

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL

Área de concentração: Infraestrutura e Meio Ambiente

Dissertação de Mestrado

BIOCIMENTAÇÃO COMO TÉCNICA DE IMOBILIZAÇÃO  
DE METAIS TÓXICOS

Vinicius Luiz Pacheco

Passo Fundo

2020



# **BIOCIMENTAÇÃO COMO TÉCNICA DE IMOBILIZAÇÃO DE METAIS TÓXICOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia da Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo, como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia, sob a orientação do Prof. Dr. Cleomar Reginatto.

Passo Fundo

2020

CIP – Catalogação na Publicação

---

P116b Pacheco, Vinicius Luiz  
Biocimentação como técnica de imobilização de metais  
tóxicos / Vinicius Luiz Pacheco. – 2020.  
105 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Cleomar Reginatto.  
Dissertação (Mestre em Engenharia) – Universidade de  
Passo Fundo, 2020.

1. Mecânica do solo. 2. Biocimentação. 3. Solidificação.  
3. Solos - Qualidade. 4. Solos - Composição. I. Reginatto,  
Cleomar, orientador. II. Título.

CDU: 631.4

---

Catalogação: Bibliotecário Luís Diego Dias de S. da Silva – CRB 10/2241

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
Faculdade de Engenharia e Arquitetura  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental

A comissão examinadora abaixo, avalia a dissertação de mestrado “Biocimentação como técnica de imobilização de metais tóxicos” elaborada por Vinicius Luiz Pacheco, como requisito a obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Data da defesa: 25/03/2020.

Membros da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cleomar Reginatto  
Universidade de Passo Fundo (UPF)  
Orientador

Prof<sup>a</sup>. Dra. Luciane Maria Colla  
Universidade de Passo Fundo (UPF)

Prof. Dr. Márcio Felipe Floss  
Universidade de Passo Fundo (UPF)

Prof. PhD Paulo Scarano Hemsli  
Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA)

Passo Fundo

2020

## RESUMO

A sustentabilidade é um tema amplamente discutido em diversas linhas de pesquisa da engenharia. Na geotécnica, técnicas de melhoramento de solo, como a biocimentação, são difundidas e estudadas com o objetivo de garantir propriedades geomecânicas para o solo. A biocimentação também permite a busca de alternativas para a redução de materiais que apresentam uma série de impactos negativos sobre o meio ambiente, -como o cimento-, cuja produção contribui para a geração de  $\text{CO}_2$ . A técnica MICP (Microbially Induced Calcite Precipitation) baseia-se na precipitação de carbonato de cálcio através de reações enzimáticas (urease) promovidas por bactérias, com o objetivo de não apenas melhorar as propriedades geomecânicas dos solos, como também imobilizar contaminantes inorgânicos. Nesse contexto, esta pesquisa analisou a eficiência (propriedades geomecânicas e imobilização) da precipitação de calcita- $\text{CaCO}_3$  pela indução microbiana (MICP) em um solo arenoso contendo naturalmente a bactéria *S. pasteurii* e contaminada artificialmente por  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, via bioestimulação de microrganismos naturais do referido solo. Um delineamento experimental (fatorial completo  $2^3$ ) foi conduzido para avaliação da influência de três parâmetros principais:  $\text{Cr}^{6+}$  ( $X_1$ ), Cd ( $X_2$ ) e o volume da solução de biocimento ( $X_3$ ). Tal procedimento foi realizado através de colunas de biocimentação [( $\emptyset$ ) = 5 cm; altura = 30 cm] com a presença do solo contaminado na camada superior de 5 cm. O monitoramento da atividade ureolítica durante o processo de biocimentação indicou que as concentrações iniciais de  $20\text{mg.kg}^{-1}$  e  $40\text{mg.kg}^{-1}$  para  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, respectivamente, não foram tóxicas para a hidrólise da ureia. Também, verificou-se que a solução de biocimento lixiviado tende a atingir níveis alcalinos de pH - indicando a ocorrência de urease. Observou-se, ainda, a ocorrência de lixiviação de contaminantes durante o processo de biocimentação, enquanto que o melhor cenário registrado foi de 95,7% de Cd imobilizado durante o processo. Além disso, os testes de compressão simples (UCS) atingiram 115 a 917,5 kPa, indicando que a precipitação de  $\text{CaCO}_3$  ocorre mesmo em ambiente tóxico, imobilizando os contaminantes e promovendo a biomineralização de  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$ , à qual foi identificada pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) em conjunto com a espectroscopia por energia dispersiva (EDS) e pela espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Além disso, o transporte de contaminantes foi comprovado por extrações pontuais alcalinas e ácidas, que identificaram a presença de contaminantes em todas as profundidades das colunas de biocimento. Assim, a técnica MICP é promissora como uma técnica de Solidificação/Estabilização (S/S), apresentando capacidade de precipitação de  $\text{CaCO}_3$  e biomineralização via bioestimulação de microrganismos nativos do solo.

Palavras-chave: MICP, biorremediação,  $\text{Cr}^{6+}$ , Cd, UCS.

## ABSTRACT

Sustainability is a topic widely discussed in several lines of engineering research. In geotechnics, soil improvement techniques, such as biocimentation, are disseminated and studied in order to guarantee geomechanical properties for the soil. As well as seeking to reduce the use of materials whose production generates a series of negative impacts on the environment -such as the generation of CO<sub>2</sub>-, as is the case with cement. Covering both biases, one can mention the MICP (Microbially Induced Calcite Precipitation) technique, in which calcium carbonate precipitates via bacteria through urease (eg., biostimulation or even bioaugmentation of native bacteria), with the aim of not only improving geomechanical properties of soils, as well as immobilizing inorganic contaminants. This research analyzes the efficiency (geomechanical properties and immobilization) of calcium-CaCO<sub>3</sub> production by microbial induction (MICP) in a soil naturally isolated as a bacterium *S. pasteurii* and artificially contaminated by Cr<sup>6+</sup> and Cd, via biostimulation of natural microorganisms of the present ground. An experimental design (full factorial 2<sup>3</sup>) was conducted to assess the influence of three main levels: Cr<sup>6+</sup> (X<sub>1</sub>), Cd (X<sub>2</sub>) and volume of the biocement solution (X<sub>3</sub>); by biocement columns [(Ø)=5 cm; height=30 cm] with contaminated soil in the top 5 cm layer. The monitoring of the urease's behavior during the process of biocementation indicated that the initial concentration of 20mg.kg<sup>-1</sup> and 40mg.kg<sup>-1</sup> for Cr<sup>6+</sup> and Cd, respectively, was not toxic for urea hydrolysis and leached biocement solution for reaching alkaline pH levels - detecting an occurrence of urease -. Contaminant leaching also occurred during the biocementation process, while the best recorded scenario was 95.67% of immobilized Cd during the process. In addition, UCS tests reached 114.84 to 917.43 kPa, indicating that CaCO<sub>3</sub> precipitation occurs even in a toxic environment, immobilizing contaminants and promoting the biomineralization of [Cr(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] and CdCO<sub>3</sub>, which was identified by the SEM- EDS and FTIR analysis. In addition, the transport of contaminants was proven by specific extractions of alkalis and acids, which identified the presence of contaminants in all depths of the biocement columns. So, the MICP is promising as a Solidification/Stabilization (S/S) technique and its CaCO<sub>3</sub> precipitation capacity and biomineralization via biostimulation of soil native microorganisms.

Keywords: MICP, Bioremediation, Cr<sup>6+</sup>, Cd, UCS.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Trabalhos no banco de dados ScienceDirect para a combinação "MICP" + "Soil" .	13
Figura 2 - Trabalhos no banco de dados ScienceDirect para a combinação "MICP" + "Soil" + "Heavy Metals" .....	14
Figura 3 - Sítio ativo da <i>S. pasteurii</i> .....	20
Figura 4 - Microscopia eletrônica de varredura mostrando a formação de pontes de ligação entre as partículas de areia através da formação de calcita .....	22
Figura 5- Aplicação da técnica de biocimentação através do método de injeção, controlado por bombas peristálticas .....	25
Figura 6 - Esquema de aplicação da técnica de biocimentação por percolação em solos pré-misturados com bactérias .....	26
Figura 7 - Tanque reator para submersão dos corpos de prova.....	27
Figura 8 - Resistência à compressão simples e precipitação de $\text{CaCO}_3$ em relação a temperatura durante o procedimento de aplicação da biocimentação.....	28
Figura 9 - Representação esquemática da precipitação de $\text{CaCO}_3$ em solo arenoso .....	31
Figura 10 - Fluxograma executivo da dissertação .....	41
Figura 11 - Distribuição granulométrica da areia de Osório.....	42
Figura 12 - Coluna de Biocimentação .....	45
Figura 13 - Coluna de biocimentação moldada .....	46
Figura 14 - Bancada de experimentação.....	48
Figura 15 - Coleta da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da solução biocimentante .....	48
Figura 16 - Amostras lixiviadas dos corpos de prova para análise de $\text{Cr}^{6+}$ .....	50
Figura 17 - Corpo de prova exumado contaminado com $\text{Cr}^{6+}$ e Cd (a); (b) Corpo de prova exumado sem contaminação (b); Corpo de prova exumado contaminado com $\text{Cr}^{6+}$ (c).....	51
Figura 18 - Amostras para a submissão ao ensaio de compressão simples aos 28 dias .....	52
Figura 19 - Monitoramento do pH oriundo da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da técnica MICP.....	56
Figura 20 - Monitoramento da condutividade elétrica oriunda da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da técnica MICP .....	58
Figura 21 - Monitoramento da taxa de hidrólise da ureia oriunda da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da técnica MICP .....	59
Figura 22- Monitoramento do volume drenado oriundo da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da técnica MICP .....	61
Figura 23 - Concentração remanescente de $\text{Cr}^{6+}$ durante o processo de biocimentação .....	63
Figura 24 - Concentração remanescente de Cd durante o processo de biocimentação .....	63
Figura 25 - Interação dos efeitos principais em relação à lixiviação de $\text{Cr}^{6+}$ .....	65
Figura 26 - Interação dos efeitos principais em relação à lixiviação de Cd .....	66
Figura 27 - Resultados do ensaio de compressão simples-UCS .....	68
Figura 28 - Ruptura amostra Branca (a); ruptura amostra contaminada com $\text{Cr}^{6+}$ ; (b) ruptura amostra contaminada com Cd (c); ruptura amostra contaminada com $\text{Cr}^{6+}$ e Cd (d).....	70
Figura 29 - Interação entre os efeitos $\text{Cr}^{6+}$ ( $X_1$ ) e Cd ( $X_2$ ) para o ensaio de compressão simples .....	71

Figura 30 - Interação entre os efeitos $\text{Cr}^{6+}$ ( $X_1$ ) e volume de solução ( $X_3$ ) para o ensaio de compressão simples.....	72
Figura 31 - Interação entre os efeitos Cd ( $X_2$ ) e volume de solução ( $X_3$ ) para o ensaio de compressão simples.....	73
Figura 32 - Lixiviação de $\text{Cr}^{6+}$ de amostras dos corpos de prova contaminados apenas com $\text{Cr}^{6+}$ .....	74
Figura 33 - Resumo do remanescente e lixiviação de $\text{Cr}^{6+}$ .....	75
Figura 34 - Digestão alcalina pontual na coluna de biocimentação para os corpos de prova contaminados com $\text{Cr}^{6+}$ .....	77
Figura 35 - Digestão ácida pontual na coluna de biocimentação para os corpos de prova contaminados com Cd.....	78
Figura 36 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para amostra A 01 (Branco).....	80
Figura 37 - Identificação por EDS dos elementos químicos produzidos na biocimentação através da bioestimulação da bactéria <i>S. pasteurii</i> para amostra A 01.....	80
Figura 38 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para amostra A 02 ( $\text{Cr}^{6+}$ ) (a); MEV-EDS identificado por camadas e elementos presentes na amostra A 02 (b).....	82
Figura 39 - Identificação por EDS dos elementos químicos produzidos na biocimentação através da bioestimulação da bactéria <i>S. pasteurii</i> para amostra A 02.....	83
Figura 40 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para amostra A 03 (Cd) (a); MEV-EDS identificado por camadas e elementos presentes na amostra A 03 (b).....	83
Figura 41 - Identificação por EDS dos elementos químicos produzidos na biocimentação através da bioestimulação da bactéria <i>S. pasteurii</i> para amostra A 03.....	84
Figura 42 - Análise FTIR amostra A 01.....	85
Figura 43 - Análise FTIR amostra A 02.....	85
Figura 44 - Análise FTIR amostra A 03.....	86
Figura 45 - Análise FTIR amostra A 04.....	86
Figura 46 - Balanço de massas e correlação entre $\text{Cr}^{6+}$ e Cd imobilizados, extraídos e lixiviados através da bioestimulação e precipitação de $\text{CaCO}_3$ pela bactéria <i>S. pasteurii</i> .....	88

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo das principais propriedades químicas do Cromo (Cr) e do Cádmiu (Cd).	19
Tabela 2 - Propriedade cinética ( $K_M$ ) e pH das principais bactérias produtoras de urease .....	22
Tabela 3 - Composição e concentrações diversas de soluções biocimentantes .....	23
Tabela 4 - Resumo dos principais estudos em biocimentação para aperfeiçoamento de propriedades mecânicas do solo.....	32
Tabela 5 - Resumo dos principais estudos de biorremediação através da biocimentação.....	36
Tabela 6 - Resumo dos principais estudos sobre monitoramento de atividade ureolítica na biocimentação.....	38
Tabela 7 - Índices físicos da areia de Osório.....	43
Tabela 8 - Composição da Solução Biocimentante .....	43
Tabela 9 - Limites de Intervenção e Concentração experimental .....	44
Tabela 10 - Níveis das variáveis independentes e valores codificados para o experimento fatorial completo $2^3$ .....	46
Tabela 11 - Planejamento experimental completo $2^3$ .....	47
Tabela 12 - Nomenclatura dos horizontes da coluna de biocimentação .....	51
Tabela 13 - ANOVA referente ao monitoramento do pH.....	57
Tabela 14 - ANOVA referente ao monitoramento do pH.....	60
Tabela 15 - ANOVA referente ao volume drenado de solução biocimentante .....	62
Tabela 16 - ANOVA referente a lixiviação de $Cr^{6+}$ e Cd durante o processo de biocimentação. ....	64
Tabela 17 - ANOVA referente a lixiviação de $Cr^{6+}$ e Cd durante o processo de biocimentação. ....	69

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	13
2.1 Revisão bibliométrica.....	13
2.2 Áreas Contaminadas.....	15
2.3 Metais Tóxicos .....	16
2.3.1 Cromo (Cr).....	17
2.3.2 Cádmio (Cd).....	18
2.4 Biocimentação.....	19
2.4.1 Mecanismo de funcionamento.....	19
2.4.2 Solução Biocimentante .....	22
2.4.3 Formas de aplicação da solução biocimentante .....	23
2.4.3.1 Aplicação da Solução: Percolação .....	24
2.4.3.2 Aplicação da Solução: Injeção .....	24
2.4.3.3 Aplicação da Solução: Pré-mistura .....	25
2.4.3.4 Aplicação da Solução através da Submersão de corpos de prova em tanque reator .....	26
2.4.4 Fatores que afetam o processo de biocimentação .....	27
2.4.5 Aperfeiçoamento de propriedades geomecânicas do solo .....	29
2.4.6 Remediação de contaminantes metálicos.....	34
2.4.7 Formas de monitoramento da urease na biocimentação .....	36
2.4.8 Considerações.....	39
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.1 Materiais.....	42
3.1.1 Areia de Osório.....	42
3.1.2 Solução Biocimentante .....	43
3.1.3 Contaminantes inorgânicos.....	43
3.2 Métodos .....	44
3.2.1 Concepção da coluna de biocimentação e planejamento experimental.....	44
3.2.2 Pós-Biocimentação (Fase 2) .....	50
3.2.2.1 Exumação.....	50
3.2.2.2 Ensaio de compressão simples.....	51
3.2.2.3 Ensaio de lixiviação dos contaminantes imobilizados – NBR 10005 .....	52

3.2.2.4	Análise de migração dos contaminantes no solo.....	53
3.2.2.5	Análise microscópica.....	53
3.2.2.6	Análise estatística.....	54
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	55
4.1	Monitoramento da atividade ureolítica.....	55
4.1.1	pH	55
4.1.2	Condutividade elétrica e taxa de hidrólise da ureia.....	57
4.1.3	Volume drenado.....	60
4.1.4	Lixiviação de Cr <sup>6+</sup> e Cd durante o processo de biocimentação.....	62
4.2	Pós-biocimentação.....	66
4.2.1	Ensaio de compressão simples-UCS (Unconfined Compressive Strength).....	67
4.2.2	Ensaio de lixiviação dos contaminantes imobilizados – NBR 10005.....	73
4.2.3	Análise de migração dos contaminantes no solo.....	76
4.2.4	Análise microscópica e FTIR.....	79
4.3	Análise Geral da biocimentação.....	87
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90
	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	92
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
	APÊNDICES.....	103
	Apêndice A - Curva padrão para análise de Cr <sup>6+</sup> através do método EPA 7196a.....	103
	Apêndice B - Curva padrão para análise de Cd.....	104

## 1. INTRODUÇÃO

O cunho ambiental e sustentável de novas tecnologias que mitiguem o uso de materiais prejudiciais ao meio ambiente é de suma importância na área de engenharia civil e ambiental. Especificamente, em relação ao manejo de solos, visando o aperfeiçoamento de propriedades geomecânicas, técnicas largamente utilizadas demandam grande quantidade de energia, como, por exemplo, a compactação mecânica ou, ainda, requerem a utilização de produtos prejudiciais ao meio ambiente, como é o caso do cimento -grande gerador de CO<sub>2</sub> na sua cadeia de produção. Outrossim, várias iniciativas de pesquisa têm sido feitas a fim de mitigar a emissão gases nocivos ao meio ambiente, seja através do sequestro de CO<sub>2</sub> oriundo do processo produtivo ou através de materiais alternativos que substituam o tradicional cimento Portland (KAJASTE; HURME, 2016).

Outra problemática recorrente é a existência de áreas contaminadas com metais tóxicos oriundos de atividades antropogênicas, especialmente devido ao avanço industrial em larga escala e o consequente descarte indevido desses rejeitos. Uma vez contaminados, a propagação de metais nocivos à saúde nos solos, como o Arsênio, Cádmio, Cromo, Chumbo e Níquel, torna-se um problema ambiental com efeitos amplos sobre a saúde dos humanos, animais e ecossistemas (KRAJEWSKA, 2009) . Sendo, ainda, responsáveis pela poluição e contaminação de diversos ecossistemas. Tais metais são localizados, principalmente, em áreas industriais, advindas de atividades humanas (JUNG, 2008).

Dessa forma, torna-se imprescindível o desenvolvimento e estudo de técnicas de remediação *in situ* de solos contaminados por metais. Além disso, considerando os problemas anteriormente citados referentes às técnicas convencionais, deve-se atentar a busca por metodologias que sejam eficazes tecnicamente e, que concomitantemente, não agridam de forma acentuada o meio ambiente em prol da remoção de contaminantes.

Diante desses critérios, a técnica de biocimentação vem sendo estudada para a resolução da problemática supracitada. A empregabilidade da mesma, ou também denominada MICP (do inglês: Microbially Induced Calcite Precipitation) é justificada pelo avanço infraestrutural e tecnológico, os quais requerem métodos menos agressivos ao meio ambiente com menores índices de poluição. Em que seu funcionamento ocorre através da atividade ureolítica típica de bactérias como a *S. pasteurii* ou *S. pasteurii*; responsáveis pela produção de enzimas ureolíticas e a consequente hidrólise da ureia, gerando por fim, o produto da biocimentação, a calcita-CaCO<sub>3</sub>. Logo, com a lógica de seu funcionamento e precipitação de calcita, a biocimentação aumenta a capacidade geomecânica de solos

predominantemente arenosos sem o emprego do tradicional cimento Portland e ainda possui capacidade de imobilizar contaminantes.

Cronologicamente, a técnica de biocimentação teve seu primórdio com Stock-Fischer *et al.* (1999), objetivando, inicialmente, o melhoramento mecânico de solos arenosos e depois com estudos relacionados a remediação de solos contaminados com metais tóxicos (ACHAL, *et al.*, 2012; CHEN; ACHAL, 2019; KUMARI *et al.*, 2014). Quanto ao aperfeiçoamento de propriedades mecânicas de solos, estudos escaláveis em micro e macro magnitudes são objetos de experimentação (DEJONG *et al.*, 2011; FENG; MONTOYA, 2015; NASSAR *et al.*, 2018; van PAASSEN *et al.*, 2010). Já em relação à remediação de contaminantes metálicos, experimentos recentes sugerem capacidade de encapsulamento de tais contaminantes através da técnica de biocimentação, habilitando a mesma quanto a Solidificação/Estabilização de solos (ACHAL *et al.*, 2012; KANG *et al.*, 2014; MWANDIRA *et al.*, 2017; ZHU *et al.*, 2016); com ressalva para a avaliação da atividade ureolítica dos microrganismos presentes no solo -ainda sem conclusões sobre tal aspecto.

Apesar do desenvolvimento de estudos na área, um trabalho específico no qual identifique características de lixiviação dos contaminantes inorgânicos durante o processo de biocimentação, bem como as propriedades microscópicas da técnica no processo de solidificação de metais contaminantes, é justificável. Ademais, sendo essencial também o estudo de aperfeiçoamento de propriedade geotécnicas (DALL'AGNOL, 2018) e avaliação do transporte dos contaminantes metálicos no solo submetido a biocimentação.

Portanto, a pesquisa justifica-se para responder à questão: “A técnica de biocimentação é aplicável para a imobilização de contaminantes metálicos?”. Uma vez que a aplicabilidade da mesma tem viés sustentável, a eficácia da técnica mitigaria, por consequência métodos tradicionais de Solidificação/Estabilização de contaminantes metálicos com uso exacerbado de cimento.

Logo, o objetivo geral da dissertação foi avaliar se a técnica de biocimentação é capaz de realizar a imobilização de contaminantes inorgânicos ( $\text{Cr}^{6+}$  e Cd) em solos arenosos e sua viabilidade quanto técnica de Solidificação/Estabilização. Os objetivos específicos delimitados para a pesquisa foram:

- a) monitorar a atividade ureolítica durante o processo de biocimentação no solo contaminado;
- b) monitorar a lixiviação dos contaminantes em solo arenoso;
- c) avaliar a imobilização dos contaminantes no solo durante a biocimentação;

d) avaliar o comportamento microestrutural das ligações entre a calcita ( $\text{CaCO}_3$ ) e os contaminantes metálicos;

e) Quantificar a resistência mecânica à compressão simples dos corpos de prova biocimentados.

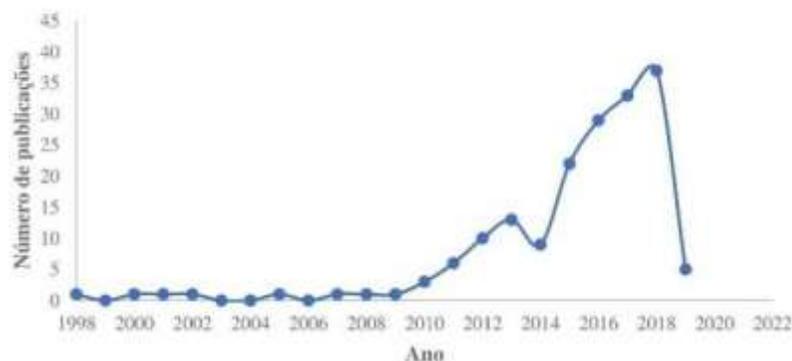
## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Revisão bibliométrica

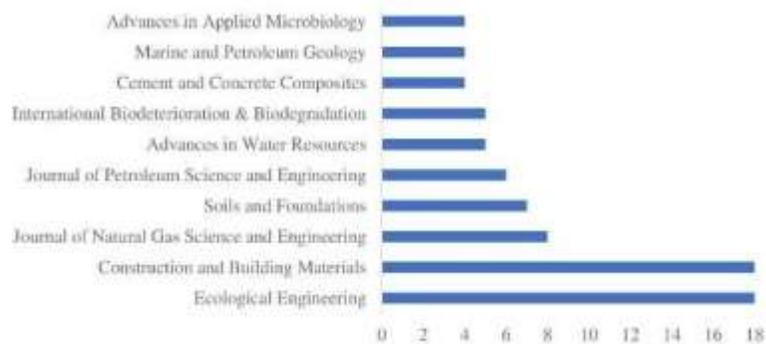
Foi realizada a revisão bibliométrica do tema biocimentação ou MICP nos bancos de dados da ScienceDirect. Quanto à forma de pesquisa, foram utilizadas duas combinações de palavras-chaves: “MICP” + “Soil” e “MICP” + “Soil” + “Heavy metals”. Combinações essas que buscaram abranger a biocimentação no campo do aperfeiçoamento das propriedades mecânicas do solo, bem como na remediação de solos contaminados por metais.

A Figura 1 (a) mostra que, para a combinação 1, entre os anos de 1998 até 2020, a base científica possui no total 175 trabalhos publicados com o tema; enquanto que a Figura 1 (b) apresenta a publicação em diferentes periódicos, com ênfase na “Ecological Engineering” e na “Construction and Building Materials” com 18 trabalhos em ambas.

Figura 1 – Trabalhos no banco de dados ScienceDirect para a combinação "MICP" + "Soil" de acordo com o número de citações (a); ordenados por periódicos (b).



(a)

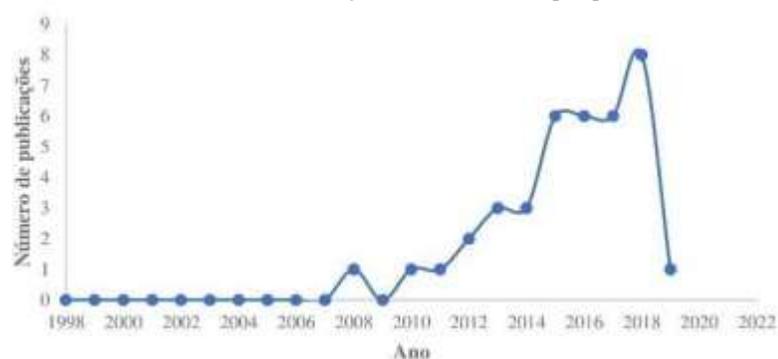


(b)

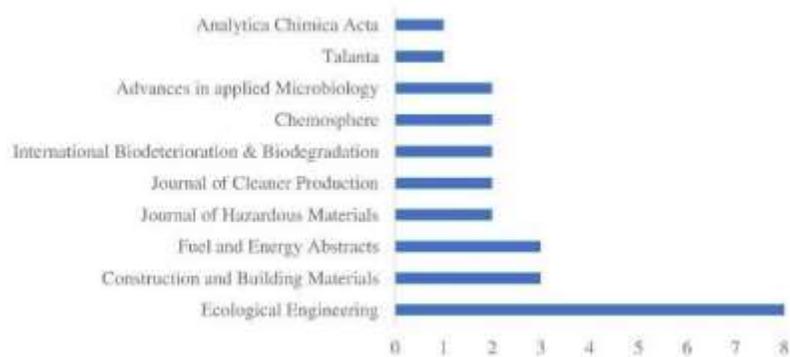
A Figura 2 (a) mostra a segunda combinação refinada da pesquisa no banco de dados, com um montante de 38 trabalhos publicados entre 1998 até 2019. Quanto aos periódicos com maior registro de trabalhos encontram-se os mesmos referidos para a combinação 1, indicando a sobreposição de trabalhos nas duas contagens, de acordo com a Figura 2(b).

Quanto aos autores que mais publicaram trabalhos referentes ao tema da biocimentação, tem-se destaque para Varenyam Achal com o total de 13 trabalhos publicados dentre as duas combinações.

Figura 2 –Trabalhos no banco de dados ScienceDirect para a combinação "MICP" + "Soil" + "Heavy Metals" de acordo com o número de citações (a); Ordenados por periódicos (b).



(a)



(b)

Tendo em vista a revisão bibliométrica sobre o assunto de interesse, conclui-se que o assunto é alvo de estudos ao longo dos 20 anos, recebendo picos ascendentes de publicações desde 2013. Logo, o desenvolvimento da dissertação posiciona-se dentro de uma problemática de estudos em ascensão em diversos países do mundo, ainda havendo vasto campo de pesquisas a serem realizadas para a determinação do comportamento e variações da técnica.

## 2.2 Áreas Contaminadas

Áreas contaminadas estão presentes em diversas localidades urbanas, bem como rurais, oriundas principalmente de atividades antropogênicas, com ênfase no período posterior à revolução industrial. Os contaminantes podem ser descritos como elementos químicos, íons ou até mesmo compostos, que possuem a capacidade de intoxicação/envenenamento de seres vivos e ecossistemas (ESTABRAGH *et al.*, 2018).

Contudo, os contaminantes podem basicamente ser divididos em duas categorias: orgânicos e inorgânicos. Quanto aos orgânicos, esses são oriundos majoritariamente de óleo cru, em que os componentes são separados através de processo de destilação e modificados de acordo com a sua utilização final. Esse processo que resulta em diferentes tipos de contaminantes orgânicos, sendo passíveis de poluição no meio ambiente por meio de derramamentos acidentais ou vazamentos de locais de estocagem, contaminando assim o solo, o subsolo, e se não contido, atingindo os corpos hídricos (ESTABRAGH *et al.*, 2018).

Em relação aos contaminantes inorgânicos, os metais tóxicos oriundos de locais com alto nível de industrialização e de descarte inadequado desses compostos, são prejudiciais no que concerne a toxicidade e os possíveis efeitos tóxicos perpassados para organismos vivos e ecossistemas. Ainda, os metais tóxicos afetam negativamente as propriedades geomecânicas dos solos, resultando em última análise em condições desfavoráveis para o reaproveitamento de áreas contaminadas (XUE *et al.*, 2014). Dentre os principais metais tóxicos pode-se citar o Arsênio (As), o Cádmio (Cd), o Cromo (Cr), o Níquel (Ni), o Mercúrio (Hg) e o Chumbo (Pb). Tais metais, quando não dispostos de forma adequada, tornam-se problema de saúde pública, uma vez que concentrações exacerbadas dos mesmos acarretam em graves patologias humanas, degradação ambiental e efeitos colaterais na fauna e na flora (TCHOUNWOU *et al.*, 2014).

Tendo em vista os variados contaminantes, a propagação dos metais tóxicos no solo depende de fatores como tamanho das partículas, capacidade de troca catiônica (especialmente argilominerais) e características de ligação (ESTABRAGH *et al.*, 2018).

Os contaminantes podem ser adsorvidos ou ficar presos nos poros do solo, dependendo da técnica de remediação aplicada e características do maciço. Quanto a adsorção, os solos argilosos, que são elementos encontrados em larga escala na natureza, possuem composições químicas e físicas das quais induzem a adsorção de contaminantes orgânicos e inorgânicos (SHICHI; TAKAGI, 2000; UDDIN, 2017).

Tais materiais são formados através de agentes de intemperismo, rochas e minerais, especialmente em locais com climas quentes, tropicais e subtropicais, como o caso do Brasil (IDAKWO; STATE, 2013) e utilizados com uma vasta aplicabilidade na indústria devido a sua multivariada, como elemento adsorvente de contaminantes ou até mesmo na indústria cerâmica.

Enquanto que solos com maiores índices de vazios, ou predominantemente arenosos, outras técnicas podem ser utilizadas para a remediação de metais contaminados, como é o caso da encapsulação de compostos inorgânicos através da biocimentação (ACHAL *et al.*, 2012a; ACHAL *et al.*, 2012b; ACHAL; PAN, 2014; COSTAGLIOLA *et al.*, 2007; MWANDIRA *et al.*, 2017).

Diante do problema da contaminação orgânica e inorgânicos diversas tecnologias podem ser utilizadas na remediação. A técnica abordada é a de Solidificação/Estabilização (do inglês: Stabilization/Solidification – S/S), por ser preferida quanto a remediação de metais contaminados e ainda podendo ser aplicada em determinados casos de contaminação orgânica (DU *et al.*, 2014; ESTABRAGH *et al.*, 2017, 2018).

Usualmente faz-se a estabilização e solidificação por meio do uso do cimento Portland, o qual apresenta uma série de desvantagens como: em pH alcalino, metais como Pb, Zn e Cd precipitam em fases hidratadas e possuem potencial de dissolver gradativamente em condições de pH ácido e alcalino (MALVIYA; CHAUDHARY, 2006; WEI-YI XIA; YA-SONG FENG; YAN-JUN DU; KRISHNA R. REDDY, 2018); quando expostos a ambientes propícios a ataques de sulfato a lixiviação dos metais encapsulados tende a aumentar, enquanto que a resistência a decair (WEI-YI XIA; YA-SONG FENG; YAN-JUN DU; KRISHNA R. REDDY, 2018).

Logo, alternativas que substituam o cimento Portland convencional são objetos de estudo nesse nicho acadêmico; considerando ainda que no processo produtivo do cimento a emissão de CO<sub>2</sub> é extremamente elevada, contribuindo para os gases de efeito estufa e contrariando a sustentabilidade de técnicas de remediação de solos.

### **2.3 Metais Tóxicos**

Os metais no solo são oriundos de diferentes tipos de intemperismos de rochas, às quais possuem em sua constituição química sulfetos, óxidos, silicatos, fosfatos e carbonatos; logo ocorrendo de forma natural. Porém o avanço industrial e a atividade antropogênica

culminaram na maior utilização e conseqüente despejo de forma indevida dos contaminantes no solo (TCHOUNWOU *et al.*, 2014).

Esses são elementos metálicos com propriedades físico-químicas específicas, de acordo com cada componente, apresentando geralmente, densidade elevada. Recentemente, a interrelação entre metais tóxicos, contaminações ambientais e saúde pública vêm sendo estudada, com viés pragmático de identificar os principais fatores correlativos, sendo os metais arsênio (As), Cádmio (Cd), Cromo (Cr), Chumbo (Pb) e Mercúrio (Hg) prioritários quanto aos riscos à saúde pública, devido a seu grau de toxicidade (SUTTON; TCHOUNWOU, 2007; TCHOUNWOU *et al.*, 2014).

