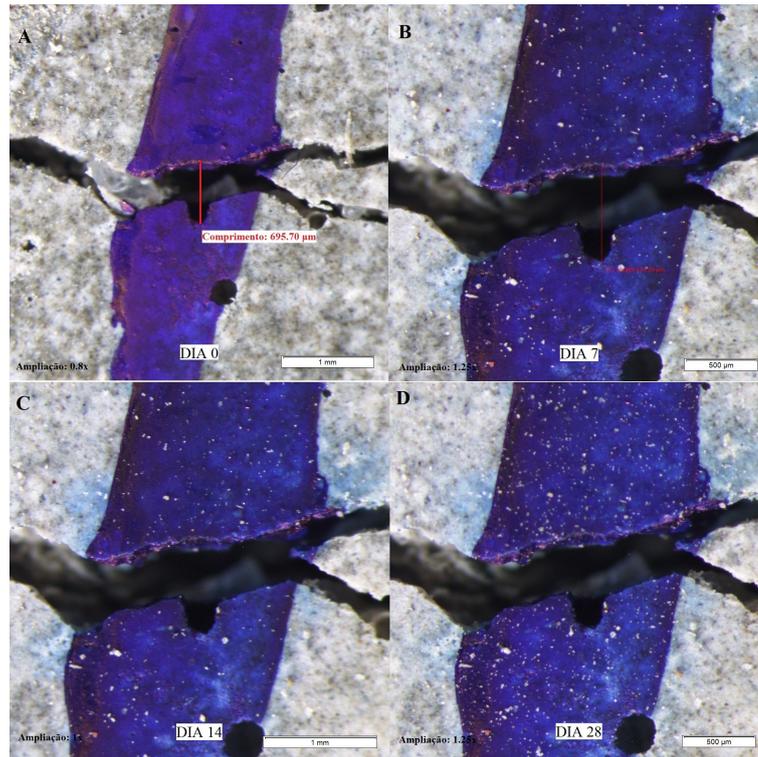
Figura 18 - Gráfico da granulometria da areia utilizada



Fonte: Autora (2019).

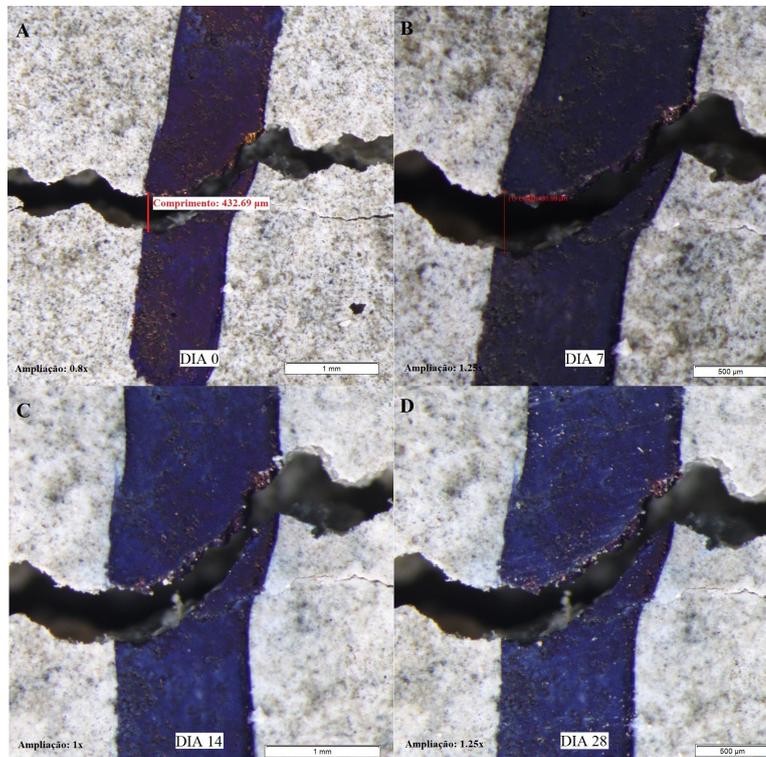
A seguir são apresentadas as fotos resultantes das microscopias realizadas, com indicação da escala, do fator de ampliação e do dia em que foi realizada a imagem. A fim de simplificação, os corpos de prova de controle serão chamados de Controle, os corpos de prova que tiveram substituição parcial da água pela mistura de bactérias serão chamados de Mistura e os corpos de prova que sofreram borrifamento da mistura de *B. subtilis* serão chamados de Borrif.

