



FCTUC DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Utilização da biotecnologia para a estabilização de solos: Precipitação de CaCO_3 por via enzimática. Influência do tipo de solo.

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil na Especialidade de Geotecnia

Autor

Luís Domingues de Freitas

Orientador

Professor Doutor Paulo José da Venda Oliveira

Esta dissertação é da exclusiva responsabilidade do seu autor, não tendo sofrido correções após a defesa em provas públicas. O Departamento de Engenharia Civil da FCTUC declina qualquer responsabilidade pelo uso da informação apresentada

Coimbra, fevereiro, 2016

*“Music is liquid architecture; Architecture is frozen music.”
- Johann Wolfgang von Goethe*

Cabe aos engenheiros civis tornar a segunda parte realidade.

AGRADECIMENTOS

Ao longo desta caminhada, e que a presente dissertação representa o seu término, houve inúmeras pessoas que me apoiaram, guiaram, ensinaram e acompanharam. A todos eles, o meu profundo agradecimento.

A todos os docentes do perfil de Geotecnia, que me transmitiram os conhecimentos necessários para poder exercer a minha profissão de forma condigna e empenhada, e em especial ao meu orientador Professor Doutor Paulo José da Venda Oliveira pelo enorme apoio demonstrado durante a realização do presente trabalho, muito obrigado. Agradeço também aos meus companheiros geotécnicos pelo companheirismo e apoio que me deram e pelas grandes amizades que fiz no perfil de Geotecnia.

Os meus agradecimentos também se estendem ao meu companheiro de laboratório João Carmona e ao Sr. José António por pacientemente me terem auxiliado nas diversas tarefas necessárias à elaboração do presente trabalho.

Como este caminho não é feito apenas de lutas pelo conhecimento, a todos aqueles com quem partilhei um brinde e uma gargalhada, ofereço a minha eterna lealdade e gratidão. Aos meus companheiros voluntários da Unidade de Reumatismo de Coimbra, ao Rui, ao Nuno, ao Ricardo, ao Paulino, à Isa, à Manela, à Cátia, à Diana, ao Diogo e à minha Ewa, que tantas lutas travaram ao meu lado, com muito sangue, suor e lágrimas, e que sempre terão o meu apoio, a minha dedicação e amizade, o meu maior e caloroso agradecimento.

Por fim, toda esta longa jornada não seria possível sem o apoio incondicional da minha família, a quem dedico este trabalho, especialmente ao meu irmão e aos meus pais, por me mostrarem o significado de honestidade, lealdade, perseverança, dedicação e amor, tudo aquilo que criou a pessoa que sou hoje, são eles um exemplo de vida e sempre terão o meu respeito, gratidão e admiração. Muito obrigado por tudo! Tudo o que sou, devo-o a eles.

RESUMO

A presente dissertação tem como principal objectivo analisar a influência que diferentes tipos de solo têm no processo da precipitação de carbonato de cálcio (CaCO₃) por via enzimática com o intuito de proporcionar uma satisfatória estabilização dos solos. Assim sendo, é essencial conhecer o comportamento mecânico dos solos e as suas características, procedendo-se então à primeira fase dos trabalhos que consiste na caracterização dos mesmos.

Os ensaios de caracterização de solos, nomeadamente ensaios de granulometria, de densidade de partículas, dos limites de consistência, ensaios de Proctor Normal, do teor em matéria orgânica e medição do pH, demonstraram quão diferentes são as suas características e propriedades.

Este trabalho tem como finalidade, também, aprofundar o conhecimento no que diz respeito à temática da estabilização de solos pois, tratando-se de um tema relativamente recente, há ainda um vasto território por explorar. O reforço dos solos foi realizado através de técnicas de estabilização biológica, recorrendo-se à utilização de enzimas que em conjunto com cloreto de cálcio e ureia formam compostos cristalinos, nomeadamente o carbonato de cálcio (CaCO₃), os quais, preenchendo os vazios dos solos em estudo, alteram o comportamento mecânico dos mesmos.

Após a exaustiva caracterização dos solos procedeu-se à segunda fase dos trabalhos que consistiu na aferição dos valores de resistência mecânica dos mesmos.

A avaliação do comportamento mecânico dos solos foi feita através de ensaios de compressão simples (UCS) e para que houvesse uma base de comparação foram realizados ensaios com, e sem reforço dos solos. Foram também utilizados dois processos de cura diferentes, ao ar e na câmara húmida, com a duração de 14 dias.

Os resultados obtidos no final do processo experimental enquadram-se com o expectável, apenas quando a cura se realizou na câmara húmida, ou seja, observou-se uma melhoria das propriedades mecânicas dos solos em estudo quando não houve variação do teor em água.

ABSTRACT

The main goal of this dissertation is to analyse the influence that different types of soil have on the process of calcium carbonate used to enhance the stabilization of soils. Therefore, is essential to acknowledge the mechanical behaviour of the soils and its characteristics, so the first phase of the work consists on their characterization.

The characterization of the soils consists on the evaluation of the size of particles, density, Atterberg limit tests, maximum dry unit weight and optimum water content (Proctor Test), organic matter and pH measurement.

This paper also has the objective to deepen the knowledge about the stabilization of soils because it is a relatively recent thematic so there's still a huge territory to explore. The reinforcement of the soils was made through technics of biostabilization using enzymes along with calcium chloride and urea, forming crystalline compounds such as calcium carbonate (CaCO₃), which, filling the empty spaces between the soil particles, change the mechanical behaviour of the soils.

Following an exhaustive characterization of the soils, the evaluation of its mechanical resistance was made, consisting on the second phase of this dissertation.

The evaluation of the mechanical behaviour of the soils was made through Unconfined Compression Tests (UCS) with and without biostabilization. It was also taken into account two different processes of cure, at air and inside a humidity chamber, for 14 days.

The results obtained at the final of the experimental process fit with the expected only when the cure was inside a humidity chamber, meaning that it was observed an improvement of the mechanical properties of the soils in study for a constant water content.

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| AGRADECIMENTOS | i |
| RESUMO | ii |
| ABSTRACT | iii |
| ÍNDICE..... | iv |
| ÍNDICE DE FIGURAS | vi |
| ÍNDICE DE QUADROS | ix |
| SIMBOLOGIA | x |
| ABREVIATURAS | x |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1 Enquadramento Geral | 1 |
| 1.2 Estrutura da Dissertação | 2 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 2.1 Biotecnologia | 3 |
| 2.1.1 Biotecnologia aplicada à engenharia civil | 3 |
| 2.2 Estabilização biológica dos solos | 4 |
| 2.2.1 Biomineralização | 5 |
| 2.2.2 Bioestabilização..... | 5 |
| 2.2.3 Bioestimulação | 5 |
| 2.2.4 Bioadição | 6 |
| 2.3 Precipitação de Carbonato de Cálcio (CaCO ₃)..... | 6 |
| 2.3.1 Precipitação do carbonato de cálcio através do cultivo de bactérias..... | 6 |
| 2.3.2 Precipitação do carbonato de cálcio por via enzimática..... | 7 |
| 3 CARACTERIZAÇÃO DOS SOLOS | 9 |
| 3.1 Introdução | 9 |
| | 10 |
| 3.2 Granulometria dos solos | 10 |
| 3.2.1 Tratamento da fração grossa – Peneiração | 11 |
| 3.2.2 Tratamento da fração fina – Sedimentação | 11 |
| 3.3 Limites de consistência..... | 13 |
| 3.4 Densidade das partículas do solo, <i>G</i> | 13 |
| 3.5 Ensaio de Proctor..... | 14 |
| 3.6 Teor em matéria orgânica..... | 15 |

