

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**LEONARDO RODRIGUES MOSCATELLI**

**JOÃO VICTOR JUSTULIN FANTON**

**AUTOCICATRIZAÇÃO DE MATERIAIS CIMENTÍCIOS POR ADIÇÃO DE  
BACTÉRIAS IMOBILIZADAS EM ALGINATO**

**LONDRINA**

**2022**

**LEONARDO RODRIGUES MOSCATELLI**

**JOÃO VICTOR JUSTULIN FANTON**

**AUTOCICATRIZAÇÃO DE MATERIAIS CIMENTÍCIOS POR ADIÇÃO DE  
BACTÉRIAS IMOBILIZADAS EM ALGINATO**

**Self-healing of cementitious materials by addition of immobilized alginate  
bacteria**

Trabalho de conclusão de curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título  
de Bacharel em Engenharia de Materiais da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Márcio Florian

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nicole Schwantes-Cezario

**LONDRINA  
2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**LEONARDO RODRIGUES MOSCATELLI**

**JOÃO VICTOR JUSTULIN FANTON**

**AUTOCICATRIZAÇÃO DE MATERIAIS CIMENTÍCIOS POR ADIÇÃO DE  
BACTÉRIAS IMOBILIZADAS EM ALGINATO**

Trabalho de conclusão de curso de Graduação  
apresentada como requisito para obtenção do título de  
Bacharel em Engenharia de Materiais da Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 05/dezembro/2022

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Pollyane Márcia de Souto  
Doutorado em Engenharia e Ciência de Materiais  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

---

Prof. Dr. Odney Carlos Brondino  
Doutorado em Engenharia e Ciência de Materiais  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

---

Prof. Dr. Márcio Florian.  
Doutorado em Engenharia Aeronáutica e Mecânica  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

**LONDRINA**

**2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Leonardo Rodrigues Moscatelli:

Primeiramente, agradeço a meus pais pelo apoio incondicional e por todas as oportunidades dadas a mim para que eu realizasse este curso.

A minha namorada Isabela pela paciência e companheirismo durante a realização deste trabalho.

Aos meus professores da graduação da universidade, em especial meu orientador Márcio Florian pela oportunidade de realizar este trabalho, pela ajuda e disponibilidade e pelos conhecimentos compartilhados.

A minha coorientadora Nicole pela paciência, ajuda e disponibilidade para nos guiar por esse assunto e sempre nos ajudar quando necessário.

Aos meus amigos e amigas de toda a graduação pela ajuda e pelo convívio, em especial aos meus amigos da república por todos os anos de convivência.

Ao Laboratório Multiusuário da UTFPR Campus Londrina pelas análises realizadas.

Ao técnico de laboratório Filipe por toda ajuda nas práticas realizadas.

A universidade UTFPR campus Londrina pelo ensino oferecido.

João Victor Justulin Fanton:

Primeiramente, agradeço aos meus pais por todo apoio e preparo proporcionado para que esse momento fosse possível.

A minha namorada Tatiane pelo apoio em todos os momentos difíceis na minha trajetória.

Ao meu orientador Márcio Florian e minha coorientadora Nicole Schwantes por me orientar durante esse trabalho.

Ao Laboratório Multiusuário da UTFPR Campus Londrina pelas análises realizadas.

## RESUMO

Os materiais cimentícios são amplamente utilizados diariamente em todo o mundo, devido às suas propriedades mecânicas, durabilidade e estabilidade oferecidas. Por estar exposto a intempéries, existem diversos fatores que contribuem para o surgimento de fissuras, como fluídos, agentes químicos, gradientes de temperatura e atuação de sobrecargas. As fissuras prejudicam a estabilidade da estrutura e afetam as propriedades de resistência à compressão e absorção de água do material. O custo para a manutenção dessas fissuras muitas vezes é elevado, e tais fissuras podem se agravar em trincas maiores, além de não ser sustentável com o meio ambiente. Neste trabalho estudou-se a adição da bactéria *Bacillus subtilis* imobilizadas em alginato de sódio incorporadas na mistura de argamassas (com um traço de 1:3:0,60, sendo uma parte de cimento para três de areia) com adição de lactato de cálcio para autocicatrização de fissuras. Não houve diferenças significativas nos resultados de absorção de água, porém nos ensaios de resistência à compressão constatou-se uma redução de aproximadamente 21,24% aos 7 dias de cura e de 22,83% aos 28 dias de cura em relação a amostra de referência, enquanto a adição apenas de lactato de cálcio resultou em uma melhora de 4,34% aos 28 dias. As composições contendo lactato de cálcio e bactéria *Bacillus subtilis* imobilizadas em alginato mostraram melhores resultados no fechamento de fissuras de até 0,4 mm durante o tempo de análise.

**Palavras-chave:** Autocicatrização. Cimento. Fissuras. *Bacillus subtilis*. Alginato.

## ABSTRACT

Cementitious materials are widely used daily all over the world, due to their mechanical properties, durability and stability offered. For being exposed to weathering, there are several factors that contribute to the appearance of cracks, such as fluids, chemical agents, temperature gradients, and the action of overloads. The cracks impair the structure's stability and affect the material's compressive strength and water absorption properties. The cost for the maintenance of these cracks is often high, and such cracks may aggravate into larger cracks, besides not being sustainable with the environment. In this study the addition of *Bacillus subtilis* bacteria immobilized in sodium alginate incorporated in the mortar mixture (with a mix of 1:3:0.60, being one part of cement for three parts of sand) with the addition of calcium lactate for self-healing of cracks was studied. There were no significant differences in the results of water absorption, but in the compressive strength tests there was a reduction of approximately 21.24% at 7 days of cure and 22.83% at 28 days of cure in relation to the reference sample, while the addition of only calcium lactate resulted in an improvement of 4.34% at 28 days. The compositions containing calcium lactate and *Bacillus subtilis* bacteria immobilized in alginate showed better results in closing cracks up to 0.4 mm during the analysis time.

**Keywords:** Self-healing. Cement. Fissures. *Bacillus subtilis*. Alginate.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação de células microbianas encapsuladas. ....	23
Figura 2: Polimorfos de cristalização para o carbonato de cálcio: Calcita, Aragonita e Vaterita, da esquerda para a direita. ....	26
Figura 3: Fluxograma das atividades realizadas. ....	27
Figura 4: Formação das cápsulas na solução de alginato. ....	29
Figura 5: Mecanismo esquemático de liberação do agente autocicatrizante pela propagação da fissura.....	29
Figura 6: Preparação dos moldes dos corpos de prova.....	32
Figura 7: Corpos de prova colocados na estufa.....	33
Figura 8 Fissuração por compressão diametral. ....	33
Figura 9: Microscópio utilizado para as imagens. ....	34
Figura 10: Corpo de prova sendo ensaiado. ....	35
Figura 11: Amostras antes do recobrimento. ....	36
Figura 12: Amostras no equipamento após o recobrimento.....	36
Figura 13: Microscópio eletrônico de varredura modelo Tescan Vega 4. ....	37
Figura 14: Resultados do ensaio de absorção de água. ....	38
Figura 15: Resultados do ensaio de compressão aos 7 e 28 dias de cura. ....	39
Figura 16: Imagens da fissura no corpo de prova de composição C1 ao longo de 7, 14 e 28 dias respectivamente. ....	41
Figura 17: Imagens da fissura no corpo de prova de composição C2 ao longo de 7, 14 e 28 dias respectivamente. ....	42
Figura 18: Imagens da fissura no corpo de prova de composição C3 ao longo de 7, 14 e 28 dias respectivamente. ....	42
Figura 19: Imagem macroscópica dos corpos de prova fissurados aos 28 dias. ...	43
Figura 20: Imagem do MEV para composição C2.....	44
Figura 21: Imagem do MEV para composição C3.....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação de abertura de acordo com a espessura.....	16
Tabela 2: Custos por quilograma das fontes de cálcio comercializadas pelo laboratório Synth.....	25
Tabela 3: Misturas e composições.....	30
Tabela 4: Proporções de cada elemento na região analisada da composição C2. .....	44
Tabela 5: Proporções de cada elemento na região analisada da composição C3. .....	45



## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Principais causas de fissuração. ....	17
Quadro 2: Descrição dos produtos e finalidade. ....	19

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	14
2.3	JUSTIFICATIVA	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	FISSURAS NA CONSTRUÇÃO	16
3.2	SOLUÇÕES DISPONÍVEIS NO MERCADO	18
3.3	USO DE BACTÉRIAS	19
3.4	BACTÉRIA <i>BACILLUS SUBTILIS</i>	20
3.5	MECANISMOS DE FECHAMENTO DE FISSURAS;	21
3.6	IMOBILIZAÇÃO DAS BACTÉRIAS	22
3.7	FONTES DE CÁLCIO E POLIMORFOS DE CRISTALIZAÇÃO DO $\text{CaCO}_3$	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1	AQUISIÇÃO DOS MATERIAIS E BACTÉRIAS	28
4.2	IMOBILIZAÇÃO DA BACTÉRIA EM ALGINATO	28
4.3	PREPARAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA	30
4.4	ENSAIO DE ABSORÇÃO DE ÁGUA	32
4.5	FISSURAÇÃO E MICROSCOPIA ÓPTICA	33
4.6	ENSAIO DE RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO	34
4.7	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
5.1	ENSAIO DE ABSORÇÃO DE ÁGUA	38
5.2	ENSAIO DE RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO	39
5.3	MICROSCOPIA ÓPTICA DAS FISSURAS	41
5.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	43
6	CONCLUSÕES	47

7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	48
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

## 1 INTRODUÇÃO

O concreto é um material de construção amplamente utilizado mundialmente, sendo produzidos aproximadamente 6 milhões de metros cúbicos anualmente, devido às suas propriedades únicas e ao elevado consumo nas construções civis. Porém, devido às suas características, é um material que apresenta uma propensão à ocorrência de fissuras. Tais fissuras podem ocorrer por diversas razões, como forças de compressão, tração, retração autógena, teor de água na mistura e condições adversas às quais esse material é exposto. (NGUYEN *et al.*, 2019).

As microfissuras podem não afetar diretamente as estruturas de concreto, entretanto podem acarretar a uma maior penetração de fluidos como sulfatos, cloretos, ácidos e outras substâncias que eventualmente levam a degradação da matriz cimentícia. Além disso, as fissuras podem evoluir para rachaduras maiores com o passar do tempo e pela falta de manutenção, podem afetar as propriedades mecânicas, a durabilidade da estrutura e sua segurança. (NGUYEN *et al.*, 2019).