Figura 19 - Corpo de prova Controle (1)



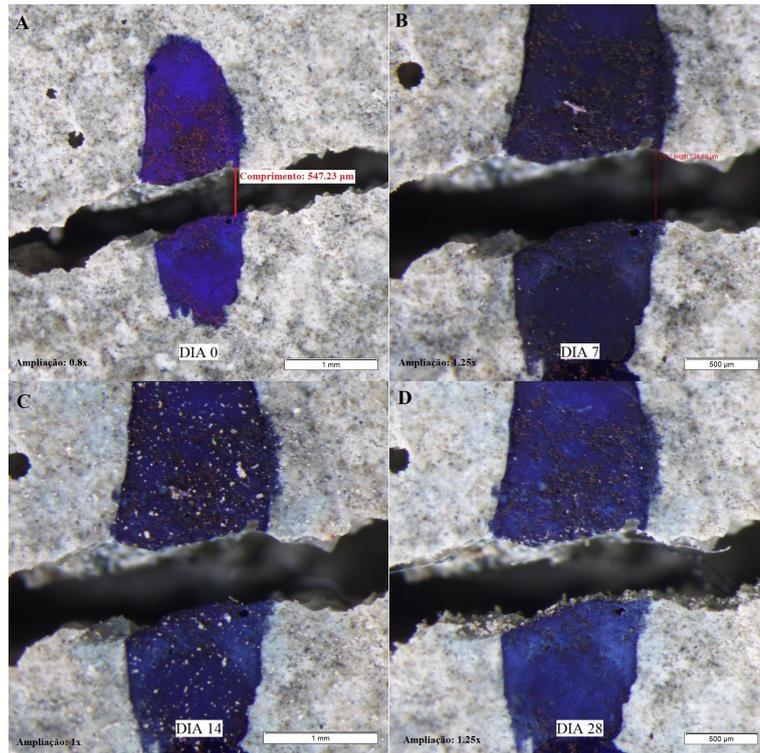
Fonte: Autora (2019).

Figura 20 - Corpo de prova Controle (2)



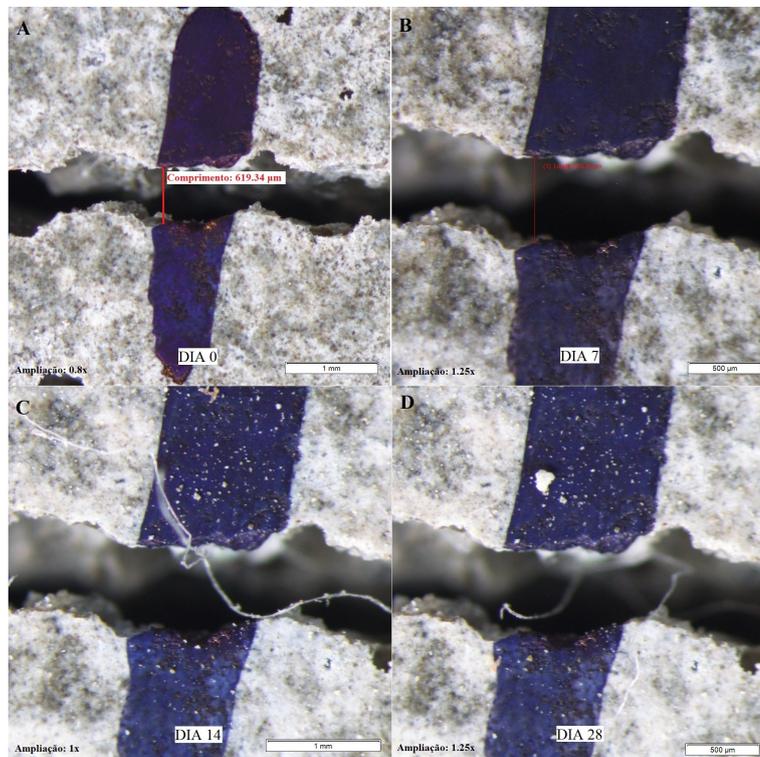
Fonte: Autora (2019).

Figura 21 - Corpo de prova Controle (3)



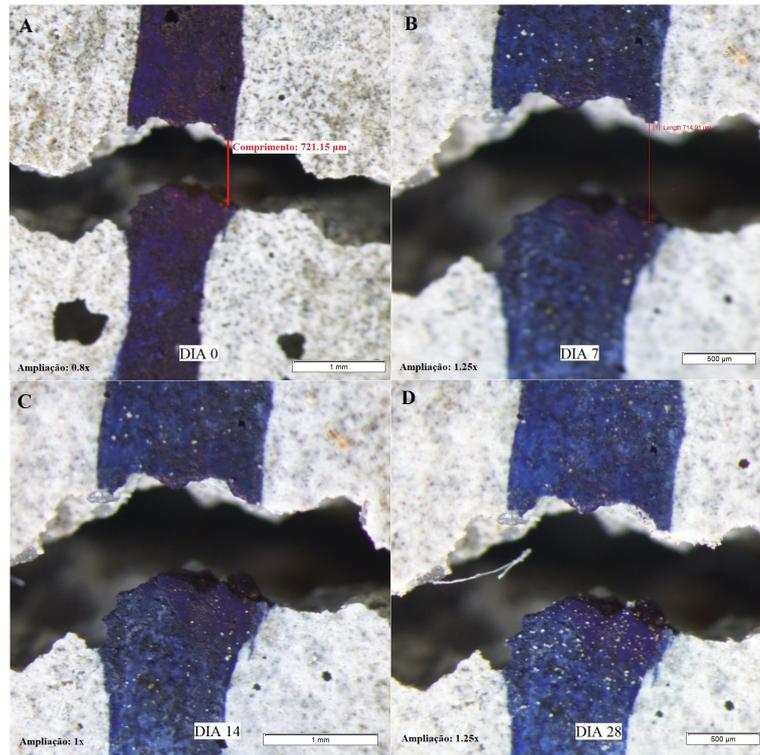
Fonte: Autora (2019).