| | |
|---|----|
| 3.7 Medição do pH | 15 |
| 4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 17 |
| 4.1 Materiais | 17 |
| 4.2 Equipamentos | 19 |
| 4.3 Processo experimental | 21 |
| 4.3.1 Preparação das amostras | 21 |
| 4.3.2 Compactação das amostras | 22 |
| 4.3.3 Ensaio de Compressão Simples (UCS) | 23 |
| 4.4 Ensaio SEM | 25 |
| 4.5 Apresentação e tratamento de resultados | 26 |
| 5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS | 29 |
| 5.1 Cura na Câmara Úmida | 29 |
| 5.2 Cura ao ar | 36 |
| 5.3 Ensaio SEM | 43 |
| 6 CONCLUSÕES E DESENVOLVIMENTOS FUTUROS | 48 |
| 6.1 Conclusões | 48 |
| 6.2 Sugestão para trabalhos futuros | 49 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 50 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|-------------------------------------|
| Figura 2.1 – Exemplos de materiais que abrem e fecham com a alteração da humidade relativa (adaptado de Torgal <i>et al.</i> (2015)) | 4 |
| Figura 2.2 – Esquema do processo da precipitação do carbonato de cálcio por via enzimática (Yasuhara <i>et al.</i> (2012)) | 7 |
| Figura 3.1 – Diferentes tipos de solos | 9 |
| Figura 3.2 – Extrato da carta geológica de Portugal continental (GEOLOGIA@ (2011)) Erro! Marcador não definido. | |
| Figura 3.3 – Curvas granulométricas dos solos em estudo | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 3.4 – Triângulo de Feret | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 3.5 – Representação gráfica dos resultados obtidos através de ensaios Proctor da Argila, do S50/A50 e do S75/A25 | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 3.6 – Representação gráfica dos resultados obtidos através de ensaios Proctor do Solo Mole | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 4.1 – a) Cloreto de cálcio numa caixa de Petri; b) Ureia numa caixa de Petri..... | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 4.2 – a) <i>Canavalis ensiformis</i> (JACBEATEA@ (2016)); b) Recipiente que contém a enzima <i>urease</i> em pó (SIGMAALDRICH@ (2016)); c) <i>Urease</i> em pó numa caixa de Petri | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 4.3 – Provete utilizado na montagem de amostras e respetivas dimensões | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 4.4 – Equipamento de montagem dos provetes: a) Provete, pilão leve e suporte (da esq. para a dir.); b) Tabuleiro com solo, alonga, espátula, colher de pedreiro, cilindro metélico, funil e garfo metálico (da esq. para a dir.) | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 4.5 – Equipamento para ensaios UCS: Prensa de capacidade de carga até 20 kN..... | 20 |
| Figura 4.6 – a) Macaco hidráulico usado na extração de provetes; b) Adaptador para possibilitar a extração das amostras; c) Amostra de Areia Branca colocada na prensa..... | Erro! Marcador não definido. |

| | |
|--|-------------------------------------|
| Figura 4.7 – Exemplo de provete após a realização de um ensaio UCS .. | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 4.8 – Provetes defeituosos..... | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 4.9 – Equipamento de ensaios SEM | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 4.10 – Fases de correção da curva tensão-extensão: a) Curva original com o efeito “bedding error”; b) Curva sem o efeito “bedding error”; c) Acerto da curva tensão – extensão com a origem do gráfico | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.1 – Valores da tensão máxima de rotura (q_{umax}) dos 3 provetes nos testes UCS com diferentes concentrações de enzimas e cura na câmara húmida..... | 30 |
| Figura 5.2 – Valores do módulo de deformabilidade correspondentes a 50% da tensão máxima de rotura dos 3 provetes nos testes UCS com concentrações diferentes de enzimas e cura na câmara húmida | 31 |
| Figura 5.3 – Gráficos tensão-extensão ($q_u-\epsilon_{ax}$) correspondentes aos proveques que registaram os melhores valores nos ensaios UCS em relação a: a) S75/A25; b) S50/A50; c) Argila (Clay); d) Solo Mole (Soft Soil)..... | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.4 – Variação dos teores em água..... | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.5 – Variação do pH | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.6 – Valores da tensão máxima de rotura (q_{umax}) dos 3 provetes nos testes UCS com diferentes concentrações de enzimas e cura ao ar | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.7 – Valores do módulo de deformabilidade correspondentes a 50% da tensão máxima de rotura dos 3 provetes nos testes UCS com concentrações diferentes de enzimas e cura ao ar | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.8 – Gráficos tensão-extensão ($q_u-\epsilon_{ax}$) correspondentes aos proveques que registaram os melhores valores nos ensaios UCS em relação a: a) S75/A25; b) S50/A50; c) Areia Branca (Sand); d) Argila (Clay); e) Solo Mole (Soft Soil)..... | 40 |
| Figura 5.9 – Variação dos teores em água..... | 41 |
| Figura 5.10 – Variação do pH | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.11 – Observação da suspensão das partículas | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.12 – Ensaio SEM: Representação da topografia de uma amostra do solo S75/A25. | 44 |
| Figura 5.13 – Ensaio SEM: Análise química de uma amostra do solo S75/A25 | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.14 – Ensaio SEM: Representação da topografia de uma amostra do solo S50/A50. | 45 |
| Figura 5.15 – Ensaio SEM: Análise química de uma amostra do solo S50/A50 | Erro! Marcador não definido. |
| Figura 5.16 – Ensaio SEM: Representação da topografia de uma amostra da Argila..... | 46 |

Figura 5.17 – Ensaio SEM: Análise química de uma amostra da Argila **Erro! Marcador não definido.**

Figura 5.18 – Ensaio SEM: Representação da topografia de uma amostra do solo Solo Mole47

Figura 5.19 – Ensaio SEM: Análise química de uma amostra do solo Solo Mole**Erro! Marcador não definido.**