Atualmente, existem produtos que visam solucionar os problemas citados, sendo eles, por exemplo, bloqueadores de poros, repelentes de água e coberturas, entretanto tais produtos podem apresentar desvantagens para quem necessita de seu uso, como um alto custo, mão de obra especializada, além de desvantagens para o próprio material, como degradação, diminuição das propriedades mecânicas com o tempo, e uma desvantagem para o meio ambiente, devido ao descarte incorreto dos mesmos, que contribuem para um aumento da poluição. (MUYNCK *et al.*, 2008).

Uma solução alternativa ao fechamento das fissuras é a utilização de bactérias precipitadoras de  $\text{CaCO}_3$  nos chamados concretos autocicatrizantes. Tais bactérias, por exemplo, a bactéria *Bacillus subtilis* precipitam o carbonato de cálcio quando estão imobilizadas em um meio com a presença de uma fonte de cálcio e quando entram em contato com o meio externo, por exemplo, a água, fecham as fissuras devido a reação de precipitação, sendo assim uma alternativa mais sustentável.

Uma opção para resolver estes problemas ocasionados por fissuras é a imobilização da bactéria em alginato, pois o mesmo preserva a integridade da bactéria no interior das cápsulas formadas. Frente a isso, este trabalho tem a intenção de desenvolver uma argamassa composta por bactérias *Bacillus subtilis* imobilizadas em alginato de sódio para a aplicação direta em materiais cimentícios e avaliar sua

resposta em relação as propriedades de absorção de água e resistência à compressão, bem como a morfologia do carbonato de cálcio precipitado.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é analisar a viabilidade da autocicatrização de fissuras em materiais cimentícios através da adição bactéria *Bacillus subtilis* imobilizada em alginato.

### 2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Analisar o efeito da incorporação das bactérias imobilizadas nas fissuras ao longo do tempo.
- Quantificar as propriedades de absorção de água e resistência à compressão em relação ao material sem as bactérias.
- Verificar a viabilidade econômica e produtiva do método.

### 2.3 JUSTIFICATIVA

As fissuras aumentam a permeabilidade do concreto, fazendo com que suas propriedades mecânicas e de durabilidade sejam prejudicadas, por esse motivo devem ser evitadas. Com o aumento da porosidade e permeabilidade, o concreto tem uma diminuição na sua resistência à compressão e um aumento na sua absorção de água, ambos fatores prejudicam essas propriedades, pois aceleram o processo de degradação do mesmo (GULIN, 2018).

Os custos para a manutenção do concreto são elevados por meio dos métodos disponíveis, do Nascimento (2015) cita os gastos para manutenção e reparos de estruturas de concreto, sendo, por exemplo, 90 bilhões de euros no caso da Alemanha em 2004, e em muitos países europeus onde o custo de reparos pode superar os gastos com construções novas.

Além disso, a indústria cimentícia representa 7% das emissões globais de dióxido de carbono, e a tendência é que com o passar dos anos, essa taxa fique maior. Tal fato justifica a utilização de bactérias para evitar o reparo e manutenção de edificações e obras de infraestrutura, principalmente para áreas e países em

crescimento, pois o ritmo de desenvolvimento de infraestrutura é elevado (MONDAL e GHOSH, 2019).

Gomes (2018) cita que um a cada cinco pontes ou viadutos precisam de reparos e reformas, e esse fato pode ser presenciado devido a acidentes que ocorrem não apenas em nosso país, mas mundialmente. O estudo do desenvolvimento de alternativas mais sustentáveis, práticas e econômicas, como o sistema proposto neste trabalho, é uma maneira de aumentar a segurança e diminuir os impactos ambientais e econômicos que são consequências da manutenção necessária na indústria da construção civil.

Com a adição de bactérias em materiais cimentícios, os custos de manutenção podem ser diminuídos em até 20%, além de ser uma alternativa mais sustentável. A imobilização das bactérias permite que as mesmas fiquem encapsuladas no alginato, mantendo as bactérias preservadas do meio externo e potencializando sua atuação ao longo do tempo.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 FISSURAS NA CONSTRUÇÃO

As fissuras, apesar de recorrentes, são um indicativo de algum problema no material, sendo consideradas manifestações patológicas características das estruturas de concreto (BIANCHINI, 2008). Além do conceito estético negativo que as fissuras podem causar, o mais preocupante é a possibilidade de causarem problemas na estrutura das armações, fragilizando assim a segurança da estrutura e do projeto, podendo em alguns casos extremos significar a demolição da peça ou o colapso da estrutura (SOUZA, RIPPER, 1998).

As fissuras no concreto são um fenômeno aceito no meio das construções, e caso se mantiverem dentro de um limite, tais fissuras não levam a problemas estruturais maiores na peça (MORS, JONKERS, 2018). A norma de concreto permite que fissuras de até 0,4 mm sejam formadas, dependendo da classe de agressividade que a peça estrutural estiver submetida (ABNT NBR 6118/2014). Dependendo de sua composição e da quantidade de aço introduzido como reforço, a formação de fissuras pode ser controlada, se mantendo dentro de um intervalo do qual não prejudique significativamente a estrutura (MORS, JONKERS, 2018).

Mesmo fissuras de pequenas dimensões com o tempo irão influenciar na durabilidade da peça e por isso devem ser tratadas. (SCHWANTES-CEZARIO, 2021)

Os defeitos adquirem nomes distintos de acordo com a espessura da abertura, medida em milímetros, podendo ser classificados como: fissura, trinca, rachadura, fenda e brecha (GATO *et al.*, 2021). Posteriormente, Zazarini (2016) os classificou conforme com a Tabela 1.

**Tabela 1: Classificação de abertura de acordo com a espessura.**

<b>Classificação</b>	<b>Espessura de abertura (milímetros)</b>
Fissura	Até 0,5
Trinca	Maior que 0,5 até 1,5
Rachadura	Maior que 1,5 até 5,0
Fenda	Maior que 5,0 até 10
Brecha	Maior que 10

**Fonte: ZAZARINI, 2016.**



Dependendo da variação nas dimensões de abertura, as fissuras podem ser classificadas como inativas ou passivas, quando não há variação da espessura ou comprimento, e como dinâmicas ou ativas, caso as mesmas se expandam, por exemplo, se houver alguma sobrecarga atuando na edificação. (GATO *et al.*, 2021)

Segundo o código EUROCODE EN 1992-1-1 que compete ao design de estruturas de concreto, o qual pertence a União Europeia por regulação, e citado em Mors e Jonkers (2018), em ambientes sem riscos de ataque por corrosão e com risco de corrosão induzida por carbonatação para construções secas ou permanentemente úmidas, a máxima largura da fissura permitida é de 0,4 mm. Já para ambientes expostos a água do mar e cloretos, a máxima largura é de 0,2 mm. Na Norma Brasileira NBR 6118, que compete às estruturas de concreto armado, é dito que as aberturas que não excedam o valor de 0,4 mm não têm importância significativa na corrosão das estruturas (ABNT, 2014).

No Quadro 1, são mostradas as principais causas para a formação de fissuras.

**Quadro 1: Principais causas de fissuração.**

Causas de fissuração	Aspectos
Recalques de fundição	Variação do teor de umidade, assentamentos diferenciais, heterogeneidade.
Atuação de sobrecargas	Concentrador de cargas e tensões.
Deformação das estruturas de concreto armado	Deformação lenta ou instantânea do concreto, fissuras de "bigode", diferenças de deformação entre os pavimentos superiores e inferiores.
Variação de temperatura	Provoca dilatações e compressões, auxiliando o aparecimento.
Variação da umidade	Retração, variação no teor de umidade, variação irreversível de materiais cerâmicos.
Ataques químicos	Hidratação retardada da cal, ação de sulfatos.
Outros casos	Sismo, incêndio, choque térmico, envelhecimento e degradação natural dos materiais.

**Fonte: Revista Téchne, 2016.**

Frente ao apresentado, as fissuras não são vantajosas e aceleram a degradação das construções. Por esse motivo, na sequência estão apresentadas as soluções disponíveis no mercado para resolver esse problema.

### 3.2 SOLUÇÕES DISPONÍVEIS NO MERCADO

No mercado, existem soluções para a manutenção de fissuras, com diversos tipos de materiais e técnicas implementadas, porém, tais ferramentas possuem um alto custo, e demandam mão de obra especializada, o que conseqüentemente aumenta o custo do projeto, além de causar um impacto ambiental em sua utilização, além de conter substâncias tóxicas que podem ser prejudiciais ao meio ambiente e a pessoa que manuseia o produto (MAGALHÃES, OLIVEIRA, 2017).

As formais mais comuns de reparação de fissuras podem ser divididas como:

**Concreto:** A reparação por concreto é indicada para grandes áreas, podendo ser feita com concreto convencional, projetado ou com adição de fibras (MAGALHÃES, OLIVEIRA, 2017).

**Argamassas:** As argamassas podem ser utilizadas em fissuras com profundidades de até 5,0 centímetros podendo ser argamassas convencionais, graute, com polímeros e epoxídicas (MAGALHÃES, OLIVEIRA, 2017).

**Selante acrílico:** conhecido popularmente como “sela trincas”, possui em sua composição copolímero acrílico disperso em uma resina (MAGALHÃES, OLIVEIRA, 2017).

Outras formas de fazer reparos em fissuras são tintas acrílicas, telas de poliéster, e adesivos (MAGALHÃES E OLIVEIRA, 2017) a empresa MC BAUCHEMIE (2022) utiliza processos de injeção de resinas, géis e espumas para o reparo de fissuras. Porém tais processos são executados por mão de obra especializada. Os materiais utilizados, equipamentos e demais informações podem ser observados no Quadro 2.

**Quadro 2: Descrição dos produtos e finalidade.**

Produto	Descrição/Material	Finalidade	Bomba	Viscosidade	Embalagens
MC-injekt 2133	Espuma de poliuretano hidro ativado para injeção e tamponamento provisório	Selamento	MC-1520	400 MPa.s	Kit de 10 litros
MC-injekt 2300 Flow	Resina de poliuretano de baixa viscosidade para injeção e selamento de trincas com movimentação	Selamento	MC-1520/1710	500 MPa.s	Kit de 30 litros
MC-injekt GL-95 TX	Gel acrílico para o selamento e impermeabilização de estruturas	Impermeabilização	MC-1710	30 MPa.s	Kit de 55,5 kg
MC-injekt 2700	Resina de poliuretano rígido para injeção estrutural	Estrutural	MC-1710	200 MPa.s	Kit de 40 litros
MC-injekt 1264 compact	Resina epóxi bicomponente para injeção e reparo estrutural de trincas	Estrutural	MC-1520	300 MPa.s	Kit com 8 latas de 1 litro

Fonte: Adaptado de MC-BAUCHEMIE (2022).