Figura 22 - Corpo de prova Controle (4)



Fonte: Autora (2019).

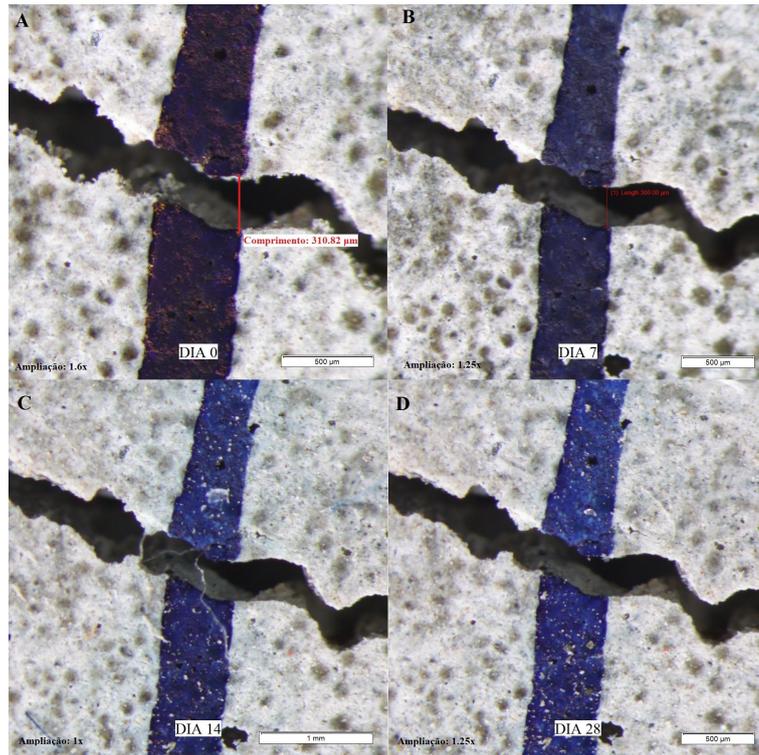
Figura 23 - Corpo de prova Controle (5)



Fonte: Autora (2019).

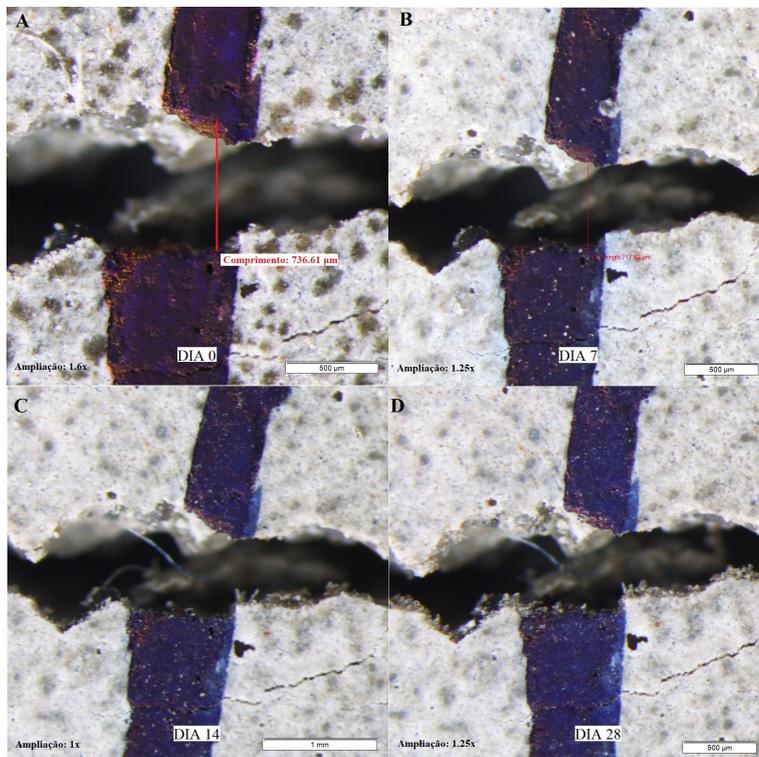
Como o esperado, os corpos de prova sem adição alguma de *B. subtilis* não tiveram fechamento nas fissuras, permanecendo idênticos em todas as microscopias.