ÍNDICE DE QUADROS

| | |
|---|--------------------------------------|
| Quadro 3.1 – Valores do limite de liquidez e plasticidade do Solo Mole | 13 |
| Quadro 3.2 – Valores da densidade das partículas dos solos em estudo.. Erro! Marcador não definido. | |
| Quadro 3.3 – Valores do teor em água ótimo e do peso volúmico seco máximo dos diferentes solos analisados | Erro! Marcador não definido. |
| Quadro 3.4 – Valores de pH dos diferentes solos analisados... Erro! Marcador não definido. | |
| Quadro 4.1 – Quantidades otimizadas de água para 570g de solo | 11 |
| Quadro 4.2 – Quantidades, em gramas, de ureia, cloreto de cálcio e de urease necessárias para a preparação de 570g de solo..... | Erro! Marcador não definido. |
| Quadro 4.3 – Precisão de medições ao longo de todo o processo experimental | Erro! Marcador não definido. |
| Quadro 5.1 – Valores dos teores em água | Erro! Marcador não definido. |
| Quadro 5.2 – Valores de pH..... | 3Erro! Marcador não definido. |
| Quadro 5.3 – Valores dos teores em água | Erro! Marcador não definido. |
| Quadro 5.4 – Valores do pH..... | Erro! Marcador não definido. |

SIMBOLOGIA

| | |
|--|---|
| Au - Ouro | t – Tempo |
| Ca²⁺ – Ião cálcio | w – Teor em água |
| CaCl₂ – Cloreto de cálcio | w_L – Limite de liquidez |
| CaCO₃ – Carbonato de cálcio | w_{final} – Teor em água no fim do tempo de cura |
| Cl⁻ – Ião cloreto | w_{opt} – Teor em água ótimo |
| CO(NH₂)₂ – Ureia | w_p – Limite de plasticidade |
| CO₂ – Dióxido de carbono | w_s – Limite de retração |
| CO₃²⁻ – Ião carbonato | ε_{ax} – Deformação axial |
| E_{sec} – Módulo de deformabilidade secante | Y_{dmax} – Peso volúmico seco máximo |
| Eu₅₀ – Módulo de deformabilidade correspondente a 50% da tensão máxima de rotura | |
| G – Densidade das partículas | |
| H₂O – Água | |
| NH₃ – Amónio | |
| NH₄⁺ – Ião amónio | |
| q_u – Tensão | |
| q_{umax} – Tensão máxima de rotura | |
| pH_{final} – pH no fim do tempo de cura | |
| T – Temperatura | |

ABREVIATURAS

| |
|---|
| ASTM – <i>American Society for Testing and Materials</i> |
| BS – British Standard |
| LNEC – Laboratório Nacional de Engenharia Civil |
| NP – Norma Portuguesa |
| ONU – Organização das Nações Unidas |
| pH – Potencial de hidrogénio |
| PVC – Policloreto de vinil |
| UCS – Unconfined Compression Strength |
| SEM – Scanning Electron Microscopes |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Enquadramento Geral

O desenvolvimento económico de uma sociedade está, frequentemente, associado ao crescimento das metrópoles que a compõe. Por sua vez, esse crescimento traz a necessidade de novas infraestruturas capazes de satisfazerem as carências da sua população, originando a expansão territorial da metrópole e o aumento da ocupação de solo.

Contudo, muitas vezes o solo de fundação onde são edificadas as infraestruturas não é o mais recomendável pelo que terá que se proceder à sua estabilização de modo a promover a melhoria das suas propriedades mecânicas.

A estabilização de solos pode ser efectuada através de métodos químicos e métodos biológicos.

Os métodos de estabilização química baseiam-se na adição de ligantes, sendo os mais utilizados o cimento Portland e a cal viva, aplicados isoladamente ou misturados com outros ligantes. Esta metodologia foi inicialmente aplicada nos Estados Unidos da América, no início do século XX, na construção de estradas e de aeródromos, como resultado do progresso nas indústrias automóvel e aeronáutica. Mais tarde, na década de 50, esta metodologia foi desenvolvida de modo a permitir a execução de estacas de solo melhorada, consistindo na mistura *in situ* do solo com materiais aglomerantes, técnica designada por *deep mixing*.

Na actualidade, o desenvolvimento económico tem de estar aliado á sustentabilidade ambiental, pelo que existe uma grande demanda por métodos “amigos do ambiente”, entre os quais se destacam os métodos biológicos de estabilização de solos (biotecnologia).

A biotecnologia era já usada na antiguidade. Culturas como as da Mesopotâmia, Egipto e Índia usaram a biotecnologia para a fabricação de cerveja. Estes processos básicos são utilizados ainda hoje, em que o uso de grãos maltados (contendo enzimas) permite converter o amido de grãos em açúcar seguido pela adição de leveduras específicas, algo comum com o processo analisado na presente dissertação.

O estudo explanado nesta dissertação resulta do entrosamento entre temática da estabilização de solos com a biotecnologia, consistindo na precipitação de carbonato de cálcio (CaCO₃) por via enzimática, com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas dos solos. Este trabalho visa, essencialmente, analisar a eficiência desta metodologia com diferentes tipos de solos, desde solos granulares até solos argilosos.

1.2 Estrutura da Dissertação

O presente trabalho é desenvolvido ao longo de cinco capítulos, onde está inserido o presente capítulo, Capítulo 1, no qual se descrevem os objetivos e onde está enquadrado o tema em análise.

No Capítulo 2 são abordados os temas que serviram de base para a elaboração do presente trabalho. Este é iniciado com uma referência à estabilização dos solos baseada em métodos biológicos. Procede-se então à temática da precipitação de carbonato de cálcio por via enzimática.

No Capítulo 3 caracterizam-se, do ponto de vista geotécnico, os solos utilizados na elaboração do presente trabalho. A caracterização é efetuada com base na análise granulométrica, densidade das partículas, limites de consistência, mediação do teor de matéria orgânica, ensaios Proctor e medições de pH.

No Capítulo 4 apresenta-se detalhadamente o processo experimental, abordando os materiais e equipamentos utilizados e o processo de montagem dos provetes.

No Capítulo 5 são apresentados os resultados dos ensaios UCS executados. É também elaborada uma análise comparativa relacionando os diferentes solos.

No Capítulo 6, por último, apresentam-se as conclusões que se obtiveram a partir da análise dos resultados dos processos experimentais elaborados no capítulo anterior. São ainda referenciados novos trabalhos a desenvolver no futuro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biotecnologia

Segundo a Convenção sobre Diversidade Biológica da ONU, “Biotecnologia significa qualquer aplicação tecnológica que utilize sistemas biológicos, organismos vivos, ou seus derivados, para fabricar ou modificar produtos ou processos para uma utilização específica.”

Resumidamente, a biotecnologia compreende toda a aplicação de seres vivos, ou parte deles, para a produção de bens e serviços.

Processos biotecnológicos vêm sendo utilizados e desenvolvidos há vários milênios. A título de exemplo, na Mesopotâmia, *circa* 2500 a.C., foi desenvolvido o processo da fabricação de cerveja, em que se usavam grãos maltados, que continham enzimas, para converter o amido de grãos em açúcar e terminando este processo com a adição de leveduras específicas.

Além de terem havido desenvolvimentos da biotecnologia na área alimentar, esta técnica foi também utilizada na área da medicina, para a fabricação de antibióticos. O exemplo mais famoso é a descoberta do fungo *Penicillium*, por Alexander Fleming, em 1928, que levou à criação da penicilina. Atualmente, a biotecnologia é aplicada às mais variadas áreas, incluindo a engenharia civil.