Frente ao exposto, há a necessidade de soluções mais sustentáveis para o fechamento de fissuras, as bactérias precipitadoras de  $\text{CaCO}_3$  são estudadas para esse fim.

### 3.3 USO DE BACTÉRIAS

Recentemente, o uso de bactérias para autocicatrização de fissuras em materiais cimentícios tem mostrado um grande potencial. Os resultados promissores do uso de bactérias aeróbicas não ureolíticas têm sido uma alternativa sustentável, aumentando a eficiência do fechamento das fissuras e mantendo as propriedades requeridas para tais materiais (JUSTO-REINOSO *et al.* 2021).

Com a tecnologia providenciada pela precipitação do carbonato de cálcio oferecida por essas bactérias, as estruturas de concreto que contenham tais organismos conseguem responder e se adaptar ao ambiente e as condições às quais

estão expostas. Com esse conhecimento insurgente, a variedade de materiais e estruturas mais resilientes e aplicáveis a vários tipos de demandas e situações aumenta, introduzindo métodos mais sustentáveis assim como soluções que demandam menos custos com reparos (ZHANG *et al.*, 2020).

Diferentes tipos de bactérias possuem a habilidade de realizar o processo de precipitação de carbonato de cálcio. Esse processo de precipitação conhecido como MICP (*microbial induced carbonate precipitation*), é de grande importância, e está presente em vários sistemas naturais do planeta, como solos, cavernas e sedimentos.

As bactérias do gênero *Bacillus* demonstraram grande potencial e bons resultados para a autocatrização de fissuras em materiais cimentícios. As principais bactérias desse gênero citadas por Schwantes-Cezario *et al.*, 2017 são *B. cereus*, *B. pasteurii*, *B. subtilis*, *B. sphaericus* e *Mixococcus xanthus*.

### 3.4 BACTÉRIA *BACILLUS SUBTILIS*

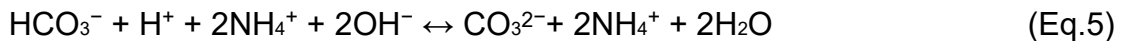
Existem evidências de uma fonte de cálcio produzida rapidamente no interior de bactérias da espécie *Bacillus subtilis*, na qual suas células são capazes de produzir biofilmes e esporos, os quais podem ser usados para reparar fissuras de espessuras até 0,4 mm. (SCHWANTES-CEZARIO, NOGUEIRA, TORALLES, 2017).

A *B. subtilis* se divide por fissão binária, um processo que constitui na duplicação do material genético, aumento do tamanho e na formação do septo de divisão no meio da célula, esse processo dá origem a duas células-filhas idênticas, trata-se de uma bactéria aeróbica que se reproduz rapidamente. Os esporos são liberados quando a bactéria está em um estado de desnutrição, pH ou temperatura não favorável ao seu crescimento. Os esporos deixam o microrganismo resistente a um calor intenso, pH altamente alcalino e auxilia com a falta de água (MEIRA, 2010; MOREIRA, 2016).

Estudos realizados por Ghosh *et al.*, (2009) Krishnapriya, Babu e Arulraj (2015) e Schwantes-Cezario, Nogueira e Toralles (2017) demonstraram que a melhor concentração dessa bactéria para aplicação em concretos autocatrizantes é de  $10^7$  células/ml, pois nessa concentração é possível obter um material com maior resistência à compressão devido à precipitação de carbonato de cálcio.

### 3.5 MECANISMOS DE FECHAMENTO DE FISSURAS;

Segundo Schwantes-Cezario (2021), a maioria dos estudos sobre precipitação de  $\text{CaCO}_3$  envolvem a hidrólise da ureia, e para ocorrer a precipitação por esse metabolismo a bactéria necessita estar em contato com uma fonte de cálcio e com ureia. No caso, a bactéria produz a enzima urease, que tem como função a catálise da hidrólise da ureia ( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ) em amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e íon carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ). Isso acontece em diversas etapas, as quais estão representadas nas Equações de 1 a 6.

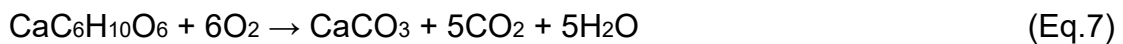


O primeiro mecanismo dessa reação é a transformação de ureia em carbamato e amônia, pela sua hidrólise, como representado na Equação 1. O carbamato de maneira espontânea, hidrolisa, sendo assim formando amônia e ácido carbônico, que podem ser observados na Equação 2. Ocorre posteriormente a formação dos íons bicarbonato, amônio e hidróxido, através destes produtos. Esse fenômeno ocorre conforme com as Equações 3 e 4. Como resultado, o pH do meio é aumentado, resultando em um desequilíbrio do íon bicarbonato, formando íons carbonato, como é visto na Equação 5. A parede da célula bacteriana possui carga negativa e, portanto, atrai os íons  $\text{Ca}^{2+}$  para a sua superfície.

Estes íons irão reagir com o carbonato formado, e posteriormente levarão à precipitação de  $\text{CaCO}_3$  na parede da célula, como mostra a Equação 6. Mesmo se a bactéria não for ureolítica, ela também pode ser capaz de produzir o biofilme, mecanismo no qual a superfície da célula pode funcionar como um lugar possível de ocorrer a nucleação.

A precipitação do carbonato de cálcio se dá quando a bactéria entra em contato com uma fonte de cálcio, pois o íon  $\text{Ca}^{2+}$  se aproxima da parede da célula (através da eletronegatividade) e assim pode ocorrer a formação do biofilme, causando uma mudança no pH. O íon  $\text{CO}_3^{2-}$ , encontrado principalmente no  $\text{CO}_2$  produzido na respiração da bactéria, reage com os íons  $\text{Ca}^{2+}$ , precipitando também o carbonato de cálcio (SCHWANTES-CEZARIO *et al.*, 2017).

A precipitação também pode ocorrer por bactérias que não realizam a hidrólise da ureia, metabolizando orgânicos em carbonato, porém não existem muitas informações sobre os mecanismos e reações que ocorrem na literatura (SCHWANTES-CEZARIO, 2021). A utilização de lactato de cálcio para a precipitação de  $\text{CaCO}_3$  também pode ser utilizada, seguindo as equações 7 e 8. Seu uso será discutido posteriormente



Os materiais cimentícios são altamente alcalinos, e essa condição implica na dificuldade de sobrevivência das bactérias neste meio, além de não possuir os nutrientes necessários para a sobrevivência da mesma (SCHWANTES-CEZARIO, 2021). Portanto, sugere-se a imobilização das bactérias para aumentar a viabilidade desses microrganismos em matrizes cimentícias.

### 3.6 IMOBILIZAÇÃO DAS BACTÉRIAS

Devido à presença de hidróxido de cálcio, o concreto apresenta um pH alcalino. Esse valor de pH pode tanto matar as bactérias quanto diminuir suas atividades metabólicas. Outras dificuldades que podem ser encontradas são altas temperaturas, causando a morte das bactérias pela degradação e a dimensão dos poros existentes nos concretos geralmente são menores que  $0,5 \mu\text{m}$ , em contrapartida, as bactérias possuem tamanho médio de  $1$  a  $3 \mu\text{m}$ , e seus esporos possuem tamanho de  $1 \mu\text{m}$  (MELLO *et al.*, 2019).

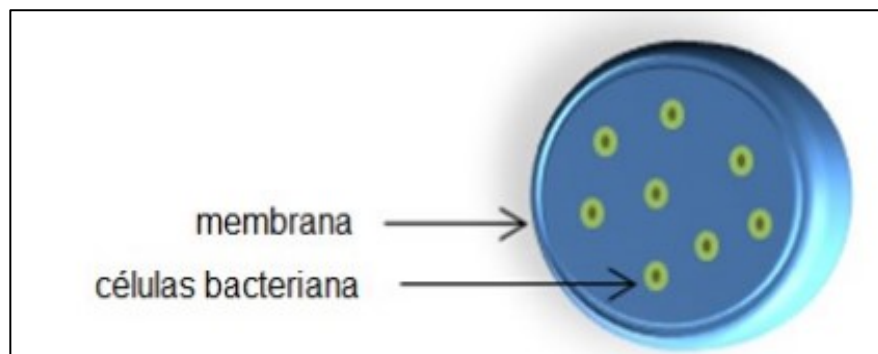
Uma das maneiras de evitar que o processo de degradação das bactérias ocorra e preservar sua habilidade metabólica de precipitar carbonato de cálcio é o

encapsulamento. Com esta técnica, o agente cicatrizante permanece protegido, atuando após o rompimento da cápsula, a partir da abertura de uma fissura, por exemplo (MELLO *et al.*, 2019). Algumas técnicas de encapsulamento foram usadas para verificar a viabilidade, por exemplo, utilizando argila expandida. Essa técnica foi eficiente para encapsulamento de bactérias, porém foi comprovado por Jonkers (2011) que após 28 dias, os testes de compressão mostraram uma redução do valor de 50% ao utilizar este procedimento.

Outras técnicas de encapsulamento também existem como a perlita expandida (ZHANG *et al.*, 2017), poliuretano, pulverização de cimento, sílica gel, microcápsulas a base de melanina e hidrogel (WANG *et al.*, 2014). Outra opção encontrada na literatura é encapsulamento em soluções de alginato de sódio (BASSANI, 2018).

Bassani (2018), cita que essa solução vem se mostrando uma alternativa viável para a integridade celular, preservando o agente cicatrizante, o qual permanece aprisionado dentro da membrana formada em torno das células bacterianas, mostrado na Figura 1.

**Figura 1: Representação de células microbianas encapsuladas.**



**Fonte: BASSANI, 2018.**

A técnica de encapsulação é utilizada em várias áreas como química, farmacêutica, têxtil e de alimentos. As cápsulas podem variar entre microcápsulas, com tamanho entre 0,2 e 5000  $\mu\text{m}$ , ou macrocápsulas, com tamanho superior a 5000  $\mu\text{m}$ , e o fator determinante para o tamanho das mesmas é o material que constitui a parede e a técnica de encapsulação (BASSANI, 2018).

O alginato é um polissacarídeo, extraído de várias espécies de algas, que é solúvel em água, possui cadeias lineares de ácido manurônico ligados por ligações glicosídicas e ácido gulurônico, sendo um dos biopolímeros mais utilizados para

imobilização de células bacterianas, pois é considerado um suporte eficiente (BASSANI, 2018).