Figura 24 - Corpo de prova Mistura (1)



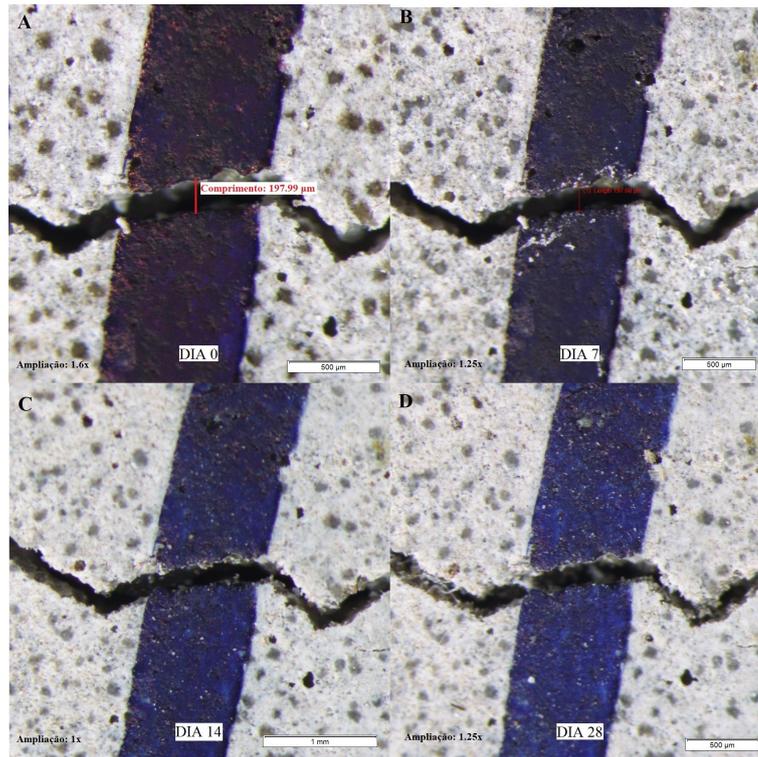
Fonte: Autora (2019).

Figura 25 - Corpo de prova Mistura (2)



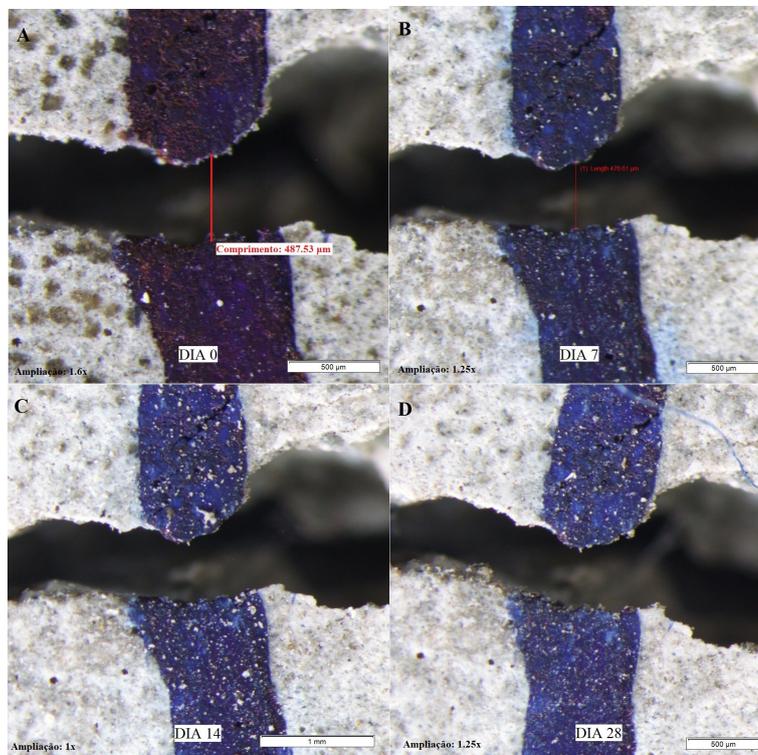
Fonte: Autora (2019).

Figura 26 - Corpo de prova Mistura (3)



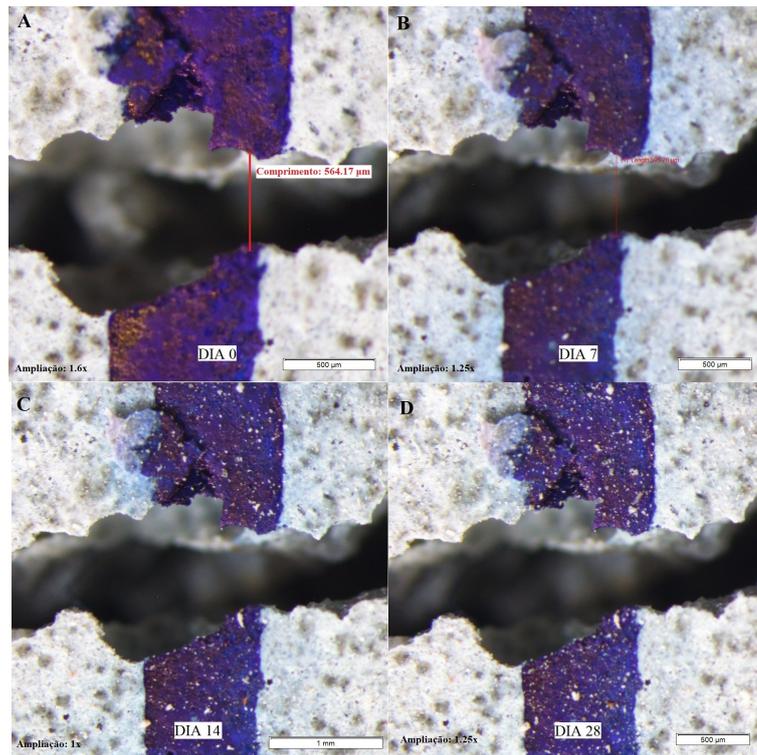
Fonte: Autora (2019).