2.1.1 Biotecnologia aplicada à engenharia civil

Atualmente, não se pode projetar e edificar infraestruturas desprezando a “sustentabilidade” e “proteção do ambiente”, pelo que uma abordagem apoiada na biotecnologia pode contribuir para este objetivo.

Torgal *et al.* (2015) apresenta várias aplicações inovadoras que tentam reformular o universo da engenharia civil baseando-se nesta temática:

- Superfícies adaptáveis – Inspirado em processos observados na natureza, desenvolveram-se técnicas de construção que permitem à fachada de um edifício adaptar-se às diversas condições ambientais, por exemplo, materiais que se modificam fisicamente com a alteração da humidade relativa (Figura 2.1);
- Construção de edifícios verdes – Neste tipo de edificações aplicam-se vegetação nas fachadas de modo a controlar a temperatura, melhorar a qualidade do ar e reduzir da poluição, reduzir do nível de ruído e de poeiras, melhorar os consumos energéticos, entre outras.

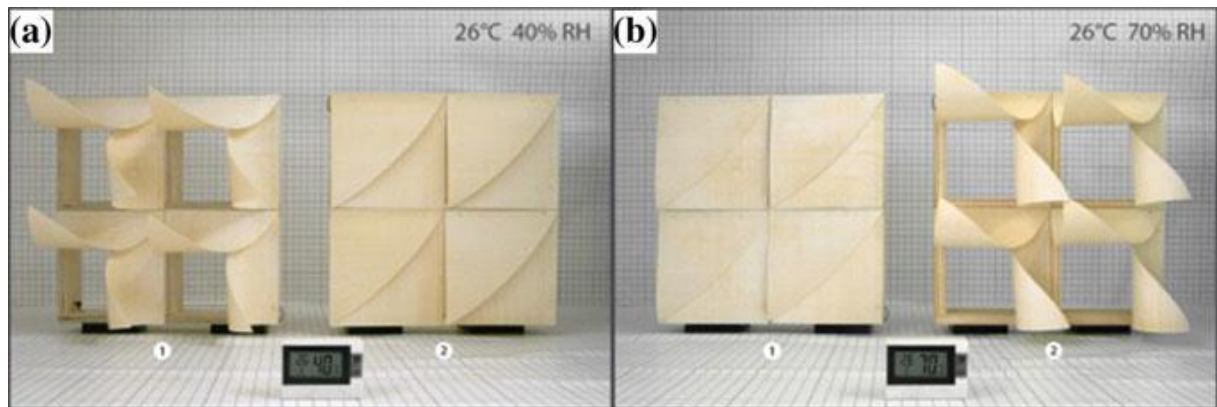


Figura 2.1 – Exemplo de materiais que abrem e fecham com a alteração da humidade relativa (adaptado de Torgal *et al.* (2015))

- Betões e cimentos de carbonato de cálcio – aliado à grande resistência, típica deste tipo de materiais, desenvolveram-se processos construtivos baseados na precipitação de carbonato de cálcio com o intuito de diminuir significativamente o seu impacto ambiental.
- Utilização de bactérias no tratamento de superfícies de betão.
- Recurso à biotecnologia para a descontaminação dos solos.
- Recurso à biotecnologia para o tratamento de águas.
- Construção biotécnica microbiológica – consiste em processos de construção e de produção de materiais de construção à base de micróbios. O seu baixo custo e sustentabilidade na produção de biocimentos, argamassas e bioplásticos tornam este conceito aplicável à construção e à engenharia geotécnica. A estabilização biológica, tema desta dissertação, insere-se nesta área.

Concluindo, a biotecnologia tende a possuir um papel preponderante no desenvolvimento de técnicas construtivas sustentáveis e promete revolucionar o mundo da engenharia civil.

2.2 Estabilização biológica dos solos

A estabilização dos solos compreende a utilização de métodos físicos, químicos, biológicos ou uma combinação entre estes, com o objetivo de melhorar as características do solo natural, de acordo com as especificações necessárias para a obra em estudo. O presente trabalho tem como base o método de estabilização biológica, através da precipitação de carbonato de cálcio (CaCO_3) por via enzimática.

Para melhor compreensão dos processos envolvidos divid-se a temática da estabilização biológica em quatro partes: biomineralização, bioestabilização, bioestimulação e bioadição.

2.2.1 Biomineralização

A biomineralização consiste na precipitação de minerais devido à atividade celular de um ser vivo. Na natureza, podemos observar este fenómeno na formação de conchas, que são compostas por 95-99% de carbonato de cálcio. Na engenharia, como refere, há um crescente interesse neste tipo de processos, em que se recorre à utilização de seres vivos secretores de compostos cristalinos, que preenchem os vazios do solo promovendo a sua estabilização (Muñeton, 2013).

2.2.2 Bioestabilização

A bioestabilização é definida como o melhoramento das propriedades geotécnicas dos solos através da precipitação de carbonato de cálcio, frequentemente designado de calcite. Existem variadíssimos processos que resultam na precipitação de carbonato de cálcio como a fotossíntese, a degradação de ureia, redução de sulfato, entre outros (Costa, 2012).

A precipitação do carbonato de cálcio obtida através de degradação da ureia (CO(NH₂)₂) passa pela ação catalisadora da enzima *urease*, a qual pode ser introduzida no solo ou produzida *in situ* por bactérias (Nemati *et al.*, 2003).

2.2.3 Bioestimulação

A bioestimulação é definida pela estimulação da actividade de seres vivos autóctones secretores de carbonatos através da adição de nutrientes, induzindo o incremento da sua população. Este processo pode ser observado na natureza contudo, nessas condições este processo ocorre a velocidades demasiado baixas.

A produção destes microorganismos é feita através da adição de nutrientes e da otimização de condições ambientais, permitindo aumentar a taxa de crescimento e a respetiva metabolização e, conseqüentemente, a velocidade e rendimento de produção dos cristais de carbonato de cálcio.

A implementação da bioestimulação como técnica de biorremediação apresenta a vantagem de ser aceite sem constrangimentos, dado a adição de carbono, azoto ou fósforo ser facilmente aceite pelas entidades que gerem o território (Bragg *et al.*, 1994).

Concluindo, pode-se afirmar que o processo da bioestimulação baseia-se no fornecimento de nutrientes aos microrganismos secretores de carbonatos de modo a melhorar a precipitação de carbonato de cálcio.

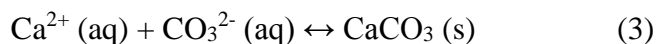
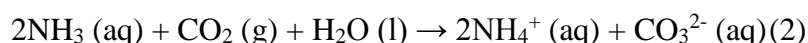
2.2.4 Bioadição

Bioadição é o processo que se baseia na adição de microrganismos, preparados em laboratório, com a capacidade para efetuar a função pretendida. Este processo é vantajoso quando existe a necessidade de uma bioestabilização rápida ou em situações em que não se observa no solo natural a existência do tipo de microrganismo pretendido.