São exemplos de materiais que conseguem encapsular células microbianas o ágar, poliacrilamida, álcool polivinílico, e o alginato. A técnica de encapsulamento consiste em gotejar a solução contendo as bactérias em uma solução aquosa de alginato de sódio, visando um banho de gelificação, para a formação das cápsulas. Este banho pode ser, por exemplo, de cloreto de cálcio, acetato de cálcio, ou o próprio lactato de cálcio. Quando o alginato de sódio entra em contato com cátions metálicos, como, por exemplo, o cálcio, ocorre o processo de gelificação, preservando a estabilidade do composto, sendo assim um bom mecanismo para a imobilização de bactérias (BASSANI, 2018).

### 3.7 FONTES DE CÁLCIO E POLIMORFOS DE CRISTALIZAÇÃO DO $\text{CaCO}_3$

Para ocorrer a precipitação de carbonato de cálcio, as bactérias necessitam estar em contato com uma fonte de cálcio, com a água, e com  $\text{CO}_2$  atmosférico. As principais fontes de cálcio utilizadas para autocatrização em materiais cimentícios são o cloreto de cálcio, nitrato de cálcio, acetato de cálcio e o lactato de cálcio (SCHWANTES-CEZARIO, 2021).

O cloreto de cálcio, como citado por Mors e Jonkers (2018) pode levar a corrosão do aço em concretos armados, por isso, nos casos em que se aplica, deve ser realizado com cautela. Os autores também citam que o lactato de cálcio traz resultados benéficos para os materiais cimentícios, enquanto o acetato de cálcio pode afetar a resistência à compressão dos mesmos. Tais elementos serão usados apenas para promover o banho de gelificação, e não como fontes de cálcio.

O uso de lactato de cálcio tem como vantagem apenas liberar água e  $\text{CO}_2$  com o  $\text{CaCO}_3$  precipitado, sendo assim o  $\text{CO}_2$  pode ser utilizado na precipitação em contato com o hidróxido de cálcio (SCHWANTES-CEZARIO, 2021), como mostrado anteriormente. Além disso, os compostos orgânicos a base de lactato, como o lactato de cálcio, são fontes de carbono adequadas para as bactérias, sendo compostos compatíveis com o concreto, e diferente das outras fontes citadas, não prejudicam a resistência do mesmo (MORS, JONKERS, 2018).

Sendo um sal derivado do ácido láctico, o lactato tem propriedades como agente espessante e estabilizante. Na presença de alginato, que atua como agente gelificante,



o lactato fornece íons  $\text{Ca}^{+2}$ , promovendo a gelificação por reticulação (REIS, 2019), sendo, portanto, uma fonte de cálcio adequada para este trabalho. Na Tabela 2 é possível verificar os custos por quilograma, orçados pelo mesmo fornecedor, das fontes de cálcio citadas no ano de 2022.

**Tabela 2: Custos por quilograma das fontes de cálcio comercializadas pelo laboratório Synth.**

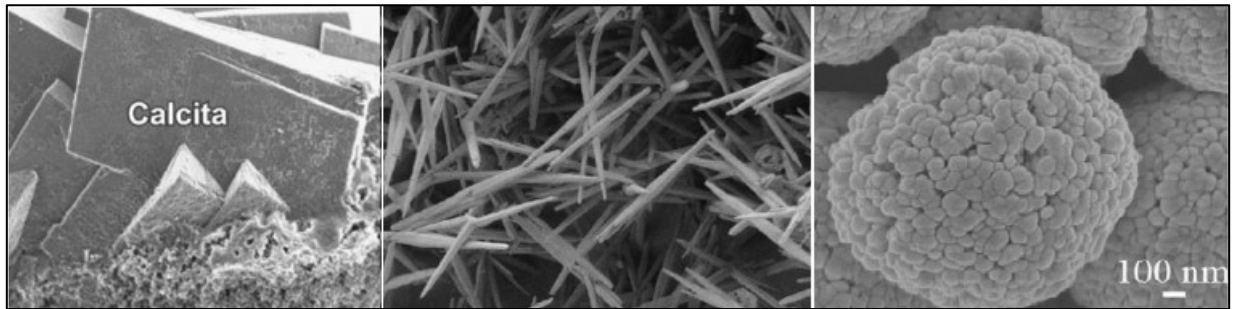
Material	Custo (R\$/kg)
Cloreto de cálcio	86,20
Nitrato de cálcio	117,88
Lactato de cálcio	121,36
Acetato de cálcio	161,48

**Fonte: Autoria própria.**

Analisando os custos, justifica-se o uso do lactato de cálcio, visto que como citado acima, possui os melhores resultados na literatura para ser utilizado como fonte de cálcio para materiais cimentícios, e sua faixa de preço está bem próxima do nitrato de cálcio e mais barata que o acetato de cálcio, se distanciando apenas do cloreto, que, como já discutido, é a pior das fontes devido a seus efeitos negativos provocados no cimento.

De acordo com Francisco e Teixeira (2019), o carbonato de cálcio possui diferentes polimorfos para sua cristalização, sendo eles a calcita, forma de cristalização mais comum, a aragonita, que seria a forma de cristalização em formato de agulhas, e a vaterita. SCHWANTES-CEZÁRIO *et al.* (2017) cita que a morfologia encontrada para o carbonato de cálcio precipitado pela bactéria *B. subtilis* é a vaterita. A Figura 2 exibe os polimorfos de cristalização para o carbonato de cálcio.

**Figura 2: Polimorfos de cristalização para o carbonato de cálcio: Calcita, Aragonita e Vaterita, da esquerda para a direita.**

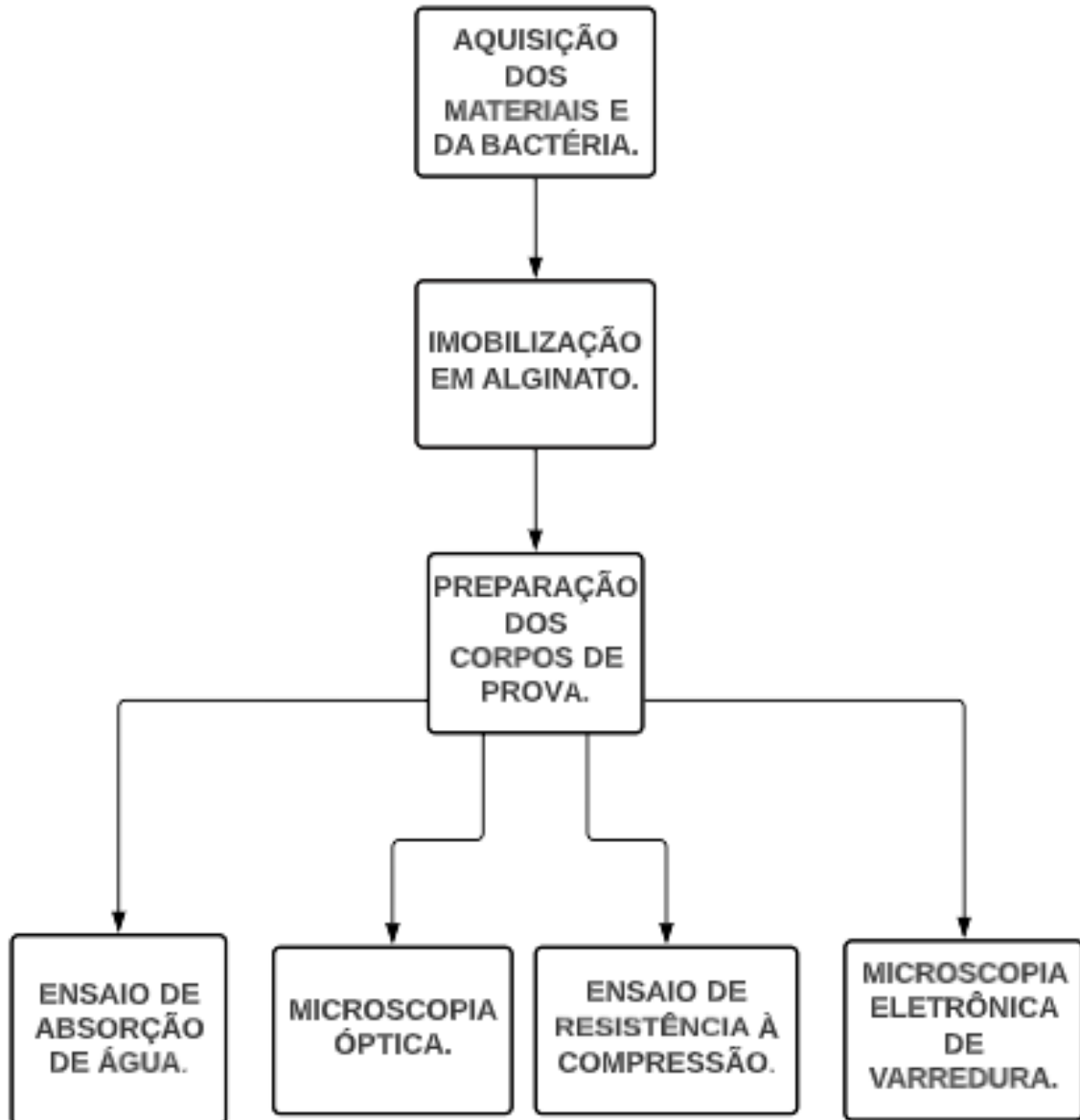


**Fonte: Adaptado de Bartley, 2020.**

#### 4 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada no estudo é ilustrada na Figura 3. Cada etapa será discutida na sequência.

Figura 3: Fluxograma das atividades realizadas.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.1 AQUISIÇÃO DOS MATERIAIS E BACTÉRIAS

A bactéria *Bacillus subtilis* foi fornecida pela coorientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nicole Schwantes-Cezario, do Departamento de Construção Civil, da Universidade Estadual de Londrina. A concentração utilizada para o estudo foi de  $10^7$  células/ml.

O cimento utilizado foi o Cimento Portland de alta resistência inicial, CP V - ARI, pois é o cimento mais puro, apresentando um grande teor de CaO, do qual pode ser utilizado pela bactéria no processo de precipitação de carbonato de cálcio (SCHWANTES-CEZARIO, 2021).

A areia que será utilizada é a Areia Natural Quartzosa de granulometria média. Outros materiais utilizados para auxiliar o desenvolvimento do projeto foram: espátulas, béquer, bacia, bandeja, soquete, desmoldante, pincel, baldes, suporte de madeira, misturador magnético e canos de PVC.