Metais como Cobalto (Co), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Ferro (Fe), Magnésio (Mg), Manganês (Mn) e Níquel (Ni) são nutrientes fundamentais necessários para o funcionamento adequado de reações bioquímicas de seres vivos, bem como desempenho de funções fisiológicas, e a abstenção dos mesmo pode vir a causar patologias (HE *et al.*, 2005). Enquanto que alguns metais são essenciais para o funcionamento biológico, outros podem afetar componentes celulares dos organismos vivos; causando interações com o DNA e conseqüentes danos ao organismo com potencial cancerígeno (BEYERSMANN; HARTWIG, 2008).

A exposição humana à contaminação com metais tóxicos cresceu exponencialmente com o avanço industrial e o conseqüente uso de diversos metais em segmentos da economia, como a indústria, agricultura, tecnologia em geral e até o setor doméstico. Ainda, eventos naturais como erupções vulcânicas e intemperismo acarretam na distribuição de metais no ambiente (SHALLARI *et al.*, 1998; TCHOUNWOU *et al.*, 2014).

Portanto, diferentes tipos de técnicas podem ser aplicadas visando a encapsulação destes contaminantes inorgânicos. Técnicas essas que podem passar pela remediação verde (WANG *et al.*, 2018), utilização de geopolímeros (WANG *et al.*, 2018) ou ainda através da biocimentação (KUMARI *et al.*, 2014; MUJAH *et al.*, 2017; MWANDIRA *et al.*, 2017).

### 2.3.1 Cromo (Cr)

Esse metal é encontrado largamente na natureza em rochas, animais, plantas e solos, principalmente sob forma trivalente  $\text{Cr}^{3+}$ . Porém, a intensificação das atividades antropogênicas-industriais levou à grande incidência e aparecimento da forma hexavalente  $\text{Cr}^{6+}$ , o qual é lixiviado do solo para água em concentrações prejudiciais aos humanos, animais e ecossistemas em geral (VELMA *et al.*, 2010). Como características, possui a

especificidade de ser lustroso, com coloração cinza, instável em contato com o oxigênio e pode se perpetuar sob diferentes formas matriciais (água, ar e solo) (LENNTECH, 2018; TCHOUNWOU *et al.*, 2014). O  $\text{Cr}^{6+}$  é oriundo da atividade industrial, com ênfase nas atividades de processamento de metais, produção de cromato, soldagem de aço inoxidável, e ainda é utilizado na metalurgia para gerar resistência à corrosão e acabamentos (LENNTECH, 2018; TCHOUNWOU *et al.*, 2014), sendo lançado na natureza majoritariamente sob a forma hexavalente,  $\text{Cr}^{6+}$ .

A organização mundial de saúde (do inglês: World Health Organization) sugere o limite de  $50 \mu \text{g/L}$  de  $\text{Cr}^{6+}$ , sendo a forma trivalente  $\text{Cr}^{3+}$  nutriente essencial para funções metabólicas nos humanos (20 a 35 mg/dia-adultos) (TCHOUNWOU *et al.*, 2014). A principal forma de contração do metal para humanos expostos a tais riscos é via inalação, sendo o contato com a pele fonte passível de intoxicação. Os principais efeitos para a saúde correlacionados ao  $\text{Cr}^{6+}$  são: erupções cutâneas, úlceras, problemas respiratórios, danos nos rins e fígado, alteração do material genético, câncer e até morte (LENNTECH, 2018).

Em contato com a água, o  $\text{Cr}^{3+}$  geralmente vai ser absorvido nos sedimentos e se tornar imóvel. Embora o  $\text{Cr}^{3+}$  seja importante para os organismos, o  $\text{Cr}^{6+}$  é basicamente tóxico para os mesmos, por isso o risco ambiental existe e a interação do metal com elementos que o absorvam devem ser estudados, visando mitigar o risco de saúde pública. As principais propriedades químicas do Cromo são apresentadas na Tabela 1.

### 2.3.2 Cádmio (Cd)

Tal metal possui distribuição em larga escala na crosta terrestre, com concentração média de  $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ , com maiores percentuais acumulados em rochas sedimentares de fosfatos marinhos, chegando a proporções de  $15 \text{ mg.kg}^{-1}$  (TCHOUNWOU *et al.*, 2014). Ainda, como todos os metais, o  $\text{Cd}^{2+}$  é solúvel em ácidos, porém não em meios alcalinos. Contudo é similar em diversas propriedades com o Zinco (Zn), adversamente, formando compostos mais complexos que o Zn (LENNTECH, 2018).

A utilização do Cd está diretamente ligada ao setor industrial, na fabricação de ligas, pigmentos, baterias, estabilizadores para plásticos, como protetor na galvanização do aço. Apresenta propriedades específicas às quais garante a habilidade de absorver nêutrons usado, dessa forma, como barreira para controlar a fissão nuclear (LENNTECH, 2018; TCHOUNWOU *et al.*, 2014).

A principal forma de contaminação do metal nos humanos é através da inalação, ingestão de alimentos ou via cigarros (TCHOUNWOU *et al.*, 2014). Dentre os principais

malefícios e patologias relacionadas à ingestão em excesso do Cd, principalmente por trabalhadores de setores industriais relacionados a indústrias que utilizam o Cd em seus processos produtivos, está a alteração no sistema respiratório/pulmonar, bem como a osteoporose, irritação gastrointestinal e deficiência sensorial do olfato (GALLAGHER *et al.*, 2008).

Efeitos tóxicos do metal incluem alterações genéticas no DNA, levando a casos de câncer, como observado em outros metais tóxicos como Arsênio (As). Devido ao fato do Cádmiio ser facilmente absorvido pela matéria orgânica presente no solo ele se torna extremamente perigoso, uma vez que essa contaminação pode ser transferida para as plantas e todo o ciclo planta-animais é iniciado com a contaminação. Ainda, o metal pode ser transportado por grandes distâncias quando incorporado ao lodo, poluindo assim solos e em última análise, os aquíferos (LENNTECH, 2018).

Ainda, o Cd pode ser acumulado em uma gama diversa de animais aquáticos, como ostras, camarões, lagostas e peixes, com um grande potencial de abrangência dos ecossistemas aquático-terrestre (LENNTECH, 2018). As principais propriedades químicas do metal são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Resumo das principais propriedades químicas do Cromo (Cr) e do Cádmiio (Cd).

<b>Propriedade</b>	<b>Cr</b>	<b>Cd</b>
Número Atômico	24	48
Massa Atômica	51,996 g.mol <sup>-1</sup>	112,4 g.mol <sup>-1</sup>
Eletronegatividade – Pauling electronegativity	1,6	1,7
Densidade	7,19 g.cm <sup>3</sup> (20°C)	8,7 g.cm <sup>3</sup> (20°C)
Ponto de Fusão	1907°C	321°C
Ponto de Ebulição	2672°C	767°C
Raio de van der Waals	0,127 nm	0,154 nm
Raio iônico	0,061 nm (+3) 0,044 nm (+6)	0,097 nm (+2)
Isótopos	6	15
Energia da primeira ionização	651,1 kJ.mol <sup>-1</sup>	866 kJ.mol <sup>-1</sup>

Fonte: Lenntech, (2018).

## 2.4 Biocimentação

### 2.4.1 Mecanismo de funcionamento

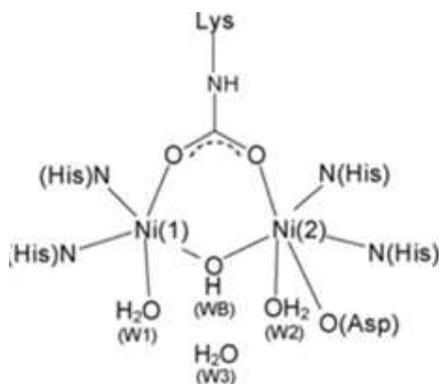
A técnica de biocimentação comumente é denominada por MICP e depende da atividade enzimática de microrganismos. As enzimas possuem natureza proteica encontrada em larga escala na natureza e são produzidas por bactérias, algas e invertebrados. As enzimas são de fundamental importância, uma vez que na ausência delas, o processo metabólico é

extremamente lento, em relação ao tempo de ativação e precipitação do produto final da urease, a calcita-CaCO<sub>3</sub> (WOLFENDEN; SNIDER, 2001).

A diminuição no tempo de ativação das reações gerada pela urease, torna possível a aplicação desta em campos de estudos diversos, como a agricultura, engenharia (KRAJEWSKA, 2017; OZDES; DURAN; SENTURK, 2011), além de ser objeto de estudo de patologias na área clínica (MOBLEY *et al.*,1995).

No campo da engenharia, a biocimentação é realizada através da atividade ureolítica típica de bactérias, principalmente da *S. pasteurii* ou *S. pasteurii*; as quais são responsáveis pela produção da enzima ureolítica e consequente hidrólise da ureia, obtendo como produto final do processo a calcita (PEDREIRA, 2012). O sítio ativo da enzima da bactéria *S. pasteurii* é mostrado na Figura 3, o qual apresenta característica de ser binucleado, com dois íons de Ni, interligados por um hidróxido (WB), situado na região de abertura do sítio ativo (W3); ainda, Ni (1) apresenta 5 ligações distintas entre os elementos e Ni(2) apresenta 6 dessas ligações (KRAJEWSKA, 2009).

Figura 3 - Sítio ativo da *S. pasteurii*.



Fonte: Krajewska, (2019).

A técnica MICP é multivariada e pode ser induzida sob diferentes formas, como via amonificação de aminoácidos, redução de nitrato e pela hidrólise da ureia (tipicamente utilizada na técnica MICP) (WHIFFIN, 2004).

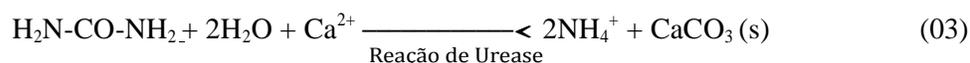
A hidrólise da ureia é um processo bioquímico no qual a enzima ureolítica provinda das bactérias (no caso da técnica MICP) hidrolisa a ureia [CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>] em meio aquoso no solo, produzindo íons de carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) e amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), de acordo com a Equação (01) (FOLLMER, 2010):



O fenômeno clássico do aumento do pH do meio oriundo da atividade ureolítica, através da produção da amônio, conforme a Equação (01). Após, inicia-se o processo de formação da calcita com a interação entre os íons de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) e os íons de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), oriundos da solução biocimentante, resultando na calcita ( $\text{CaCO}_3$ ) descrita pela Equação (02) (NG *et al.*, 2012; STOCKS-FISCHER *et al.*, 1999).



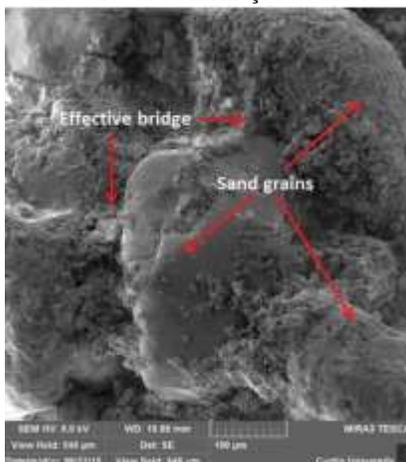
Como efeito das reações bioquímicas, a cristalização dos minerais se aloca nas paredes celulares das bactérias, servindo como cristais no sítio de nucleação, devido ao fato de as paredes possuírem cargas negativas, resultando na ligação com os íons de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), gerando a acumulação e decomposição dos elementos, que é simplificada pela Equação (03) (KRAJEWSKA, 2017):



Através das reações bioquímicas, a  $\text{CaCO}_3$  cria pontes de ligação entre os grãos arenosos do solo, contribuindo no aperfeiçoamento das propriedades geomecânicas. Observado na Figura 4, na qual uma microscopia eletrônica de varredura mostra a ligação entre as partículas de areia provinda pela técnica de biocimentação.

Para que tais resultados sejam alcançados, é importante o conhecimento das propriedades cinéticas que envolvem a urease. Tal atividade enzimática obedece ao princípio de Michaelis-Menten, onde a constante  $K_M$  corresponde a concentração de substrato e a velocidade da reação é caracterizada por  $V_{MÁX}/2$ . Ressalvas devem ser feitas em relação ao pH, uma vez que a urease é extremamente desse parâmetro. Por conta disso, o pH atua como indicador das reações microbiológicas em atuação no meio durante o processo de biocimentação. Um vislumbre sobre as propriedades cinéticas das bactérias produtoras da urease, com ênfase para a *S. pasteurii* (mais usual na biocimentação), juntamente com o pH ótimo para tais atividades é mostrado na Tabela 2.

Figura 4 - Microscopia eletrônica de varredura mostrando a formação de pontes de ligação entre as partículas de areia através da formação de calcita.



Fonte: Mujah *et al.* (2017).

Com base no mecanismo de funcionamento exposto previamente, a técnica MICP é eficiente para a produção de  $\text{CaCO}_3$ , com inúmeras aplicações dentro da engenharia, como o aperfeiçoamento de propriedades geomecânicas do solo arenoso, biorremediação através da biomineralização de metais contaminantes e até em materiais alternativos (ACHAL; PAN, 2014; FENG; MONTROYA, 2015; JOSHI *et al.*, 2017).

Tabela 2 - Propriedade cinética ( $K_M$ ) e pH das principais bactérias produtoras de urease.

Urease	$K_M$ (mM)	pH <sub>ótimo</sub>	Referência
<b>Bactérias</b>			
<i>S. pasteurii</i>	17,3	8,0	(BACHMEIER <i>et al.</i> , 2002; KRAJEWSKA, 2009)
<i>Helicobacter pylori</i>	0,2-0,8	8,0-8,2	(GANG <i>et al.</i> , 2009; KRAJEWSKA, 2009)
<i>Arthobacter oxydans</i>	12,5	7,6	(KRAJEWSKA, 2009; SCHNEIDER <i>et al.</i> , 1984)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	2,8	7,75	(KRAJEWSKA, 2009; TODD; HAUSINGER, 1987)

#### 2.4.2 Solução Biocimentante

A solução biocimentante é a responsável por fornecer o substrato necessário para que os microrganismos do solo exerçam a atividade ureolítica descrita no item anterior. A técnica de biocimentação segue dois vieses básicos: bioaumento, na qual faz introdução artificial de microrganismos no solo e bioestimulação, que estimula as bactérias nativas do solo por meio de uma solução nutritiva.

Ambas as técnicas de biocimentação têm em comum em suas soluções a ureia e cloreto de cálcio, porém em casos de bioestimulação outros nutrientes também são

necessários, para a proliferação dos microrganismos e desenvolvimento da taxa ureolítica adequada na produção de calcita.

Estudos recentes em larga escala realizados por Gomez *et al.* (2017) mostraram a não significativa diferença entre solos bioaumentados e bioestimulados com microrganismos nativos do solo. A não necessidade de introdução artificial de microrganismos viabiliza o uso da técnica devida à questão econômica, barateando-a.

Além da ureia e do cloreto de cálcio, fundamentais no processo de biocimentação, outros nutrientes são utilizados no estímulo das bactérias, tais como: extrato de levedura, cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl), peptona, extrato de carne e bicarbonato de sódio (AMARAKOON; KAWASAKI, 2016; GOMEZ *et al.*, 2017; OMOREGIE *et al.*, 2017). Um resumo exemplificativo sobre algumas variações de soluções e concentrações é mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição e concentrações diversas de soluções biocimentantes.

Experimento	Forma	Reagentes/Concentração	Referência
Propriedades geomecânicas em larga escala	Bioestimulação	-Extrato de Levedura: 0,1 g/L; -Cloreto de amônio: 12,5 mM; -Acetato de sódio: 42,5 mM; -Ureia: 350 mM; -Cloreto de cálcio: 250 mM.	(GOMEZ <i>et al.</i> , 2017)
Propriedades geomecânicas em larga escala	Bioaumento	-Ureia: 1000 mM; -Cloreto de cálcio: 1000 mM.	(van PAASSEN <i>et al.</i> , 2010)
Biorremediação de de Pb <sup>2+</sup>	Bioaumento	-Ureia: 500 mM; -Cloreto de Cálcio: 500mM. -Ureia: 30 g/L;	(MWANDIRA <i>et al.</i> , 2017)
Propriedades geomecânicas em larga escala	Bioestimulação	-Cloreto de Cálcio: 56 g/L; Bicarbonato de Sódio: 2,12 g/L; Cloreto de Amônio: 10 g/L; Extrato de Levedura: 1 g/L; Peptona: 2 g/L	(PACHECO; DECOL; THOMÉ, 2018)

#### 2.4.3 Formas de aplicação da solução biocimentante

A forma de aplicação da solução biocimentante no solo é fator essencial para a precipitação da calcita, podendo ser induzida visando a bioestimulação dos microrganismos nativos do solo, bem como a bioaumento, com a inserção de bactérias no solo para a retenção dos microrganismos ureolíticos, e sua posterior injeção de nutrientes (MUJAH *et al.*, 2017). Devido ao fato de o tratamento ser biológico e químico, cuidados como a correta concentração de reagentes e não toxicidade de contaminantes para os microrganismos.

Devem ser observados para o correto funcionamento e mitigação da heterogeneidade do tratamento ao longo do maciço do solo. Ressalta-se também a forma de aplicação quanto a

possibilidade de arraste de microrganismos e separação dos mesmos, ocasionando na ineficácia da técnica MICP.

Logo, a inserção da solução biocimentante (bioestimulação) e das bactérias (bioaumento e bioestimulação) ocorre de 3 formas usuais para tratamento: percolação (1); pré-mistura (2); injeção (3). Ainda, tem-se um quarto viés alternativo para a aplicação da solução biocimentante, através da submersão de corpos de prova em tanque reator, técnica essa com intuito *ex situ* e passível para aplicação em materiais alternativos.

#### 2.4.3.1 Aplicação da Solução: Percolação

O método da percolação simples caracteriza-se por ser *in situ* e pode ser aplicado para inserção da solução biocimentante, bem como para aplicação e fixação das bactérias, como mostram estudos realizados por Cheng e Cord-Ruwisch (2014). O estudo analisou a biocimentação pelo gradiente hidráulico da percolação simples em colunas com 2 m de profundidade. Considerando a biocimentação no fluxo horizontal, resultados de resistência atingiram entre 2 e 2,5 MPa nos primeiros 20 cm superficiais.

Esse método de aplicação da técnica MICP, por ser simples, não requer grandes equipamentos para a implementação da solução e das bactérias, uma vez que mitiga o risco de carregamento de partículas e microrganismos durante o tratamento. Contudo, tal método encontra ressalvas quanto à aplicação em solos com permeabilidades reduzidas, e no encontro de caminhos preferenciais no solo; ambos prejudicando o processo de precipitação de calcita (CHENG; CORD-RUWISCH, 2014; MUJAH *et al.*, 2017).

#### 2.4.3.2 Aplicação da Solução: Injeção

Outro método *in situ* dá-se através da injeção controlada parâmetros como a pressão, temperatura, gradiente hidráulico e fluxo da solução. Viabilizando também o tratamento sob condições saturadas e não saturadas, avaliando os parâmetros do solo tais quais rigidez e coesão e recebendo o nome de “BioGrout” *in situ*, por fazer o tratamento no local de utilização do solo.

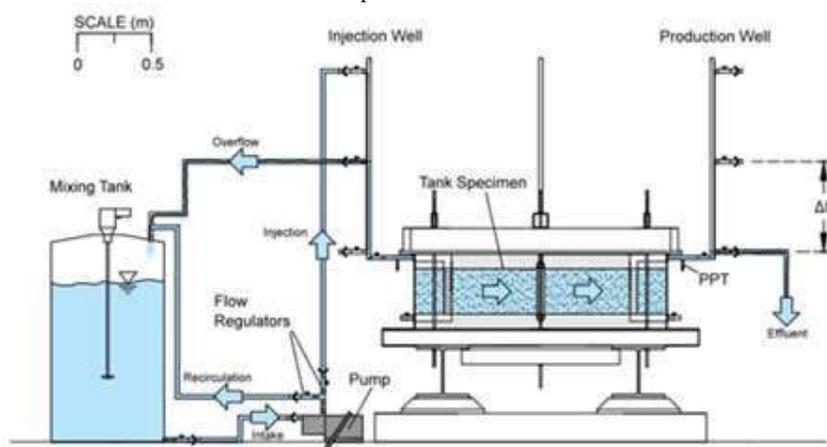
A injeção é utilizada nos casos de bioestimulação bem como na bioaumento e consequente bioestimulação. Para tal, o estudo de Harkes *et al.* (2010) propôs a aplicação da técnica MICP em duas etapas, sendo a primeira referente à suspensão dos microrganismos no solo e, a segunda relativa à fixação do fluído. Tal elemento é composto por uma solução com alta taxa de salinidade evitando dessa forma entupimentos durante o processo de aplicação da técnica e promovendo uma fixação adequada nos microrganismos do solo.

Ainda, sob a mesma perspectiva de fixação dos microrganismos no solo, Qabany *et al.* (2012) propôs um intervalo-tempo entre a suspensão dos microrganismos e a aplicação da solução, permitindo o deslocamento das bactérias no espaço amostral e a adesão pelas partículas do solo das mesmas.

Em relação à escala das experimentações da técnica MICP através do método de injeção por fluxo controlado, Gomez *et al.* (2016), van Paassen *et al.* (2010) e Whiffin *et al.* (2007) realizaram tratamentos em escala aumentada através de parâmetros controlados em profundidades diversas e avaliaram a resistência sísmica, resistência através de ondas de cisalhamento e CPT (do inglês: Cone Penetration Test), na qual induz a eficácia do método em escala de campo, porém com o contraponto em relação a maquinários e custo.

O procedimento usual é mostrado na Figura 5, no qual bombas peristálticas são utilizadas para viabilizar a pressão controlada. Nesse caso, em específico, um tanque de mistura foi construído para o preparo da solução biocimentante em uma experimentação em larga escala realizada por Gomez *et al.* (2017).

Figura 5- Aplicação da técnica de biocimentação através do método de injeção, controlado por bombas peristálticas.



Fonte: Gomez *et al.* (2017).

#### 2.4.3.3 Aplicação da Solução: Pré-mistura

Esse método consiste na mistura mecânica das bactérias com o solo, atingindo uma homogeneidade pré-determinada. Tal metodologia foi aplicada por Yasuhara *et al.* (2012) sendo atingidas altas eficiências quanto à homogeneidade dos microrganismos no solo. As características geomecânicas foram mensuradas através da compressão simples, com magnitudes entre 400 kPa até 1,6 MPa e a permeabilidade foi reduzida após o tratamento. Outro estudo realizado por Zhao *et al.* (2014a) mostrou que a questão da homogeneidade na

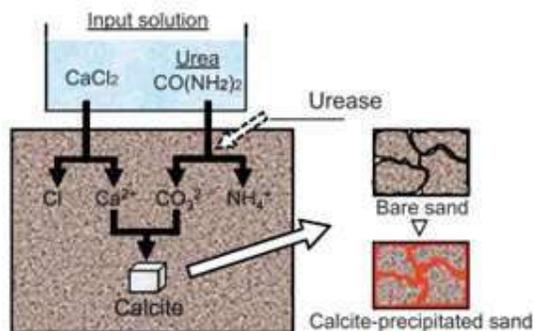
precipitação de  $\text{CaCO}_3$  é o grande artifício da pré-mistura, com 83% do montante de calcita precipitado sendo distribuído homogeneamente ao longo dos corpos de prova.

Ainda, o método de pré-mistura pode receber a solução biocimentante através dos métodos descritos nos itens anteriores, conforme a Figura 6, ou ainda receber forma de tratamento através da submersão dos corpos de prova em meio biocimentante, como será apresentado no próximo item.

Importante ressaltar que independentemente da forma de aplicação da injeção, o método da pré-mistura é um tratamento *ex situ*, uma vez que necessita da retirada do solo e passagem por um processo de mistura mecânica com os microrganismos.

Em última análise, a metodologia é extremamente eficiente quanto à homogeneidade das amostras, porém é menos favorável pela questão da alteração natural do solo. Distúrbio esse que acarreta tensões extras no solo devido ao processo mecânico da mistura e mascara o comportamento típico do solo, uma vez que altera o estado natural de suas tensões, podendo gerar resultados difusos e errôneos quanto à quantificação da resistência geomecânica do solo (LI *et al.*, 2015; MUJAH *et al.*, 2017; YASUHARA *et al.*, 2012).

Figura 6 - Esquema de aplicação da técnica de biocimentação por percolação em solos pré-misturados com bactérias.



Fonte: Yasuhara *et al.* (2012).

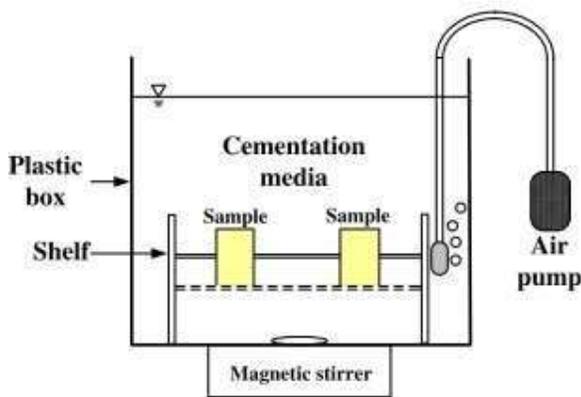
#### 2.4.3.4 Aplicação da Solução através da Submersão de corpos de prova em tanque reator

Esse procedimento de biocimentação trata-se de uma técnica *ex situ* na qual estudos realizados por Li *et al.* (2015) e Zhao *et al.* (2014a) em que corpos de prova de solo arenoso foram submetidos ao processo de pré-mistura. Depois submergidos a um tanque reator para sem gradiente hidráulico para conduzir a fluxo nos corpos de prova, ao passo que a condutividade hidráulica da areia experimentalada foi de 0,001cm/s. Ainda, considerando que os corpos de prova foram revestidos com uma molde flexível no qual permitia a interação entre a solução e o solo.

Observa-se o tanque reator na Figura 7, no qual é necessário o fornecimento de oxigênio para a atividade microbiana e consequente formação de  $\text{CaCO}_3$  nos corpos de prova, uma vez que a urease é uma reação aeróbia.

Quanto aos resultados obtidos através da experimentação de Li *et al.* (2015) e Zhao *et al.* (2014a), obteve-se uma homogeneidade ao longo dos corpos de prova em relação a formação de  $\text{CaCO}_3$ . Já analisando parâmetros geomecânicos, o ensaio de compressão simples ou UCS (do inglês: Unconfined Compression Strength), obteve resultados de magnitude entre 1,76 e 2,04 MPa foram atingidos, os quais qualificam a técnica em relação a comparação similar a outros experimentos com métodos de injeção diversos.

Figura 7 - Tanque reator para submersão dos corpos de prova.



Fonte: Zhao *et al.* (2014a).

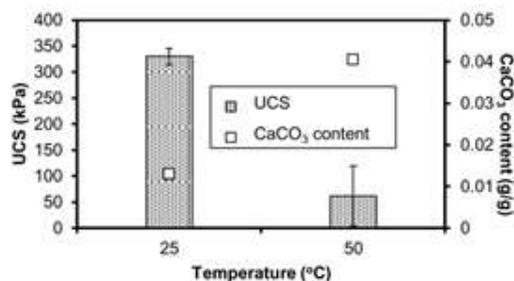
#### 2.4.4 Fatores que afetam o processo de biocimentação

A forma dos cristais de  $\text{CaCO}_3$  formados através da biocimentação é indicador essencial das propriedades geotécnicas e de biorremediação, passíveis de serem atingidos através da técnica MICP. Para isso, diversos fatores afetam a formação, distribuição, tamanho e formato dos cristais formados. Parâmetros como: temperatura, taxa de urease, pH, grau de saturação do solo e concentração da solução biocimentante são os mais estudados (MUJAH *et al.*, 2017).

O efeito da temperatura é complexo no processo de biocimentação e fundamental para o desenvolvimento dos microrganismos e sua consequente taxa de urease, formação de  $\text{CaCO}_3$  e formato dos cristais (MUJAH *et al.*, 2017). Estudos indicam faixas úteis na qual a urease é suscetível para a formação de calcita, entre 25-50°C, com temperaturas superiores passíveis de extinção da atividade microbiana, por causar morte das bactérias. Logo, estudos realizados por Cheng *et al.* (2014b) mostram que a formação de  $\text{CaCO}_3$  foi mais elevada em

temperaturas de 50°C, ao passo que a resistência à compressão simples (UCS) é de magnitude maior para corpos de prova submetidos ao processo de biocimentação em temperatura de 25°C, conforme Figura 8. Fator esse que se deu em relação ao tamanho dos cristais de  $\text{CaCO}_3$  formados durante a biocimentação, os quais obtiveram maiores dimensões, porém menor quantidade para a temperatura de 25°C, resultando no mais eficiente preenchimento dos espaços entre os grãos do solo em questão.

Figura 8 - Resistência à compressão simples e precipitação de  $\text{CaCO}_3$  em relação a temperatura durante o procedimento de aplicação da biocimentação.



Fonte: Cheng *et al.* (2014b).

Quanto à taxa de urease, sabe-se que a maior magnitude resulta no maior índice de precipitação de  $\text{CaCO}_3$ , trazendo uma maior eficácia para a técnica MICP (MUJAH *et al.*, 2017). De acordo com DeJong *et al.* (2011), as células das bactérias funcionam como parte do processo de nucleação, na formação dos cristais. Onde a produção dos íons de  $\text{CO}_3^{2-}$  é consumida pela nucleação e formação dos cristais de  $\text{CaCO}_3$ , devido à sua presença em abundância, resultando no maior índice de precipitação de calcita ( $\text{CaCO}_3$ ).

Logo, o monitoramento da taxa de urease é um parâmetro experimental importante e indicativo da eficácia da técnica. Sob a óptica da biorremediação, alguns metais podem atuar como inibidores da taxa de urease, sendo interessante a verificação e monitoramento do efeito dos contaminantes metálicos na produção da urease.

No quesito do pH, a biocimentação é favorável em ambientes alcalinos, devido ao fato da produção de íons de hidroxila,  $\text{OH}^-$ , gerados através da produção de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) no processo da urease, os quais tornam o ambiente mais propício para a precipitação de  $\text{CaCO}_3$  (MORTENSEN *et al.*, 2011; MUJAH *et al.*, 2017). De acordo com Ferris *et al.* (2004) os íons  $\text{OH}^-$  são responsáveis por esse aumento da alcalinidade do meio, sendo valores mais propícios para a biocimentação localizados entre  $6,5 < \text{pH} < 9$ . Sabendo que o pH influencia no transporte bacteriano e na adesão ao solo das bactérias, ele afeta por consequência a distribuição dos cristais precipitados de  $\text{CaCO}_3$ . Com isso, quanto maior a homogeneidade

durante a precipitação dos cristais, maior será a eficiência da técnica MICP, independente da finalidade.

Ainda, outro fator relevante quanto a eficácia da formação de cristais de  $\text{CaCO}_3$  na biocimentação é o grau de saturação do solo. Estudos dirigidos por Cheng e Cord-Ruwisch (2012) mostraram que o grau de saturação influencia na quantidade, disposição e formato dos cristais formados de acordo com o grau de saturação, sendo estes variados entre 20, 40, 60 e 100% de saturação do solo. O resultado mais eficiente quanto ao requisito da resistência local ( $\text{N/cm}^2$ ) foi com o grau de saturação de 20%, indicando a maior eficácia da técnica em ambientes não saturados, contudo houve a precipitação de  $\text{CaCO}_3$  sob condições saturadas, porém em menor proporção e dispersas.

Outrossim, a concentração dos reagentes da solução biocimentante é um fator que afeta intrinsecamente o processo de biocimentação. Concentrações com molaridades próximas a 1,0 não são tão eficazes para a formação de  $\text{CaCO}_3$ . Já, concentrações menos elevadas dos reagentes biocimentantes proporcionam maior formação de  $\text{CaCO}_3$  e disposição mais uniforme. Estudos realizados por Qabany *et al.* (2012) mostraram que a efetividade é maior em solos arenosos tratados com concentração de 0,5M de reagentes cimentantes (ureia e cloreto de cálcio), comparados com a concentração de 1,0M dos mesmos reagentes. Ressalta-se também que os aspectos positivos pela menor molaridade dos reagentes acarretam em um ganho econômico, pelo uso de menor quantidade de reagentes, trazendo maior viabilidade para o uso da técnica.

#### 2.4.5 Aperfeiçoamento de propriedades geomecânicas do solo

Com relação à aplicabilidade da técnica MICP no campo da engenharia, tanto para o aperfeiçoamento de propriedades geomecânicas do solo, bem como para a biorremediação/solidificação de contaminantes, a precipitação de carbonato de cálcio se dá de duas maneiras distintas: biologicamente controlada ou biologicamente induzida, com o intuito final, a precipitação de  $\text{CaCO}_3$  (MUJAH *et al.*, 2017).

Na biocimentação biologicamente controlada, os microrganismos controlam a nucleação e o processo de crescimento das partículas minerais, sintetizando minerais específicos de acordo com as espécies das bactérias envolvidas; ao passo que na mineralização biologicamente induzida, o processo depende de diversos fatores, tais como: concentração da solução biocimentante, microrganismos, condições ambientais externas, pH do meio, temperatura, dentre outros fatores externos (BARABESI *et al.*, 2007; MUJAH *et al.*, 2017).

Na engenharia, a cepa bacteriana ou espécie bacteriana mais usual é a *Bacillus pasteurii* ou *S. pasteurii* (ACHAL *et al.*, 2012; CIURLI *et al.*, 1996; STOCKS-FISCHER *et al.*, 1999; WHIFFIN, 2004). Aliado às bactérias específicas, a solução biocimentante requer uma larga variedade de nutrientes, sendo os macronutrientes oriundos de fontes naturais, como resíduos de biomassa, ao passo que os micronutrientes são supridos por elementos contidos em água (AL-SALLOUM *et al.*, 2017).