Este processo tem vindo a ser utilizado na descontaminação de solos e ultimamente tem sido alvo de grande interesse em diversas áreas da engenharia civil, como por exemplo na engenharia geotécnica, tendo potencial para se afirmar perante os processos tradicionais de reforço de solos.

2.3 Precipitação de Carbonato de Cálcio (CaCO₃)

O tema desta dissertação incide na estabilização de solos através da precipitação de carbonato de cálcio (CaCO₃), o qual pode ser descrito pelas seguintes equações:



De acordo com as equações anteriores o processo de biocalcificação só é possível devido à importante ação da enzima *urease* que promove a degradação da ureia, (CO(NH₂)₂) em amoníaco (NH₃) e dióxido de carbono (CO₂) aumentando o pH da solução, Eq. (1). Em seguida, o amoníaco e o dióxido de carbono reagem e dão origem aos iões amónio (NH₄⁺) e carbonato, (CO₃²⁻) Eq. (2). Ao adicionar a quantidade adequada de iões cálcio (Ca²⁺) é produzido instantaneamente carbonato de cálcio (CaCO₃), Eq. (3).

Existem duas vias para promover a degradação da ureia, o primeiro processo, estudado por Costa (2012), consiste no cultivo de bactérias que produzem a enzima *urease* e o segundo através da indução direta desta enzima.

2.3.1 Precipitação do carbonato de cálcio através do cultivo de bactérias

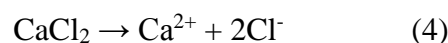
Como referido anteriormente, para facilitar o processo de degradação da ureia utiliza-se a enzima *urease*. Esta existe na natureza em vários tipos de levedura, diferentes plantas e diversas bactérias, (Neupane *et al.*, 2013).

Costa (2012) utilizou dois tipos de bactérias diferentes: a *Sporosarcina pasteurii* e a *Idiomarina insulisalsae* para promover a biocalcificação. Para que o aproveitamento das bactérias seja maximizado, existem certas condições padronizadas que terão que ser satisfeitas, como a temperatura, o pH, o tempo de incubação e o meio nutriente. Por exemplo, Lee (2003) propõe que o meio nutriente para a bactéria *Sporosarcina pasteurii*, denominado por B4, para que esta seja produzida. Este meio nutriente é constituído por 15g de acetato de cálcio, 4g de extrato de levedura e 5g de glicose, acrescido a 1000 ml de água destilada. Para a *Idiomarina insulisalsae* o meio nutriente recomendado é designado por B4a, composto por 1,8g de cloreto de cálcio, 4g de extrato de levedura e 5g de glicose, acrescido a 1000 mL de água destilada.

O processo de precipitação de CaCO₃ através do cultivo de bactérias diverge do tema elaborado no presente trabalho pois promove-se a utilização direta de enzimas em substituição da utilização de bactérias. De acordo com Neupane *et al.* (2013), a precipitação do carbonato de cálcio baseado na utilização de enzimas é um processo mais simples do que baseado na utilização das bactérias pois não se tem em consideração o cultivo nem o tratamento biológico das mesmas.

2.3.2 Precipitação do carbonato de cálcio por via enzimática

Este processo consiste na adição de enzimas ao solo juntamente com uma solução aquosa de ureia e cloreto de cálcio que permite o fornecimento de iões de cálcio (Eq. 4):



Utilizar diretamente as enzimas é um processo mais simples e vantajoso que a utilização de bactérias, pois o cultivo de bactérias exige determinadas condições ambientais difíceis de observar *in situ* (Yasuhara *et al.*, 2012).

A Figura 2.2 representa esquematicamente, o processo aqui descrito.

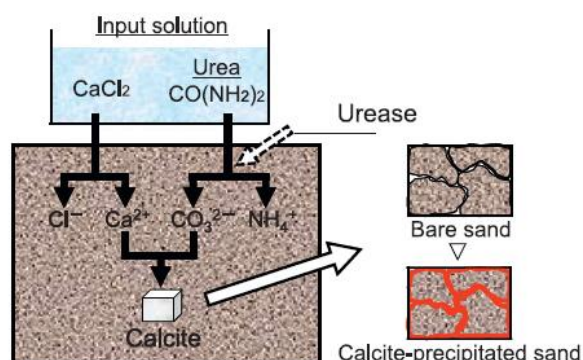


Figura 2.2 – Esquema do processo da precipitação de carbonato de cálcio por via enzimática (Yasuhara *et al.*, (2012)).

Nemati *et al.* (2003) utilizando a técnica de precipitação de carbonato de cálcio por via enzimática, concentrou o seu estudo no efeito sobre a variação da permeabilidade em meios porosos. Estes autores mostraram que a formação de CaCO₃ depende da concentração de enzima *urease* e dos reagentes, ureia e cloreto de cálcio, assim como da temperatura. O aumento da concentração de enzimas levou a um aumento da velocidade de produção de CaCO₃ enquanto o aumento da concentração dos reagentes levou a um aumento da quantidade de CaCO₃ produzida.

Os ensaios realizados em meios porosos não consolidados indicaram que um aumento da concentração de *urease* e reagentes traduz-se numa significativa redução da permeabilidade do meio. Com o aumento da temperatura, de 20°C para 50°C, observou-se uma melhor distribuição de CaCO₃ em todo o provete. Nemati *et al.* (2003) concluiu que a formação de CaCO₃, *in situ*, por via enzimática aparenta ser um método muito eficiente na redução da permeabilidade de um meio poroso, pelo que esta técnica poderá ser aplicada na consolidação de areias em reservatório, na captura de isótopos radioativos e identificar elementos contaminantes em sistemas de águas subterrâneas.

Yasuhara *et al.* (2012) realizou testes de compressão não confinados (UCS) e de permeabilidade para observar a evolução das propriedades mecânicas e hidráulicas do solo, tendo constatado melhorias drásticas na resistência dos solos que, comparando com solos não tratados, variaram de 400 kPa até 1.6 MPa. Também se observou uma grande redução do coeficiente de permeabilidade, tal como observado por Nemati *et al.* (2003).

Neupane *et al.* (2013) analisou a taxa de precipitação de CaCO₃ para várias concentrações de reagentes para um valor fixo da concentração da enzima *urease*. Estes autores observaram que uma pequena quantidade de enzima leva a um significativo aumento da precipitação do carbonato de cálcio, tendo estes autores concluído que esta técnica é indicada para o reforço de solos.

Os estudos realizados acerca da estabilização de solos através da precipitação de carbonato de cálcio por via enzimática têm incidido sobre em solos arenosos. Como tal, o presente trabalho vem complementar e aprofundar os conhecimentos sobre esta técnica aplicando-a a diferentes tipos de solo.

3 CARACTERIZAÇÃO DOS SOLOS

3.1 Introdução

O objectivo principal do presente trabalho é analisar a influência que diferentes solos possuem no processo de precipitação de carbonato de cálcio (CaCO_3) por via enzimática. Assim sendo, foram seleccionados cinco diferentes tipos de solo com diferentes características.