O alginato de sódio foi adquirido do fornecedor Adria Laboratórios, enquanto o lactato de cálcio foi adquirido do fornecedor GastronomyLab.

#### 4.2 IMOBILIZAÇÃO DA BACTÉRIA EM ALGINATO

A metodologia para a imobilização das bactérias em alginato foi adaptada de WANG *et al.*, (2015) e de BASSANI (2018). O método foi adaptado devido às restrições laboratoriais existentes para o estudo ser realizado.

Primeiramente, foi preparado a solução de alginato de sódio, dissolvendo 7,8 gramas do mesmo em 50 ml de água destilada, o que representava 0,5% em peso em relação a massa de cimento. Essa solução foi deixada por 5 horas no agitador magnético para total dissolução do alginato. Também foi preparada uma solução contendo 30 ml de água destilada e 2 gramas de lactato de cálcio, para ser usada com o meio bacteriano no processo de gotejamento, pois como discutido anteriormente, o lactato de cálcio fará a gelificação em contato com o alginato. Essa solução também foi deixada por 5 horas no agitador magnético, para total dissolução.

Após, preparou-se uma mistura com 50 ml do meio *Luria Bertani* contendo as bactérias com a solução de lactato de cálcio. Em seguida, essa solução foi gotejada sobre a solução de alginato de sódio, cerca de 50 vezes, para garantir a total encapsulação das bactérias. As cápsulas foram transferidas para a mistura da

argamassa com o auxílio de uma pequena espátula. A Figura 4 ilustra a formação das cápsulas, após o gotejamento da solução de bactérias na solução de alginato. As setas e círculos mostram as cápsulas formadas.

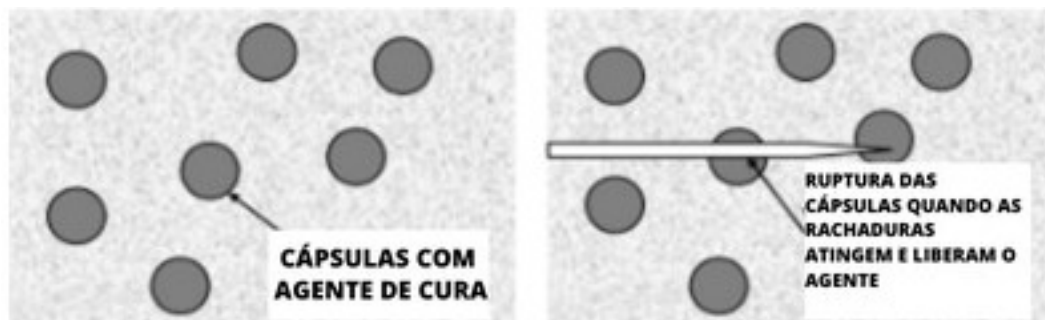
**Figura 4: Formação das cápsulas na solução de alginato.**



Fonte: Autoria própria

A Figura 5 ilustra o mecanismo de liberação dos agentes cicatrizantes. Conforme as fissuras vão avançando na estrutura do material, as mesmas rompem as cápsulas, e assim ocorre a liberação do agente cicatrizante.

**Figura 5: Mecanismo esquemático de liberação do agente autocicatrizante pela propagação da fissura.**



Fonte: Adaptado SOURADEEP E KUA, 2016.

### 4.3 PREPARAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

As amostras foram feitas na composição de argamassa, com 3 composições diferentes. A Tabela 3 exibe as nomenclaturas atribuídas para cada mistura, bem como a composição das mesmas.

**Tabela 3: Misturas e composições.**

Mistura	Composição
1) Referência - C1	Cimento, areia, água
2) Controle sem bactéria - C2	Cimento, areia, água, lactato
3) Bactérias imobilizadas em alginato - C3	Cimento, areia, água, lactato, alginato e bactérias

**Fonte: Autoria própria.**

O traço adotado na argamassa foi de 1:3:0,60, sendo uma parte de cimento para três de areia, e uma relação água/cimento de 0,60, pois, no dia em que o experimento foi realizado, constatou-se a umidade presente na areia. A relação de água/cimento de 0,60, porém, leva em consideração apenas a água que foi adicionada manualmente a mistura de cimento e areia. Contudo, devido a umidade em que a areia se encontrava, a relação real de água/cimento foi maior.

Primeiramente, os moldes foram cortados e lixados com uma altura de 10 centímetros, devido às normas adotadas para o ensaio de compressão.

Posteriormente, os cálculos de volume foram feitos, chegando-se no resultado de 1,56 quilos de cimento para 4,68 quilos de areia e 0,936 ml de água. Para a primeira mistura, C1, pesou-se a areia e o cimento, realizou a mistura e adicionou água lentamente, misturando até total homogeneização. Nos corpos de prova, antes da aplicação de cada uma das argamassas foi aplicado desmoldante para facilitar a retirada do corpo de prova. Após esta etapa, a argamassa foi adicionada nos corpos de prova, em 4 camadas iguais. Foram realizados 30 golpes em cada camada, após a

aplicação da argamassa, para assentar de maneira igual as camadas dentro do molde, porém, devido a distribuição de tamanho de partícula heterogênea, entre o cimento e areia, a vibração causada pelos golpes pode ter levado a areia para a parte superior dos corpos de prova, pelo fato da mesma ser mais grossa que o cimento.

O processo foi repetido para as composições C2 e C3. Para a composição C2 foi adicionado 3% em massa de lactato de cálcio, em relação ao cimento, na mistura (SCHWANTES-CEZARIO, 2021). Para a composição C3, além de se adicionar 3% em massa de lactato de cálcio, foi adicionado 60 ml da solução com as cápsulas de alginato com as bactérias em solução de lactato de cálcio. Esse valor foi descontado dos 0,936 ml de água. As cápsulas, em um primeiro momento, foram adicionadas utilizando uma espátula após a homogeneização da areia, o cimento e a água.

Devido à dificuldade de realizar essa transferência, a solução, que continha 60 ml de alginato contendo as bactérias, foi adicionada totalmente na mistura. A solução continha em média 50 cápsulas, sendo o número de vezes que foi gotejado as bactérias na mesma.

Após 24 horas, os corpos de prova foram desmoldados e deixados em baldes com água e hidróxido de cálcio, onde permaneceram desta maneira até serem usados nos ensaios seguintes. A Figura 6 exibe os vinte e sete moldes após serem cortados, lixados e fixados no suporte. Foram usados 9 corpos de prova para o ensaio de absorção de água, e 18 corpos de prova para os ensaios de resistência à compressão. Os corpos de prova utilizados para o ensaio de microscopia óptica eram de tamanho reduzido, com 4 centímetros de altura, pois era necessário que os mesmos fossem encaixados no suporte existente no microscópio para as imagens serem obtidas.

**Figura 6: Preparação dos moldes dos corpos de prova.**



**Fonte: Autoria própria**

#### 4.4 ENSAIO DE ABSORÇÃO DE ÁGUA

O ensaio de absorção de água foi realizado adaptando a norma ABNT NBR 9778: Argamassa e concreto endurecidos - Determinação da absorção de água, índice de vazios e massa específica (ABNT, 2006) e a metodologia de GULIN (2018).

Após 21 dias, três amostras de cada composição, totalizando nove corpos de prova, foram colocados em uma estufa de esterilização, modelo 320 - SE, da empresa FANEM, disponível no laboratório B002, como mostrado na Figura 9. As amostras permaneceram por 72 horas à 105°C, para serem posteriormente pesadas.

Posteriormente as massas foram determinadas, e então, as amostras foram adicionadas em uma bandeja com água até 1/3 das mesmas. Após 4 horas, até 2/3 das mesmas e após outras 4 horas, foram submersas em água e assim permaneceram por 72 horas. Após este processo suas massas foram novamente determinadas.

O corpo saturado foi chamado de  $M_{sat}$ , e o corpo seco de  $M_s$ , e através da Equação 9, a absorção de água foi calculada.

$$((M_{sat} - M_s)/M_s) * 100 \quad (\text{Eq.9})$$



**Figura 7: Corpos de prova colocados na estufa.**



**Fonte: Autoria própria.**

#### 4.5 FISSURAÇÃO E MICROSCOPIA ÓPTICA

Para causar a fissura nos corpos de prova foi realizado o ensaio de compressão diametral na Máquina Universal de Ensaios WDW-100E da empresa Shijin, disponível no Laboratório B006, com carga de 0,5 KN até a abertura de uma pequena fissura, que foi analisada posteriormente. A Figura 8 mostra o processo realizado para causar a fissura no corpo de prova, através da compressão diametral.

**Figura 8 Fissuração por compressão diametral.**



**Fonte: Autoria própria.**

As imagens dos corpos de prova fissurados foram obtidas pelo microscópio óptico com câmera Axio Scope.A1 acoplada, modelo AxioCam ERc5s, da empresa ZEISS, disponível no laboratório B004. As fotos foram tiradas com 7, 14 e 28 dias para cada composição, aumentando-se a imagem em 50 vezes. Na Figura 9, pode-se observar o microscópio utilizado para realizar as imagens.

**Figura 9: Microscópio utilizado para as imagens.**



**Fonte: Autoria própria.**

#### 4.6 ENSAIO DE RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO

O ensaio de resistência à compressão foi realizado adaptando-se a metodologia conforme a norma NBR 7215: Cimento Portland - Determinação de resistência à compressão. Os corpos de prova foram rompidos nas idades 7 e 28 dias no equipamento universal de ensaios universal WDW-100E da empresa Shijin disponível no Laboratório B006. A aplicação da carga foi realizada na velocidade 0,5 kN/s. Foram ensaiados 3 corpos de prova para cada composição nas idades de 7 e 28 dias, totalizando 18 corpos de prova. A Figura 10 exibe o corpo de prova sendo ensaiado.

**Figura 10: Corpo de prova sendo ensaiado.**



**Fonte: Autoria própria.**

#### 4.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As imagens obtidas da microestrutura foram realizadas para avaliar a morfologia do carbonato de cálcio precipitado, assim como um ensaio de EDS também foi realizado para analisar a composição química do material precipitado. Esta análise foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica da UTFPR Londrina, no Microscópio Eletrônico de Varredura modelo Tescan Vega 4.

As amostras foram retiradas do ensaio de resistência à compressão ao sétimo dia de cura para serem analisadas. Foi necessário mantê-las em água saturada de óxido de cálcio para posteriormente levá-las ao laboratório e fazer o recobrimento das amostras com ouro. As amostras continham cerca de 1 centímetro de largura. A Figura 11 apresenta as amostras antes do recobrimento, necessário para realizar os ensaios de Microscopia Eletrônica de Varredura.