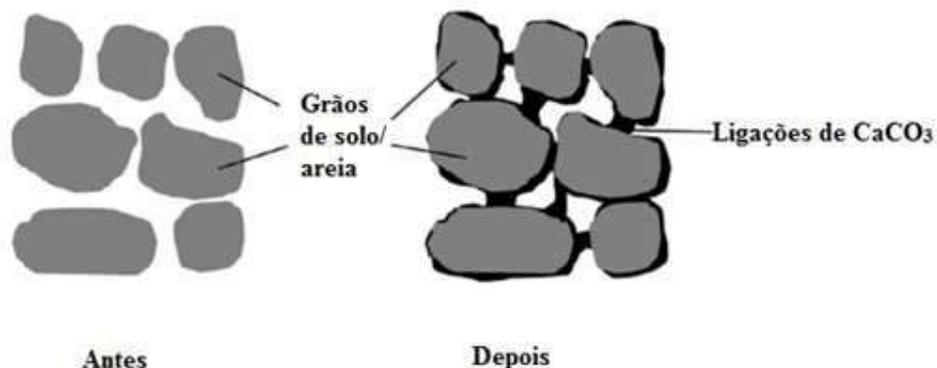
Diversas combinações de concentrações dos nutrientes foram estudadas para a aplicação da biocimentação na engenharia, afetando diretamente o resultado final ( $\text{CaCO}_3$ ), principalmente em relação a concentração de ureia e fonte de cálcio (principais reagentes), aliada com a proporção adequada de microrganismos (bioaumento ou bioestimulação), objetivando que a reação obtenha uma taxa máxima de produção de urease, a qual implica na maior produção de  $\text{CaCO}_3$ .

O resultado final do processo de biocimentação em solos é observado na Figura 9, onde o preenchimento dos vazios entre as partículas do solo se dá através da formação da calcita, trazendo, por consequência, maior intertravamento entre os grãos e em última análise, aperfeiçoando das propriedades geomecânicas. Parâmetros esses, como a redução de permeabilidade dos solos tratados, devido ao processo de ligação da calcita com os grãos do solo, fator esse que culmina na utilização de solos com maior índice de vazios.

A utilização de solos com maior índices de vazios se deve por permitir a ligação entre as partículas do solo, resultando em: redução da permeabilidade; aperfeiçoamento de propriedades de resistência como a rigidez, a resistência ao cisalhamento e o aumento da capacidade de carga do solo; controle de “piping” e controle da erodibilidade (FENG e MONTOYA, 2015; SALIFU *et al.*, 2016; WHIFFIN, 2004).

A aplicação da solução para o melhoramento das propriedades geomecânicas do solo se dá, usualmente, através do método da injeção, sendo por percolação simples (CHENG; CORD-RUWISCH, 2014), ou por meio de fluxo controlado (GOMEZ *et al.*, 2017). Esse processo pode ser aplicado em escala de bancada, bem como em escalas aumentadas, a níveis de campo, para tratamento *in situ*. Interessante notar o estudo realizado por Gomez *et al.* (2017) no qual avaliou a aplicação larga escala da técnica de biocimentação para solo arenoso e obteve resultados expressivos no qual levam a conclusão de que a bioestimulação atingiu patamares de resistência semelhantes ao processo de bioaumento, considerando os parâmetros envolvidos do autor, e leva ao barateamento da técnica, uma vez que o processo de bioaumento encarece a técnica e a torna logisticamente e economicamente menos viável, em se tratando de escalas aumentadas, na possível aplicação a campo.

Figura 9 - Representação esquemática da precipitação de  $\text{CaCO}_3$  em solo arenoso.



Fonte: Krajewska, (2017).

Sobre a abordagem das propriedades geomecânicas e os estudos com maior evidência desenvolvidos, a Tabela 4 apresenta uma variedade de experimentações realizadas na área, com características peculiares como: tipo de solo, bactérias, solução biocimentante e resultados obtidos. É possível inferir que primordialmente utiliza-se a bactéria *S. pasteurii* para o desenvolvimento da técnica de biocimentação em solos arenosos.

Ainda, a técnica pode ser realizada com a bioaumento ou não (segunda forma essa, mais econômica e viável em âmbitos práticos) trazendo resultados geomecânicos de resistência e redução da permeabilidade. Observa-se ainda que molaridades diversas foram utilizadas e principalmente quanto a fonte de cálcio da solução biocimentante, a magnitude mais adequada encontra-se entre 0,5 e 1 mol/L, em última análise, produzindo resistências e controle de permeabilidade mais eficientes. Também é possível inferir que o método de aplicação da solução biocimentante é estudado sob diferentes perspectivas e aquele com maior eficiência é através da percolação da solução biocimentante nos corpos de prova, seja ela através de fluxo controlado ou livre percolação, os quais são passíveis de aplicação *in situ*

Tabela 4 - Resumo dos principais estudos em biocimentação para aperfeiçoamento de propriedades mecânicas do solo.

Método de tratamento	Tipo de solo	Cepa bacteriana	Bioaumentação	Ureia (Molaridade)	Fonte de Cálcio (Molaridade)	Ensaio	Propriedades geotécnicas	Ref.
Injeção através de bombas/percolação com fluxo controlado.	Arenoso, granulado de fina para média, $d_{50}=0.166$ mm.	<i>S. pasteurii</i>	Sim.	Ureia com molaridade de: 1 mol L <sup>-1</sup> .	Cloreto de Cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) com molaridade de: 1 mol L <sup>-1</sup> .	-Avaliação da velocidade de onda cisalhante (V <sub>s</sub> ); -UCS (Testes de compressão simples); -Correlações para módulos de elasticidade (E).	-V <sub>smédio</sub> = 395ms <sup>-1</sup> , na camada superficial aos 16 dias de tratamento; -UCS máx.= 12,4 MPa; -E <sub>50</sub> = 8,500MPa; -E <sub>ur</sub> = 13,500MPa;	(HARKES <i>et al.</i> , 2010)
Injeção através de bombas/percolação com fluxo controlado.	Solo composto com areia e argila, variando $0,02 < d_{50} < 1,34$ .	<i>S. pasteurii</i>	Tratamentos com bioaumentação de 3,5x10 <sup>7</sup> (cells/ml) e com estimulação de microrganismos nativos <i>in situ</i> .	Ureia com molaridade de 0,35 (mM);	Cloreto de Cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) com molaridade de: 0,25 (mM);.	-Ensaio de Penetração do Cone (CPT) (q <sub>c</sub> ); -Avaliação da velocidade de onda cisalhante (V <sub>s</sub> ); -Quantificação de calcita.	-V <sub>smáx.</sub> = 1,028ms <sup>-1</sup> , sem bioaumentação; -V <sub>smáx.</sub> = 967ms <sup>-1</sup> , com bioaumentação; -q <sub>cmáx.</sub> estimulado= 11,4MPa; -q <sub>cmáx.</sub> bioaumentado= 16MPa; -Calcita= >5,2% para ambos tratamentos.	(GOMEZ <i>et al.</i> , 2017)

Tabela 4 - (Continuação).

Método de tratamento	Tipo de solo	Cepa bacteriana	Bioaumentação	Ureia (Molaridade)	Fonte de Cálcio (Molaridade)	Ensaio	Propriedades geotécnicas	Ref.
<b>Enzimas pré-misturadas com a areia e após injeção da solução de Cloreto de Cálcio (CaCl<sub>2</sub>) e Ureia.</b>	Areia de Toyoura com diâmetro médio de 0,20mm.	Sem bactérias; uso de enzimas ureolíticas.	Enzimas ureolíticas em quantidades de 0,5 e 1 (g/100 ml de solução).	Ureia variando concentração entre 0,5 e 1 (mol/L).	Cloreto de Cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) variando concentração entre 0,5 e 1 (mol/L).	-UCS; -Permeabilidade;	-400kPa<UCS<1,6MPa; -Condutividade hidráulica inicial de 0,04 cm/s reduzida na faixa de 60 a 70%.	(YASUHARA <i>et al.</i> , 2012; ZHANG <i>et al.</i> , 2013)
<b>Pré-mistura, na ordem: bactérias + solo + solução cimentante.</b>	Dois solos utilizados, solo 1 com 47,1% de areia e o solo 2 com 17,48% restantes de sílica e argila.	<i>S. pasteurii</i>	Tratamentos com bioaumentação, variando a concentração entre 1x10 <sup>5</sup> , 1x10 <sup>6</sup> e 1x10 <sup>7</sup> cfu/ml.	Ureia com variação de 0,25; 0,5; 0,75 e 1M.	Cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) com variação de 0,25; 0,5; 0,75 e 1M.	-UCS;	-UCS solo 1: 3,72MPa para 0,5M de concentração da solução e 7 dias de cura; -UCS solo 2: 2,24MPa para 0,5M de concentração da solução e 7 dias de cura;	(SHARMA, 2016)
<b>Injeção através de percolação com o fluxo controlado.</b>	Solo arenoso, d <sub>50</sub> =0,15 mm.	<i>S. pasteurii</i>	Sim. Variando OD <sub>600</sub> de 0 até 2.	Ureia, variando entre: 0,5; 1; 1,5; 2 e 2,5 (mol/L).	Cloreto de Cálcio (CaCl <sub>2</sub> ), variando entre: 0,5; 1; 1,5; 2 e 2,5 (mol/L).	-UCS; -XRD; -SEM; -%CaCO <sub>3</sub>	-UCS <sub>máx</sub> = 18MPa para a maior concentração da solução; -Decréscimo na permeabilidade de 2,17x10 <sup>-5</sup> para 9,22x10 <sup>-6</sup> ao passo que se aumentou a concentração da solução de 1,5 para 2,5 mol/L.	(DUO <i>et al.</i> , 2018)

Os resultados da Tabela 4 mostraram que as melhores resistências à compressão simples (UCS) foram obtidas com otimizações da concentração molar da solução biocimentante (ureia e cloreto de cálcio), pelo método da injeção (tanto pela percolação, como pelo fluxo controlado).

Nota-se, ainda, que não foram desenvolvidos estudos referentes à otimização da concentração máxima de bactérias (casos de bioaumento) em relação à produção máxima de  $\text{CaCO}_3$ , bem como consórcios de bactérias também não foram avaliados quanto a suas respectivas capacidades biocimentantes.

#### 2.4.6 Remediação de contaminantes metálicos

Diversas técnicas são usuais para a Solidificação/Estabilização de metais tóxicos em solos contaminados, como: emprego de geopolímeros, técnicas sustentáveis com o reaproveitamento de resíduos de diversos segmentos, técnicas tradicionais de cimentação do solo e ainda a técnica de biocimentação (MWANDIRA *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2018). Sendo a principal vantagem do uso de técnicas de biorremediação a redução nos custos em comparação com técnicas tradicionais, sendo executadas *in situ* e *ex situ*, além de poder ser utilizada em conjunto com outras formas de tratamento (MANI; KUMAR, 2014).

O princípio de funcionamento da biorremediação via biocimentação se dá pela redução da biodisponibilidade através da imobilização dos metais durante a precipitação da calcita. De acordo com estudo feito por Zhu *et al.* (2016), íons metálicos de  $\text{Ni}^{2+}$ , durante o procedimento da biocimentação, se aproximaram dos íons de  $\text{Ca}^{2+}$ , resultando na incorporação dos íons metálicos pela estrutura da calcita ( $\text{CaCO}_3$ ), com consequência na sua imobilização através da transformação mineralógica da junção entre o contaminante metálico e a calcita. Nesse mesmo procedimento experimental, o montante inicial de contaminante (Níquel) era de  $900 \text{ mg.kg}^{-1}$ , e após o tratamento, a somatória do contaminante resultou em  $38 \text{ mg.kg}^{-1}$ , indicando a eficácia da técnica quanto à imobilização do contaminante.

Ainda, diversas bactérias são utilizadas no processo de biorremediação, como no estudo realizado por Kang *et al.* (2016) em que um consórcio de bactérias foi utilizado para a imobilização de três diferentes metais (Cd, Cu e Pb), também em consórcio; obtendo índices imobilização na proporção de: 98,3% de Pb, 85,4% de Cd e 5,6% de Cu. O experimento foi realizado em solo predominantemente arenoso, como é o viés de aplicação da técnica MICP.

A Tabela 5 mostra a síntese dos principais trabalhos desenvolvidos no campo da imobilização de metais tóxicos fazendo uso da técnica da biocimentação. Nota-se que há uma variabilidade em relação ao uso de diversas espécies de bactérias e diferentes compostos metálicos imobilizados, mostrando, experimentalmente, que a técnica é promissora também no quesito de solidificação e imobilização de solos contaminados.

Ainda, metais normalmente são inibidores da atividade ureolítica, o que pode afetar na taxa de urease e consequente formação de  $\text{CaCO}_3$ . Logo, estudos são voltados para a otimização da produção bacteriana em relação a concentrações máximas/ótimas de metais, visando um melhor desempenho na imobilização (KANG *et al.*, 2016).

Tabela 5 - Resumo dos principais estudos de biorremediação através da biocimentação.

Cepa bacteriana	Metal/Características	Meio	Teste	Resultados	Ref.
<i>Sporosarcina ginsengisoli</i>	Metal: As; Crescimento bacteriano sob alta concentração (50mM) de As.	Solo granular.	ATR-FTIR e XRD.	Redução de 66% da concentração inicial de As. Formação de diversos minerais: calcita, vaterite, aragonite e gwihabaite [(NH <sub>4</sub> K)NO <sub>3</sub> ].	(ACHAL <i>et al.</i> , 2012)
<i>Kocuria flava</i>	Metal: Pb; Crescimento bacteriano sob alta concentração (50mM) de Pb.	Solo granular.	Monitoramento da atividade ureolítica e XRD.	Crescimento da atividade ureolítica na presença de Pb pelo período de 7 dias; Identificação da formação de PbCO <sub>3</sub> , além de calcita e gwihabaite [(NH <sub>4</sub> ,K)NO <sub>3</sub> ].	(ACHAL <i>et al.</i> , 2012)
<i>Lysinibacillus sphaericus CH-5</i>	Metal: Cd;	Areia.	Monitoramento da atividade ureolítica, SEM e XRD.	Taxa máxima de produção de urease de: 2,49µmol/min; Remoção de 99,95% de Cd.	(KANG <i>et al.</i> , 2014)
<i>Viridibacillus arenosi B-21, Sporosarcina soli B-22, Enterobacter cloacae KJ-46 e E. cloacae KJ-47</i>	Metais: Pb, Cd e Cu; Mistura de bactérias para a remoção dos metais.	Areia.	Densidade ótica, pH, atividade ureolítica, produção de calcita e tolerância dos metais.	Potencial de remoção dos metais entre 5,56% a 98,25% em 48hrs, sendo: -98,3% de Pb; -85,4% de Cd; -5,6% de Cu.	(KANG <i>et al.</i> , 2016)
<i>Pararhodobacter sp.</i>	Metal: Pb; Remoção completa de 1036 mg/L de Pb.	Solo Arenoso.	SEM, XRD e UCS (testes de compressão simples).	SEM e XRD comprovaram a transformação dos íons de Pb <sup>2+</sup> em uma forma mais estável do elemento bioprecipitado; Ensaio de Resistência à compressão simples (UCS) atingiram patamares entre 1,33 a 2,87 MPa, variando a composição de solo granular.	(MWANDIRA <i>et al.</i> , 2017)

#### 2.4.7 Formas de monitoramento da urease na biocimentação

A atividade ureolítica na biocimentação tem um papel fundamental para a produção final de CaCO<sub>3</sub>, uma vez que a alta taxa de urease corresponde a uma maior taxa de precipitação de calcita (ACHAL; PAN, 2014; ZOHEIR *et al.*, 2013). As formas de medição e monitoramento da urease podem ser realizadas de dois modos alternativos: qualitativamente e quantitativamente.

Em relação à forma qualitativa, essa serve para a confirmação da ocorrência da atividade ureolítica no meio, sem quantificar a taxa. Normalmente utiliza-se o método UAB (do inglês: Chirstensen's Urea Agar Base), que indica a atividade enzimática através da coloração dos corpos de prova, pela reação com o vermelho de fenol (do inglês: phenol red), indicando qualitativamente a ocorrência da urease.

Referente à forma quantitativa para medição e monitoramento da urease, essa costuma ser realizada por três métodos: a) monitoramento da condutividade elétrica (WHIFFIN, 2004; WHIFFIN *et al.*, 2007); b) medição direta da ureia (GOMEZ *et al.*, 2017; KNORST *et al.*, 1997); c) produção de amônio (MWANDIRA *et al.*, 2017; ZHU *et al.*, 2016).

Ainda, os métodos podem ser utilizados em conjunto, com a identificação qualitativa da atividade ureolítica, após a quantificação dessa atividade, de acordo com método sugerido por Knorst *et al.* (1997) e replicado por Gomez *et al.* (2017). A aplicação das técnicas de monitoramento é utilizada tanto para a finalidade de aperfeiçoamento geomecânico do solo, quanto para biorremediação, conforme sumarizado na Tabela 6.

Ressalta-se que todas as técnicas são viáveis, mas dependem de curvas de calibração para cada caso específico a ser monitorado. A forma mais rápida é através da condutividade elétrica, quantificando, indiretamente, a geração de íons de  $\text{NH}_4^+$  durante a hidrólise de ureia.

Tabela 6 - Resumo dos principais estudos sobre monitoramento de atividade ureolítica na biocimentação.

Método de medição	Unidade	Aplicação	Características	Ref.
Condutividade elétrica	Condutividade elétrica da solução biocimentada aplicada (S/cm).	Avaliação de propriedades mecânicas do solo.	-Avaliação das propriedades mecânicas do solo através da variação de fatores como: concentração de bactérias, concentração da solução, tempo de reação, formas de cura e tipo de solo.	(ZHAO <i>et al.</i> 2014)
Produção de amônio	Determinação de uma curva aonde uma unidade de atividade ureolítica (U) é determinada de acordo com a quantidade de enzimas necessárias para hidrolisar 1 $\mu$ mol de ureia por minuto.	Biorremediação de Pb.	-Avaliação da atividade ureolítica durante o processo de biorremediação;  -A atividade ureolítica não foi afetada em demasia devida a presença de Pb.	(MWANDIRA <i>et al.</i> 2017)
Condutividade elétrica e degradação de ureia	Condutividade elétrica ( $\mu$ S/cm), e degradação de ureia (mM de ureia	Avaliar a eficiência ureolítica da bactéria <i>Bacillus megaterium</i> em condições óxidas e anóxicas.	-Atividade ureolítica em condições anóxicas mais eficientes correlacionado com maior atividade ureolítica.	(JIANG <i>et al.</i> , 2016)
Medição direta de ureia	Diminuição na concentração de ureia (mM).	Avaliação de propriedades mecânicas do solo.	-Avaliação de propriedades mecânicas do solo através de comparação em larga escala com corpos de prova com bioamento e através de estimulação de microrganismos nativos do solo.	(GOMEZ <i>et al.</i> , 2017)
Condutividade elétrica	Condutividade elétrica da solução biocimentada aplicada (S/cm).	Avaliação de graus de biocimentação.	-Estudo da influência da concentração química, tempo de retenção e atividade ureolítica da produção de CaCO <sub>3</sub> .	(QABANY <i>et al.</i> , 2012)
Produção de amônio	Quantidade produzida de NH <sub>3</sub> -N g <sup>-1</sup> em mg.	Biorremediação de Ni.	-Avaliação da atividade ureolítica no processo de imobilização do metal.	(ZHU <i>et al.</i> , 2016)

#### 2.4.8 Considerações

A vasta aplicabilidade da técnica de biocimentação em diferentes campos da Engenharia foi abordada na revisão bibliográfica, evidenciando diversos aspectos positivos e algumas indagações quanto a futuras aplicações. Em relação a isso, observa-se que no campo da biomineralização de contaminantes metálicos, há várias lacunas relacionadas à eficácia da técnica ao longo da profundidade dos maciços de solo, ao passo que a lixiviação dos contaminantes é suscetível de ocorrência.

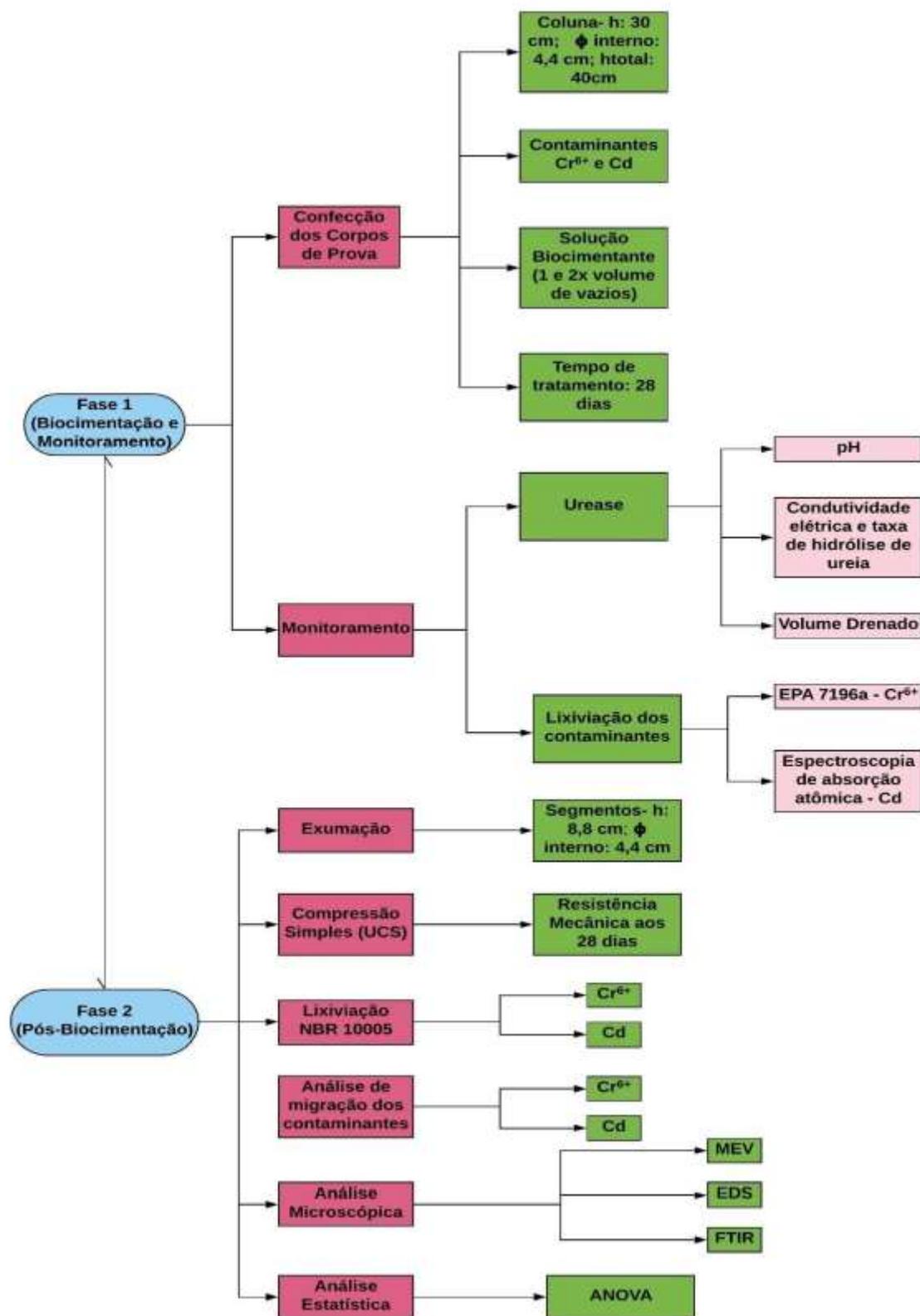
Logo, estudos que investiguem o transporte da solução e dos contaminantes e *a posteriori* verificação da eficácia da técnica são de essencial importância para a viabilização do método.

Outrossim, no campo da experimentação, há evidência da eficácia do método quanto a melhoria de propriedades geomecânicas do solo, bem como quanto à Solidificação/Estabilização de contaminantes inorgânicos. Com base nos dois espectros de aplicação, a presente dissertação aborda a questão do transporte da solução biocimentante enquanto que Solidifica/Estabiliza metais tóxicos; monitorando aspectos: biológicos, como a degradação da ureia, e a influência dos metais como inibidores dos microrganismos; transporte e lixiviação dos contaminantes e aspectos geomecânicos.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

O processo metodológico e os materiais da dissertação são apresentados de acordo com o Fluxograma da Figura 10. As etapas estão descritas nos itens subsequentes. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Geotecnia Ambiental e Saneamento Ambiental e no Laboratório de Geotecnia do Centro Tecnológico de Engenharia Civil (CETEC) da Universidade de Passo Fundo, Campus I.

Figura 10 - Fluxograma metodológico da dissertação.



### 3.1 Materiais

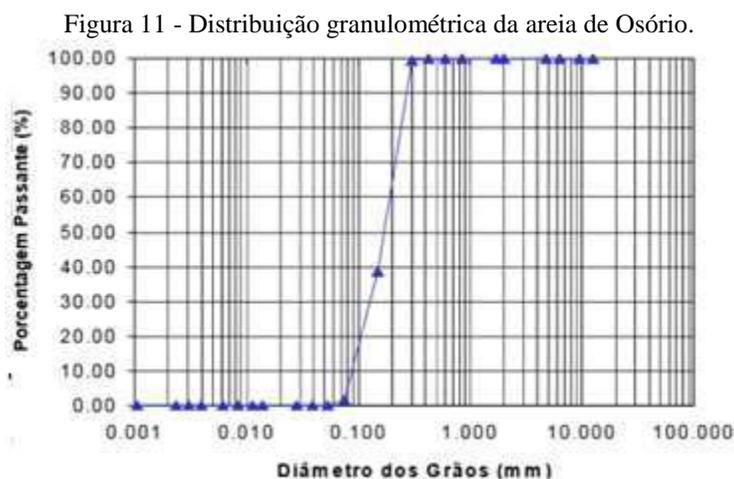
Para o desenvolvimento da pesquisa, os seguintes materiais foram utilizados: areia de Osório; solução biocimentante; e contaminantes inorgânicos: cromo hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ) e cádmio (Cd).

#### 3.1.1 Areia de Osório

O solo utilizado na dissertação é a areia oriunda da cidade de Osório (coordenadas geográfica da cidade: 29° 54' 1" Sul, Longitude: 50° 16' 26" Oeste), situada no estado do Rio Grande do Sul. Justifica-se a escolha desse solo devido à estudo prévio realizado por Pacheco, Decol e Thomé (2018) em que mostrou a eficácia quanto a resistência geomecânica do solo em questão.

O quartzo, mineral fundamental da areia, confere características ao solo de ser inerte. Permitindo, por sua vez, a caracterização da interação entre a solução biocimentante e o solo, bem como a identificação do transporte dos contaminantes metálicos. A caracterização do material é conhecida e amplamente estudada (CRUZ, 2008), além de conter intrinsecamente a bactéria *S. pasteurii*, essencial para o mecanismo da biocimentação.

Já a análise granulométrica do material foi realizada em concordância com a norma NBR 7181/2016 e é apresentada na Figura 1. Enquanto que os índices físicos são mostrados na Tabela 7.



Fonte: Cruz, (2008).

Tabela 7 - Índices físicos da areia de Osório.

Índices Físicos	Areia de Osório
Massa específica real dos grãos	2,65 g/cN <sup>3</sup>
Coefficiente de uniformidade, C <sub>u</sub>	2,11
Coefficiente de curvatura, C <sub>c</sub>	1,15
Diâmetro médio, D <sub>10</sub>	0,09 mm
Diâmetro médio, D <sub>50</sub>	0,17 mm
Índice de vazios mínimo, e <sub>mín</sub>	0,60
Índice de vazios máximo, e <sub>máx</sub>	0,85

Fonte: CRUZ, 2008.

### 3.1.2 Solução Biocimentante

A biocimentação foi realizada pela técnica de bioestimulação dos microrganismos nativos presentes na areia de Osório sem a necessidade de bioaumento. A composição da solução de biocimento está apresentada na Tabela 8, à qual consistiu, principalmente, na fonte de ureia e cálcio, segundo as Equações (01) e (02). Juntamente com os nutrientes para bioestimar o crescimento dos microrganismos nativos do solo e a consequente precipitação de CaCO<sub>3</sub>.

Tabela 8 - Composição da Solução Biocimentante.

Reagente (g)	Concentração química (g/L)	pH da solução
Peptona	2	6.8
Extrato de levedura	1	
NH <sub>4</sub> Cl	10	
NaHCO <sub>3</sub>	2.12	
(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO	30.00	
CaCl <sub>2</sub>	56	

Fonte: (AMARAKOON; KAWASAKI, 2018; PACHECO; DECOL; THOMÉ, 2018).

### 3.1.3 Contaminantes inorgânicos

Os contaminantes inorgânicos utilizados na pesquisa foram: cromo hexavalente (Cr<sup>6+</sup>) e o cádmio (Cd). A Tabela 9 mostra os limites de intervenção industrial para concentrações de contaminantes contidos em solos de acordo com a CETESB e a Resolução/420 do CONAMA.

Experimentalmente, foram adotados os respectivos limites recomendados, multiplicados por 2, para a intervenção industrial, visando avaliar a capacidade de imobilização dos mesmos e a consequente eficácia da técnica de biocimentação como meio de Solidificação/Estabilização.

A solução de  $\text{Cr}^{6+}$  foi preparada por 28,28 g de dicromato de potássio seco ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) em  $\text{H}_2\text{O}$  e diluída para 1 L, permanecendo a concentração final de 1000mg/L de  $\text{Cr}^{6+}$ , de acordo com o método 7196a (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1992a). Já a solução de Cd usada na experimentação foi uma solução padrão de cádmio da Specsol® composta por  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  em  $\text{HNO}_3$  0,5 mol / L e 1000mg/L Cd.

Tabela 9 - Limites de Intervenção e Concentração experimental.

Contaminante inorgânico	Limite de Intervenção (mg.kg <sup>-1</sup> )	Concentração experimental (mg.kg <sup>-1</sup> )	Ref.
Cromo hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ )	10	20	(CETESB, 2014)
Cádmio (Cd)	20	40	(CONAMA, 2009)

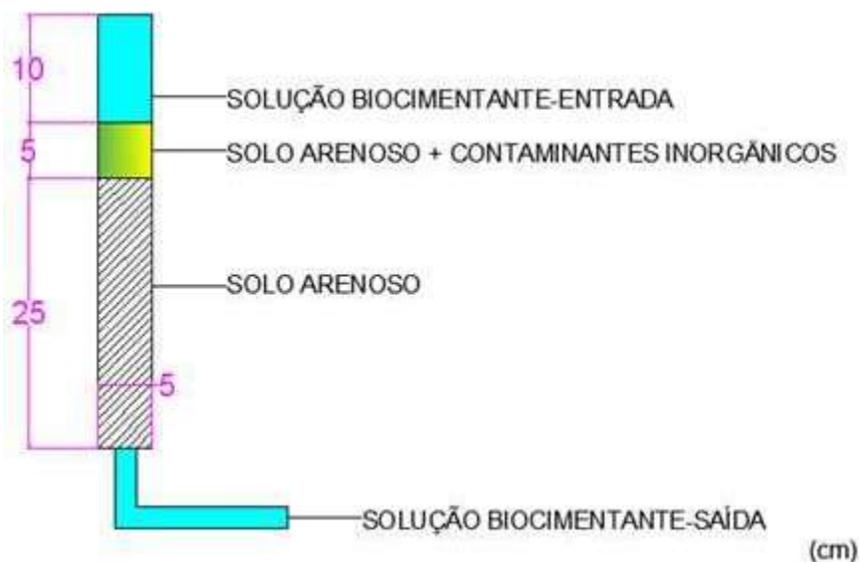
## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Concepção da coluna de biocimentação e planejamento experimental

A parte experimental iniciou-se com a confecção dos corpos de prova, sendo denominados por colunas de biocimentação, com 30 cm de altura de solo e 4,4 cm de diâmetro interno ( $\emptyset$ ), compondo a altura total de 40 cm, com os 10 cm superiores dispostos para a aplicação e percolação da solução biocimentante (Figura 12). Os corpos de prova foram moldados com densidade relativa de 50%, e umidade inicial de 10%, enquanto que as injeções da solução biocimentante (Tabela 8) foram aplicadas no montante de 1 e 2 vezes o índice de vazios.

Considerando o tratamento intercalado a cada 2 dias, totalizadas 14 injeções de solução biocimentante durante 28 dias. Observa-se que o volume correspondente a 1x o índice de vazios é de 230 mL e o volume de 2x o índice de vazios é de 460 mL. Ainda, toda experimentação foi conduzida sob temperatura ambiente do laboratório, definida em 23°C.

Figura 12 - Coluna de Biocimentação.



A solução foi aplicada por percolação gravitacional, ou seja, sem a utilização de pressão por bombas peristálticas. Os parâmetros experimentais foram estabelecidos com base em estudos prévios de autores, considerando os quesitos de aumento de propriedades geomecânicas e encapsulação de metais contaminantes (MWANDIRA *et al.*, 2017; TERZIS; LALOUI, 2018; YASUHARA *et al.*, 2012; ZHU *et al.*, 2016).

Os corpos de prova foram moldados em tubos de PVC com as dimensões supracitadas, seccionados em toda extensão longitudinal, devidamente vedados com abraçadeiras, compostos por geotêxtil na base (com o objetivo de evitar o carreamento de partículas) e alocados em CAPs de PVC (perfurados na base para permitir a passagem da solução biocimentante lixiviada) (Figura 13).

Figura 13 - Coluna de biocimentação moldada.



A pesquisa foi conduzida sob o delineamento de um experimento fatorial completo  $2^3$ , que avaliou o efeito de três fatores principais (variáveis independentes):  $\text{Cr}^{6+}$  ( $X_1$ ), Cd ( $X_2$ ) e volume de solução de biocimento ( $X_3$ ), conforme Tabela 10.