Os solos em estudo são constituídos por três solos naturais, areia fina, argila e solo mole, e por dois solos artificiais, que resultam da mistura de um saibro com uma argila, nas proporções de 75%/25% e 50%/50%, denominados por S75/A25 e S50/A50, respectivamente (Figura 3.1).

Todos os solos em análise são provenientes da Beira Litoral, zona em que são predominantes os calcários, argilas, arenitos e areias (Figura 3.2).

Especificamente, o saibro foi recolhido nos arredores de Leiria (Costa, 2012); a argila é proveniente de Taveiro, Coimbra; o solo mole foi recolhido na Quinta do Foja, junto à auto-estrada A14 entre Figueira da Foz e Coimbra (Coelho, 2000). Caracteriza-se também por ter um odor pungente a matéria orgânica. A areia branca pertence ao designado Lote I, recolhido na Quinta da Portela, Coimbra, (Dias Santos, 2015).

A caracterização dos solos consiste na avaliação da composição granulométrica, dos limites de consistência, da densidade das partículas, do teor em água ótimo no ensaio Proctor Normal, do teor em matéria orgânica e valor do pH.



Figura 3.1 – Diferentes tipos de solos.

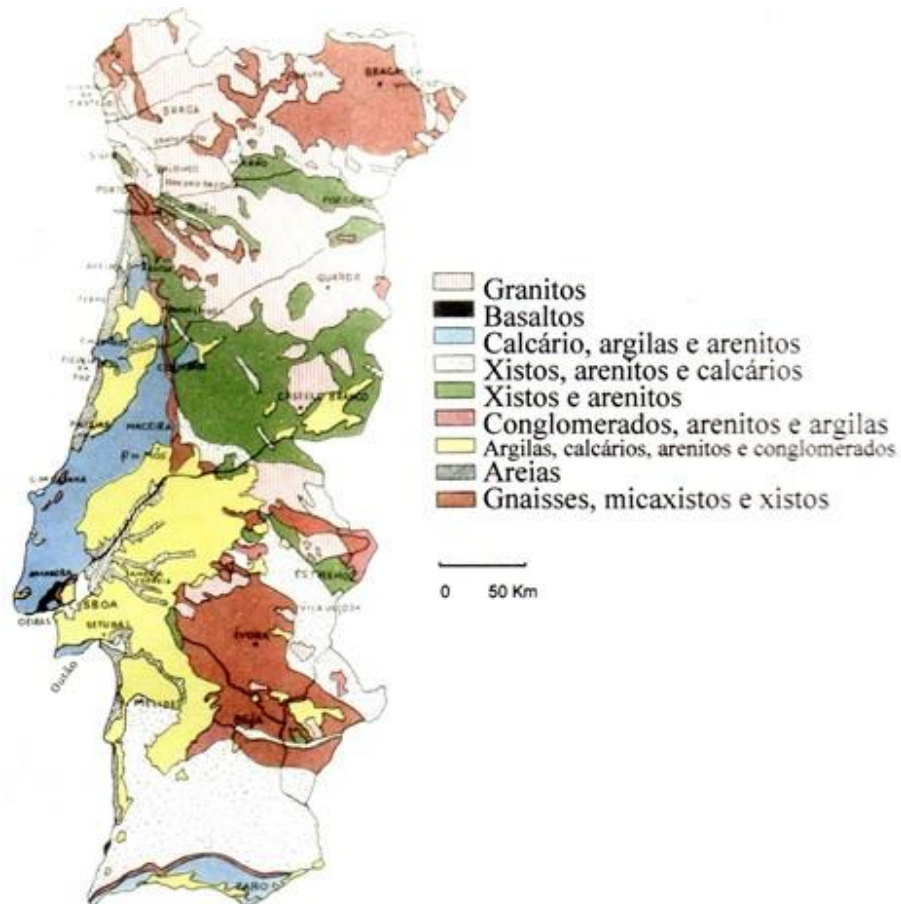


Figura 3.2 – Extrato da carta geológica de Portugal continental (GEOLOGIA@ (2011)).

3.2 Granulometria dos solos

Este processo tem o intuito de conhecer quantitativamente a distribuição das dimensões das partículas constituintes de um solo. Para tal foram executados os passos especificados na norma E 196-1966 do LNEC, que descreve quais as condições em que o estudo da granulometria deve ser realizado para cada tipo de solo, nomeadamente a peneiração e a sedimentação, consoante as dimensões das partículas constituintes do solo.

Para as partículas de maiores dimensões, o método usado para a determinação da composição granulométrica é a peneiração. Já para as partículas de menores dimensões é usado, geralmente, o método da sedimentação. Em alternativa ao processo de sedimentação, pois este é bastante moroso e trabalhoso, pode-se recorrer a granulómetros que varrem o solo com raios laser. Tendo como base os dados obtidos nos processos supracitados, a análise dos resultados é efetuada através da representação de curvas granulométricas.

3.2.1 Tratamento da fração grossa – Peneiração

Na peneiração o solo é obrigado a passar por um conjunto de peneiros de malha quadrada, cada vez mais apertada, dispostos em série. Este método pode ser mecânico ou manual. Em ambos os casos, os peneiros são submetidos a movimentos de rotação e translação, alternando os sentidos várias vezes. De seguida são pesadas as frações retidas em cada peneiro e são calculadas as percentagens de material passado, relacionando com as dimensões das malhas.

3.2.2 Tratamento da fração fina – Sedimentação

A malha de menores dimensões corresponde ao peneiro nº 200 da série ASTM, com malha 0,075 milímetros. Este peneiro separa a fração grosseira da fração fina, sendo esta constituída, fundamentalmente, por silte e argila. A fração de solo que passou no peneiro nº 200 é analisada através da sedimentação, consistindo na avaliação da velocidade da sedimentação das partículas, com base na lei de Stokes.