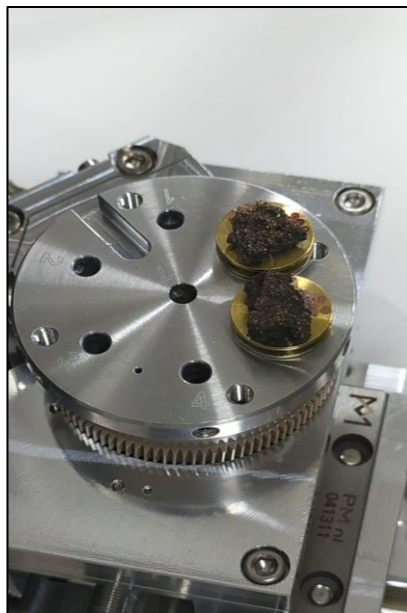
**Figura 11: Amostras antes do recobrimento.**



**Fonte: Autoria própria.**

Na Figura 12, é possível observar as amostras no equipamento, após o recobrimento ser feito.

**Figura 12: Amostras no equipamento após o recobrimento.**



**Fonte: Autoria própria.**

A Figura 13 mostra o equipamento utilizado para obtenção das imagens e análise de composição química.

**Figura 13: Microscópio eletrônico de varredura modelo Tescan Vega 4.**



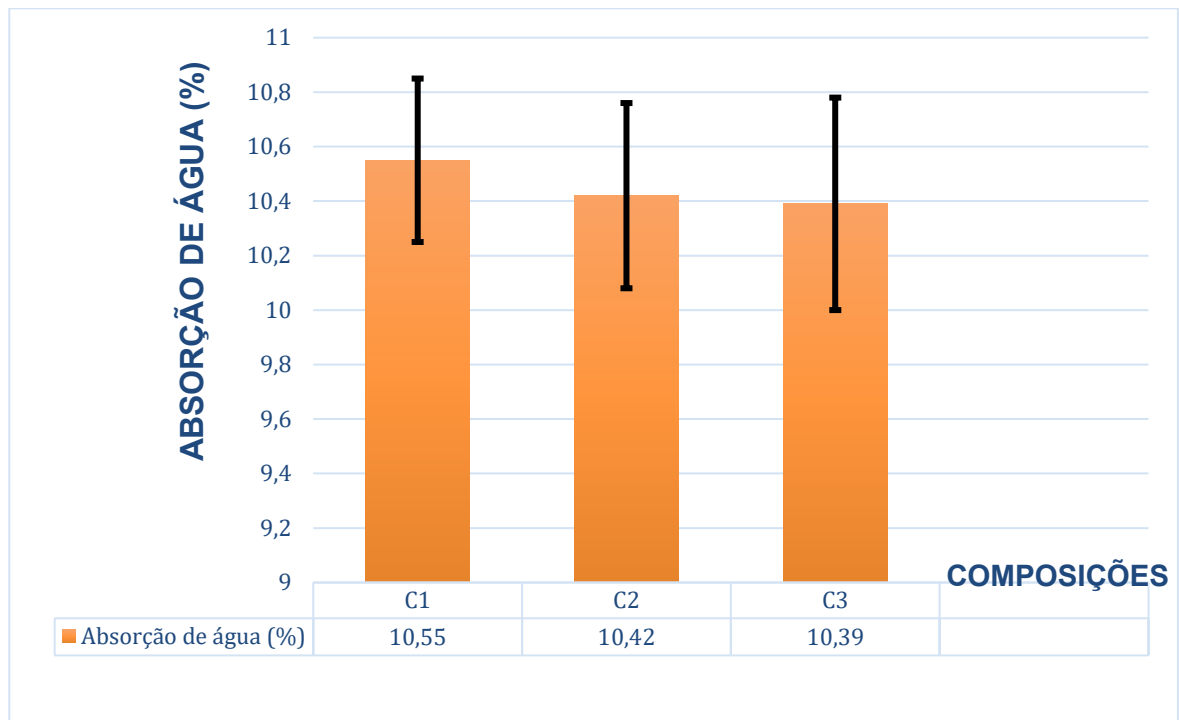
**Fonte: Autoria própria.**

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 ENSAIO DE ABSORÇÃO DE ÁGUA

A Figura 14 exibe os resultados médios para os 9 corpos de prova, obtidos a partir do ensaio de absorção de água, após 21 dias, plotados em um gráfico para as três composições, assim como o desvio padrão.

**Figura 14: Resultados do ensaio de absorção de água.**



Fonte: Autoria própria.

A absorção de água é um indicador da porosidade existente nas argamassas. Com a adição de lactato de cálcio, tanto isolado, quanto junto das bactérias, esperava-se uma diminuição nos resultados de absorção de água. O próprio lactato de cálcio, quando adicionado isoladamente, pode auxiliar na precipitação de carbonato de cálcio, assim como na adição de bactérias (SCHWANTES-CEZARIO, 2021)

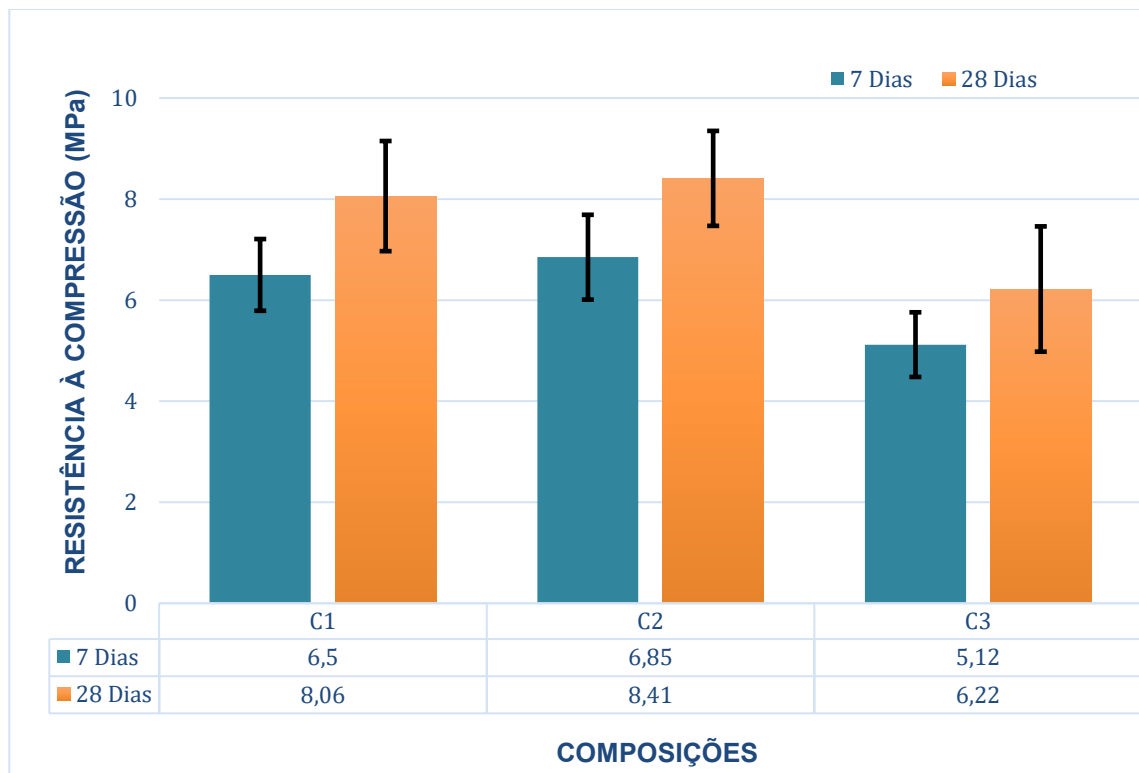
Os resultados deste trabalho variaram em torno de 10,4% e 10,6%, semelhantes aos resultados de Gulin (2019), que encontrou valores em torno de 10%. Murugappan e Muthadhi (2022) encontraram resultados em torno de 4%, porém usaram o alginato de sódio em forma de um hidrogel, confeccionado de forma diferente.

A leve diminuição nos valores de absorção de água podem ser um indicativo da precipitação de carbonato de cálcio, por parte das bactérias e do lactato de cálcio. Como comenta Chandra *et al.* a absorção de água diminui devido a uma película criada entre os íons de cálcio e alginato. De acordo com Heidari (2015), o concreto com adição de alginato possui uma menor capacidade de absorção de água, devido à diminuição em cerca de 61% no espaço dos poros de sua estrutura.

## 5.2 ENSAIO DE RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO

Os dados dos ensaios de compressão aos 7 e 28 dias de cura estão expostos na Figura 15. Foram calculados as médias e os desvios padrão para os 3 corpos de prova de cada composição dos períodos informados.

**Figura 15: Resultados do ensaio de compressão aos 7 e 28 dias de cura.**



Fonte: Autoria própria.

Wang *et al.* (2015) encontraram resultados em torno de 40 MPa, assim como Soysal *et al* (2020). Murugappan e Muthadhi (2022) encontraram resultados entre 10

e 30 MPa, dependendo da quantidade de alginato adicionado. Os resultados médios deste estudo variaram entre 5 e 8,5 MPa, devido a fatores que serão discutidos.

Wang *et al.* (2015) comenta que quanto maior for o aumento da concentração de alginato de sódio em argamassas, mais negativo será o efeito na propriedade mecânica de resistência à compressão, podendo variar de 15 a 30%, sendo encontrado em seu estudo valores de 23,4%, em relação à amostra de referência.

Soysal *et al.* (2020) citam que como esperado, os corpos de prova contendo alginato e bactérias sofreram reduções nos valores de ensaio de resistência à compressão, visto que as interações formadas entre o alginato e o cimento são os pontos mais fracos da estrutura, e não contribuem para a resistência à compressão.

Murugappan e Muthadhi (2022) comentam que a propriedade compressiva do próprio alginato diminui, caso o mesmo expanda, prejudicando a matriz. Assim como os autores comentados, os resultados de Heidari (2015) também corrobora com os de Wang *et al.* (2015).

Os resultados deste estudo mostram que os melhores resultados foram obtidos pela composição C2, que obteve uma pequena melhora de 4,34% em relação à amostra de referência C1, porém, considerando o desvio, não há variação entre elas. A amostra C2 continha apenas lactato de cálcio a mais em sua composição, e possivelmente tais resultados puderam ser obtidos a partir da precipitação de carbonato de cálcio e conseqüente fechamento dos poros. A composição C3, que continha tanto lactato de cálcio, quanto o alginato de sódio com as bactérias obteve resultados de resistência à compressão com redução de 21,24% aos 7 dias de cura e de 22,83% aos 28 dias de cura, em relação a composição de referência C1 no mesmo período de tempo.