Figura 27 - Corpo de prova Mistura (4)



Fonte: Autora (2019).

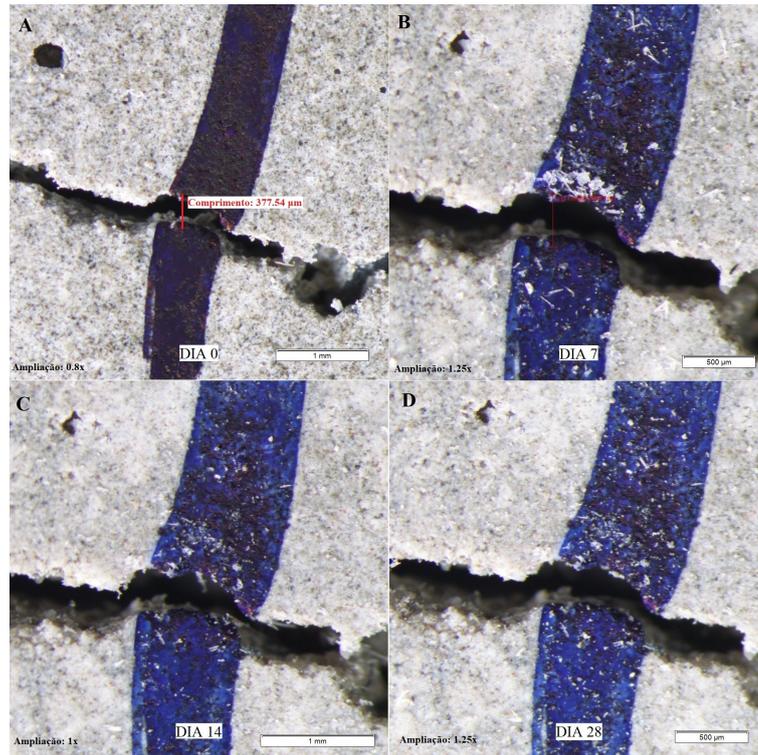
Figura 28 - Corpo de prova Mistura (5)



Fonte: Autora (2019).

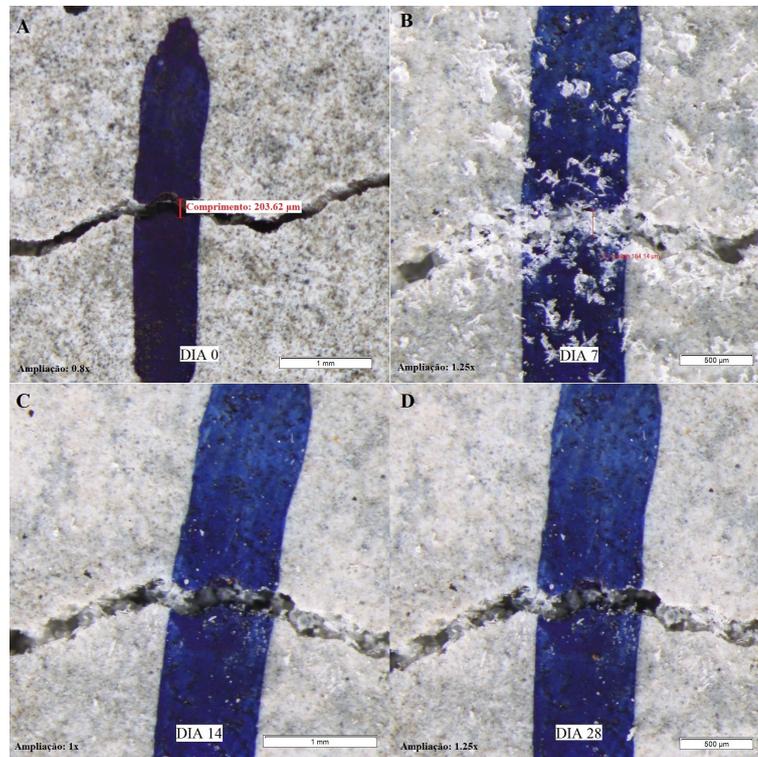
No mesmo caso que aconteceu com os CP de controle, aqueles que tiveram os microrganismos incorporados à mistura não apresentaram fechamento nas fissuras. Porém foi possível notar que além da coloração mais escura que estes tiveram, na microscopia eram visíveis pequenos pontos, que podem ser associados à presença das bactérias.