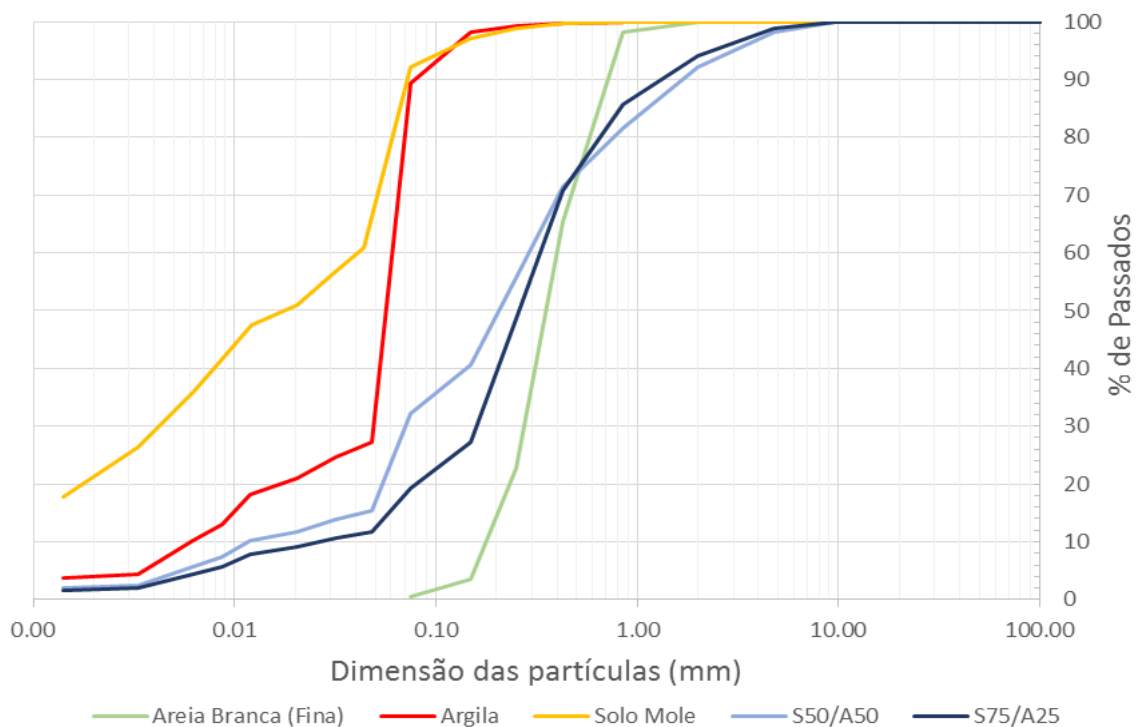


Figura 3.3 – Curvas granulométricas dos solos em estudo.

A Figura 3.3 permite observar as dimensões das partículas que constituem os solos. Verifica-se facilmente que os solos criados artificialmente são os mais “bem graduados”. O solo denominado por S75/A25 é constituído por 4% de cascalho, 83% de areia e 13% de silte e argila.

O solo S50/A50, já com maior percentagem de finos adicionados, é constituído por 8% de cascalho, 67% de areia, 22% de silte e 3% de argila.

A Areia Branca é, sem margem de dúvidas, um solo “mal graduado”. É constituído por areia na sua totalidade.

A Argila é também um solo “mal graduado”. É denominado por “Argila” apenas pela sua cor e facilidade de distinção, pois é constituído por 40% de areia e 55% de silte, sendo a fracção argilosa de apenas 5%.

O Solo Mole é o solo com maior percentagem de finos, fracção que corresponde a 88% do seu total (67% de silte e 21% de argila). Os restantes 12% representam a fracção arenosa. É também um solo “mal graduado”.

Contudo, a classificação granulométrica é um pouco subjectiva. Utilizando a informação obtida através das curvas granulométricas, pode-se através do Triângulo de Feret (Figura 3.4), classificar os solos da seguinte forma:

- S75/A25: Areia
- S50/A50: Areia Siltosa
- Argila: Silte Arenoso
- Areia Branca: Areia
- Solo Mole: Silte Argiloso

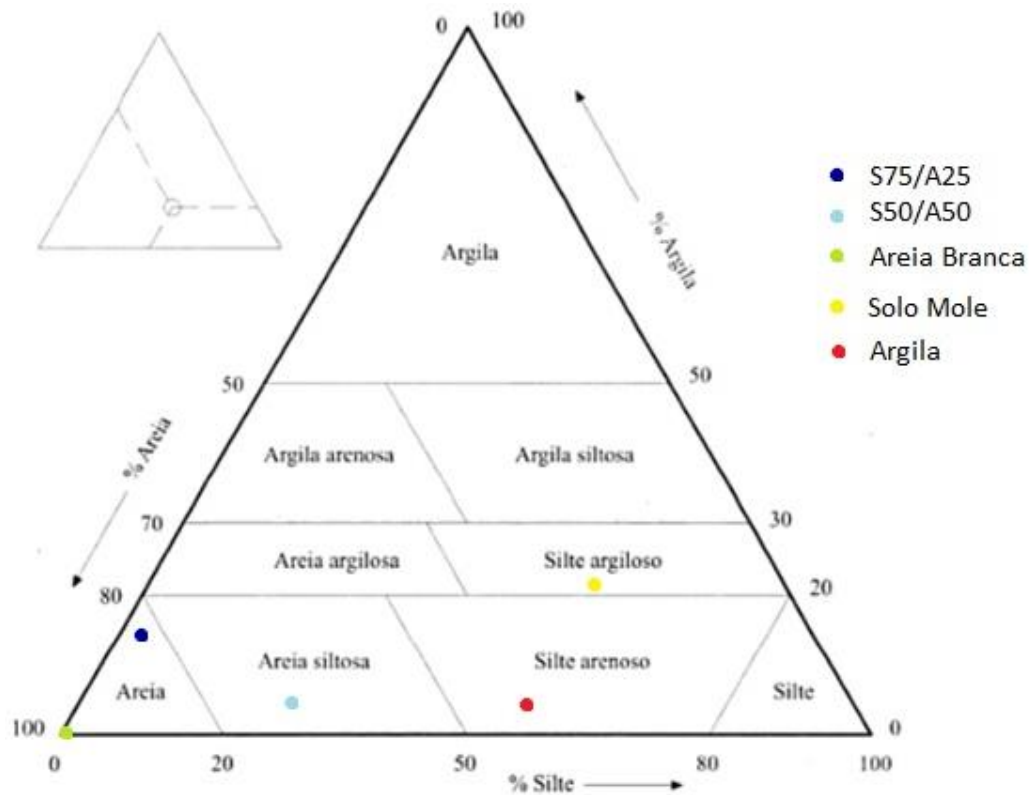


Figura 3.4 – Triângulo de Feret.

3.3 Limites de consistência

O comportamento mecânico dos solos compostos por uma grande percentagem de finos pode ser antecipado a partir da determinação dos limites de consistência, ou limites de Atterberg. Estes limites compreendem o limite de liquidez, w_L , o limite de plasticidade, w_p , e o limite de retracção, w_s . A determinação dos limites de consistência do solo mole foi efectuada com base na norma NP 143 (1969).

Porém, devido à grande quantidade de areia, foi impossível determinar os limites de liquidez e plasticidade dos solos S75/A25, S50/A50, Argila e Areia Branca, revelando um comportamento não plástico.

O Quadro 3.1 apresenta os valores dos limites de consistência obtidos para o Solo Mole, o qual exibe um índice de plasticidade de 10,1%.

Quadro 3.1 – Valores dos limites de liquidez e de plasticidade do Solo Mole.

| Limites de consistência | w (%) |
|--------------------------------|--------------|
| w_p | 38.4 |
| w_L | 48.5 |

3.4 Densidade das partículas do solo, G

A densidade das partículas do solo é expressa através do quociente do peso volúmico das partículas sólidas pelo peso volúmico de água destilada a 20 °C. Contudo, na prática estas grandezas são determinadas por via experimental. O processo foi executado consoante o descrito na norma NP-83 (1965). No Quadro 3.2 são apresentados os resultados, variando entre 2.64 (solo mole) e 2.78 (argila).