Tabela 10 - Níveis das variáveis independentes e valores codificados para o experimento fatorial completo  $2^3$ .

Fator	Fator codificado	Nível	
		-1	1
$\text{Cr}^{6+}$ ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	$X_1$	0	20
Cd ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	$X_2$	0	40
Volume da solução (mL)	$X_3$	230	460

A pesquisa permitiu avaliar a influência de metais tóxicos e o volume da solução em vários parâmetros (variáveis dependentes) como: atividade ureolítica da solução lixiviada (por exemplo: pH, condutividade elétrica, taxa hidrolisada de ureia e lixiviação de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd durante o processo. de biocimentação); a resistência à compressão não confinada (UCS); análise de migração dos contaminantes através da extração alcalina/ácida de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd; análise da formação dos minerais e imobilização dos mesmos através da análise microscópica. Para tal, os experimentos foram realizados de acordo com a Tabela 11, sendo realizados em triplicatas.

Tabela 11 - Planejamento experimental completo 2<sup>3</sup>.

Corridas	Experimentos codificados	Fatores codificados			Fatores não codificados		
		X <sub>1</sub> [Cr <sup>6+</sup> ]	X <sub>2</sub> [Cd]	X <sub>3</sub> [Volume da solução]	X <sub>1</sub> [Cr <sup>6+</sup> ] (mg.kg <sup>-1</sup> )	X <sub>2</sub> [Cd] (mg.kg <sup>-1</sup> )	X <sub>3</sub> [Volume da solução] (mL)
1	A 01 (Branco)	-1	-1	-1	0	0	1x volume de vazios
2	A 02	+1	-1	-1	20	0	1x volume de vazios
3	A 03	-1	+1	-1	0	40	1x volume de vazios
4	A 04	+1	+1	-1	20	40	1x volume de vazios
5	B 01 (Branco)	-1	-1	+1	0	0	2x volume de vazios
6	B 02	+1	-1	+1	20	0	2x volume de vazios
7	B 03	-1	+1	+1	0	40	2x volume de vazios
8	B 04	+1	+1	+1	20	40	2x volume de vazios

Os fatores analisados correlacionaram as interações com as variáveis dependentes, principalmente o fator X<sub>3</sub>, pois geralmente a quantidade necessária para biocimentar um solo arenoso está relacionado à razão de vazios 2x o volume de solução biocimentante (GOMEZ et al., 2017; van PAASSEN et al., 2010). Porém, na presente pesquisa, essa quantidade poderia contribuir para a lixiviação dos contaminantes (X<sub>1</sub> e X<sub>2</sub>). Além disso, a interação entre o Cr<sup>6+</sup> e o Cd foi estudada, pelos contaminantes combinados e separados.

Subsequentemente à moldagem, confecção da bancada e planejamento experimental, foi desenvolvida uma rodada de experimentação para alocar 12 corpos de prova (correspondentes à metade dos experimentos) com a consequente biocimentação dos corpos de prova com 1x o volume de solução e suas triplicatas e posterior biocimentação dos corpos de prova com 2x o volume de solução biocimentante e as correspondentes triplicatas. Logo, a bancada está apresentada na Figura 14.

Figura 14 - Bancada de experimentação.



### 3.2.2 Monitoramento da atividade ureolítica (Fase 1)

O processo de monitoramento foi realizado durante a aplicação da solução biocimentante por gravidade, aqui denominadas “injeções”, no total de 28 dias (14 injeções espaçadas temporalmente em 2 dias). As soluções lixiviadas foram coletadas em béqueres de 500 mL (Figura 15).

Figura 15 - Coleta da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da solução biocimentante.



O monitoramento da solução biocimentante foi dado a partir da avaliação da atividade ureolítica (pH e condutividade elétrica), bem como do controle da diminuição da permeabilidade do solo com o processo de biocimentação através da avaliação do volume drenado.

O pH foi medido através do eletrodo do pHmêtro de bancada da Sanxim® (Sanxim, Japão) após a aplicação e percolação da solução de biocimento durante as 14 injeções de percolação. A metodologia foi a mesma para a medição da condutividade elétrica. Esse parâmetro corresponde à produção de amônio e está associado à razão de ureia hidrolisada, segundo a Equação (04) (TERZIS; LALOU, 2018; WHIFFIN, 2004), derivando assim na variável de resposta de hidrólise de ureia. A hidrólise de 1 mol de ureia corresponde à liberação de dois mols de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), o qual resulta no aumento da condutividade elétrica da solução biocimentante lixiviada (TERZIS; LALOU, 2018). Ainda, o volume drenado foi contabilizado pela diferença entre a quantidade de solução inicial a percolar e a quantidade final lixiviada (por exemplo, de acordo com o fator  $X_3$ ).

$$\text{Urea (mmols)} = \text{deltaEC (mS/cm)} \times 11.11 \quad (04)$$

Subsequentemente, a lixiviação de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd durante o processo de biocimentação foi analisada pelas amostras coletadas das 14 injeções de solução de biocimento em todos os corpos de prova. A quantidade de  $\text{Cr}^{6+}$  lixiviada foi determinada pelo método 7196a (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1992a) (Apêndice A), e pelo espectrofotômetro UV-1600 da Pro-Tools® (Pró-Análise, Brasil), com metodologia baseada no conceito colorimétrico de amostras com concentrações entre 0,5 até 50 mg  $\text{Cr}^{6+}$ /L, sendo necessária a realização de curva padrão (Figura 16).

Além disso, a quantidade de Cd lixiviado foi determinada de acordo com a ASTM D4691 (ASTM, 2017) pelo espectrômetro de absorção atômica AAS 200 da PerkinElmer® (PerkinElmer, EUA) (Apêndice B), realizado pelo Laboratório de Solos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo. Observa-se que a realização dos ensaios dependeu estritamente do corpo de prova e sua consequente presença de  $\text{Cr}^{6+}$ , Cd ou ambos contaminantes, de acordo com a Tabela 11.

Figura 16 - Amostras lixiviadas dos corpos de prova para análise de  $\text{Cr}^{6+}$ .



### 3.2.2 Pós-Biocimentação (Fase 2)

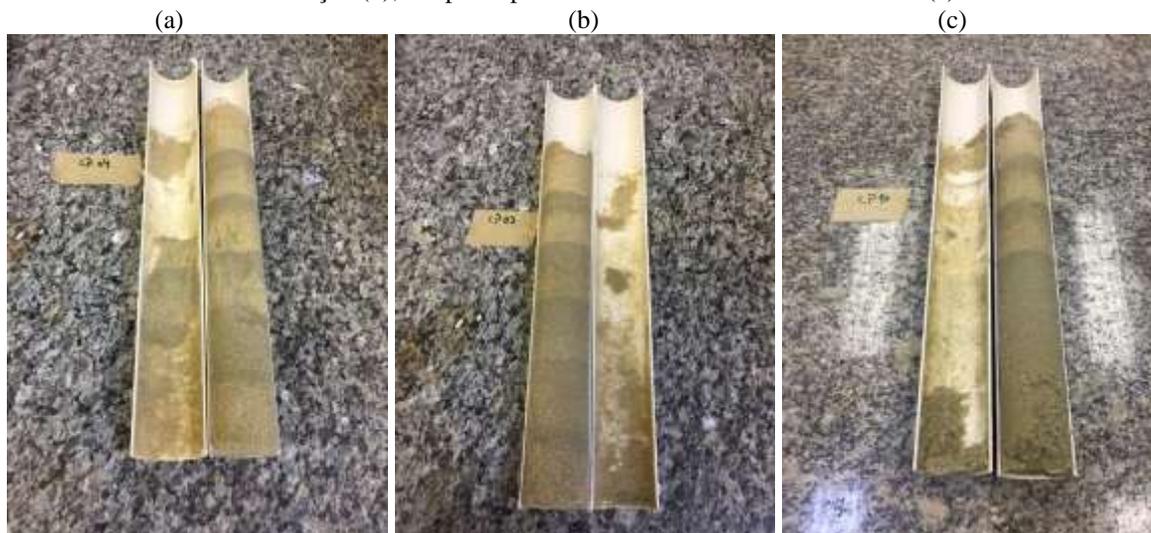
A Fase 2 corresponde à sequência de procedimentos posteriores à biocimentação e conta com a exumação dos corpos de prova/colunas de biocimentação, ensaio de ruptura dos corpos de prova por compressão simples (UCS), lixiviação de resíduos sólidos de acordo com a NBR 10005, análise de migração dos contaminantes no solo e análise microscópica (Figura 11). Os itens subsequentes descrevem tais etapas separadamente.

#### 3.2.2.1 Exumação

Cronologicamente, após a execução da Fase 1 (28 dias de tratamento) as colunas foram exumadas (Figura 17). O processo deu-se para todos os corpos de prova biocimentados, totalizando 24 colunas de biocimentação, com suas respectivas triplicatas (Tabela 11).

Após a exumação, o intuito inicial era moldar 3 segmentos com 8,8 cm de altura [considerando a relação 2:1 (altura:diâmetro), com diâmetro interno ( $\emptyset$ ) de 4,4 cm]. Porém, observa-se, pela Figura 17, que a biocimentação não ocorre de forma homogênea e principalmente nos corpos de prova biocimentados com 1x o volume de vazios (a homogeneidade é deficitária), à qual compromete o seccionamento dos segmentos, sobretudo na parte inferior das colunas de biocimentação.

Figura 17 - Corpo de prova exumado contaminado com  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd (a); (b) Corpo de prova exumado sem contaminação (b); Corpo de prova exumado contaminado com  $\text{Cr}^{6+}$  (c).



Logo, a Tabela 12 apresenta os horizontes denominados na experimentação para classificar as profundidades dos corpos de prova exumados das colunas de biocimentação. Logo, para as colunas de biocimentação com 1x o volume de vazios de solução biocimentante foi possível a retirada de corpos de prova da camada “superior” e “média”. Já, para os corpos de prova com 2x o volume de solução, corpos de prova foram retirados de todas as 3 camadas.

Tabela 12 - Nomenclatura dos horizontes da coluna de biocimentação.

Coluna de Biocimentação	Profundidade (cm)	Nomenclatura
Solo inicialmente contaminado + solo não contaminado	0-10	Superior
Solo inicialmente não contaminado	10-20	Média
Solo inicialmente não contaminado	20-30	Inferior

### 3.2.2.2 Ensaio de compressão simples

Após o processo de biocimentação (28 dias), é necessário um processo de cura (AL QABANY; SOGA; SANTAMARINA, 2012; NG; LEE; HIL, 2012). Para tanto, foi adotado como processo de cura o período de 28 dias (por exemplo, o tempo de cura usual para materiais cimentícios) em uma temperatura ambiente de 23°C, sem a exumação das colunas de biocimentação. Devido às dimensões das amostras (por exemplo, colunas de 30 cm de altura e

4,4 cm de diâmetro) e de acordo com a metodologia da UCS ASTM D2166 / D2166M-13 (ASTM, 2013) para testes de compressão não confinados e não drenados, as amostras foram seccionadas em três horizontes dos segmentos (Tabela 12) (por exemplo, para obter a proporção 2:1 - comprimento: diâmetro; neste caso: 8,8: 4,4 cm) (Figura 18), 3 dias precedentes aos ensaios de compressão simples.

Figura 18 - Amostras para a submissão ao ensaio de compressão simples aos 28 dias.



### 3.2.2.3 Ensaio de lixiviação dos contaminantes imobilizados – NBR 10005

A análise de lixiviação dos metais encapsulados através da biocimentação, como técnica de Solidificação/Estabilização, foi realizada após os ensaios destrutivos de compressão simples, com base na normativa da ABNT NBR 10005 apenas para os resultados oriundos de 1x o volume da solução biocimentante (tal discussão é apresentada no item 4.2.2). Ainda, a classificação dos contaminantes está em concordância com a norma ABNT NBR 10004, à qual os denomina como resíduos sólidos de acordo com suas classes e o procedimento metodológico seguiu o procedimento do órgão ambiental americano EPA (THE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY), o qual é denominado como Toxicity Characteristic Leaching Procedure-TCLP, sendo um ensaio de lixiviação estático.

O procedimento consistiu na trituração dos resíduos oriundos das colunas de biocimentação e posterior passagem em peneira de 9,5 mm. Após, a amostra foi lixiviada com uma solução diluída de ácido acético, com uma razão líquido/sólido de 20:1; sendo também utilizado um agitador rotativo pelo período de 18 horas.

Na sequência, a fase sólida foi separada da líquida por sistema de filtração a vácuo, através do uso de uma membrana de 0,70 µm e os contaminantes metálicos de interesse foram enfim separados e analisados.

Outrossim, as análises das amostras oriundas dos corpos de prova contaminados somente com Cr<sup>6+</sup> e com Cr<sup>6+</sup> e Cd foram analisadas de acordo com o método da EPA 7196a (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1992a). Já, para as amostras oriundas dos corpos de prova contaminados somente com Cd e com Cd e Cr<sup>6+</sup>, essas foram submetidas à análise por espectrofotômetro de absorção atômica, determinada de acordo com a ASTM D4691 (ASTM, 2017). As avaliações foram realizadas a partir do espectrômetro de absorção atômica AAS 200 da PerkinElmer® (PerkinElmer, EUA), realizadas pelo Laboratório de Solos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo.

#### *3.2.2.4 Análise de migração dos contaminantes no solo*

A análise de migração dos contaminantes no solo foi realizada através de digestão alcalina e ácida em concordância com a Tabela 12. Foram coletadas amostras de 3 profundidades para extrair os contaminantes ao longo das amostras. Essas extrações foram feitas pontualmente a 5, 15 e 25 cm, sendo denominadas: camadas “superior”, “média” e “inferior”, respectivamente. Para extrair Cr<sup>6+</sup> das amostras biorremediadas (de acordo com a Tabela 11), a digestão alcalina foi usada com base no método 3060A (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1996a) em complemento com o método 7196a (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1992a), e o espectrofotômetro UV-1600 da Pro-Tools® (Pró-Análise, Brasil) (SHAHEEN, 2009a). Além disso, a extração de Cd das amostras (de acordo com a Tabela 11) foi baseada no método 3050B (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1996b) em complemento à ASTM D4691 (ASTM, 2017) pelo espectrômetro de absorção atômica AAS 200 da PerkinElmer® (PerkinElmer, EUA) (GRIGALAVIČIENE; RUTKOVIENE; MAROZAS, 2005; HU *et al.*, 2006).

#### *3.2.2.5 Análise microscópica*

Na sequência, foram realizadas análises microestruturais por meio de microscópio eletrônico de varredura (MEV), equipado com espectroscopia de energia dispersiva (EDS), da

Tescan® Vega 3 SBH (Tescan, USA). O qual visou a avaliação qualitativa sobre a formação de cristais, níveis atingidos de precipitação de carbonato de cálcio e encapsulação/imobilização de contaminantes metálicos (ACHAL; PAN, 2014; QABANY *et al.*, 2012).

A microestrutura formada entre o solo arenoso,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd foi analisada por microscópio eletrônico de varredura (MEV) equipado com espectroscopia de raios-X dispersiva por energia (EDS) por um Tescan® Vega 3 SBH (Tescan, EUA). Primordialmente, esse procedimento consistiu em identificar a biomineralização de  $\text{CaCO}_3$ -calcita,  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$ -carbonato de cromo (VI) e  $\text{CdCO}_3$ -carbonato de cádmio (ACHAL *et al.*, 2013; WEI-YI XIA; YA-SONG FENG; YAN-JUN DU; KRISHNA R. REDDY, 2018; ZHU *et al.*, 2016). Para isso, por ser uma análise quantitativa, amostras em duplicatas foram coletadas da camada superior (de acordo com a Tabela 12) das colunas de biocimentação devido à presença inicial de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd.

Outrossim, para determinar as ligações químicas dos biominerais envolvidos no processo de remediação de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd (ACHAL *et al.*, 2012b, 2012a; KUMARI *et al.*, 2014; ZHU *et al.*, 2016) um equipamento FTIR Agilent® Cary 630 (Agilent Technologies, EUA) foi usado para identificar os espectros de FTIR por uma banda de comprimento de onda de 4000 a  $500\text{ cm}^{-1}$ . Além disso, a amostra de solo utilizada para as análises consistiu em amostras originais das camadas superiores como as realizadas para o MEV-EDS.

#### 3.2.2.6 Análise estatística

Os dados experimentais foram analisados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) por meio do software Statistica 7 da Statsoft® (Statsoft Inc, EUA).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Este item expõe os resultados da experimentação da dissertação, dividindo-os: monitoramento da atividade ureolítica (Fase 1, de acordo com a Figura 10) (4.1); pós-biocimentação (Fase 2, de acordo com a Figura 11); e, ainda, considerações relevantes sobre os experimentos. Os resultados estatísticos referentes à experimentação são discutidos juntamente com os resultados dos itens 4.1 e 4.2, por corroborarem no processo de construção da discussão. Ainda, apresenta-se a seção 4.3 sobre a análise geral da biocimentação -balanço de massas.

### 4.1 Monitoramento da atividade ureolítica

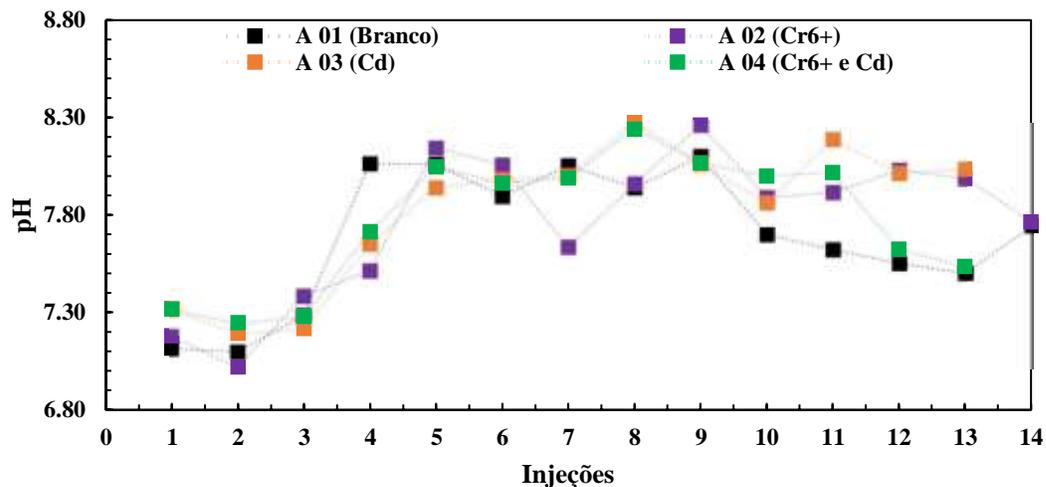
Os resultados do monitoramento estão divididos nos seguintes tópicos: pH (4.1.1); condutividade elétrica e taxa de hidrólise da ureia (4.1.2); volume drenado (4.1.3); lixiviação de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd durante o processo de biocimentação (4.1.4).

#### 4.1.1 pH

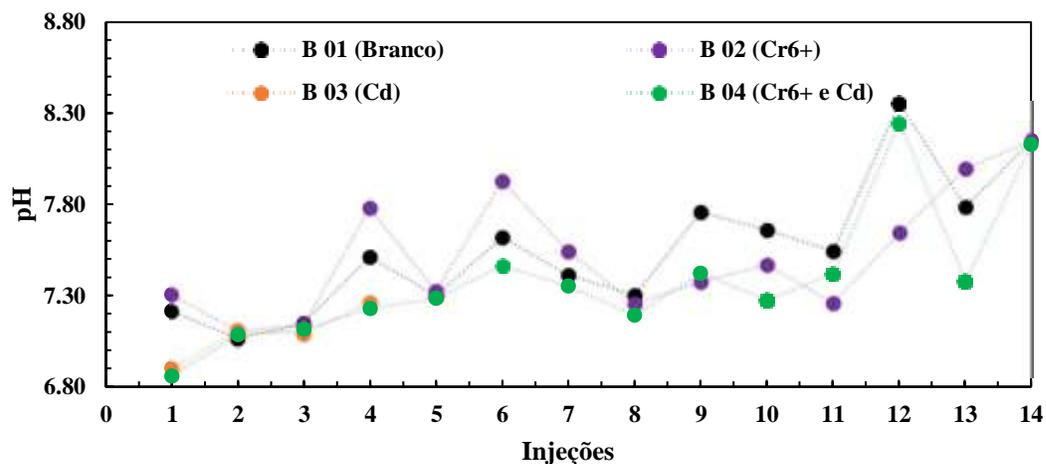
A Figura 19 apresenta o resultado da variação do pH da solução lixiviada ao longo das 14 injeções de percolação da técnica MICP. Sobretudo, o pH mostrado na Figura 19 indica a atividade ureolítica das bactérias (por exemplo *S. pasteurii*, nativas do solo em estudo) bioestimuladas no solo, pois há a variação do pH, com a oscilação neutro-alcálicas (inicialmente pH da solução é de 6.8 – Tabela 8).

Observa-se que todos os corpos de prova experimentados apresentaram variação neutro-alcálica de pH. Ressalta-se, ainda, que os contaminantes  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd poderiam ter sido tóxicos para os microrganismos presentes no solo, retardando ou até anulando a atividade ureolítica. Porém foi possível observar que os corpos de prova A 02, A 03, A 04, B 02, B 03 e B 04 variaram o pH da solução lixiviada, indicando, inicialmente, que tais contaminantes em tais concentrações não inibem a atividade ureolítica das bactérias presentes no solo (KANG; KWON; SO, 2016; MWANDIRA; NAKASHIMA; KAWASAKI, 2017).

Figura 19 - Monitoramento do pH da oriundo da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da técnica MICP para 1x volume da solução biocimentante (a); e, para 2x volume da solução biocimentante (b).



(a)



(b)

Outrossim, observa-se que há diferença de comportamento especialmente quanto ao volume de solução biocimentante (variável  $X_3$  e amostras B 01, B 02, B03 e B 04). A análise estatística, apresentada pela ANOVA da Tabela 13 indica os “valores p” significativos para tal variável de resposta. Sendo que a influência de  $Cr^{6+}$  ( $X_1$ ), Cd ( $X_2$ ) e volume de solução ( $X_3$ ) foram significativos, assim como a interação  $X_2$  vs  $X_3$  e  $X_1$  vs  $X_2$  vs  $X_3$ . Logo, nota-se que as amostras com solução de volume da relação de vazios 1x teve o pH alcalino elevado em torno da injeção 5 (décimo dia de tratamento) e as amostras com proporção de vazios 2x apresentaram a elevação alcalina na injeção 12 (vigésimo quarto dia de tratamento), significando que a disponibilidade de nutrientes em amostras com volume de vazios 2x permite a produção de urease por períodos prolongados; precisamente, devido à disponibilidade de nutrientes superior a

1x volume vazio e o dobro de volume infere na mitigação da heterogeneidade causada pela técnica. Além disso, a presença de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd influenciam o pH, mas não mitigaram o processo de biocimentação ao permitir os estágios alcalinos.

Tabela 13 - ANOVA referente ao monitoramento do pH.

<b>Efeito</b>	<b>Teste</b>	<b>F</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>valor p</b>
Intercepto	Wilks	4097224	13	0,000387
$\text{Cr}^{6+}$ ( $X_1$ )	Wilks	518	13	0,034362
Cd ( $X_2$ )	Wilks	1697	13	0,018996
voume de solução ( $X_3$ )	Wilks	10824	13	0,007523
( $X_1$ ) vs ( $X_2$ )	Wilks	21	13	0,169919
( $X_1$ ) vs ( $X_3$ )	Wilks	15	13	0,198118
( $X_2$ ) vs ( $X_3$ )	Wilks	1435	13	0,020660
( $X_1$ ) vs ( $X_2$ ) vs ( $X_3$ )	Wilks	386	13	0,039816

Ademais, discute-se que os picos máximos alcalinos apresentados por amostras em ambos níveis de  $X_3$  (Tabela 10) foram os condizentes aos corpos de prova: A 02, na 9º injeção com pH de 8,26; B 01, na 12º injeção com pH de 8,36; e, B 04 na 12º injeção com pH de 8,25. Isso é indicativo de que variavelmente e independentemente do volume de solução disposta, os microrganismos nativos são devidamente bioestimulados na presença dos metais tóxicos  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, em suas respectivas concentrações experimentais.

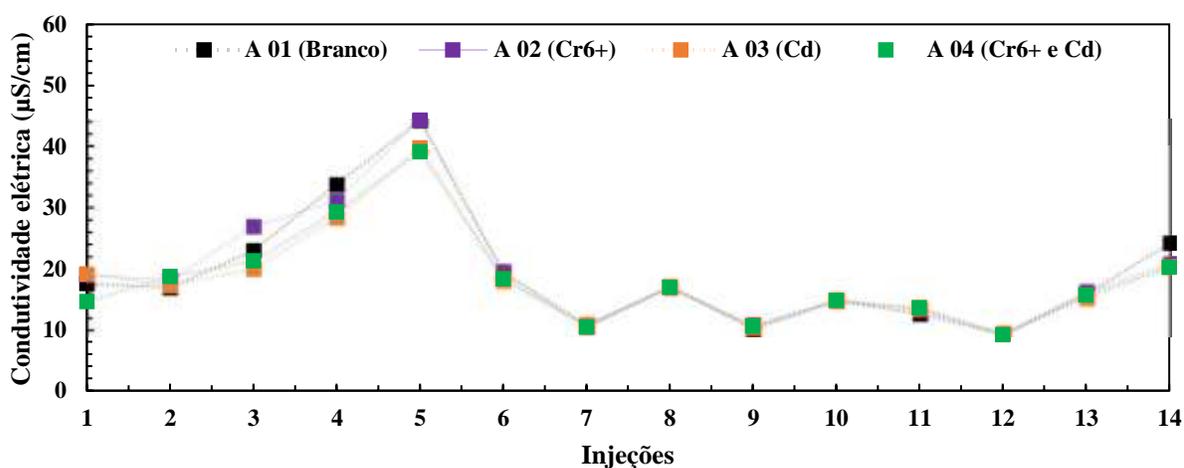
#### 4.1.2 Condutividade elétrica e taxa de hidrólise da ureia

Ainda no processo de monitoramento, com base nos resultados da condutividade elétrica da Figura 20, foi possível por meio da Equação (04) (TERZIS; LALLOUI, 2018; WHIFFIN, 2004; WHIFFIN; VAN PAASSEN; HARKES, 2007) obter a taxa de hidrólise da ureia, apresentado na Figura 21, com base na Figura 20.

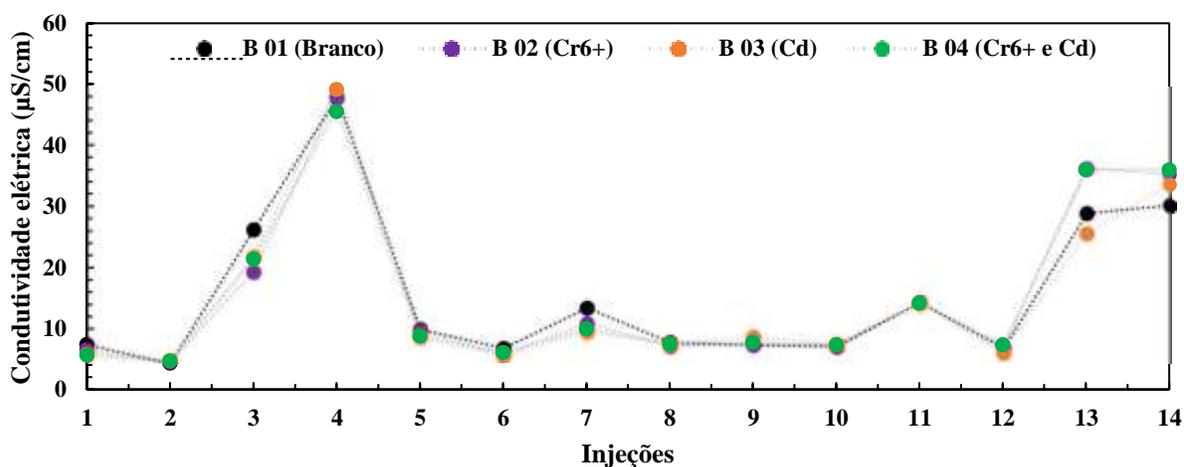
Analisa-se que a taxa hidrolisada de ureia foi semelhante para as amostras, apresentando desenvolvimento ao longo do tempo com padrão idêntico entre os todos corpos de prova; ainda, com picos entre as injeções 4 e 5 (dias 8 a 10), especialmente os corpos de prova com 2x o volume de solução biocimentante apresentaram esse valor elevado antecipadamente (injeção 4 aos 8 dias de tratamento).

Ainda, é possível inferir que o primeiro pico, entre as injeções 2-5, é associado ao processo de hidrólise de ureia e a consequente liberação ao meio de  $\text{NH}_4^+$ , elevando o pH da solução lixiviada. Com isso, vias reações bioquímicas, especialmente na declividade pós pico, proporcionam ao meio a interação dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  oriundos da solução biocimentante e a consequente precipitação de carbonato de calcita- $\text{CaCO}_3$ , interpretada via variação da condutividade elétrica do meio e taxa de hidrólise da ureia.

Figura 20 - Monitoramento da condutividade elétrica oriunda da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da técnica MICP para 1x volume da solução biocimentante (a); e, para 2x volume da solução biocimentante (b).

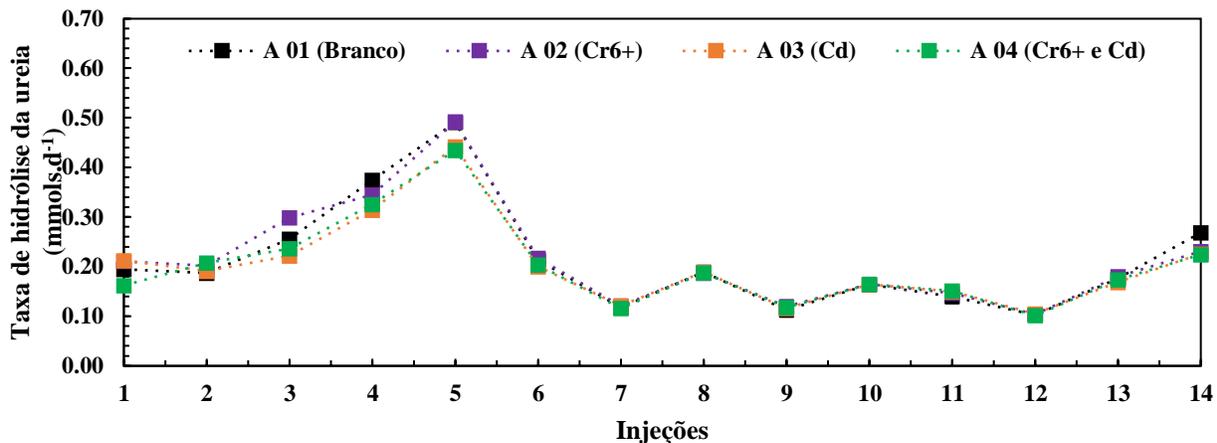


(a)

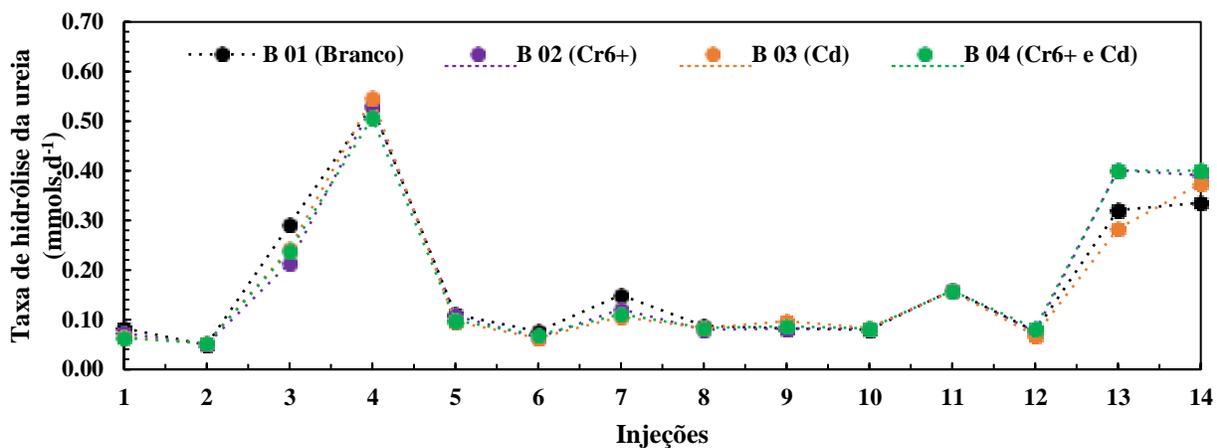


(b)

Figura 21 - Monitoramento da taxa de hidrólise da ureia oriunda da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da técnica MICP para 1x volume da solução biocimentante (a); e, para 2x volume da solução biocimentante (b).



(a)



(b)

Outrossim, a análise estatística é apresentada por meio da ANOVA da Tabela 14 e indicou a não significância estatística entre  $\text{Cr}^{6+}$  e amostras contaminadas com Cd, apenas diferença estatística no efeito  $X_3$ , o volume da solução (Tabela 14). A condutividade elétrica e a taxa de hidrólise da ureia indicam que o pico da produção de urease ocorre inicialmente no começo do processo de biocimentação (JOSHI *et al.*, 2017; WHIFFIN, 2004; WHIFFIN; VAN PAASSEN; HARKES, 2007) e, em seguida, há uma estabilização no processo.

Tabela 14 - ANOVA referente ao monitoramento do pH.