Figura 29 - Corpo de prova Borrif (1)



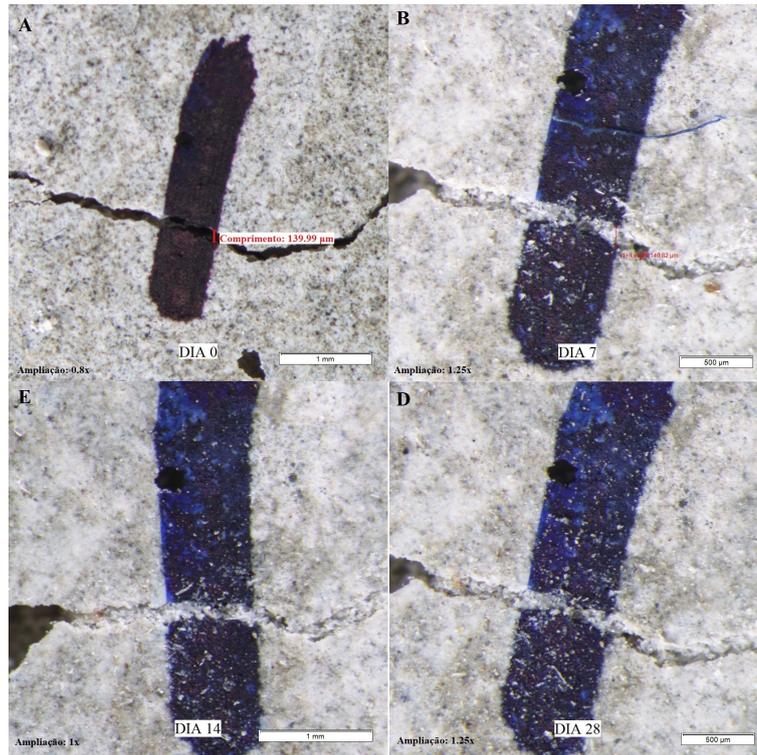
Fonte: Autora (2019).

Figura 30 - Corpo de prova Borrif (2)



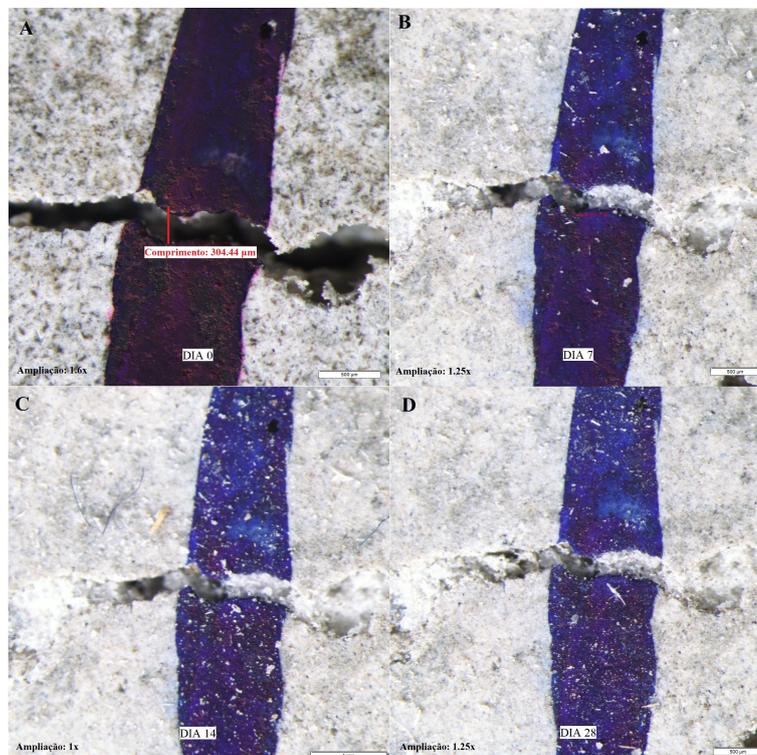
Fonte: Autora (2019).

Figura 31 - Corpo de prova Borrif (3)



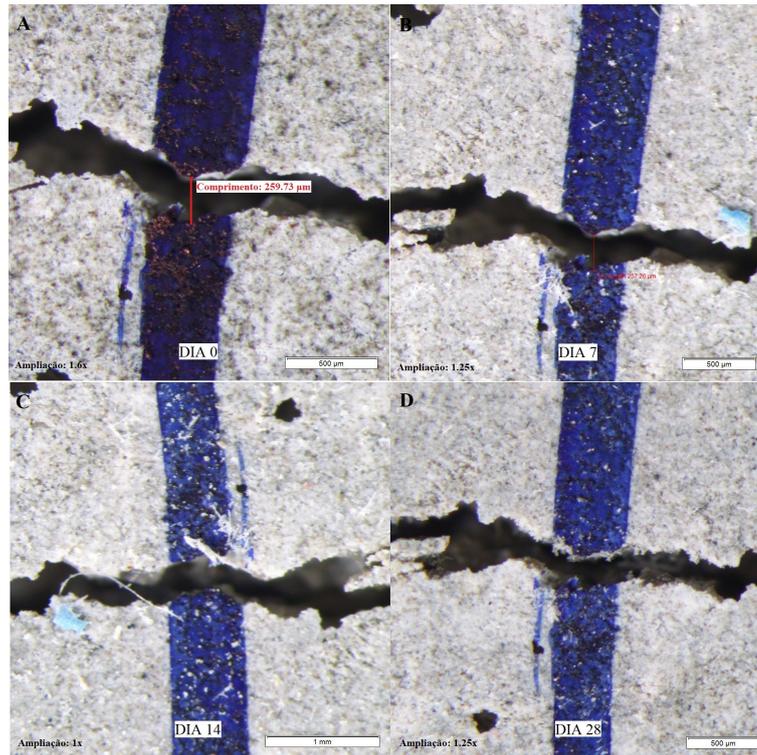
Fonte: Autora (2019).