A redução nos resultados foi próxima a encontrada nos estudos citados, limitando o uso desse tipo de argamassa para certas aplicações, nas quais altos valores de resistência à compressão são importantes. Porém, como cita Wang *et al.* (2012), certas aplicações que não exigem valores tão altos na resistência à compressão, como conexões subterrâneas, são um bom exemplo para a aplicação deste tipo de argamassa.

Os resultados do ensaio de resistência à compressão eram esperados de ficar entre os valores obtidos, em torno de 20% de redução em relação à composição de referência, devido às adaptações feitas, tanto na confecção dos corpos de prova, quanto na imobilização das bactérias e nos testes realizados. O trabalho de Gulin



(2019), realizado nas mesmas condições, cita alguns dos fatores responsáveis, como, por exemplo, a superfície dos corpos de prova, que, mesmo sendo nivelados, apresentam superfície irregular, o que não permite uma aplicação de carga regular, sendo um fator que influencia diretamente nos resultados de resistência à compressão.

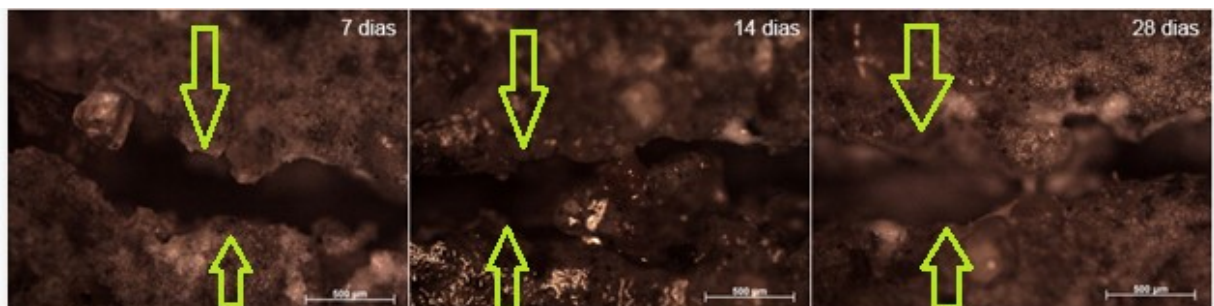
Outros fatores citados por Gulin (2018) e também encontrados neste trabalho foram a moldagem dos corpos de prova, feitas de forma manual. Outro fator foi a adaptação dos moldes, os quais foram confeccionados a partir de canos de PVC. A norma utilizada para este trabalho, NBR 7215: Cimento Portland – Determinação da resistência à compressão (ABNT, 1997), especifica que os moldes devem ser de metal não corrosível. Os mesmos não foram utilizados devido ao alto custo e indisponibilidade.

A aplicação de desmoldante para a retirada dos corpos de prova dos moldes se mostrou ineficiente e, portanto, os mesmos foram retirados cortando o cano de PVC com o auxílio de uma serra, o que causou pequenas danificações nos corpos de prova, fatores que também podem ter contribuído para uma diminuição dos valores obtidos.

### 5.3 MICROSCOPIA ÓPTICA DAS FISSURAS

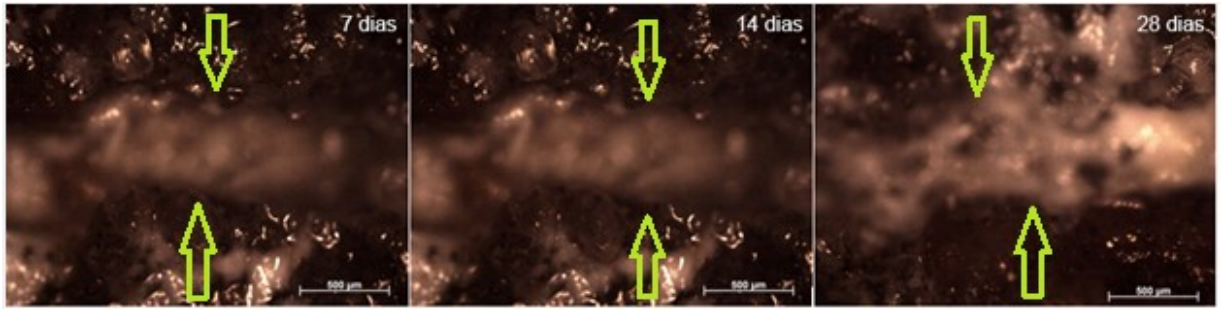
As Figuras 16 a 18 mostram o resultado das microscopias ópticas realizadas aos 7, 14 e 28 dias após a fissuração dos corpos de prova. Buscou-se analisar a mesma posição nos corpos de prova em relação a localização das trincas.

**Figura 16: Imagens da fissura no corpo de prova de composição C1 ao longo de 7, 14 e 28 dias respectivamente.**



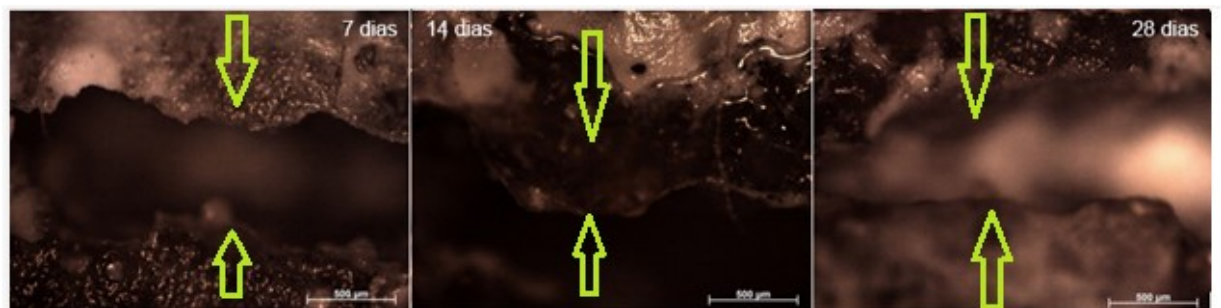
Fonte: Autoria própria.

**Figura 17: Imagens da fissura no corpo de prova de composição C2 ao longo de 7, 14 e 28 dias respectivamente.**



Fonte: Autoria própria.

**Figura 18: Imagens da fissura no corpo de prova de composição C3 ao longo de 7, 14 e 28 dias respectivamente.**



Fonte: Autoria própria.

Esperava-se uma leve evolução em relação ao fechamento da fissura por precipitação de carbonato de cálcio por parte dos corpos de prova das composições C2 e C3, visto que os mesmos continham lactato de cálcio, e no caso da composição de C3, além dele, bactérias *B. subtilis*.

Frente às imagens obtidas, observa-se que, na composição C1 não houve melhora aparente nas microscopias obtidas ao longo dos dias, porém, foi observado uma evolução quanto às amostras C2 e C3, principalmente aos 28 dias. De acordo com as Figuras 18, 19 e 20, percebe-se que a composição C2 apresentou melhores resultados em relação aos outras, após 28 dias, seguido da composição C3, que apesar de não obter um resultado esperado, que seria o fechamento total da fissura, pode-se perceber um início de fechamento de fissura em sua maior profundidade, o que não é observado na composição C1.

Um motivo pelo qual a composição C3 não obteve resultados tão promissores quanto à composição C2 pode ter sido a pequena quantidade de solução contendo as bactérias utilizadas para a confecção dessa composição.

A Figura 19 mostra uma imagem macroscópica dos corpos de prova fissurados, onde pode-se observar a melhora evidente na fissura após 28 dias na composição C2.

**Figura 19: Imagem macroscópica dos corpos de prova fissurados aos 28 dias.**

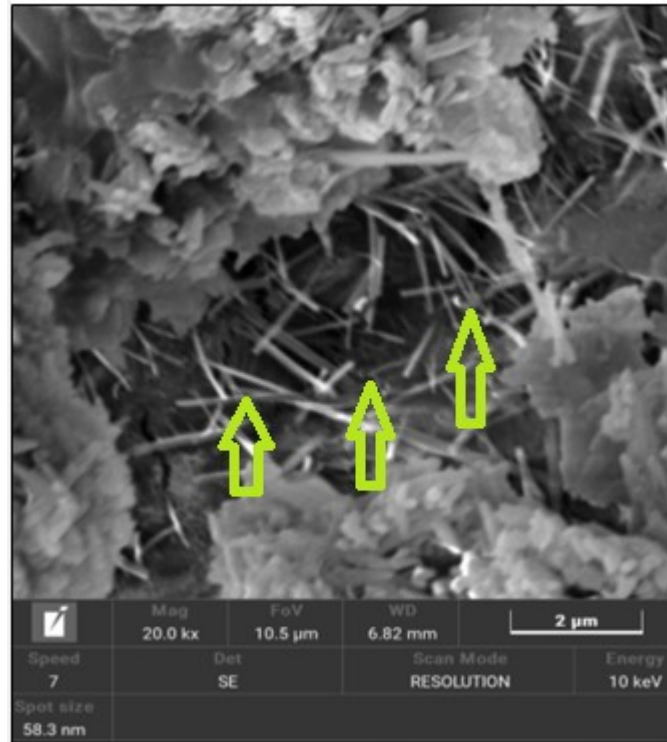


**Fonte: Autoria própria.**

#### 5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Foram realizadas imagens com microscópio eletrônico de varredura para as composições C2 e C3, bem como a espectroscopia de energia dispersiva, EDS, a fim de verificar a morfologia do carbonato de cálcio precipitado, bem como sua composição. As amostras para realização do procedimento foram coletadas do ensaio de compressão ao sétimo dia de cura. Não foram realizadas imagens da composição C1, pois não cabia a esse estudo analisar a composição de referência, visto que sua estrutura já é conhecida e comentada nas literaturas. A Figura 20 exibe a imagem obtida através do Microscópio Eletrônico de Varredura para a composição C2.

Figura 20: Imagem do MEV para composição C2.



Fonte: Autoria própria.

Na Tabela 4 são mostrados os resultados advindos do ensaio de EDS e as proporções de cada elemento na região analisada da composição C2.

Tabela 4: Proporções de cada elemento na região analisada da composição C2.