<b>Efeito</b>	<b>Teste</b>	<b>F</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>valor p</b>
Intercepto	<b>Wilks</b>	<b>7130,788</b>	<b>13</b>	<b>0,009269</b>
Cr <sup>6+</sup> (X <sub>1</sub> )	Wilks	2,237	13	0,476481
Cd (X <sub>2</sub> )	Wilks	13,88	13	0,207408
v olume de soluçao (X <sub>3</sub> )	<b>Wilks</b>	<b>1007,952</b>	<b>13</b>	<b>0,024649</b>
(X <sub>1</sub> ) vs (X <sub>2</sub> )	Wilks	0,505	13	0,817028
(X <sub>1</sub> ) vs (X <sub>3</sub> )	Wilks	2,675	13	0,448541
(X <sub>2</sub> ) vs (X <sub>3</sub> )	Wilks	3,681	13	0,389022
(X <sub>1</sub> ) vs (X <sub>2</sub> ) vs (X <sub>3</sub> )	Wilks	25,747	13	0,153185

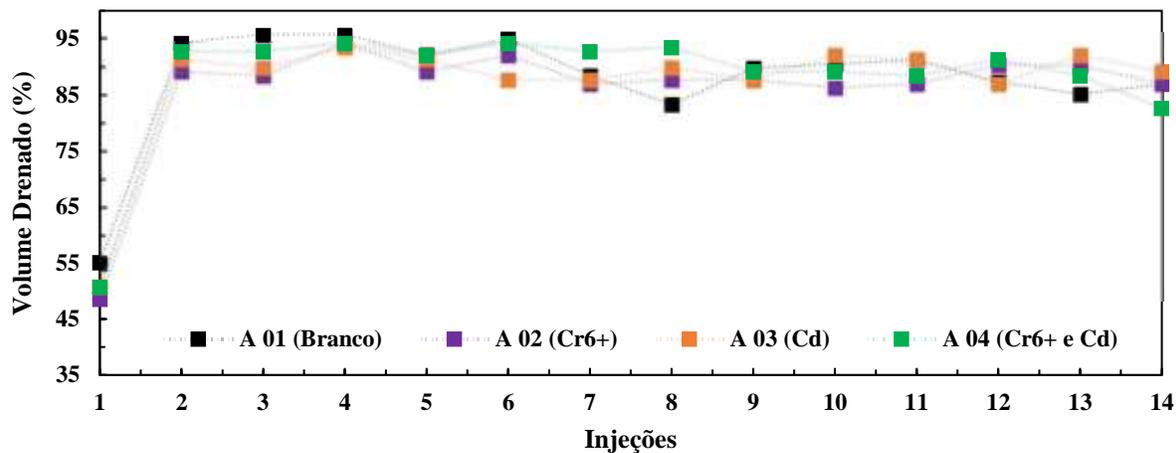
Além disso, ocorreu um fenômeno interessante no final da biocimentação (por exemplo, da injeção 12 até a 14), que fornece outro estágio de crescimento na taxa hidrolisada da ureia, na qual infere que a bactéria (por exemplo, *S. pasteurii*) ainda foi ativa e capaz de promover a hidrólise de ureia no solo via nutrientes fornecidos pela solução biocimentante. Esse efeito pode estar associado à técnica do MICP usada em argamassa e concreto, onde o local ativo das bactérias ainda permanece ativo por longos períodos e fornece a hidrólise da ureia quando alcançada pelos meios aquosos e nutrientes, a fim de reparar rachaduras nesses materiais (CHOI *et al.*, 2017; XU; WANG, 2018; YANG; CHENG, 2013).

#### 4.1.3 Volume drenado

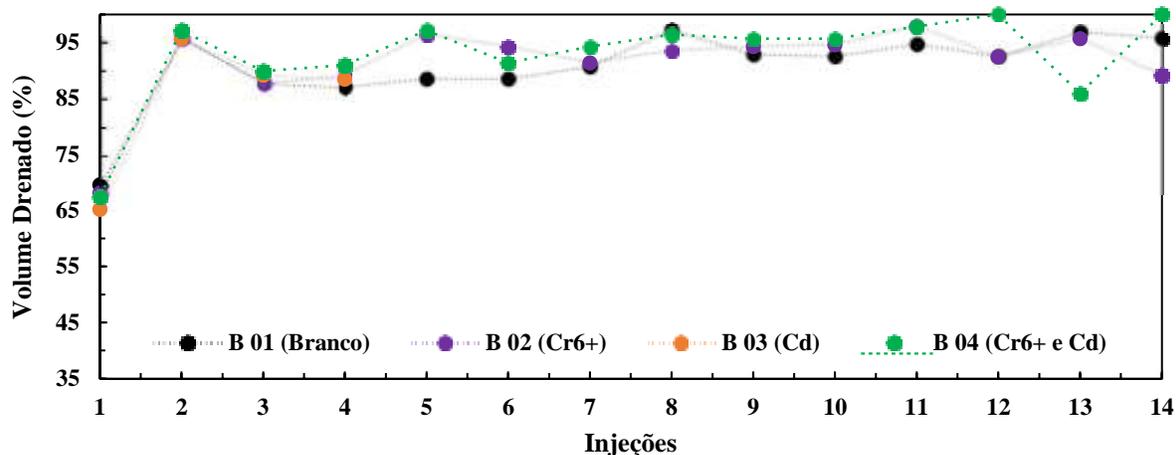
O volume drenado da solução de biocimento lixiviado é mostrado na Figura 22. Importante definir os níveis totais (100%) referentes ao volume da solução biocimentante inicial, sendo respectivamente 230 e 460 mL, para os corpos de prova A e B.

Este parâmetro mostrou um comportamento típico da solução biocimentante lixiviada que leva a retenções iniciais da solução biocimentante nos corpos de prova na primeira injeção (PACHECO; DECOL; THOMÉ, 2018). Principalmente por causa do solo arenoso, esse material funciona como barreira de retenção para a solução inicial e devido à condição inicial não saturada do solo (por exemplo, teor de umidade inicial de 10%), tem-se a ocorrência de uma saturação eminente das colunas de biocimento na primeira injeção e justificada pela retenção.

Figura 22- Monitoramento do volume drenado oriundo da solução biocimentante lixiviada durante o processo de aplicação da técnica MICP para 1x volume da solução biocimentante (a); e, para 2x volume da solução biocimentante (b).



(a)



(b)

Além disso, as injeções posteriores à primeira apresentaram percentual de solução lixiviada superior a 85%, variando com o grau de biocimentação obtido em cada espécime. Outro ponto relevante quanto ao tratamento é que corpos de prova apresentaram saturação e dificuldade quanto a aplicação da solução por percolação, impedindo, conseqüentemente, a percolação do volume pré-disposto da solução biocimentante.

Caso esse, que ocorreu em um espécime da triplicata do A 01, sem presença de contaminantes, aonde na 14ª injeção não foi possível a aplicação da solução devido à presença remanescente de solução não percolada da 13ª injeção. Fato este também ocorreu em: uma triplicata do espécime B 01 a partir da 11ª injeção. Uma triplicata do espécime B 02 a partir da

11° injeção; duas triplicatas do espécime B 03 a partir da 12° injeção; duas triplicatas do espécime B 04 a partir da 14° injeção. Com isso é possível inferir que os corpos de prova com 2x volume de solução biocimentante apresentam maior grau de biocimentação com a profundidade, mitigando a heterogeneidade do processo de biocimentação, justamente devido à impossibilidade de percolação da solução biocimentante.

Já, em relação à análise estatística desta variável de resposta, essa é apresentada na Tabela 15 e não mostrou diferença significativa entre as amostras para o volume drenado. Isso induz à conclusão parcial de que a presença de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, bem como o volume de solução biocimentada não apresentam variações significativas quanto à diminuição da permeabilidade dos corpos de prova quanto ao volume drenado, mas sim quanto ao período de aplicação da técnica por percolação, uma vez que corpos de prova apresentaram mitigação da permeabilidade precocemente em relação a outros.

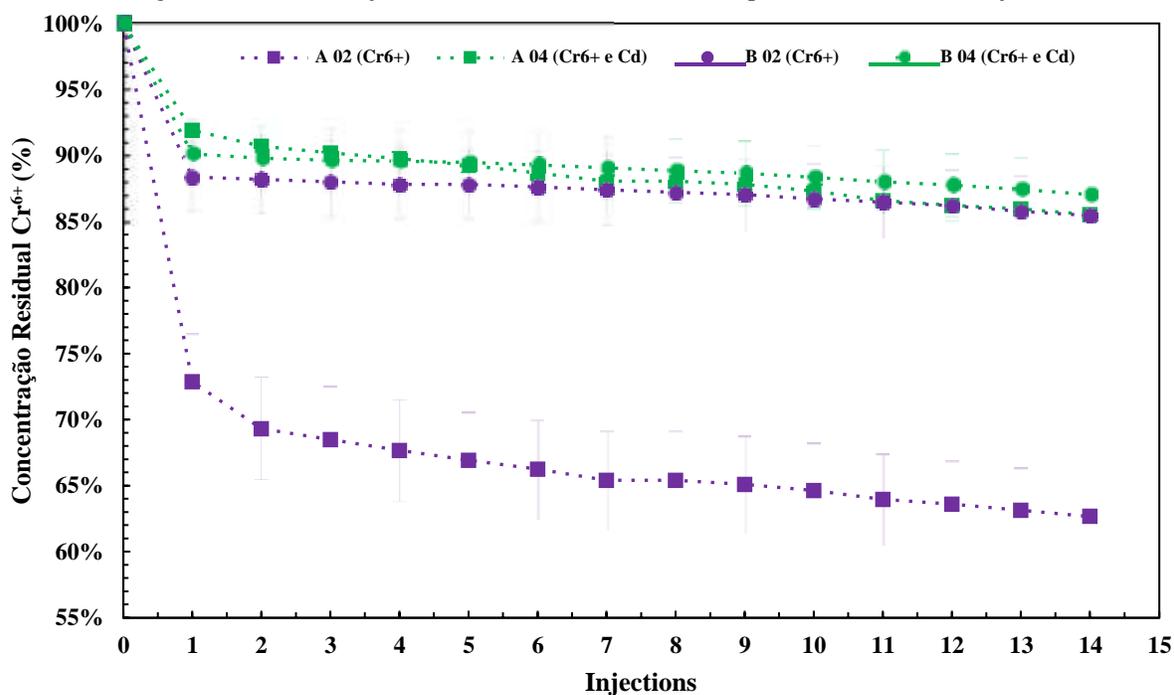
Tabela 15 - ANOVA referente ao volume drenado de solução biocimentante.

<b>Efeito</b>	<b>Teste</b>	<b>F</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>valor p</b>
Intercepto	Wilks	10478,46	10	0,007602
$\text{Cr}^{6+}$ ( $X_1$ )	Wilks	41,25	10	0,120630
Cd ( $X_2$ )	Wilks	8,82	10	0,256687
Volume de solução ( $X_3$ )	Wilks	23,65	10	0,158787
( $X_1$ ) vs ( $X_2$ )	Wilks	18,67	10	0,178353
( $X_1$ ) vs ( $X_3$ )	Wilks	5,32	10	0,326212
( $X_2$ ) vs ( $X_3$ )	Wilks	2,75	10	0,440141
( $X_1$ ) vs ( $X_2$ ) vs ( $X_3$ )	Wilks	8,02	10	0,268684

#### 4.1.4 Lixiviação de $\text{Cr}^{6+}$ e Cd durante o processo de biocimentação

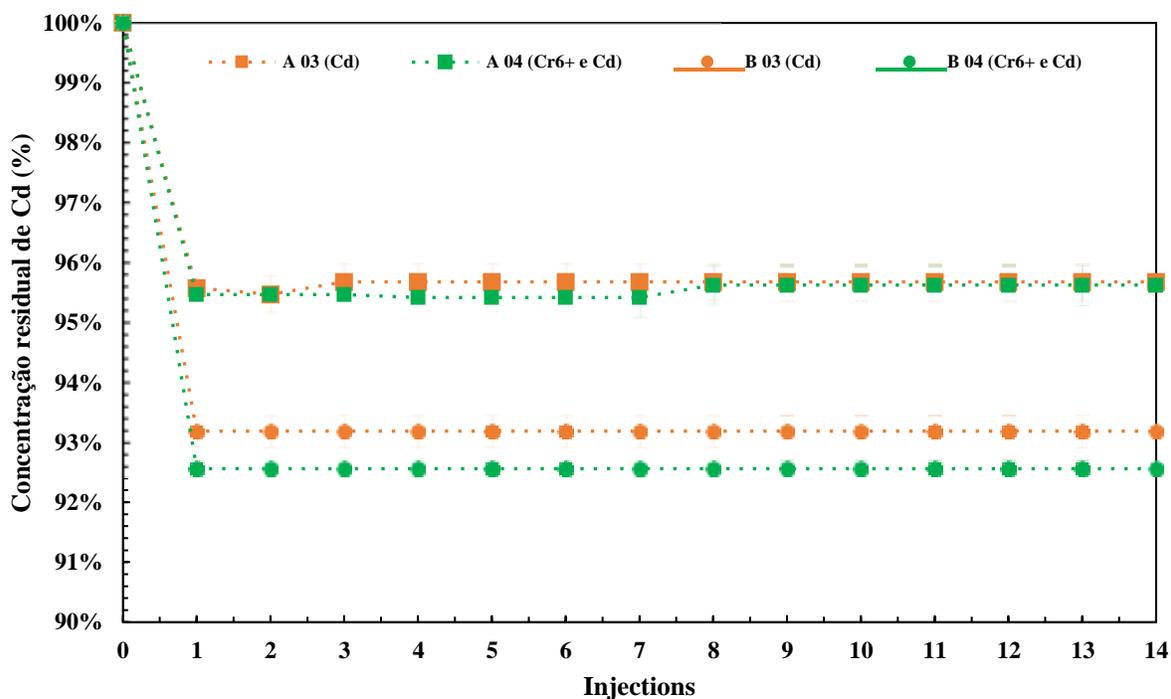
A lixiviação dos contaminantes durante o processo de biocimentação é um parâmetro extremamente importante para o entendimento da capacidade de imobilização desses pela MICP. Contudo, devido à aplicação e percolação da solução biocimentante, espera-se que ocorra o transporte dos contaminantes por advecção. Logo, monitorou-se a concentração lixiviada juntamente com a solução biocimentante de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd em cada uma das 14 aplicações da solução por percolação, de acordo com as Figuras 23 e 24.

Em que 100% no tempo zero refere-se a concentração inicial experimental dos corpos de prova, de acordo com a Tabela 9.

Figura 23 - Concentração remanescente de  $\text{Cr}^{6+}$  durante o processo de biocimentação.

Legenda- A: 1x volume de solução biocimentante; B: 2x volume de solução biocimentante.

Figura 24 - Concentração remanescente de Cd durante o processo de biocimentação.



Legenda- A: 1x volume de solução biocimentante; B: 2x volume de solução biocimentante.

Considerando o solo arenoso experimental com alta permeabilidade, esperava-se a possibilidade de lixiviação pois a solução aliada a técnica, poderiam promover o transporte por advecção dos contaminantes presentes no solo (hipótese considerada *a priori*). Assim, o processo de lixiviação do  $\text{Cr}^{6+}$  foi mais acentuado em relação ao Cd, principalmente na amostra A 02, com menor volume de solução e sem presença de Cd. Tal fenômeno está relacionado a uma interação entre o  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, à qual levou à retenção do contaminante; ou, devido também ao grau de biocimentação na camada superior desses corpos de prova específicos. E, ainda relacionado à imobilização pela biomineralização que possibilitou a formação de biominerais como  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$ ,  $\text{CdCO}_3$  e a própria  $\text{CaCO}_3$  (KANG *et al.*, 2014; KHADIM; AMMAR; EBRAHIM, 2019; KUMARI *et al.*, 2014) (situação essa discorrida no tópico 4.2).

Além do espécime A 02 (por exemplo, que a concentração residual final de  $\text{Cr}^{6+}$  foi de 63%), os outros corpos de prova (por exemplo, A 04, B 02 e B 04) retiveram, respectivamente, 86, 85 e 87%, da concentração residual final de  $\text{Cr}^{6+}$  nas colunas de biocimentação, o que significa o não lixiviado na solução de biocimento durante o processo de aplicação.

Quanto à análise estatística, essa é apresentada na Tabela 16, e indicou a influência significativa de  $\text{Cr}^{6+}$  ( $X_1$ ), Cd ( $X_2$ ) e volume da solução ( $X_3$ ) no processo de lixiviação, inferindo que o  $\text{Cr}^{6+}$  e o Cd tiveram interação específica no processo de lixiviação, sendo mais eficaz a técnica do MICP quando aplicada simultaneamente aos dois metais.

Tabela 16 - ANOVA referente a lixiviação de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd durante o processo de biocimentação.

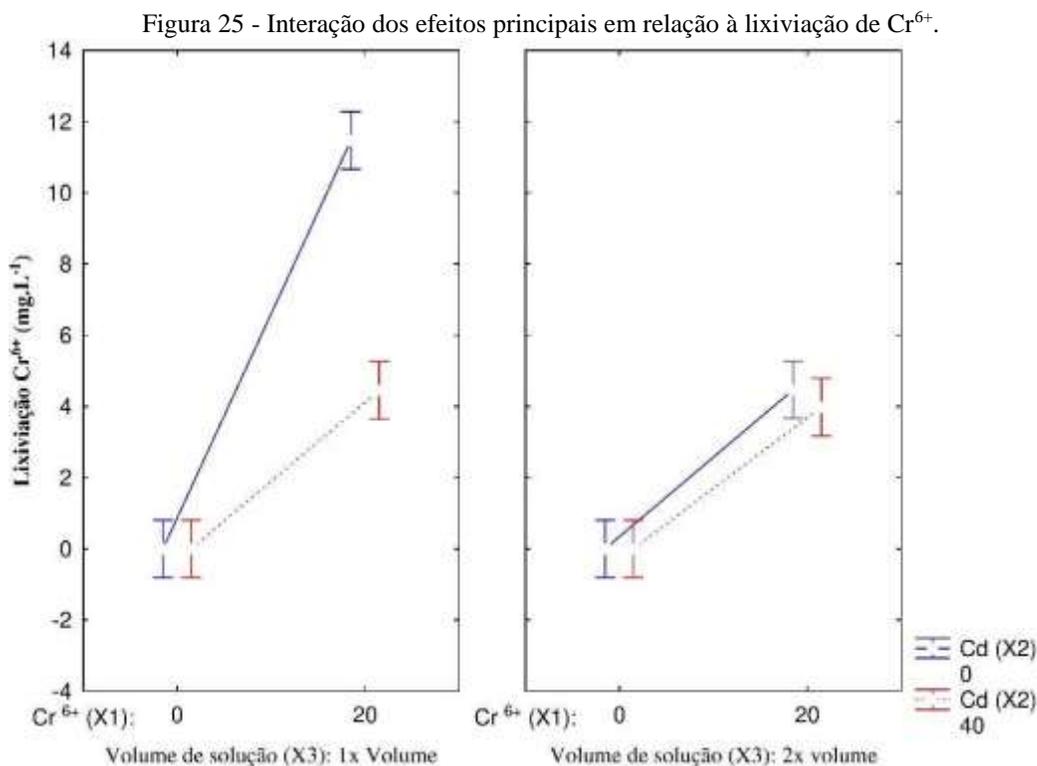
<b>Efeito</b>	<b>Teste</b>	<b>F</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>valor p</b>
Intercepto	Wilks	1169,682	10	<0,05
$\text{Cr}^{6+}$ ( $X_1$ )	Wilks	247,878	10	<0,05
Cd ( $X_2$ )	Wilks	751,850	10	<0,05
volume de solução ( $X_3$ )	Wilks	60,470	10	0,000000026
( $X_1$ ) vs ( $X_2$ )	Wilks	23,232	10	0,000025
( $X_1$ ) vs ( $X_3$ )	Wilks	22,894	10	<0,05
( $X_2$ ) vs ( $X_3$ )	Wilks	76,392	10	<0,05
( $X_1$ ) vs ( $X_2$ ) vs ( $X_3$ )	Wilks	21,739	10	0,000037

Outrossim, a análise da Figura 24 mostra um cenário específico em que a lixiviação é mais acentuada para as amostras B 03 e B 04, aquelas com volume de vazios de 2x, indicando assim que a variável  $X_3$ , tem uma influência significativa no processo de lixiviação de Cd. Tal

inferência é suportada pela análise estatística em que  $X_3$  apresentou valor p de 0,000000026, como também  $X_2$  apresentou valor  $p < 0,05$ . Ainda a situação é enfatizada pelo gráfico dos efeitos principais apresentado pelas Figuras 25 e 26.

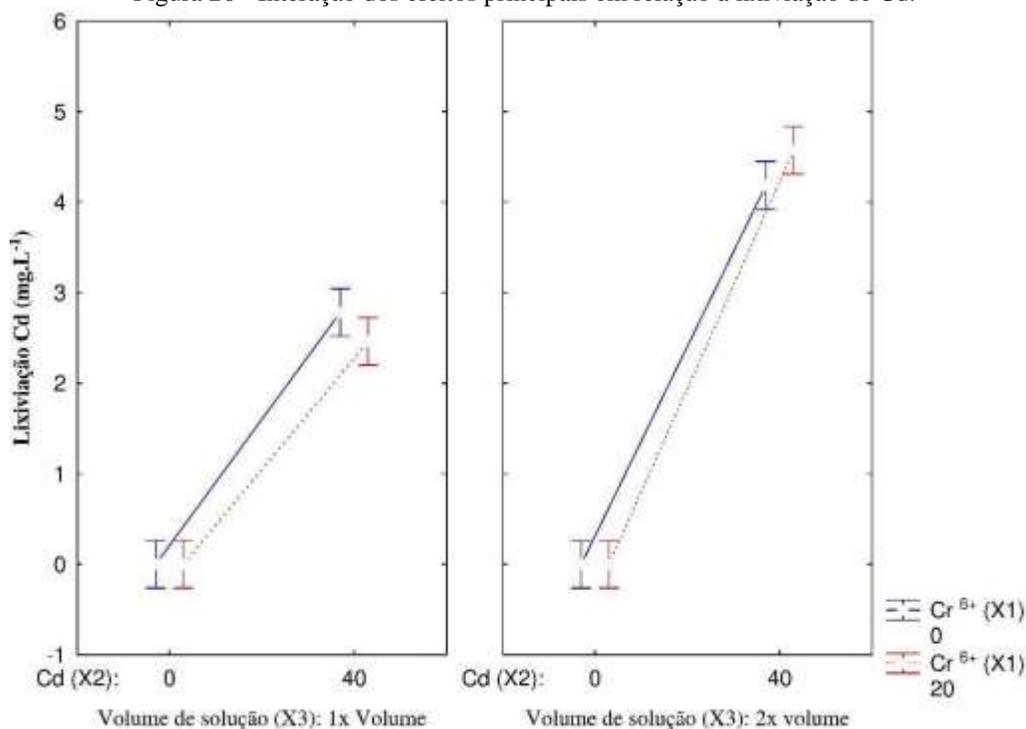
Com a Figura 25 foi possível identificar que há significativa relevância na lixiviação de  $\text{Cr}^{6+}$  quando esse é aplicado com 1x o volume da solução biocimentante e não conjuntamente com Cd. Logo, a lixiviação (em  $\text{mg.L}^{-1}$  para efeitos estatísticos) de  $\text{Cr}^{6+}$  indica que o cenário com 2x o volume de solução biocimentante e/ou na presença de Cd, possibilita a redução da lixiviação.

Essa ocorrência pode ser explicada pela interação entre os metais, e/ou ainda pela formação precoce de  $\text{CaCO}_3$  nos corpos de prova com 2x o volume de solução biocimentante, o que resultaria na imobilização do  $\text{Cr}^{6+}$ , mesmo em etapa inicial da aplicação da técnica, sendo prerrogativa corroborativa para esta discussão os resultados apresentados na Figura 21, em que a taxa de hidrólise da ureia se dá precocemente para os corpos de prova com 2x o volume de solução biocimentante.



Também, é importante destacar que a concentração residual de Cd para todas as amostras foi superior a 92% e as que apresentaram maior lixiviação (por exemplo, B 02 e B 04) receberam mais nutrientes e compostos químicos pela solução, o que leva a uma biocimentação mais homogênea com a profundidade das colunas (discussão abordada no tópico 4.2). A Figura 26 não apresentou variações significativas exclusivamente para o Cd, apresentando maior montante lixiviado para amostras tratadas com 2x o volume de vazios da solução biocimentante.

Figura 26 - Interação dos efeitos principais em relação à lixiviação de Cd.



## 4.2 Pós-biocimentação

Os resultados da pós-biocimentação estão divididos nos seguintes tópicos: ensaio de compressão simples-UCS (4.2.1); ensaio de lixiviação dos contaminantes imobilizados – NBR 10005 (4.2.2); análise de migração dos contaminantes no solo (4.2.3); e, análise microscópica e FTIR (4.2.4).

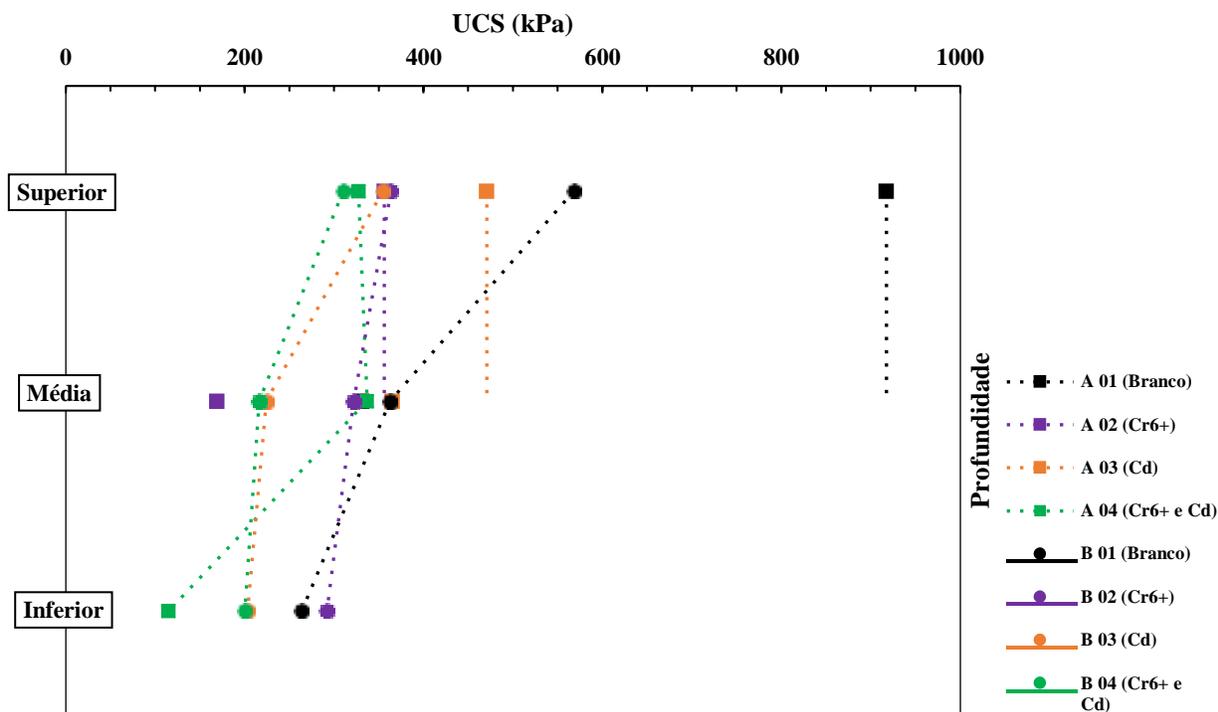
#### 4.2.1 Ensaio de compressão simples-UCS (Unconfined Compressive Strength)

Os resultados os corpos de prova submetidos ao ensaio de compressão simples-UCS estão apresentados na Figura 27. Tais resultados variaram de 0,11 a 0,92 MPa ou 115 a 917,5 kPa proporcionando o aperfeiçoamento nas propriedades geomecânicas do solo arenoso estudado. Esses valores encontram-se em concordância com a literatura para experimentos semelhantes em que magnitudes de resistência variaram entre 0,2-20 MPa em solo arenoso sem contaminantes (AL QABANY; SOGA; SANTAMARINA, 2012; VAN PAASSEN *et al.*, 2010) e de 1,33 a 2,87 MPa para solo contaminados (MWANDIRA; NAKASHIMA; KAWASAKI, 2017).

Ainda, é possível de se fazer uma analogia quanto a técnica de melhoramento de solo através do convencional solo-cimento Portland, com a mesma areia de Osório. Para tal, magnitudes entre 0,60 a 0,75 MPa são atribuídas a corpos de prova com densidades relativas variadas e incremento de 3% de cimento Portland (FORCELINI *et al.*, 2016)

Logo, inicialmente, infere-se que os resultados encontrados estão dentro do limiar de aperfeiçoamento geomecânico promovido pela técnica MICP. Ainda, é importante observar que as colunas de biocimentação permitiram avaliar amostras em três profundidades diferentes – de acordo com Tabela 12. Ressalta-se que a análise estatística foi calculada para a camada "superior" devido à indisponibilidade de confecção amostral para todos os experimentos.

Figura 27 - Resultados do ensaio de compressão simples-UCS.



Legenda- A: 1x volume de solução biocimentante; B: 2x volume de solução biocimentante.

Estatisticamente, de acordo com a Tabela 17, o volume da solução ( $X_3$ ) não foi significativo para a camada "superior", o que permite inferir que, para profundidades superficiais, a técnica MICP não requer mais do que 1x razão de vazios para a melhoria das propriedades geomecânicas, mesmo quando contaminantes estavam presentes (A 02, A 03, A 04, B 02, B 03, B 04). Caso contrário, a presença de  $\text{Cr}^{6+}$  ( $X_1$ ) e Cd ( $X_2$ ) foi significativa (por exemplo, valores de p de 0,0019 e 0,000060, respectivamente) para os resultados do ensaio de compressão simples-UCS; isso corrobora e abre prerrogativas para a alegação de que contaminantes metálicos influenciam a estrutura de  $\text{CaCO}_3$  formada por biocimentação, através do efeito da biomineralização e composição de novos biominerais, como  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$ , afetando o processo de biomineralização e imobilização dos contaminantes metálicos. Porém, mesmo sendo significativo, para as propriedades de resistência do solo, analisando juntamente com os resultados obtidos no processo de monitoramento (por exemplo, 4.1), pode-se inferir que o biocimento foi eficaz não apenas na imobilização dos metais nas colunas de biocimentação, mas também como meio de melhoria geomecânica do solo, mesmo na presença de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd.

Tabela 17 - ANOVA referente a lixiviação de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd durante o processo de biocimentação.

<b>Efeito</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>valor p</b>
Intercepto	4296260	4296260	632,0207	<0,05
$\text{Cr}^{6+}$ ( $X_1$ )	116976	116976	17,2083	0,001985
Cd ( $X_2$ )	296738	296738	43,6529	0,000060
volume de solução ( $X_3$ )	8284	8284	1,2186	0,295492
( $X_1$ ) vs ( $X_2$ )	21337	21337	3,1389	0,106860
( $X_1$ ) vs ( $X_3$ )	155106	155106	22,8176	0,000749
( $X_2$ ) vs ( $X_3$ )	84441	2314	0,3404	0,572520
( $X_1$ ) vs ( $X_2$ ) vs ( $X_3$ )	67977	84441	12,4221	0,005497
Erro	67977	6798		

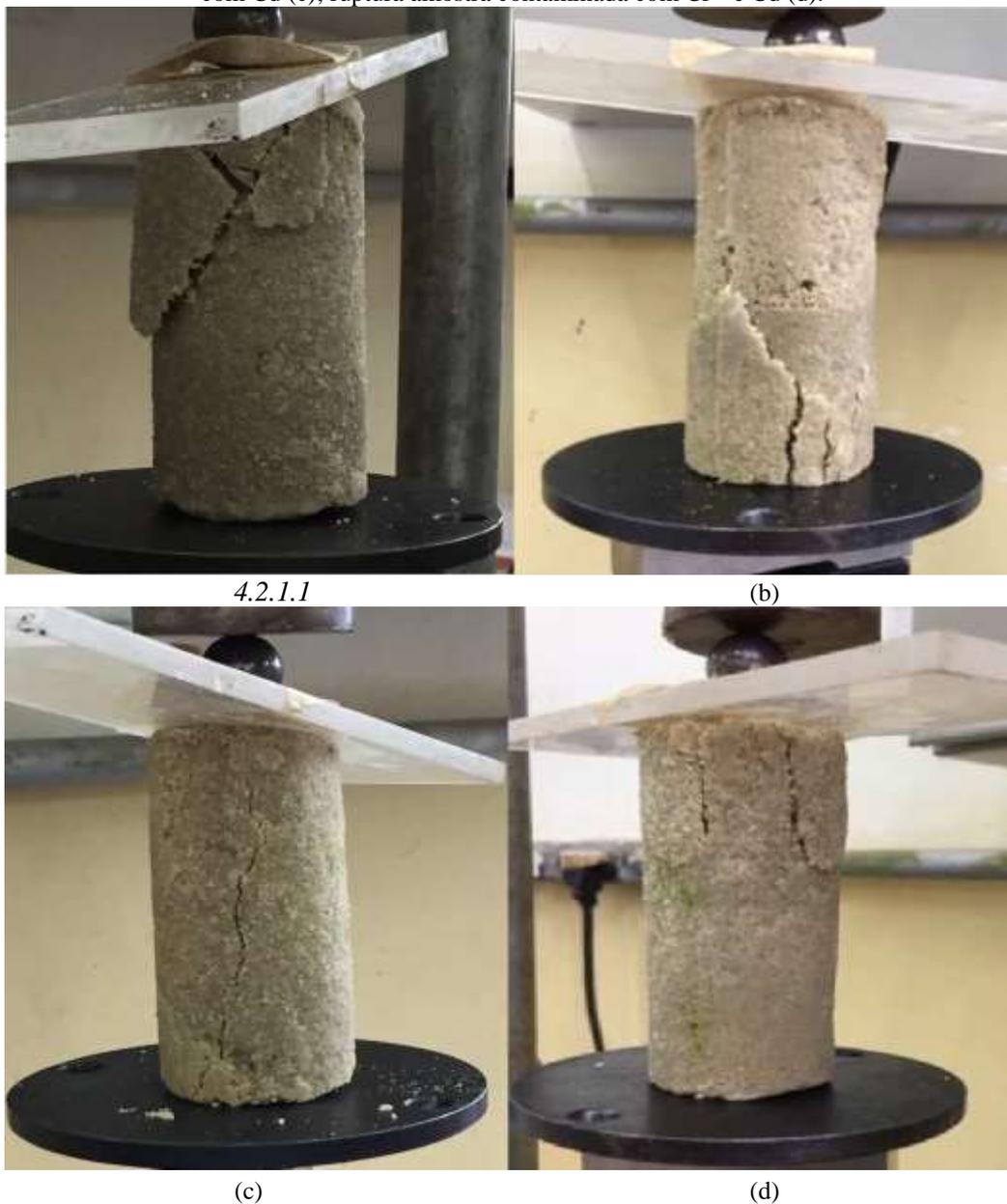
Ainda assim, o volume da solução não foi estatisticamente significativo para a camada "superior", mas, quando aplicada a proporção de vazios 2x da solução de biocimento, a biocimentação foi aprimorada e ocorreu de maneira mais homogênea, garantindo a amostragem durante todo o tempo das colunas de biocimento devido à melhoria da resistência. até a camada "inferior". Caso contrário, os corpos de prova com taxa de vazios de 1x permitiram amostragem até a camada "média", devido à insuficiente biocimentação associada à profundidade.