Figura 32 - Corpo de prova Borrif (4)



Fonte: Autora (2019).

Figura 33 - Corpo de prova Borrif (5)



Fonte: Autora (2019).

Os corpos de prova que sofreram borrifamento das misturas de bactéria e nutriente, após a cura, apresentaram fechamento nas fissuras na primeira semana, o que pode ser facilmente notado em sua maioria. A Tabela 7 mostra o tamanho da abertura da fissura de cada corpo de prova de forma resumida.

Tabela 4 - Apresentação da abertura das fissuras em cada ponto medido

<b>Abertura das fissuras</b>	
<b>Corpo de prova Controle (1)</b>	695,7 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Controle (2)</b>	432,69 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Controle (3)</b>	547,23 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Controle (4)</b>	619,34 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Controle (5)</b>	721,15 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Mistura (1)</b>	310,82 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Mistura (2)</b>	736,61 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Mistura (3)</b>	197,99 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Mistura (4)</b>	487,53 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Mistura (5)</b>	564,17 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Borrif (1)</b>	377,54 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Borrif (2)</b>	203,62 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Borrif (3)</b>	139,99 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Borrif (4)</b>	304,44 $\mu\text{m}$
<b>Corpo de prova Borrif (5)</b>	259,73 $\mu\text{m}$

Fonte: Autora (2019).

Quando analisado o tamanho das fissuras juntamente com as imagens apresentadas, é possível notar que o fechamento ocorreu apenas nos corpos de prova com borrifamento de *B. subtilis* e com aberturas não maiores do que 300  $\mu\text{m}$ . Nesses casos, o fechamento ocorreu apenas na primeira semana, ou seja, quando houve de fato o borrifamento das bactérias.

## 6. CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou um bom funcionamento da técnica de borrifamento da bactéria *B. subtilis* para o reparo de fissuras em materiais cimentícios, principalmente para aberturas da ordem de 300  $\mu\text{m}$  ou menores e que não aparentavam possuir muita profundidade. Devido ao método de borrifamento por *spray* não possuir procedimentos e critérios definidos para controle, – como exemplo, a solução para precipitação do  $\text{CaCO}_3$  não ficava homogênea na mistura, decantando com muita rapidez – notou-se diferenças nos resultados finais dos corpos de prova, constatando-se que alguns apresentaram maior cristalização do que outros, esta observação pode ser justificada pela diferenças de profundidade nas fissuras (Rodriguez-Navarro et al., 2003), apesar de não ter sido realizada a medição das mesmas. Foi também observado que o surgimento dos cristais foi registrado nos primeiros dias, diminuindo o crescimento nas semanas seguintes, ou seja, notou-se grande ação de biomineralização especialmente nos primeiros 7 dias, porém sem grandes mudanças nas semanas seguintes. Considerando que o borrifamento foi realizado no período entre as duas primeiras microscopias, é possível pressupor que as bactérias ali presentes consumiram parte do cloreto de cálcio dihidratado e da ureia P.A, justificando o surgimento da maior evidência da biomineralização nos primeiros dias. Este processo pode ter sido cessado por falta dos reagentes para a formação do  $\text{CaCO}_3$  ou por conta da morte das bactérias, por falta de água ou por falta de nutrientes nos períodos subsequentes.

Quando analisados os resultados dos corpos de prova que tiveram a solução de *B. subtilis* juntamente com a solução de cloreto de cálcio dihidratado e ureia P.A incorporados à mistura, não se constatou o fechamento das fissuras, mesmo que algumas apresentassem aberturas iguais ou menores que 300  $\mu\text{m}$ . Uma hipótese seria que a *B. subtilis* tivesse mineralizado o  $\text{CaCO}_3$  nos primeiros dias, o que justificaria um possível aumento na resistência no momento da aplicação da carga para surgimento da fissura, mesmo que os cristais não tenham sido observados como foram nos corpos de prova com o *spray*, o que teria sido justificado pelo fato de que os mesmos teriam sido rompidos quando da aplicação de carga.

Além disso, percebeu-se que ao gerar as fissuras na prensa hidráulica, os corpos de prova que tiveram a inserção da *Bacillus subtilis* na mistura levaram um tempo maior para o rompimento da fissura quando comparado aos demais exemplares, porém como a

pesquisa tinha por objetivo a observação do fechamento das fissuras, não foi verificada a capacidade de carga dos corpos de prova.

Dos resultados desta pesquisa, pode-se concluir que a técnica de borrifamento seria uma solução viável, de fácil execução e que apresenta bons resultados, uma vez que há pouco investimento, além do fato que a *B. subtilis* pode viver em ambientes externos suportando até 55°C (PELCZAR; REID; CHAN, 1981). Ainda, estudos recentes têm mostrado que bactérias da espécie *B. subtilis* tem potencial para ser amigável ao meio ambiente e à saúde do homem e de outros animais (VIEIRA, 2017).