ELEMENTO	PORCENTAGEM
OXIGÊNIO	43,22
CÁLCIO	29,14
CARBONO	20,33
SILÍCIO	7,31

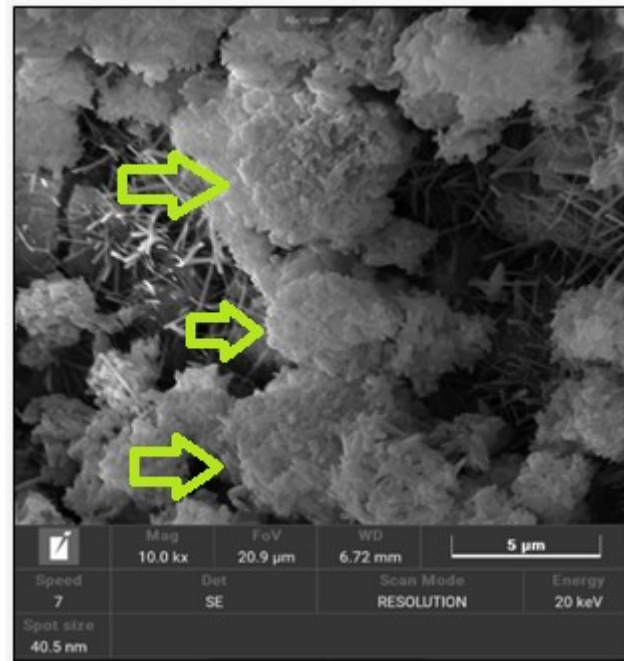
Fonte: Autoria própria.

De acordo com as imagens, verifica-se que a composição C2 obteve a formação do carbonato de cálcio em sua maioria na forma de aragonita, indicada pelas setas. O ensaio de EDS foi realizado em forma de linha, ao longo de uma agulha, indicando a presença de cálcio, silício, carbono e oxigênio, como era esperado.



A Figura 21 exibe a imagem obtida através do Microscópio Eletrônico de Varredura para a composição C3.

**Figura 21: Imagem do MEV para composição C3.**



Fonte: Autoria própria.

Na Tabela 5 são mostrados os resultados advindos do ensaio de EDS e as proporções de cada elemento na região analisada da composição C3.

**Tabela 5: Proporções de cada elemento na região analisada da composição C3.**

ELEMENTO	PORCENTAGEM
OXIGÊNIO	42,6
CÁLCIO	29,73
CARBONO	20,36
SILÍCIO	7,31

Fonte: Autoria própria.

Frente às imagens obtidas, verifica-se que a composição C3 obteve a formação do carbonato de cálcio em sua maioria na forma de vaterita, como indicado pelas setas, assim como pode ser observado algumas agulhas, morfologia de aragonita, em menor parte. O ensaio de EDS foi realizado de forma pontual, em uma das esferas, indicando a presença de cálcio, silício, carbono e oxigênio, como também era esperado.

## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, algumas conclusões podem ser obtidas.

Primeiramente tem-se que a adição tanto de lactato de cálcio, quanto de alginato de sódio e de bactérias precipitadoras de carbonato de cálcio não alterou significativamente os resultados de absorção de água, se mantendo próximos à composição de referência C1, contudo era mais esperado que houvesse uma diminuição da absorção de água. Como não houve alteração significativa na absorção de água, a argamassa contendo as bactérias e o alginato mostrou um sinal positivo devido a importância da capacidade de absorção de água. Um dos objetivos deste estudo era avaliar se a adição de bactérias imobilizadas em alginato iria afetar as propriedades de absorção de água e resistência à compressão.

A amostra C3 obteve resultados inferiores a amostra de referência C1, com uma redução de 21,24% aos 7 dias de cura e de 22,83% aos 28 dias de cura, o que pode ser um fator limitante ao uso da argamassa em aplicações que necessitam de elevados valores de resistência à compressão.

A partir das microscopias ópticas e acompanhamento das fissuras nas três composições ao longo dos dias, pode-se observar ligeira melhora aos 28 dias da amostra C3 em comparação com a amostra C1. A amostra C2 obteve melhores resultados com relação ao fechamento das fissuras em relação a ambas composições.

Com as imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura, pode-se visualizar as morfologias de carbonato de cálcio que foram precipitadas na forma de vaterita para a composição C3 e de aragonita para a composição C2.

Por fim, pode-se concluir que os resultados obtidos da composição C2 foram mais satisfatórios do que a composição C3 em relação a resistência à compressão e ao fechamento das fissuras.

## **7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Utilizar diferentes concentrações de alginato para verificar se as propriedades de resistência mecânica podem ser melhoradas.
- Analisar os resultados em diferentes tempos.
- Realizar os ensaios de resistência a compressão referentes sem adaptações norma NBR 7215/1997.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7215**: Cimento Portland – Determinação da resistência à compressão. ABNT, 1997

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9778**: Argamassa e concreto endurecidos – Determinação da absorção de água, índice de vazios e massa específica. ABNT, 2006.

BARTLEY, Bertilia Lauralee. **Influência do tetraétil-ortossilicato e etilenoglicol no polimorfismo e morfologia de  $\text{CaCO}_3$  em matrizes cimentícias na idade inicial de hidratação**. São Cristóvão, 2020.

BASSANI, Joseane cristina. **Imobilização de células microbianas em esferas de alginato de cálcio e avaliação da viabilidade celular e estabilidade bioquímica em diferentes condições de armazenamento**. Orientador: Dr. Edimir Andrade Pereira. 2018. 77 f. Dissertação (Mestrado) - UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, Londrina, 2018.

CHANDRA, L. Eklund, R.R. Villarreal, **Use of cactus in mortars and concrete**, *Cem. Concr. Res.* 28 (1) (1998) 41–51.

FRANCISCO, ANA A. A.; TEIXEIRA, ANA M. R. F. **Estudo de alguns polimorfos de carbonato de cálcio: obtenção e caracterização**. Sociedade Brasileira de Química. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Rio de Janeiro, 2009.

GATO, Murilo; MUNIZ, Wellington; DA SILVA, Karina; DE SÁ, Márlinson. Research, Society and Development. **Autorregeneração de fissuras em concreto a partir de uma cultura de bactérias**, [s. l.], ano 2021, 4 maio 2021.

GHOSH, S. et al. **Microbial activity on the microstructure of bacteria modified mortar. Cement and Concrete Composites**, v. 31, n. 2, p. 93-98, 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958946509000043>>.

HEIDARI, F et. Al. **Properties of self-compacting concrete incorporating alginate and nano silica**, *Asian J. Civ. Eng.* 16 (1) (2015) 1–11.

JUSTO-REINOSO, Ismael; HEATH, ANDREW; GEBHARD, Susanne; PAINE, Kevin. **Aerobic non-ureolytic bacteria-based self-healing cementitious composites: A**

comprehensive review. *Journal of Building Engineering*, [S. l.], ano 2021, n. 42, p. 1-25, 5 jun. 2021.

KRISHNAPRIYA, S.; VENKATESH BABU, D. L.; PRINCE ARULRAJ G. **Isolation and identification of bacteria to improve the strength of concrete**. *Microbiological research*, v. 174, p. 48-55, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501315000506>>. Acesso em: 23 mai 2022.

MEIRA, Guilherme L. S. **Estudo do processo de divisão em *Bacillus subtilis* por microscopia de fluorescência**. 2010. 131 f. Tese (Doutor em ciências – Bioquímica) – Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46131/tde-26112010084500/pt-br.php>>. Acesso em: 03 mai 2018.

MELLO, Vinicius; PACHECO, Fernanda; TUTIKIAN, Bernardo. **REVISTA DE ARQUITETURA IMED. Técnicas e Metodologias de Biomineralização na Cicatrização de Fissuras do Concreto**, [S. l.], ano 2019, v. 8, p. 164-182, 1 dez. 2019.

MOREIRA, Mirellen M. **Efeito do aditivo redutor de permeabilidade em concretos com diferentes tipos de cimento Portland – contribuição aos processos de autocicatrização**. 2016. 162 f. Dissertação (Mestre em Estruturas e Construção Civil) – Faculdade de Tecnologia – Universidade de Brasília, Brasília, 2016. Disponível em: <<http://repositorio.unb.br/handle/10482/22278>>. Acesso em: 10 abr 2022.

MONDAL, Sadip;GOSH, Aparna. **Construction and Building Materials. Review on microbial induced calcite precipitation mechanisms leading to bacterial selection for microbial concrete**, [S. l.], ano 2021, n. 42, p. 67-75, 23 jul. 2019.

MORS, R.; JONKERS, H. M. **Bacteria-based self-healing concrete: evaluation of full-scale demonstrator projects**. *RILEM Technical Letters*, 4, 138-144, 2019.

MUYNCK, Willem D. et al. **Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete**. *Construction and Building Materials*, v. 22, n. 5, p.875-885, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950061806003667>>. Acesso em: 14 mar 2022.

NGUYEN, T. H.; GHORBEL, E.; FARES, H.; COUSTURE, A. **Bacterial self-healing of concrete and durability assessment**. *Cement and Concrete Composites*, 2019.

REIS, Tamara. **Síntese de Hidrogéis de Alginato reticulados com nanofibra de lactato de cálcio/poli (óxido de etileno) obtidas por eletro fiação**. Florianópolis: [s. n.], 2029. 56 p.

SCHWANTES-CEZARIO, Nicole. **Desempenho de *Bacillus sp.* na biocimentação de materiais cimentícios**. 2017. 136 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação, em Engenharia de Edificações e Saneamento – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

SCHWANTES CEZARIO, Nicole. **INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE CAVERNA NO FECHAMENTO DE POROS E FISSURAS EM MATERIAIS CIMENTÍCIOS**. Orientador: Profa Dra Berenice Martins Toralles. 2010. 255 f. Tese (Pós-Graduação) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA, Londrina, 2010.

SOUZA, Vicente Custódio Moreira de; RIPPER, Thomaz. **Patologia, recuperação e reforço de estruturas de concreto**. São Paulo: PINI, 1998. 262 p.

WANG, Jianyun et al. **Use of sílica gel or polyurethane immobilized bacteria for selfhealing concrete**. Construction and Building Materials, Bélgica, V. 26, n. 1, p. 532- 540, jan. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950061811003175>>. Acesso em: 24 mai 2022.

ZHANG, WEI; ZHENG, Qiaofeng; ASHOUR, Ashraf; HAN, Baoguo. ELSEVIER. **Review on microbial induced calcite precipitation mechanisms leading to bacterial selection for microbial concrete**, [S. l.], ano 2021, n. 42, 26 fev. 2020. Composites Part B, p. 189-217.