Além disso, nos corpos de prova "B", a presença de contaminantes não interferiu no processo de biocimentação ao longo das amostras, garantindo resistência a elas por toda a coluna e proporcionando maior valor de UCS em camadas inferiores, para o caso de B 02 com 292 kPa em comparação com 264 kPa para B 01 (não contaminado). Portanto, para complementar tais resultados é importante analisar a presença efetiva de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd na estrutura  $\text{CaCO}_3$ , o que é discutido nos seguintes tópicos.

Ademais, as formas de rupturas dos corpos de provas foram avaliadas e estão apresentadas na Figura 28, as quais apresentam formas variáveis, fator esse explicável devido ao diferente grau de biocimentação obtido nas amostras. Na Figura 28 (a) tem-se um plano de ruptura definido, inclinado na parte superior do corpo de prova, característica de materiais rígidos e amostras de solo cimentadas; ao passo que a amostra mostrada na figura 28 (b) apresentou fragilidade na base do corpo de prova, não havendo plano de ruptura definida, fator esse ocorrido devido a heterogeneidade da biocimentação. Já para a Figura 28 (c) houve um plano de ruptura longitudinal ao corpo de prova, com determinada inclinação, inferindo-se então o maior grau de homogeneidade no processo de biocimentação para tal amostra. Por fim, a

Figura 28 (d) não apresentou superfície de ruptura definida, e cedeu ao esmagamento no topo da amostra.

Figura 28 - Ruptura amostra Branca (a); ruptura amostra contaminada com  $\text{Cr}^{6+}$ ; (b) ruptura amostra contaminada com Cd (c); ruptura amostra contaminada com  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd (d).

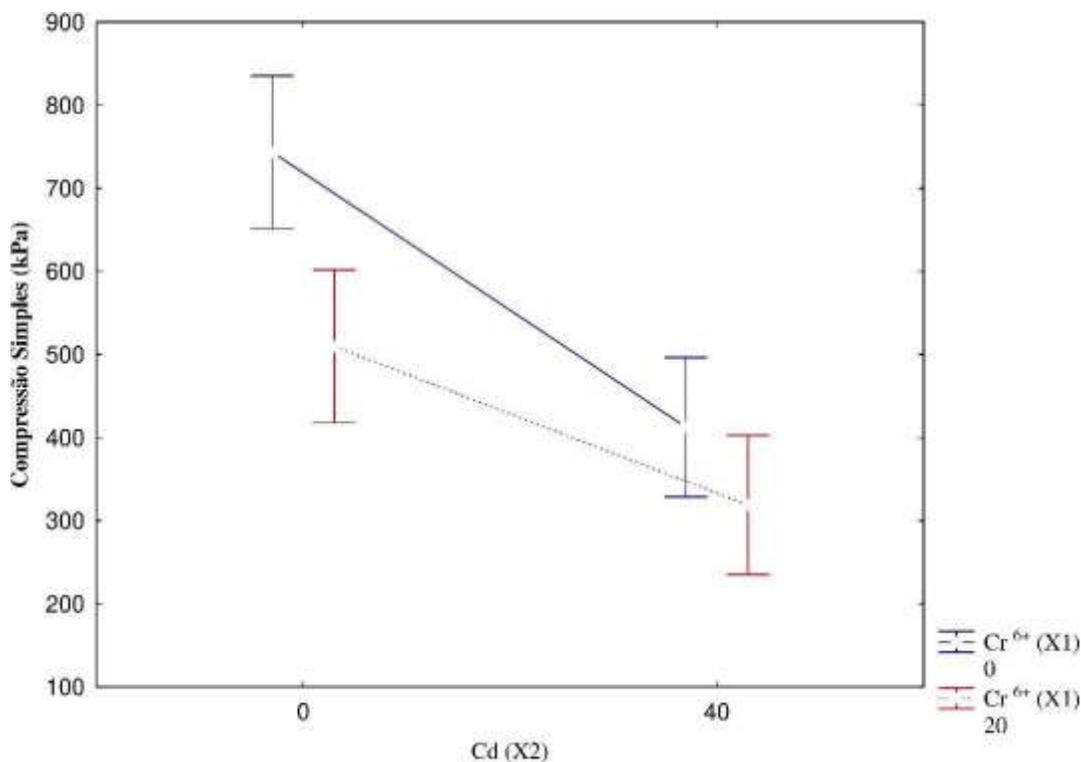


Logo, diante dos resultados expostos e das formas de rupturas apresentadas, diz-se que a ruptura à compressão de amostras biocimentadas tende a apresentar comportamento de areia cimentadas (usuais) quando o nível de biocimentação é adequado, ou seja, a ruptura ao cisalhamento se dá ao longo de um plano de ruptura definido, usual para materiais rígidos. Outro

fator a ser considerado é a presença dos contaminantes, os quais interferem na rigidez da matriz do solo biocimentado, mitigando a capacidade de carga das amostras. Observa-se ainda que independentemente do condicionamento do volume de solução biocimentante (por exemplo, 1 ou 2x o índice de vazios), os planos de ruptura não sofreram variações quanto aos apresentados na Figura 28, considerando as diferentes profundidades. Ressalvas devem ser tomadas quanto às camadas superiores de todos os experimentos dirigidos, pois foram os corpos de prova com superfícies de rupturas com definição elevada, semelhante à Figura 28 (a).

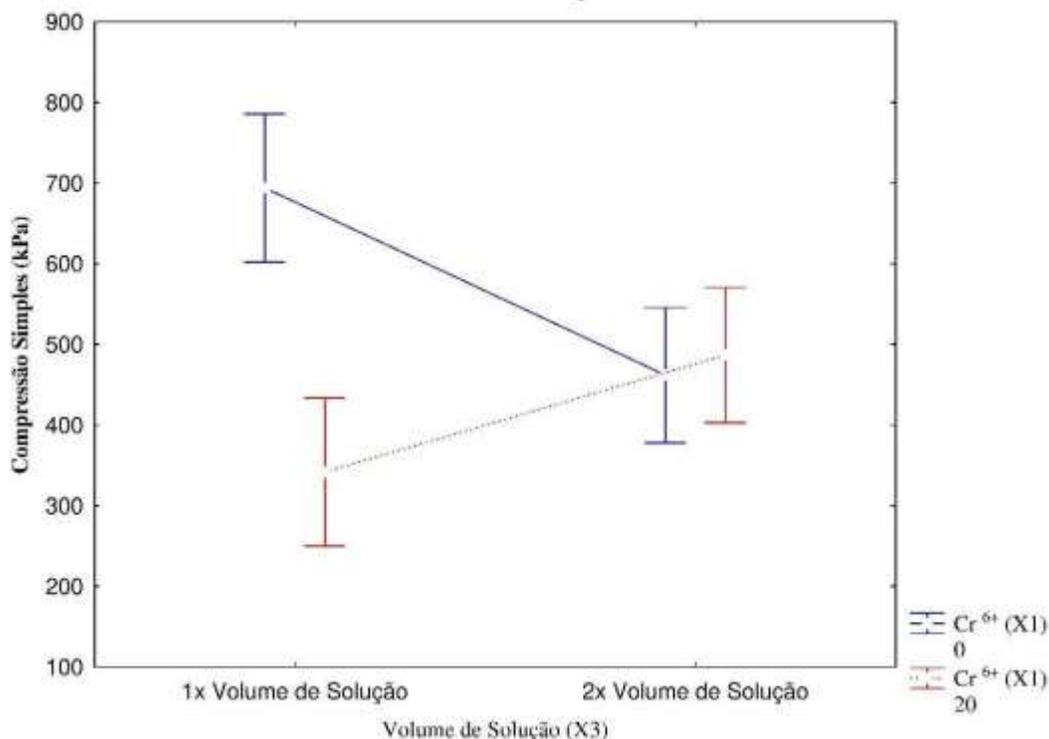
Por fim, em relação ao presente tópico, uma análise dos efeitos principais é apresentada nas Figuras 29, 30 e 31. Em que, na Figura 29 apresenta-se os efeitos entre  $\text{Cr}^{6+}$  ( $X_1$ ) e Cd ( $X_2$ ), sendo possível analisar que ambos efeitos foram responsáveis pela diminuição da resistência à compressão-UCS, especialmente quando combinados. Fator esse deve-se à imobilização de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, juntamente com a formação dos biominerais  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$ , os quais diferem-se da formação original de  $\text{CaCO}_3$  através da substituição isomórfica do elemento Ca (calcita produto da biocimentação  $\text{CaCO}_3$ ) por  $\text{Cr}^{6+}/\text{Cd}$ , originando novos biominerais.

Figura 29 - Interação entre os efeitos  $\text{Cr}^{6+}$  ( $X_1$ ) e Cd ( $X_2$ ) para o ensaio de compressão simples.



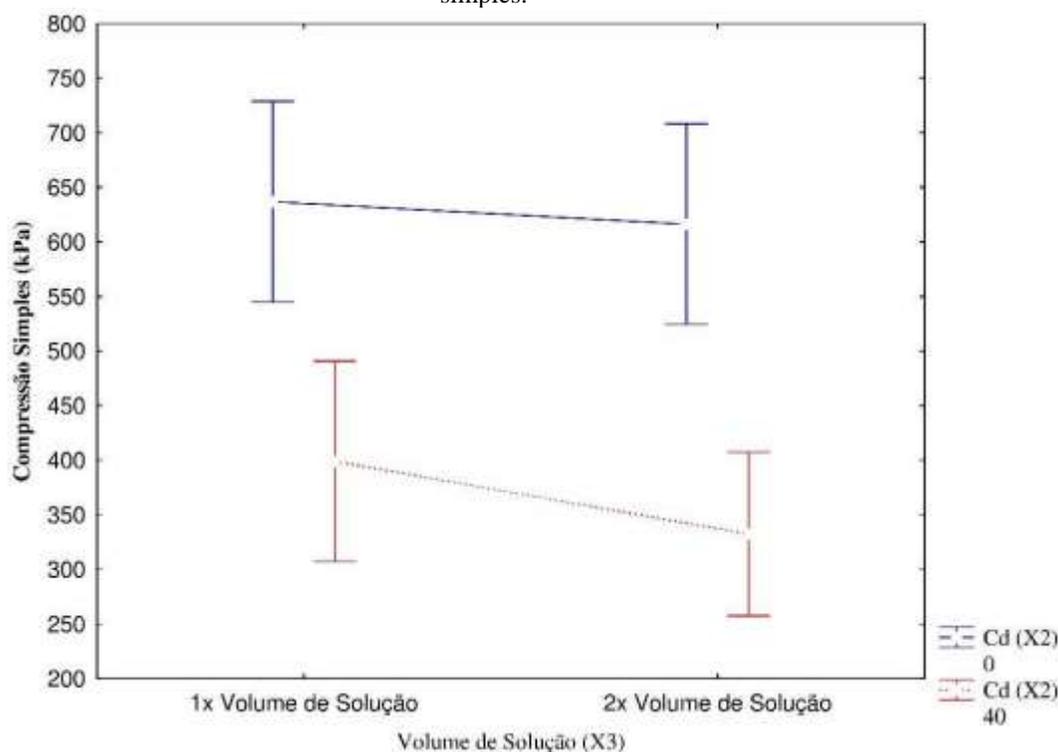
Já na Figura 30 foi possível identificar a influência do volume de solução biocimentante ( $X_3$ ) sobre o  $\text{Cr}^{6+}$  ( $X_1$ ) em que na camada “superior” (Tabela 12) maior resistência foi atingida justamente na ausência de  $\text{Cr}^{6+}$ . Outrossim, a Figura 31 evidenciou efeito semelhante para o Cd ( $X_2$ ) em que resistência mais elevadas são atingidas justamente na ausência do contaminante.

Figura 30 - Interação entre os efeitos  $\text{Cr}^{6+}$  ( $X_1$ ) e volume de solução ( $X_3$ ) para o ensaio de compressão simples.



Logo, esses resultados indicam que há a ocorrência de biocimentação na presença dos contaminantes  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd. Porém, as ligações químicas formadas pelos elementos biomineralizados  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$  (identificados no tópico 4.2.4) são estruturalmente menos resistentes do que o produto original da biocimentação, a  $\text{CaCO}_3$ . Todavia, a presença dos contaminantes propiciam o aperfeiçoamento geomecânico do solo, capacitando, preliminarmente a técnica e sua aplicação em casos de Solidificação/Estabilização de solos arenosos contaminados com tais metais.

Figura 31 - Interação entre os efeitos Cd (X<sub>2</sub>) e volume de solução (X<sub>3</sub>) para o ensaio de compressão simples.



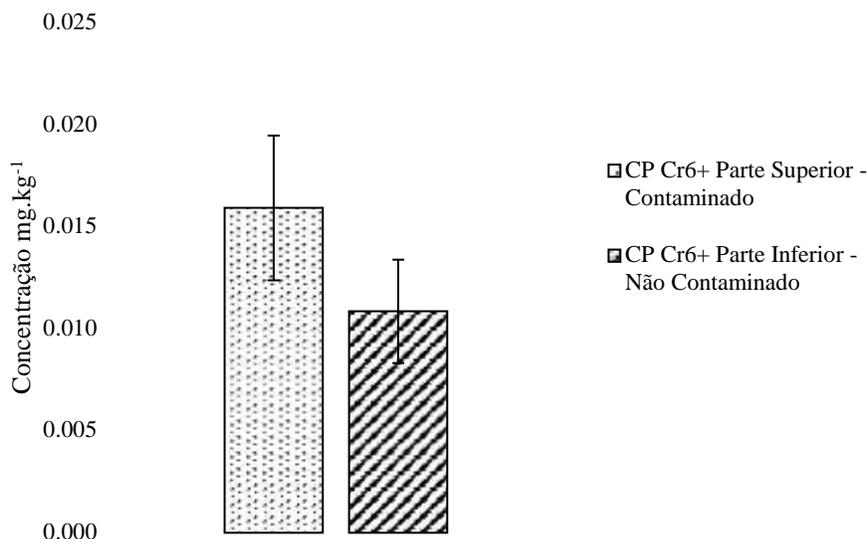
#### 4.2.2 Ensaio de lixiviação dos contaminantes imobilizados – NBR 10005

O procedimento de lixiviação dos resíduos sólidos serviu para analisar a eficácia da imobilização da técnica de biocimentação quanto aos contaminantes propostos. Esse foi realizado após a ruptura das amostras à compressão simples (oriundas dos corpos de prova: A 02 e A 04, contendo Cr<sup>6+</sup>). As Figuras 32 e 33 mostram os resultados obtidos em relação à lixiviação de Cr<sup>6+</sup>.

A análise da Figura 32 permite inferir que as concentrações lixiviadas de Cr<sup>6+</sup> são relativamente baixas e irrisórias para os corpos de prova contaminados apenas com Cr<sup>6+</sup>, levando a indução da viabilidade da aplicação da técnica de biocimentação, uma vez que se mostra eficiente quando submetida a ensaios de lixiviação. Logo, houve uma adesão dos íons metálicos à estrutura biocimentada, formando possivelmente elementos de CaCO<sub>3</sub>, juntamente com Cr<sup>6+</sup> [Cr(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] (confirmados através da análise microscópica). Outra observação válida a ser feita, uma vez que a parte inferior dos corpos de prova (originalmente não contaminados) apresentaram a presença do contaminante Cr<sup>6+</sup> através da lixiviação; logo, deduz-se que houve o transporte do contaminante ao longo dos corpos de prova. Contudo também ocorreu a

imobilização do  $\text{Cr}^{6+}$  ao longo dos corpos de prova. Ainda, a lixiviação mais elevada se deu na parte superior dos corpos de prova, indicando uma maior concentração do contaminante na região.

Figura 32 - Lixiviação de  $\text{Cr}^{6+}$  de amostras dos corpos de prova contaminados apenas com  $\text{Cr}^{6+}$ .

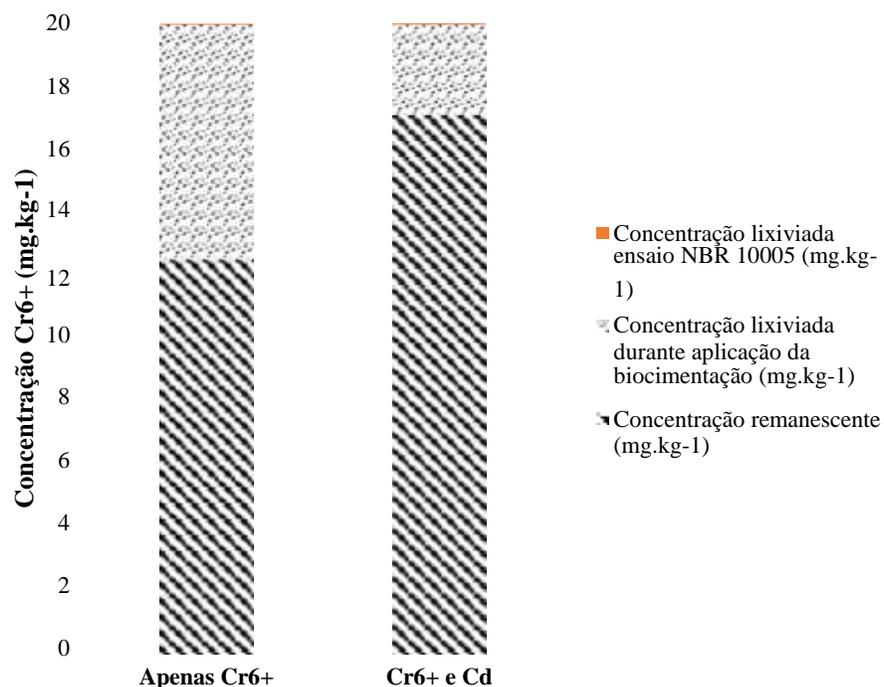


Na Figura 33 é apresentado um resumo da lixiviação e concentração ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) remanescente dos corpos de prova em relação ao  $\text{Cr}^{6+}$ . Enquanto que os corpos de prova apenas com  $\text{Cr}^{6+}$  lixiviaram durante o processo de biocimentação 37% da concentração inicial, àqueles com a presença de Cádmiu lixiviaram 14%; quanto ao ensaios de lixiviação de resíduos sólidos, ambos patamares foram menores do que 1%, e o total remanescente na magnitude de 63 e 85% respectivamente para os corpos de prova apenas com  $\text{Cr}^{6+}$  e mutuamente com  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd.

Com isso, conclui-se quanto à eficácia positiva na aplicação da técnica de biocimentação para a remediação de ambos os contaminantes simultaneamente, devido a fatores expostos anteriormente e a quesitos a serem avaliados através da análise microscópica. Também, observa-se a eficiência da técnica em todas as etapas, seja na aplicação da solução biocimentante, seja após, quanto ao melhor desempenho aos corpos de prova com ambos contaminantes, em relação a lixiviação de  $\text{Cr}^{6+}$ .

Enquanto que as amostras contaminadas com Cd apresentaram valores nulos para tal ensaio, indicando a resistência a lixiviação em virtude da biocimentação e formação do elemento  $\text{CdCO}_3$  (posteriormente estudado).

Figura 33 - Resumo do remanescente e lixiviação de  $\text{Cr}^{6+}$ .



Faz-se uma ressalva quanto aos resultados expostos no item 4.2.2. Inicialmente o planejamento incluía a análise através da NBR 10005 para todos os corpos de prova contaminados com  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd. Porém, estudos posteriores levaram à uma redefinição experimental com base na prerrogativa de que tais ensaios (NBR 10005) fazem uso de soluções ácidas para obter os resultados de lixiviação dos corpos de prova.

Embasando-se na literatura (DEUTSCH, 1997), que mostra que meios ácidos reduzem a valência do elemento  $\text{Cr}^{6+}$ , inferiu-se que a submissão dos corpos de prova para tais ensaios poderia acarretar na redução de  $\text{Cr}^{6+}$  para  $\text{Cr}^{3+}$ , o que poderia levar a conclusões errôneas, já que a leitura que objetiva-se na presente dissertação é o  $\text{Cr}^{6+}$  em seu estágio inicial.

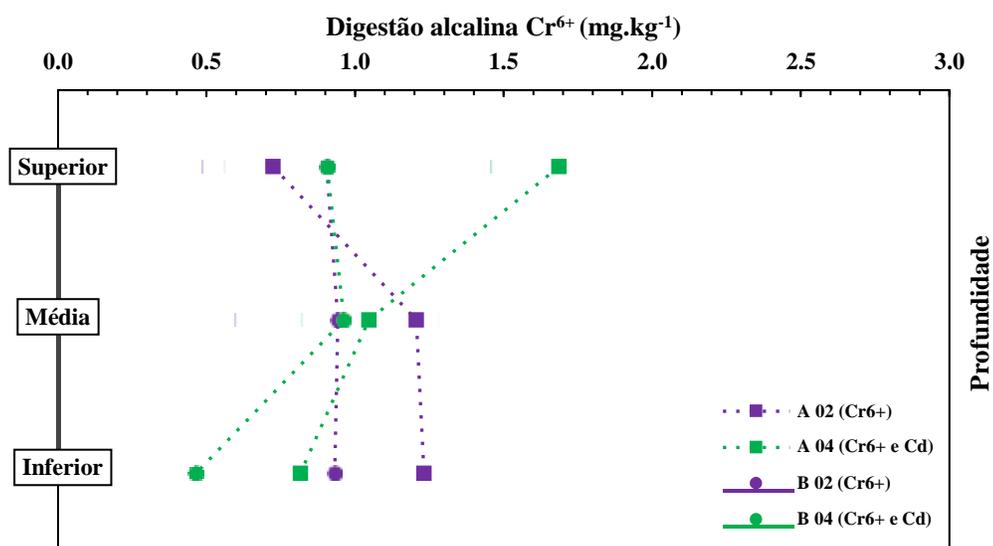
#### 4.2.3 Análise de migração dos contaminantes no solo

A digestão pontual alcalina e ácida estão apresentadas nas Figuras 34 e 35, em concordância com a Tabela 12, para as respectivas extrações dos corpos de prova. Tais análises foram conduzidas para a identificação de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd ao longo das colunas de biocimentação e para a avaliação da presença dos contaminantes em diferentes profundidades, bem como a prerrogativa de biomineralização e a interação dos íons metálicos com a calcita- $\text{CaCO}_3$  ao longo das colunas.

Logo, a Figura 34 identificou que o  $\text{Cr}^{6+}$  pode ser transportado pela coluna de biocimentação, tendo origem na camada superior (originalmente contaminada) e percolando para camadas inferiores (não contaminadas originalmente). O espécime A 04 (contaminado por  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd) apresentou a maior quantidade de  $\text{Cr}^{6+}$  na camada superior (Figura 34), sendo  $1,69 \text{ mg.kg}^{-1}$  (8,45% da concentração inicial), o que corrobora com a discussão de que existe uma interação entre  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, à qual aperfeiçoa a imobilização do  $\text{Cr}^{6+}$ .

Além disso, o volume de solução ( $X_3$ ) não interferiu diretamente no transporte de  $\text{Cr}^{6+}$ . Esses resultados também contribuem para a discussão de que ocorreu a biomineralização de  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  em todas as profundidades, às quais foram identificadas pelo MEV-EDS (Tópico 4.2.4) nas camadas superiores. Mas, houve o aumento de resistência à compressão simples-UCS e à capacidade da bactéria nativa do solo *S. pasteurii* de precipitar  $\text{CaCO}_3$  na ausência e na presença de  $\text{Cr}^{6+}$ .

Figura 34 - Digestão alcalina pontual na coluna de biocimentação para os corpos de prova contaminados com  $\text{Cr}^{6+}$ .

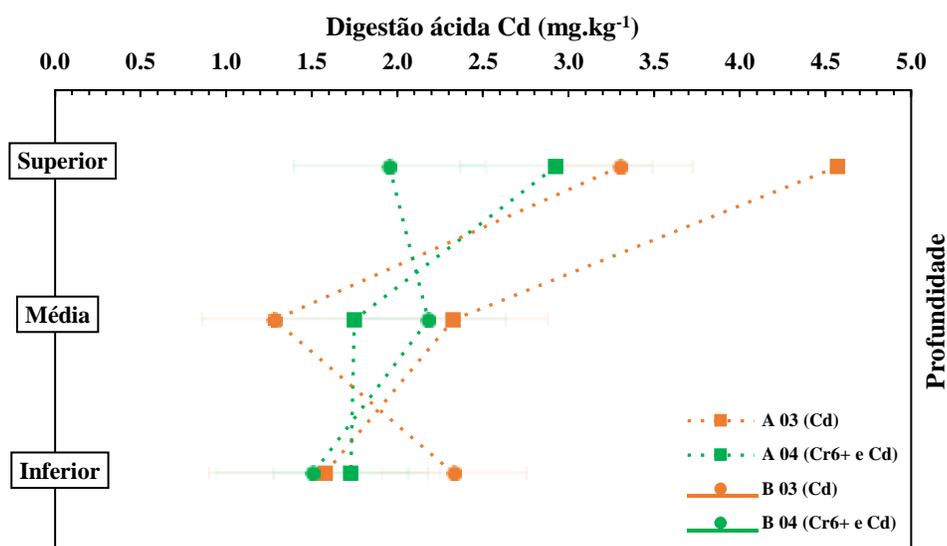


Legenda- A: 1x volume de solução biocimentante; B: 2x volume de solução biocimentante.

A mesma analogia foi conduzida à digestão ácida, apresentada na Figura 35; em que é possível identificar o transporte de Cd ao longo da coluna de biocimentação. A amostra com maior concentração imobilizada foi a A 03, na ausência de  $\text{Cr}^{6+}$ , contendo  $4,57 \text{ mg.kg}^{-1}$  (11,42% da concentração inicial), o que indica que, para o Cd, a presença ou ausência de  $\text{Cr}^{6+}$  não interferiu no transporte do contaminante.

Outrossim, a mobilidade do Cd mostrou ser menos ativa, o que está correlacionado na quantidade lixiviada do contaminante. Além disso, pela presença do contaminante em todas as profundidades das colunas, a biomineralização de  $\text{CdCO}_3$  pela produção de  $\text{CaCO}_3$  pela bactéria *S. pasteurii*, nativa no solo, também foi eficiente para esse contaminante. A concentração inicial não foi tóxica para o metabolismo de microrganismos, com base nos dados apresentados durante o processo de monitoramento da aplicação da solução biocimentante (tópico 4.1). Ainda assim, não houve diferença significativa no transporte em comparação com o volume de solução ( $X_3$ ), indicando que o 2x o volume de vazios não acarreta diretamente na lixiviação do contaminante e contribui intrinsecamente para maior homogeneidade de biocimentação da técnica ao longo das colunas.

Figura 35 - Digestão ácida pontual na coluna de biocimentação para os corpos de prova contaminados com Cd.



Legenda- A: 1x volume de solução biocimentante; B: 2x volume de solução biocimentante.

Esses resultados mostram o aprimoramento geomecânico do solo contaminado, a capacidade de imobilização de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd e a formação de  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$  (evidenciada no próximo tópico), com o aprimoramento geomecânico adequado e a rigidez da estrutura desses biominerais. Ademais, há indícios suficientes para afirmar que os contaminantes são transportados ao longo dos corpos de prova e simultaneamente biomineralizados, dando origem a novas formações. No entanto, conclui-se que a homogeneidade é estritamente dependente do volume de solução a ser aplicada, contribuindo diretamente para o acréscimo de lixiviação, no caso de  $\text{Cr}^{6+}$  e sim no caso de Cd (tópico 4.1.4), porém independentemente do volume de solução aplicada, o transporte dos contaminantes ocorre ao longo das colunas de biocimentação e lixiviados da mesma forma, em quantidades reduzidas para o Cd e em maiores proporções para o  $\text{Cr}^{6+}$ .

Em suma, entende-se, que para a técnica de biocimentação, o Cd é menos móvel que o  $\text{Cr}^{6+}$  e mais eficaz na aplicação da técnica, em âmbito geral, frente aos ensaios realizados. Porém, a imobilização, ocorre em ambos os íons metálicos, bem como a formação de  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$  pela interação entre os íons de calcita e os íons metálicos livres no solo contaminado.

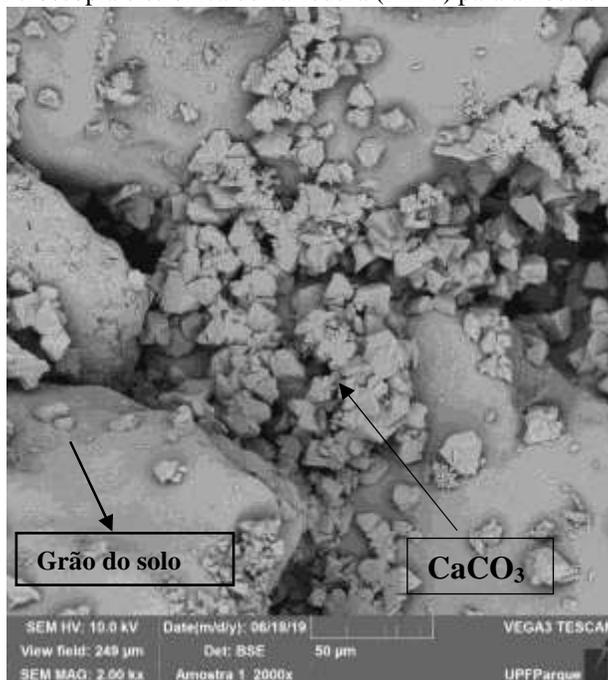
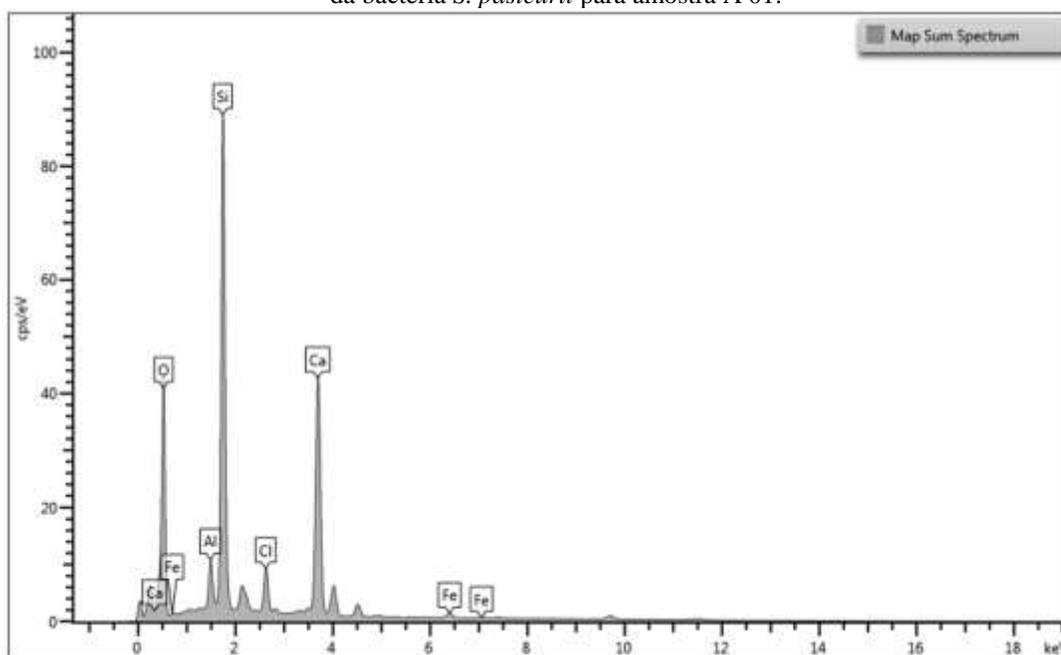
#### 4.2.4 Análise microscópica e FTIR

A Figura 36 apresenta as imagens microscópicas oriundas do MEV da amostra A 01 (Branco), sem contaminantes. Foi possível realizar a identificação dos grãos do solo arenoso e a formação de calcita-CaCO<sub>3</sub>, produto da biocimentação, como depósitos cristalinos claros ao longo do espécime, trabalhando como uma ligação química e física entre os grãos do solo e proporcionando o aumento da resistência geomecânica, à qual foi identificada em ensaios anteriores (tópico 4.2.1) (ACHAL *et al.*, 2013; MWANDIRA; NAKASHIMA; KAWASAKI, 2017; ZHU *et al.*, 2016).

Ademais, os cristais identificados eram aproximadamente romboédricos em suas formas; e para confirmar a biocimentação por bioestimulação de *S. pasteurii*, nativa do solo, o MEV foi combinado com o EDS, a fim de indicar o acúmulo de minerais.