## 7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para estudos futuros sugere-se a conferência do aumento da resistência do material cimentício quando adicionado a bactéria *B. subtilis* na mistura. Juntamente com este, se vê a necessidade da realização de teste de permeabilidade, a fim de confirmar o fechamento de poros internos nos corpos de prova. Também se propõe o uso de técnicas de encapsulamento de esporos da *B. subtilis* antes de ser adicionada à mistura, para que fosse conferida a ação da bactéria dentro da mistura.

## REFERÊNCIAS

AMBROZEWICZ, P. H. L. **Materiais de construção**: normas, especificações, aplicação e ensaios de laboratório. São Paulo: Pini, 2012.

ARNOLD, D. Self-healing concrete. **Igenia**, London, v. 46, p. 39-43, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6118**: Projeto de estruturas de concreto: procedimento. Rio de Janeiro, 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7200**: Execução de revestimento de paredes e tetos de argamassas inorgânicas - Procedimento. Rio de Janeiro, 1997.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR NM 248**: Agregados - Determinação da composição granulométrica. Rio de Janeiro, 2003.

BERTOLINI, L. **Materiais de construção**: patologia, reabilitação, prevenção. São Paulo: Oficina de Textos, 2010.

EUZÉBIO, L. A.; ALVES, T. R.; FERNANDES, V. A. **Bioconcreto**: estudo exploratório de concreto com introdução de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, acetato de cálcio e ureia. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Civil) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

FIGUEIREDO, E. J. P. **Metodologia de avaliação de sistemas epóxi destinados à injeção de fissuras passivas das estruturas de concreto**. 1989. Monografia (Pós-graduação) - Curso de Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1989.

GONÇALVES, E. A. B. **Estudo das patologias e suas causas nas estruturas de concreto armado de obras de edificações**. 2015. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

GROSSI, R. M. **Análise sistemática de problemas patológicos em estruturas de concreto armado em ambiente Windows**. 1996. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Estruturas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.

JONKERS, H. M. Bacteria-based self-healing concrete. **Heron**, v. 56, n. 1-2, p. 5-16, 2011.

\_\_\_\_\_, H. M. et al. Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. **Ecological Engineering**, Delft, v. 36, n. 2, p.230-235, dez. 2008

KNOBEN, Wout. Bacteria care for concrete: could bacteria breathe new life into an ancient construction material? **Materialstoday**, Delft, v. 14, n. 9, p.444, set. 2011.

LAPA, J. S. **Patologia, recuperação e reparo das estruturas de concreto**. 2008. Monografia (Especialização) - Curso de Especialização em Construção Civil, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

MEHTA, P. K.; MONTEIRO, P. J. H. **Concreto: microestrutura, propriedades e materiais**. 3. ed. São Paulo: Ibracon, 2008.

PAULA, S. M. de. **Uma abordagem de parâmetros da biomineralização em um sistema constituído por carbonato de cálcio**. 2006. 182 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia: volume um**. São Paulo: Mcgraw-hill, 1981.

RODRIGUEZ-NAVARRO, C. et al. Conservation of ornamental stone by myxococcus xanthus-induced carbonate biomineralization. **Applied And Environmental Microbiology**, Granada, v. 69, n. 4, p.2182-2193, jan. 2003.

SCHWANTES-CEZARIO, N. et al. Crack filling in concrete by addition of Bacillus subtilis spores: preliminary study. **Revista Dyna**, Medellin, v. 205, n. 85, p.132-139, jun. 2018.

SOUZA, V. C. M. de; RIPPER, T. **Patologia recuperação e reforço de estruturas de concreto**. São Paulo: Pini, 1998.

THWAITE, J. E.; ATKINS, H. S. Bacillus: Anthrax. **Medical Microbiology**, Porton, v. 18, p. 237-244, 2012.

VEKARIYA, M. S.; PITRODA, J. Bacterial concrete: new era for construction industry. **International Journal of Engineering Trends and Technology**, Gujarat, v. 4, n. 9, p.4128-4137, set. 2013.

VIEIRA, J. A. **Biodeposição de CaCO<sub>3</sub> em materiais cimentícios: Contribuição ao estudo da biomineralização induzida por Bacillus subtilis**. 2017. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

VIJAY, K.; MURMU, M.; DEO, S. V. Bacteria based self-healing concrete: review. **Construction and Building Materials**. Raipur, v. 152, p. 1008-1014, jul. 2017.

WANG, J. Y. et al. Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores. **Cement and Concrete Research**, Ghent, v. 56, p. 139-152, nov. 2013.

ZHANG, J. et al. Immobilizing bacteria in expanded perlite for the crack self-healing in concrete. **Construction and Building Materials**, Taiyuan, v. 148, p.610-617, maio 2017.

ZHU, Yaguang et al. Properties of concrete prepared with recycled aggregates treated by bio-deposition adding oxygen release compound. **Materials**, Qingdao, v. 12, p.2147-2160, jul. 2019.