Então, pela Figura 37 é possível identificar os picos de Ca e O, contendo elevadas quantidades desses elementos essenciais para o CaCO<sub>3</sub>. Por consequência dando informações e resultados suficientes para inferir que a biocimentação é eficaz através da bioestimulação da bactéria nativa na areia de Osório, a *S. pasteurii*, ainda que os ensaios microscópicos foram conduzidos em amostras oriundas com 1x o volume de solução biocimentante, nível mais baixo do fator X<sub>3</sub>. Logo, a extrapolação de tais resultados para indicar a equidade na eficácia do tratamento para amostras com 2x o volume de vazios é válido, com base nos resultados anteriores que pré-identificaram a ocorrência de biocimentação, seja pelo aperfeiçoamento da resistência, ou mesmo pelas etapas de monitoramento.

Figura 36 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para amostra A 01 (Branco).

Figura 37 - Identificação por EDS dos elementos químicos produzidos na biocimentação através da bioestimulação da bactéria *S. pasteurii* para amostra A 01.

Ainda, nas Figuras 38, 39, 40 e 41 os resultados MEV-EDS para as amostras contaminadas A 02 e A 03 são exibidos. Observa-se que os resultados aqui expostos foram realizados para amostras “A”, mas que as discussões são extrapoladas para toda experimentação.

Assim, pelas Figuras 38 e 39 é possível identificar os grãos naturais do solo com a presença de  $\text{CaCO}_3$ , os quais, então fornecem o resultado da biocimentação por formas romboédricas. Mas, também é possível notar a presença do  $\text{Cr}^{6+}$  na superfície do  $\text{CaCO}_3$ ; o que significa que houve uma interação entre  $\text{CaCO}_3$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , gerando o elemento  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  pela substituição isomórfica de  $\text{Cr}^{6+}$  em Ca.

Fatores esses, formação dos cristais e biominerais, responsáveis pelo aperfeiçoamento geotécnico do solo, indicando que as ligações químicas desses elementos são devidamente estruturadas, em última análise elevando a capacidade de carga do solo, evidenciado pelo ensaio de compressão simples-UCS (tópico 4.2.1). Porém, no item específico, discutiu-se a mitigação da capacidade de carga dos elementos biocimentados na presença dos contaminantes. Ainda que ocorra a formação de  $\text{CaCO}_3$  e sua consequente substituição isomórfica, os elementos formados não apresentam resistências compatíveis a solos não contaminados (AMARAKOON; KAWASAKI, 2018; MWANDIRA; NAKASHIMA; KAWASAKI, 2017).

Logo, a técnica a biocimentação (MICP) aliada à bioestimulação de bactérias nativas do solo, nesse caso a *S. pasteurii*, credencia-se a aplicações futuras como técnica de Solidificação/Estabilização. Sendo que, até o presente momento não há evidências em pesquisas sobre a possibilidade de imobilização através de bioestimulação da técnica MICP para o contaminante  $\text{Cr}^{6+}$ .

Além disso, o resultado da Figura 39 identificou presença de Ca e O, indicando a precipitação de  $\text{CaCO}_3$ . Também mostrou quantidades de  $\text{Cr}^{6+}$ , o que leva a concluir que, mesmo com o processo de lixiviação (tópico 4.1) durante a aplicação da solução biocimentante, ainda remanesceram traços de  $\text{Cr}^{6+}$  na camada superior e induziu a formação de  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  pela bioestimulação da bactéria *S. pasteurii*.

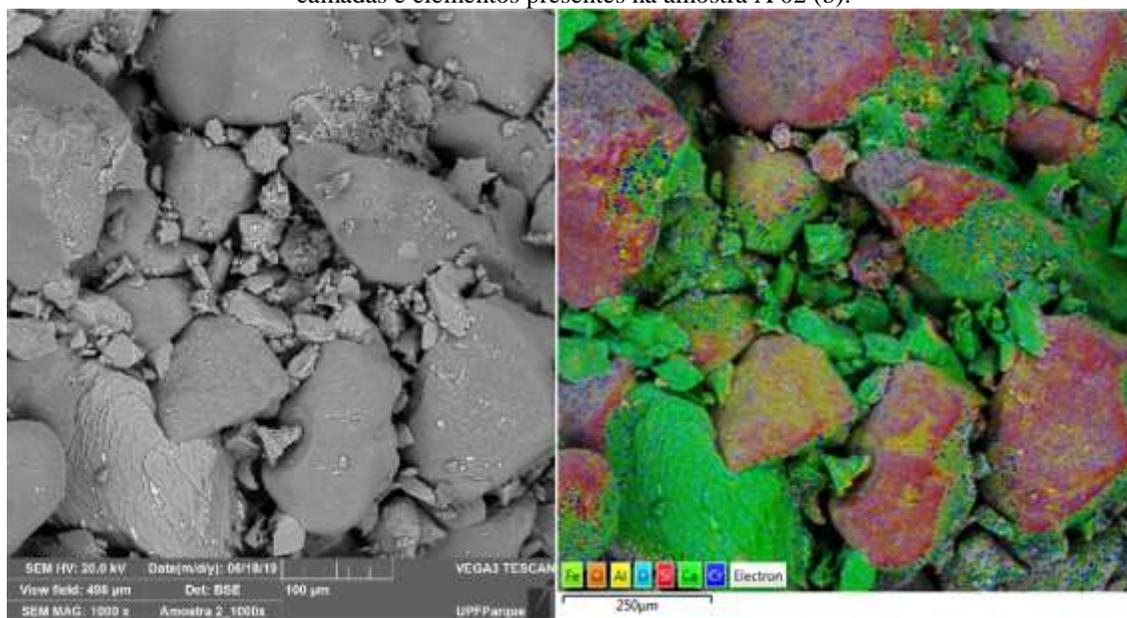
Quanto às amostras contaminadas com Cd, as Figuras 40 e 41 identificaram a precipitação de  $\text{CaCO}_3$  produzida pela bioestimulação da bactéria *S. pasteurii*, através de formações romboédricas, típicas da precipitação de carbonato de cálcio (LI; CHENG; GUO, 2013; LIU *et al.*, 2018b; MUJAH; CHENG; SHAHIN, 2019).

Também é possível notar, principalmente pela Figura 41 a presença de Cd na superfície do grão, intrínseco a  $\text{CaCO}_3$ . Induzindo a inferir que houve disponibilidade para formação de  $\text{CdCO}_3$  através da interação entre os íons livres do contaminante metálico e a  $\text{CaCO}_3$  precipitada, através da substituição isomórfica entre Cd e Ca (KHADIM; AMMAR; EBRAHIM, 2019; KUMARI *et al.*, 2014). Além disso, os padrões da Figura 41 indicam a formação de  $\text{CaCO}_3$  pela grande quantidade de Ca e O encontrada na amostra. Também inferem a presença de Cd na amostra, indicando que o contaminante ainda estava encapsulado na camada superior, mesmo que possa ter sido transportado para as camadas inferiores.

Todavia, infere-se que ocorreu a secreção de metabólitos os quais reagiram com os íons dos compostos metálicos durante o processo de biocimentação, levando em última análise na formação dos biominerais  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$ , e na consequente imobilização desses (MUGWAR; HARBOTTLE, 2016; TAMAYO-FIGUEROA; CASTILLO; BRANDÃO, 2019).

Observa-se, ainda, que as amostras com ambos contaminantes tiveram o mesmo poder de identificação, porém não foram apresentados por ser qualitativamente inferiores em termos de resolução e mapeamento da imagem.

Figura 38 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para amostra A 02 ( $\text{Cr}^{6+}$ ) (a); MEV-EDS identificado por camadas e elementos presentes na amostra A 02 (b).



4.2.4.1

(b)

Figura 39 - Identificação por EDS dos elementos químicos produzidos na biocimentação através da bioestimulação da bactéria *S. pasteurii* para amostra A 02.

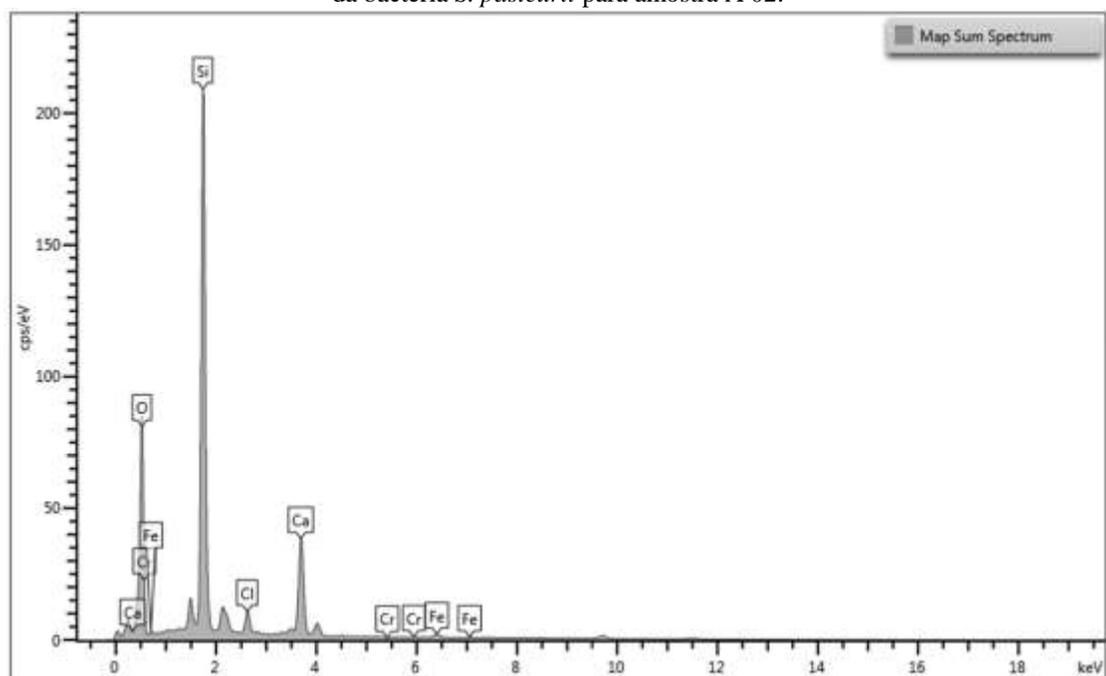


Figura 40 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para amostra A 03 (Cd) (a); MEV-EDS identificado por camadas e elementos presentes na amostra A 03 (b).

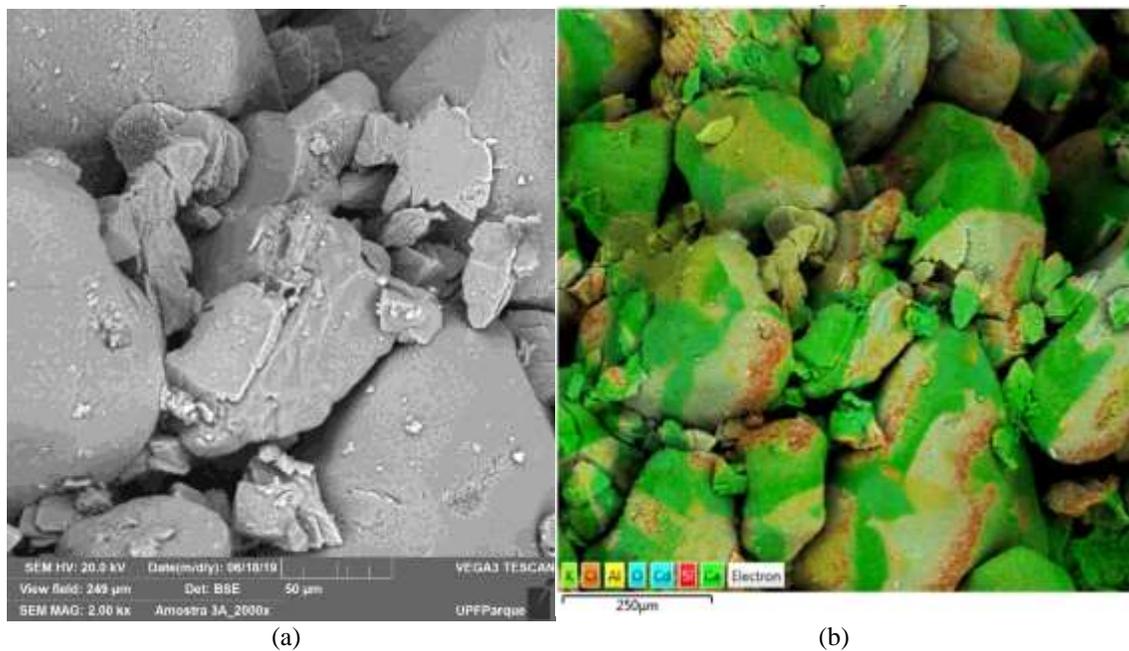
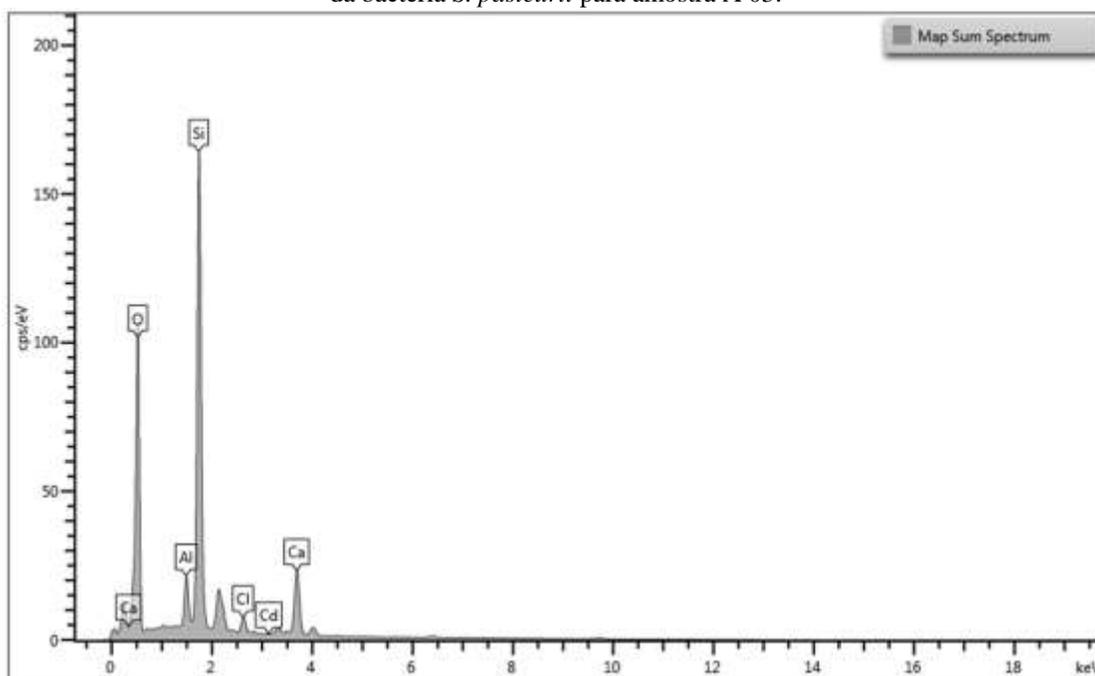


Figura 41 - Identificação por EDS dos elementos químicos produzidos na biocimentação através da bioestimulação da bactéria *S. pasteurii* para amostra A 03.



Os espectros oriundos da análise FTIR da biomineralização precipitada pela *S. pasteurii* estão apresentados nas Figuras 42, 43, 44 e 45. Exibidos os espectros da amostra branca (espécie A 01) e das amostras com presença de contaminantes (corpos de prova: A 02, A 03 e A 04), respectivamente.

Figura 42 - Análise FTIR amostra A 01.

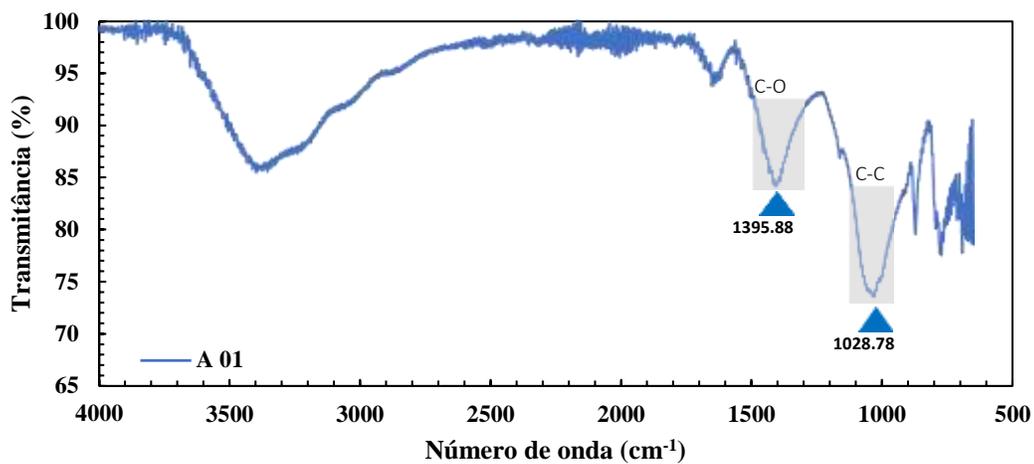


Figura 43 - Análise FTIR amostra A 02.

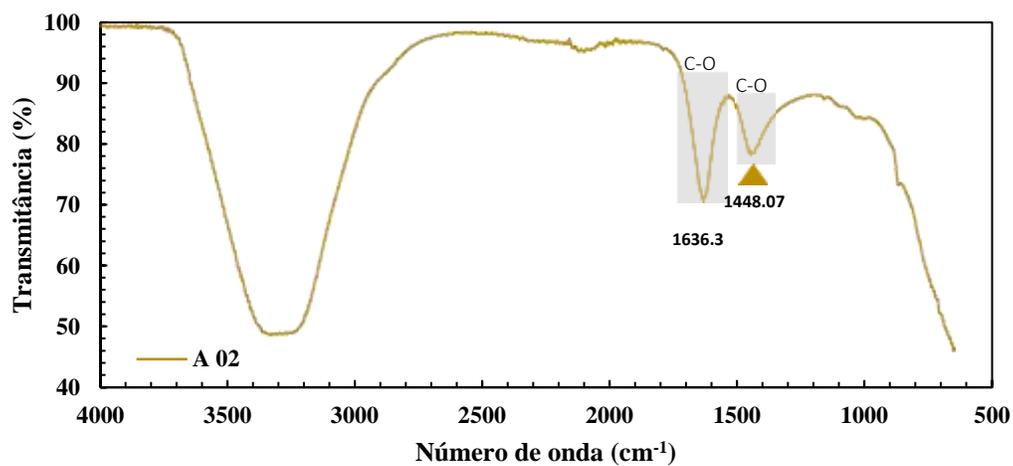


Figura 44 - Análise FTIR amostra A 03.

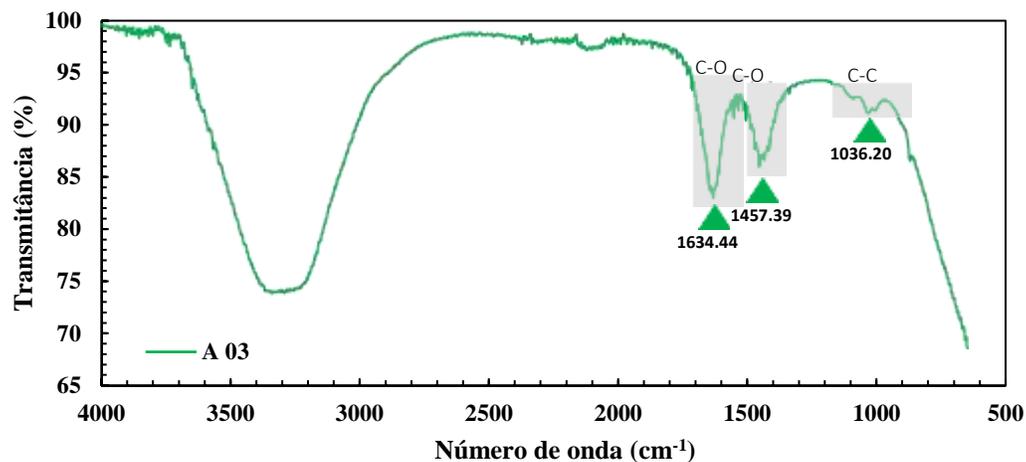
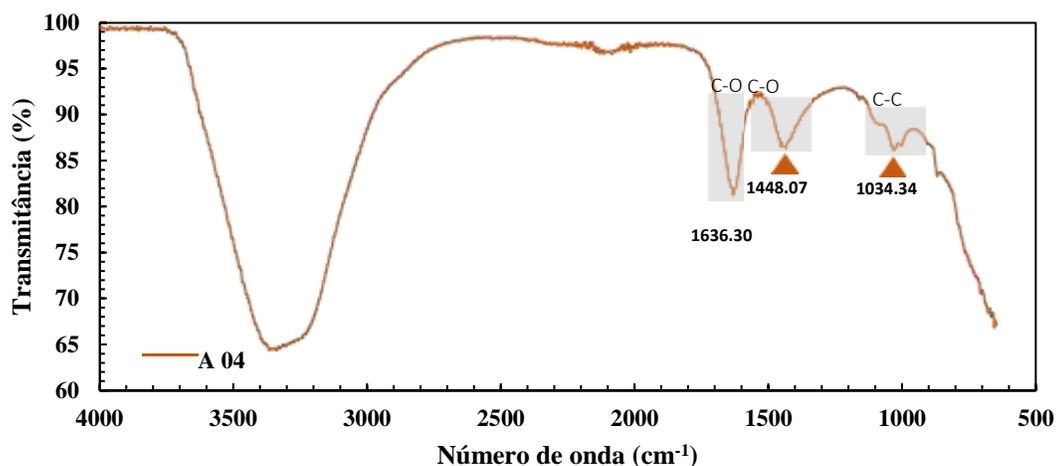


Figura 45 - Análise FTIR amostra A 04.



Logo, tais análises revelaram a presença de carbonato de cálcio oriundo da precipitação dos microrganismos nativos do solo bioestimulados, os quais foram responsáveis por secretar metabólitos para reagir com os íons metálicos livres ( $\text{Cr}^{6+}$  e Cd) e com os compostos originários da solução biocimentante (ZHU *et al.*, 2016).

Os espectros revelaram também que as ligações químicas do carbonato de cálcio localizadas na faixa de  $1550\text{ cm}^{-1}$  são fortes e intensas, e essa ligação química pode ser observada em todas as amostras contaminadas ou não, e especialmente atribuída à ligação C-O,

presente no  $\text{CaCO}_3$  precipitado (identificável em todas amostras das Figuras 42 a 45) (ACHAL *et al.*, 2012b, 2012a; ZHU *et al.*, 2016).

Além disso, os espectros permitiram identificar as ligações C-C na região de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , o que também é complementar à formação de  $\text{CaCO}_3$  (exceto na amostra A 03). Logo, a análise através do FTIR foi útil na identificação das ligações químicas dos elementos, permitindo, por sua vez, validar a formação de  $\text{CaCO}_3$  em todas amostras analisadas, concomitantemente com os ensaios prévios, de monitoramento e pós-biocimentação.

Logo, a identificação das ligações químicas oriundas da precipitação de  $\text{CaCO}_3$ , sendo elas ligações de C-O e C-C, foram indicativos da eficácia da técnica, especialmente em corpos de prova contaminados com  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd. Tais análises foram complementares ao MEV-EDS, permitindo, de fato, a classificação dos biominerais precipitados  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$ . Ainda, a extrapolação dos resultados é feita para as amostras B 01, B 02, B 03 e B 04, uma vez que os ensaios de monitoramento e pós-biocimentação também evidencia a precipitação de  $\text{CaCO}_3$ ,  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$ .

Sumariamente os resultados foram eficientes no quesito de imobilização dos contaminantes metálicos experimentados  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, frente à técnica MICP via bioestimulação de bactérias nativas *S. pasteurii*, uma vez que os biominerais foram devidamente indicados pela análise microscópica e FTIR, e garantiram aperfeiçoamento geotécnico ao solo experimentado (tópico 4.2.1).

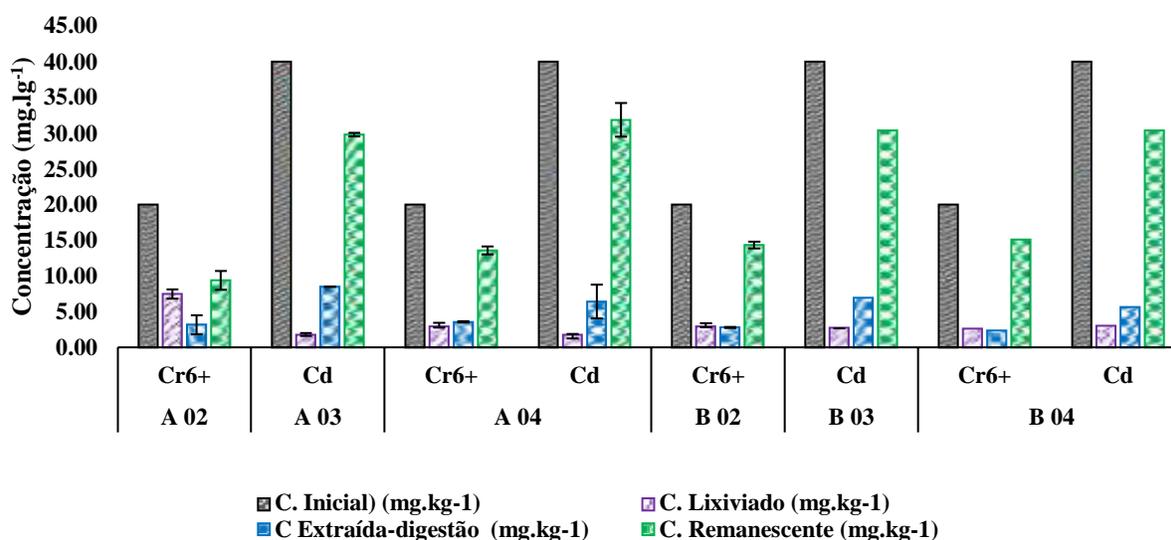
### 4.3 Análise Geral da biocimentação

Os resultados expostos na Figura 46 mostra a totalidade da experimentação, quanto ao lixiviado durante o processo de biocimentação, as concentrações extraídas pontualmente (descontadas do montante final) e o remanescente nos corpos de prova, dispostos originalmente com contaminantes.

Tais resultados, em concordância com àqueles apresentados anteriormente, enfatizam favoravelmente ao aprimoramento geomecânico do solo contaminado com a capacidade de imobilização de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd. Logo, com a conseqüente formação de  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3$  através da precipitação de  $\text{CaCO}_3$  pelas bactéria nativa *S. pasteurii* e sua capacidade de formação dos minerais citados.

A Figura 46 explicita a taxa de imobilização de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, permitindo observar que o pior cenário de imobilização ocorreu para o corpo de prova A 02, com total remanescente de 63% da contaminação original, ou seja, dos 20  $\text{mg.kg}^{-1}$  iniciais, apenas 12,5  $\text{mg.kg}^{-1}$  permaneceram na coluna de biocimentação. É possível inferir que, principalmente na camada superior, com maior percentual de biocimentação, a imobilização do metal é mais eficaz, devido ao grau de biocimentação, e sua presença foi identificada através do ensaio de digestão alcalina ao longo das colunas de biocimentação. Logo, pode-se inferir que houve a formação do biomineral  $[\text{Cr}(\text{CO}_3)_3]$  primordialmente na camada superior, originalmente contaminada e sua consequente imobilização. Consequentemente, nas camadas inferiores, sua imobilização tende a apresentar menor imobilização, justamente devido ao grau de biocimentação.

Figura 46 - Balanço de massas e correlação entre  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd imobilizados, extraídos e lixiviados através da bioestimulação e precipitação de  $\text{CaCO}_3$  pela bactéria *S. pasteurii*.



Já o corpo de prova A 03, mostrado na Figura 46, atingiu percentuais de 95,7% remanescentes, dos 40  $\text{mg.kg}^{-1}$  iniciais de Cd. Tal fato indica a celeridade da técnica quando ao Cd, tornando-o menos móvel em relação ao  $\text{Cr}^{6+}$  e mais suscetível a aplicação da técnica MICP via bioestimulação. Toda analogia de imobilização ao longo da coluna de biocimentação é extrapolada para os corpos de prova com presença de Cd, bem como com ambos contaminantes.

Ainda, com base na resolução 45/2014 da Cetesb (2014), é possível comparar os limites dos contaminantes remanescentes, uma vez que a concentração experimental foi baseada em tal regimento, juntamente com a resolução n° 420 do Conama (2009). Logo, percebe-se que a

técnica foi capaz de imobilizar  $\text{Cr}^{6+}$ , ocorrendo, porém, a lixiviação desse durante o processo de aplicação da biocimentação. No entanto, a presente legislação não permite concentrações do contaminante em águas subterrâneas. Diante da problemática, um sistema futuro de controle do lixiviado é necessário ser implementado nos maciços de solo para reter a solução biocimentante lixiviada, oriunda do processo de biocimentação.

Já quanto as concentrações remanescentes, é possível destinar o solo tratado através da técnica MICP para usos civis, uma vez o contaminante imobilizado, sobretudo em camadas superficiais de solo.

Ainda, para o contaminante Cd, com base resolução 45/2014 da Cetesb (2014), apesar da retenção de 95,7% do contaminante, a mínima lixiviação desse também deve ser impedida de entrar em contato com águas subterrâneas. Para tal, sistema de coleta do lixiviado também é necessário.

Sumarizando os resultados, pode-se dizer que a técnica é promissora quanto à viabilidade de imobilização de metais tóxicos, conduzindo à biomineralização dos íons metálicos através de trocas isomórficas entre os elementos precipitados da  $\text{CaCO}_3$ . Contudo, as concentrações experimentais não foram tóxicas aos microrganismos nativos do solo e permitiram o ciclo da urease com a precipitação de calcita. Propriedades geomecânicas também foram aperfeiçoadas, tipicamente se comportando como materiais cimentícios.

Porém, a lixiviação dos contaminantes é evidente durante o processo de biocimentação, logo, deve-se ter em conta a profundidade do solo tratado. Nessa pesquisa, a camada de 25 cm de solo não contaminado não foi o suficiente para impedir a lixiviação dos contaminantes para além da camada. Estudos futuros devem avaliar profundidades mais elevadas e aplicar sistemas de captação da solução lixiviada, justamente para inibir o contato dos contaminantes com águas subterrâneas.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante da conclusão experimental e consequente análise e discussão dos dados apresentados ao longo da dissertação, é possível concluir sobre aspectos da técnica de biocimentação via bioestimulação dos microrganismos nativos do solo e sua consequente capacidade de precipitação de  $\text{CaCO}_3$  -ainda que, na presença de contaminantes metálicos.

Primeiramente, referente aos fatores considerados no monitoramento da atividade ureolítica durante o processo de biocimentação, verificou-se que a concentração experimental de  $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{6+}$  e de  $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de Cd não afetaram significativamente a ocorrência prática da urease; salvo as devidas oscilações identificadas estatisticamente entre os resultados. Tal fator indica que os microrganismos nativos, dentre eles a *S. pasteurii*, são capazes de precipitar carbonado de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), mesmo em presença de íons metálicos. Argumentos estes embasados nos resultados avaliados para o pH, taxa de hidrólise da ureia e volume de solução biocimentante drenada (tópico 4.1).

Ademais, há a lixiviação dos contaminantes, essencialmente, nas primeiras injeções, de forma acentuada para o  $\text{Cr}^{6+}$  em relação ao Cd. Importante notar que o  $\text{Cr}^{6+}$  na ausência de Cd tende a lixiviar em quantidades exacerbadas, levando a inferir que existe uma ligação entre os metais, quando na presença de Cd, na qual retarda o processo de lixiviação do  $\text{Cr}^{6+}$ ; fenômeno que deve ser estudado futuramente. Quanto ao Cd, houve uma influência no montante lixiviado em relação ao volume de solução biocimentante aplicada, sendo que, uma aplicação de 2x o volume, contribuiu para uma maior lixiviação. Em termos percentuais, o remanescente de tais contaminantes após o processo de biocimentação variou de 63% (pior cenário) para corpos de prova contaminados somente com  $\text{Cr}^{6+}$  e de 95,7% (melhor cenário) para corpos de prova contaminados apenas com Cd. Diante dessa problemática, sugere-se que sistemas de captação da solução lixiviada devam ser implementados, uma vez que não se sabe a influência dessa microbiota e sua toxicidade, bem como em casos com contaminantes metálicos, visto que o limite de legislação é extremamente baixo para águas subterrâneas, não podendo, assim, haver o contato entre esse compartimento ambiental e os metais aqui avaliados.

Quanto aos ensaios referentes à fase de pós-biocimentação (tópico 4.2), a compressão simples levou à inferência de que, mesmo na presença de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd, houve precipitação de  $\text{CaCO}_3$  e o consequente aperfeiçoamento de propriedades geomecânicas. No entanto, as ligações

físico-químicas com tais metais proporcionam menor magnitude de resistência aos corpos de prova, indicando que os elementos formados e biomineralizados  $-\text{[Cr(CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3^-$ , apresentam estrutura com menor resistência. Ademais, foi possível avaliar que o volume de solução biocimentante não foi estatisticamente significativo para a camada superior. Porém, 2x o volume dessa variável proporcionou um aperfeiçoamento na homogeneidade da técnica, garantindo a precipitação de carbonato de cálcio ao longo dos 30 cm da coluna de biocimentação.

Tais ensaios, concomitantemente com a digestão alcalina e ácida, mostraram a presença dos contaminantes ao longo da coluna de biocimentação. Sinalizando o transporte desses na parte superior, inicialmente contaminada, para a parte inferior, sem contaminação. Esses ensaios indicaram também, a interação entre a calcita e os íons metálicos dispostos pelos contaminantes.

Outrossim, a análise microscópica, juntamente com o FTIR, foram responsáveis pela identificação dos biominerais  $-\text{[Cr(CO}_3)_3]$  e  $\text{CdCO}_3^-$ , precipitados através da interação entre a  $\text{CaCO}_3$  e os íons metálicos livres de  $\text{Cr}^{6+}$  e Cd. Tal análise, auxiliou na conclusão da ocorrência do fenômeno de biomineralização, especialmente na camada superior (originalmente contaminada). Levando à extrapolação dos resultados para as camadas inferiores, diante da discussão apresentada. Complementar a ela, o FTIR contribuiu na identificação das principais ligações químicas de C-C e C-O, típica em elementos biocimentados, mesmo quando na presença de metais contaminantes.

Sobretudo, a técnica apresentou resultados positivos quanto à sua capacidade de imobilização e precipitação de  $\text{CaCO}_3$ , mesmo na presença de contaminantes metálicos.

## **RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Diante da conclusão da pesquisa conduzida nessa dissertação, foi possível identificar algumas lacunas presentes no campo da biocimentação e sua remediação de metais tóxicos. Sugere-se futuramente experimentação com camadas de solos mais espessas, analisando exclusivamente parâmetros de transporte de contaminantes no solo, bem como a variação entre os contaminantes metálicos e ocasionalmente a possibilidade da técnica quanto a imobilização de contaminantes orgânicos.

Ainda, sistemas de captação da solução lixiviada devem ser implementados, bem como novos métodos de aplicação da técnica, que permitam fonte ininterrupta de oxigênio para as bactérias e a possível elevação da homogeneidade da técnica.

Por fim, sugere-se a análise da interação de diferentes argilominerais e a técnica de biocimentação, não somente em solos inertes, bem como avaliação de sua possível toxicidade frente à microbiota.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Análise Granulométrica. Método de Ensaio. NBR 7181. Rio de Janeiro, 2016.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Resíduos Sólidos - Classificação. NBR 10004. Rio de Janeiro, 2004.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Procedimento para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos. NBR 10005. Rio de Janeiro, 2004.

ACHAL, V.; MUKHERJEE, A.; BASU, P. C.; REDDY, M. Sudhakara. Strain improvement of *S. pasteurii* for enhanced urease and calcita production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 36, n. 7, p. 981–988, 2009.

ACHAL, V.; PAN, X. Influence of calcium sources on microbially induced calcium carbonate precipitation by *Bacillus* sp. CR2. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S. l.], v. 173, n. 1, p. 307–317, 2014.

ACHAL, V.; PAN, X.; FU, Q.; ZHANG, D. Biomineralization based remediation of As(III) contaminated soil by *Sporosarcina ginsengisoli*. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 201–202, p. 178–184, 2012 a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.11.067>

ACHAL, V.; PAN, X.; LEE, D. J.; KUMARI, D.; ZHANG, D.. Remediation of Cr(VI) from chromium slag by biocementation. **Chemosphere**, [S. l.], v. 93, n. 7, p. 1352–1358, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.08.008>

ACHAL, V.; PAN, X.; ZHANG, D.; FU, Q. Bioremediation of Pb-contaminated soil based on microbially induced calcita precipitation. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 244–247, 2012 b.

AL-SALLOUM, Y.; HADI, S.; ABBAS, H.; ALMUSALLAM, T.; MOSLEM, M. A. Bio-induction and bioremediation of cementitious composites using microbial mineral precipitation – A review. **Construction and Building Materials**, [S. l.], v. 154, p. 857–876, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2017.07.203>

AL QABANY, A.; SOGA, K.; SANTAMARINA, C. Factors Affecting Efficiency of Microbially Induced Calcita Precipitation. **Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering**, [S. l.], v. 138, n. 8, p. 992–1001, 2012. Disponível em: <http://ascelibrary.org/doi/10.1061/%28ASCE%29GT.1943-5606.0000666>

AMARAKOON, G. G. N. N.; KAWASAKI, S. Factors Affecting Sand Solidification Using MICP with *Pararhodobacter* sp. **Materials Transactions**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 72–81, 2018.

AMIRI, A.; AZIMA, M.; BAS, Z. Crack remediation in mortar via biomineralization : Effects of chemical admixtures on biogenic calcium carbonate. [S. l.], v. 190, p. 317–325, 2018.

ANBU, P.; KANG, C. H.; SHIN, Y. J.; SO, J. S. Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. **SpringerPlus**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–26, 2016.

ASTM. **Standard Test Method for Unconfined Compressive Strength of Cohesive Soil - D2166/D2166M-13**. West Conshohocken, PA [s. n.]

ASTM. **Standard Practice for measuring elements in water by flame atomic absorption spectrophotometry - D4691**. West Conshohocken, PA. [s. n.]

BACHMEIER, K. L.; WILLIAMS, A. E.; WARMINGTON, J. R.; BANG, S. S. Urease activity in microbiologically-induced calcite precipitation. **Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 93, n. 2, p. 171–181, 2002.

BARABESI, C.; GALIZZI, A.; MASTROMEI, G.; ROSSI, M.; TAMBURINI, E.; PERITO, B. Bacillus subtilis gene cluster involved in calcium carbonate biomineralization. **Journal of Bacteriology**, [S. l.], v. 189, n. 1, p. 228–235, 2007.

BEYERSMANN, D.; HARTWIG, A. Carcinogenic metal compounds : recent insight into molecular and cellular mechanisms. [S. l.], p. 493–512, 2008.

BOUWMAN, A. F.; BOUMANS, L. J. M.; BATJES, N. H. Estimation of global NH<sub>3</sub> volatilization loss from synthetic fertilizers and animal manure applied to arable lands and grasslands. **Global Biogeochemical Cycles**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 8-1-8–14, 2002. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1029/2000GB001389>

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O.; CONTIN, T. L. M.; DIAS, F. L. F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R. B.; QUAGGIO, J. A. Ammonia volatilisation from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, [S. l.], v. 65, n. 4, p. 397–401, 2008. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90162008000400011&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162008000400011&lng=en&nrm=iso&tlng=en)

CETESB. **COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO 45/2014**. São Paulo [s. n.]

CHEN, X.; ACHAL, V. Biostimulation of carbonate precipitation process in soil for copper immobilization. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389419301153>

CHENG, L.; SHAHIN, M. A.; CORD-RUWISCH, R. Soil Stabilisation by Microbial-Induced Calcite Precipitation (MICP): Investigation into Some Physical and Environmental Aspects. **Geotechnique**, [S. l.], v. 64, n. 12, p. 1010–1013, 2014. Disponível em: <https://search.informit.com.au/documentSummary;dn=000879880064866;res=IELENG>

CHENG, L.; CORD-RUWISCH, R. Upscaling Effects of Soil Improvement by Microbially Induced Calcite Precipitation by Surface Percolation. **Geomicrobiology Journal**, [S. l.], v. 31, n. 5, p. 396–406, 2014.

CHOI, Sun-gyu; WANG, K.; WEN, Z.; CHU, J. Mortar crack repair using microbial induced calcite precipitation method. **Cement and Concrete Composites**, [S. l.], v. 83, p. 209–221, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2017.07.013>

CIURLI, S.; MARZADORI, C.; BENINI, S.; DEIANA, S.; GESSA, C. Urease from the soil bacterium *S. pasteurii*: Immobilization on Ca-polygalacturonate. **Soil Biology and Biochemistry**, [S. l.], v. 28, n. 6, p. 811–817, 1996. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(96\)00020-X](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(96)00020-X)

CONAMA. **Resolução N° 420, De 28 De Dezembro De 2009**. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece

diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário Oficial da União nº 249**, [S. l.: s. n.]p. 81–84. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>

COSTAGLIOLA, P.; RIMONDI, V.; BENVENUTI... M. Arsenic Uptake By Natural Calcitas: Preliminary Results From Sequential Extraction of Italian Travertines. **IMWA Symposium 2007 ... VN - readcube.com**, [S. l.], n. May, 2007. Disponível em: [https://imwa.info/docs/imwa\\_2007/IMWA2007\\_Costagliola.pdf%5CnE:%5CIIHLLA%5CPROYECTO%5CARSENICO%5CBibliografia%5CReferencias\\_as%5CAs-uptake-by-calcita.pdf](https://imwa.info/docs/imwa_2007/IMWA2007_Costagliola.pdf%5CnE:%5CIIHLLA%5CPROYECTO%5CARSENICO%5CBibliografia%5CReferencias_as%5CAs-uptake-by-calcita.pdf)

CRUZ, R. C. **Influência de parâmetros fundamentais na rigidez, resistência e dilatação de uma areia artificialmente cimentada**. 2008. - Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), [s. l.], 2008.

DALL'AGNOL, B. B. **Estabilização e solidificação de Cromo (VI) por biocimentação**. Passo Fundo: PPGENG-UPF, 2018.

DEJONG, J. T.; SOGA, K.; BANWART, S. A.; WHALLEY, W. Richard; GINN, Timothy R.; NELSON, D. C.; MORTENSEN, B. M.; MARTINEZ, B. C.; BARKOUKI, T. Soil engineering in vivo: Harnessing natural biogeochemical systems for sustainable, multi-functional engineering solutions. **Journal of the Royal Society Interface**, [S. l.], v. 8, n. 54, p. 1–15, 2011.

DEUTSCH, W. J. **Groundwater Geochemistry – Fundamentals and Applications to contamination**. [S. l.]: Lewis Publishers, 1997.

DU, Yan-Jun; JIANG, Ning-Jun; LIU, Song-Yu; JIN, F.; SINGH, D. N.; PUPPALA, A. J. Engineering properties and microstructural characteristics of cement-stabilized zinc-contaminated kaolin. **Canadian Geotechnical Journal**, [S. l.], v. 51, n. 3, p. 289–302, 2014. Disponível em: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/cgj-2013-0177>

DUO, L.; KAN-LIANG, T. HUI-LI, Z.; YU-YAO, Wu; KANG-YI, N.; SHI-CAN, Z. Experimental investigation of solidifying desert aeolian sand using microbially induced calcite precipitation. **Construction and Building Materials**, [S. l.], v. 172, p. 251–262, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.03.255>

ESTABRAGH, A. R.; KHOLOOSI, M.; GHAZIANI, F.; JAVADI, A. A. Mechanical and Leaching Behavior of a Stabilized and Solidified Anthracene-Contaminated Soil. **J. Environm. Eng.**, [S. l.], v. 144, n. 2, p. 1–10, 2018.

ESTABRAGH, A. R.; KHOLOOSI, M. M.; GHAZIANI, F.; JAVADI, A. A. Stabilization and solidification of a clay soil contaminated with MTBE. **Journal of Environmental Engineering**, [S. l.], v. 143, n. 9, p. 04017054-1- 04017054–8, 2017. Disponível em: <http://ascelibrary.org/doi/abs/10.1061/%28ASCE%29EE.1943-7870.0001248>

FENG, K.; MONTROYA, B. M. Drained Shear Strength of MICP Sand at Varying Cementation Levels. **Ifcee**, [S. l.], p. 2242–2251, 2015.

FOLLMER, C. Ureasas as a target for the treatment of gastric and urinary infections. **Journal of Clinical Pathology**, [S. l.], v. 63, n. 5, p. 424–430, 2010. Disponível em: <http://jcp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jcp.2009.072595>

FORCELINI, M., GARBIN, G. R., FARO, V. P., et al. "Mechanical Behavior of Soil Cement Blends with Osorio Sand", *Procedia Engineering*, v. 143, n. Ictg, p. 75–81, 2016. DOI:

- 10.1016/j.proeng.2016.06.010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2016.06.010>.
- GALLAGHER, C. M.; KOVACH, J. S.; MELIKER, J. R. NHANES 1988 – 1994 and 1999 – 2004. *[S. l.]*, n. 10, p. 1338–1343, 2008.
- GANG, J. G.; YUN, S. K.; HWANG, S. Y. Helicobacter pylori urease may exist in two forms: Evidence from the kinetic studies. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, *[S. l.]*, v. 19, n. 12, p. 1565–1568, 2009.
- GHOSH, P.; MANDAL, S.; CHATTOPADHYAY, B. D.; PAL, S. Use of microorganism to improve the strength of cement mortar. *[S. l.]*, v. 35, p. 1980–1983, 2005.
- GOMEZ, M. G.; ANDERSON, C. M.; GRADY, C. M. R.; DEJONG, J. T.; NELSON, D. C.; GINN, T. R. Large-Scale Comparison of Bioaugmentation and Biostimulation Approaches for Biocementation of Sands. **Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering**, *[S. l.]*, v. 143, n. 5, p. 04016124, 2017. Disponível em: <http://ascelibrary.org/doi/10.1061/%28ASCE%29GT.1943-5606.0001640>
- GRAHAM, D. Y.; MIFTAHUSSURUR, M. Helicobacter pylori urease for diagnosis of Helicobacter pylori infection: A mini review. **Journal of Advanced Research**, *[S. l.]*, p. 1–7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.01.006>
- GRIGALAVIČIENE, I.; RUTKOVIENE, V.; MAROZAS, V. The accumulation of heavy metals Pb, Cu and Cd at roadside forest soil. **Polish Journal of Environmental Studies**, *[S. l.]*, v. 14, n. 1, p. 109–115, 2005.
- HARKES, M. P.; VAN PAASSEN, L. A.; BOOSTER, J. L.; WHIFFIN, V. S.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation for ground reinforcement. **Ecological Engineering**, *[S. l.]*, v. 36, n. 2, p. 112–117, 2010.
- HE, Z. L.; YANG, X. E.; STOFFELLA, P. J. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *[S. l.]*, v. 19, p. 125–140, 2005.
- HOLM, L.; SANDER, C. An evolutionary treasure: Unification of a broad set of amidohydrolases related to urease. **Proteins: Structure, Function and Genetics**, *[S. l.]*, v. 28, n. 1, p. 72–82, 1997.
- HU, N.; LI, Z.; HUANG, P.; TAO, Cheng. Distribution and mobility of metals in agricultural soils near a copper smelter in South China. **Environmental Geochemistry and Health**, *[S. l.]*, v. 28, n. 1–2, p. 19–26, 2006.
- IDAKWO, S.; STATE, K. Paleoclimate reconstruction during Mamu Formation ( Cretaceous ) based on clay mineral distributions Paleoclimate Reconstruction during Mamu Formation ( Cretaceous ) Based on Clay Mineral Distributions. *[S. l.]*, n. November 2017, 2013.
- JIANG, N. J.; YOSHIOKA, H.; YAMAMOTO, K.; SOGA, K. Ureolytic activities of a urease-producing bacterium and purified urease enzyme in the anoxic condition: Implication for subseafloor sand production control by microbially induced carbonate precipitation (MICP). **Ecological Engineering**, *[S. l.]*, v. 90, p. 96–104, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.073>
- JONKERS, H. M.; THIJSEN, A.; MUYZER, G.; COPUROGLU, O.; SCHLANGEN, E. Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. *[S. l.]*,

v. 36, p. 230–235, 2010.

JOSHI, S.; GOYAL, S.; MUKHERJEE, A.; REDDY, M. S.. Microbial healing of cracks in concrete: a review. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 44, n. 11, p. 1511–1525, 2017.

JUNG, M. C. Contamination by Cd, Cu, Pb, and Zn in mine wastes from abandoned metal mines classified as mineralization types in Korea. **Environmental Geochemistry and Health**, [S. l.], v. 30, n. 3, p. 205–217, 2008.

KAJASTE, R.; HURME, M. Cement industry greenhouse gas emissions - Management options and abatement cost. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 112, p. 4041–4052, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.07.055>

KANG, C. H.; HAN, S. H.; SHIN, Y.; OH, S. J.; SO, J. S. Bioremediation of Cd by microbially induced calcite precipitation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S. l.], v. 172, n. 6, p. 2907–2915, 2014.

KANG, C. H.; KWON, Y. J.; SO, J. S. Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures. **Ecological Engineering**, [S. l.], v. 89, p. 64–69, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.023>

KANG, C. H.; SO, J. S. Heavy metal and antibiotic resistance of ureolytic bacteria and their immobilization of heavy metals. **Ecological Engineering**, [S. l.], v. 97, p. 304–312, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.10.016>

KHADIM, H. J.; AMMAR, S. H.; EBRAHIM, S. E. Biomineralization based remediation of cadmium and nickel contaminated wastewater by ureolytic bacteria isolated from barn horses soil. **Environmental Technology and Innovation**, [S. l.], v. 14, p. 100315, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100315>

KNORST, M. T.; NEUBERT, R.; WOHLRAB, W. Analytical methods for measuring urea in pharmaceutical formulations. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, [S. l.], v. 15, n. 11, p. 1627–32, 1997. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9260657>

KRAJEWSKA, B. Ureases I. Functional, catalytic and kinetic properties: A review. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [S. l.], v. 59, n. 1–3, p. 9–21, 2009.

KRAJEWSKA, B. Urease-aided calcium carbonate mineralization for engineering applications: A review. **Journal of Advanced Research**, [S. l.], 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.10.009>

KUMARI, D.; PAN, X.; LEE, Duu-Jong; ACHAL, V. Immobilization of cadmium in soil by microbially induced carbonate precipitation with *Exiguobacterium undae* at low temperature. **International Biodeterioration & Biodegradation**, [S. l.], v. 94, p. 98–102, 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096483051400225X>

LENNTECH. **lenntech.pdf**. [s. l.], 2018. Disponível em: <https://www.lenntech.com/>. Acesso em: 13 jun. 2019.

LI, L.; AMINI, F.; ZHAO, Q.; LI, C.; WEN, K.; LI, M.; OGBONNAYA, U. Development of a Flexible Mold for Bio-Mediated Soil Materials. **Ifcee 2015**, [S. l.], p. 2339–2348, 2015. Disponível em: <http://ascelibrary.org/doi/10.1061/9780784479087.217>

- LI, M.; CHENG, X.; GUO, H. Heavy metal removal by biomineralization of urease producing bacteria isolated from soil. **International Biodeterioration and Biodegradation**, [S. l.], v. 76, p. 81–85, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.06.016>
- LI, M.; FANG, C.; KAWASAKI, S.; HUANG, M.; ACHAL, V. International Biodeterioration & Biodegradation Bio-consolidation of cracks in masonry cement mortars by Acinetobacter sp . SC4 isolated from a karst cave. **International Biodeterioration and Biodegradation**, [S. l.], n. November 2017, p. 0–1, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.03.008>
- LI, X.; PENG, W.; JIA, Y.; LU, L.; FAN, W. Bioremediation of lead contaminated soil with Rhodobacter sphaeroides. **Chemosphere**, [S. l.], v. 156, p. 228–235, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.098>
- LIU, L.; LI, W.; SONG, W.; GUO, M. Science of the Total Environment Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils : Principles and applicability. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 633, p. 206–219, 2018 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.161>
- LIU, L.; LIU, H.; XIAO, Y.; CHU, J.; XIAO, P.; WANG, Y. Biocementation of calcareous sand using soluble calcium derived from calcareous sand. **Bulletin of Engineering Geology and the Environment**, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 1781–1791, 2018 b.
- MALVIYA, R.; CHAUDHARY, R. Leaching behavior and immobilization of heavy metals in solidified/stabilized products. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 137, n. 1, p. 207–217, 2006.
- MANI, D.; KUMAR, C. Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: An overview with special reference to phytoremediation. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 843–872, 2014.
- MINTO, J. M.; TAN, Q.; LUNN, R. J.; EL, G.; GUO, H.; CHENG, X. ‘ Microbial mortar ’ - restoration of degraded marble structures with microbially induced carbonate precipitation. **Construction and Building Materials**, [S. l.], v. 180, p. 44–54, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.05.200>
- MOBLEY, H. L.; HAUSINGER, R. P. Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. **Microbiological reviews**, [S. l.], v. 53, n. 1, p. 85–108, 1989. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=372718&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- MORTENSEN, B. M.; HABER, M. J.; DEJONG, J. T.; CASLAKE, L. F.; NELSON, D. C. Effects of environmental factors on microbial induced calcium carbonate precipitation. **Journal of Applied Microbiology**, [S. l.], v. 111, n. 2, p. 338–349, 2011.
- MUGWAR, A. J.; HARBOTTLE, M. J. Toxicity effects on metal sequestration by microbially-induced carbonate precipitation. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 314, p. 237–248, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.039>
- MUJAH, D.; CHENG, L.; SHAHIN, M. A. Microstructural and geomechanical study on biocemented sand for optimization of MICP process. **Journal of Materials in Civil Engineering**, [S. l.], v. 31, n. 4, p. 1–10, 2019.

- MUJAH, D.; SHAHIN, M. A.; CHENG, Liang. State-of-the-Art Review of Biocementation by Microbially Induced Calcite Precipitation (MICP) for Soil Stabilization. **Geomicrobiology Journal**, [S. l.], v. 34, n. 6, p. 524–537, 2017.
- MWANDIRA, W.; NAKASHIMA, K.; KAWASAKI, S. Bioremediation of lead-contaminated mine waste by *Pararhodobacter* sp. based on the microbially induced calcium carbonate precipitation technique and its effects on strength of coarse and fine grained sand. **Ecological Engineering**, [S. l.], v. 109, n. September, p. 57–64, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.09.011>
- NASSAR, M. K.; BASTANI, M.; SHAFEI, B.; CONSULTING, A.; GOMEZ, M. G. Large-Scale Experiments in Microbially-Induced Calcite Precipitation (MICP): Reactive Transport Model Development and Prediction. [S. l.], n. January, 2018.
- NG, W.; LEE, MI; HUI, SI. An overview of the factors affecting microbial-induced calcite precipitation and its potential application in soil improvement. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, [S. l.], v. 62, n. 2, p. 723–729, 2012. Disponível em: <http://waset.org/journals/waset/v62/v62-131.pdf>
- OMOREGIE, A. I.; KHOSHDELNEZAMIHA, G.; SENIAN, N.; ONG, D. E. L. NISSOM, Peter M. Experimental optimisation of various cultural conditions on urease activity for isolated *S. pasteurii* strains and evaluation of their biocement potentials. **Ecological Engineering**, [S. l.], v. 109, n. September, p. 65–75, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.09.012>
- OZDES, D.; DURAN, C.; SENTURK, H. B. Adsorptive removal of Cd ( II ) and Pb ( II ) ions from aqueous solutions by using Turkish illitic clay. **Journal of Environmental Management**, [S. l.], v. 92, n. 12, p. 3082–3090, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.07.022>
- PACHECO, V.L; DECOL, I.; THOMÉ, A. Análise da resistência de solo arenoso através do ensaio de placa após a aplicação da técnica de biocimentação-Microbially Induced Calcite Precipitation. **Revista CIATEC-UPF**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 27–41, 2018.
- PEDREIRA, R. R. Bio-cementation of sandy soils for improving their hydro-mechanical characteristics. [S. l.], v. 3, n. 2, p. 1–10, 2012.
- PHILLIPS, A. J.; GERLACH, R.; LAUCHNOR, E.; MITCHELL, A. C.; CUNNINGHAM, Alfred B.; SPANGLER, L. Engineered applications of ureolytic biomineralization: A review. **Biofouling**, [S. l.], v. 29, n. 6, p. 715–733, 2013.
- SALIFU, E.; MACLACHLAN, E.; IYER, K. R.; KNAPP, Charles W.; TARANTINO, A. Application of microbially induced calcite precipitation in erosion mitigation and stabilisation of sandy soil foreshore slopes: A preliminary investigation. **Engineering Geology**, [S. l.], v. 201, p. 96–105, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.enggeo.2015.12.027>
- SCHNEIDER, J.; KALTWASSER, H.; STADTWARD, I. *Hicroidology*. [S. l.], p. 355–360, 1984.
- SHAHEEN, S. M. Sorption and lability of cadmium and lead in different soils from Egypt and Greece. **Geoderma**, [S. l.], v. 153, n. 1–2, p. 61–68, 2009 a.
- SHAHEEN, S. M. Sorption and lability of cadmium and lead in different soils from Egypt and

Greece. **Geoderma**, [S. l.], v. 153, n. 1–2, p. 61–68, 2009 b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.07.017>

SHALLARI, S.; SCHWARTZA, C.; HASKOB, A.; MORELAT, J. L. Heavy metals in soils and plants of serpentine and industrial sites of Albania. [S. l.], v. 209, p. 133–142, 1998.

SHARMA, A.; R., R. Study on effect of Microbial Induced Calcite Precipitates on strength of fine grained soils. **Perspectives in Science**, [S. l.], v. 8, p. 198–202, 2016. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213020916300477>

SHICHI, T.; TAKAGI, K. Clay minerals as photochemical reaction fields. [S. l.], v. 1, n. September, p. 113–130, 2000.

SHU, S.; ZHU, W.; WANG, S.; WANG, C.; NG, W.; CHEN, Y.; CHUNG, A.; CHIU, F. Science of the Total Environment Leachate breakthrough mechanism and key pollutant indicator of municipal solid waste landfill barrier systems: Centrifuge and numerical modeling approach. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 612, p. 1123–1131, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.185>

STOCKS-FISCHER, S.; GALINAT, J. K.; BANG, S. S. Microbiological precipitation of CaCO<sub>3</sub>. **Soil Biology and Biochemistry**, [S. l.], v. 31, p. 1563–1571, 1999.

SUTTON, D. J.; TCHOUNWOU, P. B. Mercury Induces the Externalization of Phosphatidyl-Serine in Human Renal Proximal Tubule (HK-2) Cells. [S. l.], v. 4, n. 2, p. 138–144, 2007.

TAMAYO-FIGUEROA, D. P.; CASTILLO, E.; BRANDÃO, P. F. B. Metal and metalloid immobilization by microbiologically induced carbonates precipitation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 35, n. 4, p. 0, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-019-2626-9>

TCHOUNWOU, P. B.; YEDJOU, C. G.; PATLOLLA, A. K.; SUTTON, D. J. Heavy Metals Toxicity and the Environment. [S. l.], p. 1–30, 2014.

TERZIS, D.; LALOUI, L. 3-D micro-architecture and mechanical response of soil cemented via microbial-induced calcite precipitation. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-19895-w>

TODD, M. J.; HAUSINGER, R. P. Purification and characterization of the nickel-containing multicomponent urease from *Klebsiella aerogenes*. **Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 262, n. 13, p. 5963–5967, 1987.

UDDIN, M. K. A review on the adsorption of heavy metals by clay minerals, with special focus on the past decade. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 308, p. 438–462, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.029>

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Method 7196a**[S. l.: s. n.]Seção July, p. 709–715.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **METHOD 7196A**. [S. l.: s. n.]

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **METHOD 3060A**. [S. l.: s. n.]

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **METHOD 3050B**. [S. l.:

*s. n.]*

VAN PAASSEN, L. A.; GHOSE, R.; VAN DER LINDEN, T. J. M.; VAN DER STAR, Wouter R. L.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Quantifying Biomediated Ground Improvement by Ureolysis: Large-Scale Biogrout Experiment. **Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering**, [S. l.], v. 136, n. 12, p. 1721–1728, 2010. Disponível em:

<http://ascelibrary.org/doi/10.1061/%28ASCE%29GT.1943-5606.0000382>

VELMA, V.; VUTUKURU, S. S.; TCHOUNWOU, P. B. Ecotoxicology of Hexavalent Chromium in Freshwater Fish: A Critical Review. **Rev Environ Health**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 129–145, 2010.

WANG, L.; CHEN, L.; TSANG, D. C. W.; LI, Jiang-Shan; YEUNG, T. L. Y.; DING, Shiming; POON, C. S. Green remediation of contaminated sediment by stabilization/solidification with industrial by-products and CO<sub>2</sub> utilization. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 631–632, p. 1321–1327, 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718308593>

WANG, Y.; HAN, F.; MU, J. Solidification / stabilization mechanism of Pb ( II ), Cd ( II ), Mn ( II ) and Cr ( III ) in fly ash based geopolymers. [S. l.], v. 160, p. 818–827, 2018.

WEI-YI XIA; YA-SONG FENG; YAN-JUN DU; KRISHNA R. R.; MING-LI WEI. Solidification and Stabilization of Heavy Metal-Contaminated Industrial Site Soil Using KMP Binder. **J. Mater. Civil. Eng.**, [S. l.], v. 30, n. January, p. 1–9, 2018.

WHIFFIN, V. S. Microbial CaCO<sub>3</sub> Precipitation for the Production of Biocement. **Phd Thesis**, [S. l.], n. September, p. 1–162, 2004.

WHIFFIN, V. S.; VAN PAASSEN, L. A.; HARKES, M. P. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. **Geomicrobiology Journal**, [S. l.], v. 24, n. 5, p. 417–423, 2007.

WOLFENDEN, R.; SNIDER, M. J. The depth of chemical time and the power of enzymes as catalysts. **Accounts of Chemical Research**, [S. l.], v. 34, n. 12, p. 938–945, 2001.

XU, J.; WANG, X. Self-healing of concrete cracks by use of bacteria-containing low alkali cementitious material. **Construction and Building Materials**, [S. l.], v. 167, p. 1–14, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.02.020>

XUE, Q.; LI, J. S.; LIU, L. Effect of Compaction Degree on Solidification Characteristics of Pb-Contaminated Soil Treated by Cement. **Clean - Soil, Air, Water**, [S. l.], v. 42, n. 8, p. 1126–1132, 2014.

YANG, Z.; CHENG, X. A performance study of high-strength microbial mortar produced by low pressure grouting for the reinforcement of deteriorated masonry structures. **Construction and Building Materials**, [S. l.], v. 41, p. 505–515, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2012.12.055>

YASUHARA, H.; NEUPANE, D.; HAYASHI, K.; OKAMURA, M. Experiments and predictions of physical properties of sand cemented by enzymatically-induced carbonate precipitation. **Soils and Foundations**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 539–549, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sandf.2012.05.011>

ZHANG, F.; YE, B.; YE, G. A Unified Description of Toyoura Sand. [S. l.], p. 663–674, 2013. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-32814-5\\_89](http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-32814-5_89)

ZHU, X.; LI, W.; ZHAN, L.; HUANG, M.; ZHANG, Q.; ACHAL, V. The large-scale process of microbial carbonate precipitation for nickel remediation from an industrial soil. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 219, p. 149–155, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.047>

ZOHEIR, A. E.; HAMMAD, I. A.; TALKHAN, F. N. Urease activity and induction of calcium carbonate precipitation by *S. pasteurii* NCIMB 8841. **Journal of Applied Sciences Research**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 1525–1533, 2013.

## APÊNDICES

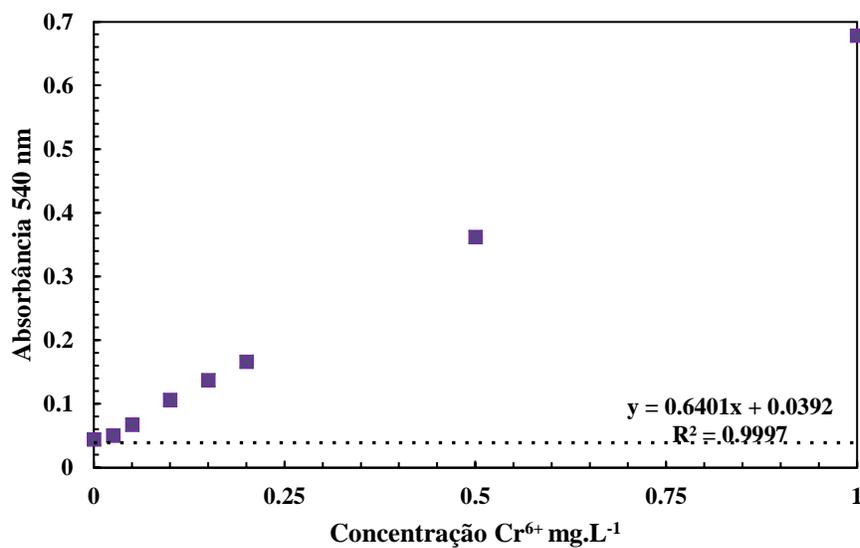
### Apêndice A - Curva padrão para análise de $\text{Cr}^{6+}$ através do método EPA 7196a

A confecção prática da curva é mostrada na Figura A e a Curva resultante na Figura B.

Figura A - Amostras para construção da curva padrão para análise de  $\text{Cr}^{6+}$ .



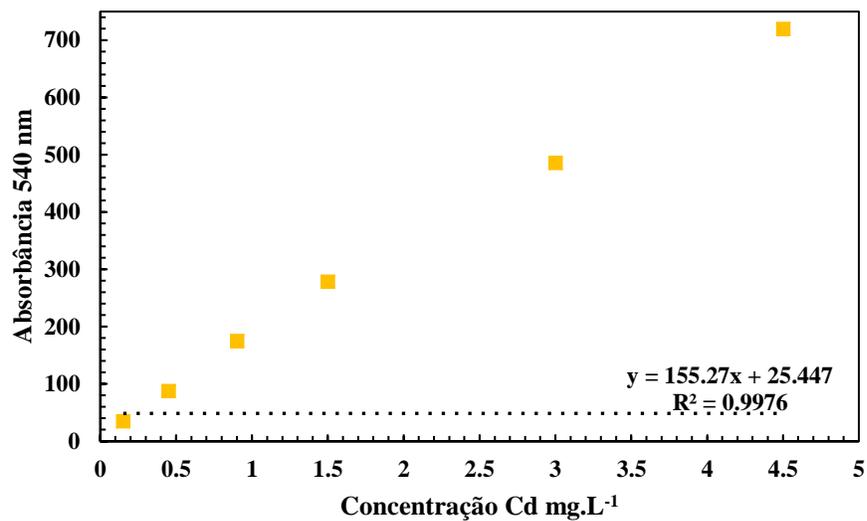
Figura B - Curva padrão para análise de  $\text{Cr}^{6+}$ .



## Apêndice B - Curva padrão para análise de Cd

A confecção prática da curva de Cd é mostrada na Figura C.

Figura C - Curva padrão para análise de Cd.





# UPF

UNIVERSIDADE  
DE PASSO FUNDO

UPF Campus I - BR 285, São José  
Passo Fundo - RS - CEP: 99052-900  
(54) 3316 7000 - [www.upf.br](http://www.upf.br)