Quadro 3.2 – Valores da densidade das partículas dos solos em estudo.

| Solo | G |
|--------------|----------|
| Saibro | 2.65 |
| Areia Branca | 2.67 |
| Argila | 2.78 |
| Solo Mole | 2.64 |

3.5 Ensaio de Proctor

O ensaio de Proctor, ou ensaio de compactação, permite determinar a relação entre o teor em água e o peso volúmico seco do solo. É de prima importância ter conhecimento da quantidade de água presente no solo pois esta interfere no comportamento mecânico do solo, havendo um teor em água ótimo, w_{opt} , para o qual o solo apresenta uma melhor compactação.

O ensaio consiste em compactar num molde cilíndrico uma amostra de solo, previamente seca ao ar e posteriormente misturado com água de maneira a obter um dado teor em água homogéno. A compactação é efetuada em várias camadas, cada uma compactada com um certo número de camadas com um pilão a cair de determinada altura. No presente trabalho, o ensaio de Proctor foi realizado com um molde pequeno e um pilão de compactação leve, sendo designado de ensaio Proctor Normal. Todo o processo de execução do ensaio de Proctor está descrito na especificação E 197-1966 do LNEC. No Quadro 3.3 e Figuras 3.5 e 3.6 apresentam-se os resultados dos ensaios realizados, onde se representam o teor em água ótimo, w_{opt} , e o peso volúmico seco máximo, γ_{dmax} , para os diferentes tipos de solos analisados.

Quadro 3.3 – Valores do teor em água ótimo e do peso volúmico seco máximo dos diferentes solos analisados.

| Solo | w_{opt} (%) | γ_{dmax} (kN/m ³) |
|-----------|---------------|--------------------------------------|
| S75/A25 | 8,93 | 19.18 |
| S50/A50 | 10.79 | 18.73 |
| Argila | 14,88 | 17.13 |
| Solo Mole | 32,88 | 13.35 |

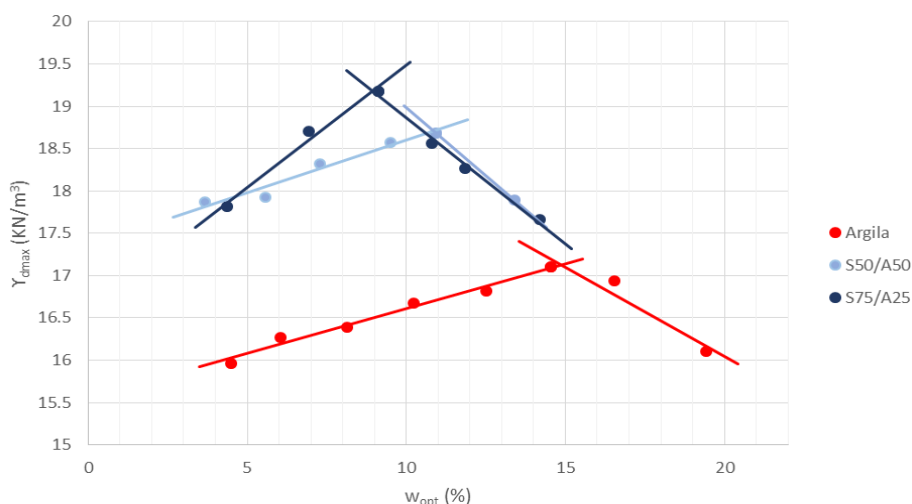


Figura 3.5 – Representação gráfica dos resultados obtidos através dos ensaios Proctor da Argila, do S50/A50 e do S75/A25.

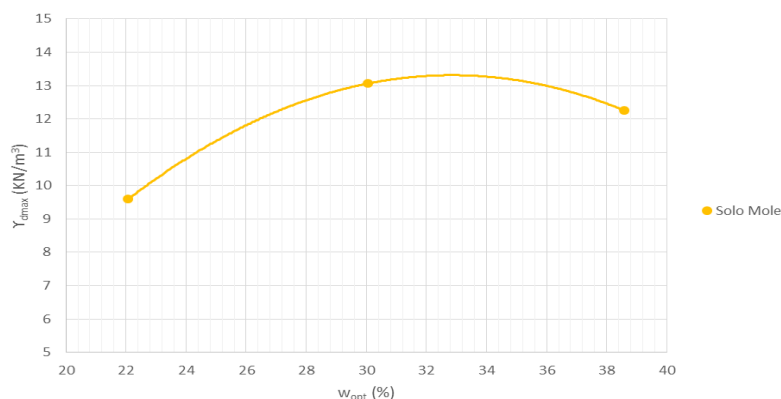


Figura 3.6 – Representação gráfica dos resultados obtidos através do ensaio Proctor do Solo Mole.

3.6 Teor em matéria orgânica

O teor em matéria orgânica é avaliado através do método das perdas de ignição, descrito na especificação E 201 de 1967 do LNEC.

Resultados publicados por diversos autores, mostram que o valor médio de teor em matéria orgânica do Saibro obtido é de 0,33% (Costa, 2012) e do Solo Mole de 11% (Coelho, 2000).

Outro aspecto importante na análise da matéria orgânica é que esta é formada por húmus e ácidos húmicos, contribuindo para o aumento do teor em água do solo, da sua porosidade e reduzir o pH. A alteração do pH pode condicionar o processo de precipitação de carbonato de cálcio (CaCO_3) por via enzimática.

3.7 Medição do pH

O pH de um solo varia consoante as suas propriedades e, também pelas razões apresentadas na secção anterior, deve ser alvo de uma análise detalhada. Um solo é considerado neutro quando o seu pH é de 7. Acima deste valor pertencem os solos alcalinos, característica de grande parte dos solos, e inferior a este pertencem os solos ácidos.

Os valores do pH dos respectivos solos foram calculados com base na norma britânica BS 1377-3 (1990). O aparelho utilizado tem uma precisão de 0,01. Tanto a calibração como a execução do ensaio foram realizadas a uma temperatura constante de 18 °C.

O Quadro 3.4 apresenta os valores obtidos, sendo de salientar o carácter ácido do Solo Mole, a neutralidade da Areia Branca e Argila e o carácter ligeiramente alcalino dos restantes solos.

Quadro 3.4 – Valores do pH dos diferentes solos analisados.

| Solo | pH médio |
|--------------|-----------------|
| Saibro | 8.18 |
| S75/A25 | 8.19 |
| S50/A50 | 8.09 |
| Argila | 7.06 |
| Areia Branca | 7.40 |
| Solo Mole | 4.49 |

Em geral, os solos possuem características neutras ou levemente alcalinas, exceto o Solo Mole. Este último apresenta um valor de pH muito baixo, de características ácidas. Isto deve-se à forte presença de matéria orgânica, (Santos *et al.*, 2015).

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Materiais

Neste ponto são apresentados os materiais utilizados na elaboração desta dissertação e a suas características principais. Como referido anteriormente, o estudo foca-se na estabilização de solos através da precipitação de carbonato de cálcio por via enzimática, nomeadamente na análise da influência de diferentes tipos de solo.

Como referido anteriormente, o estudo incide sobre cinco solos diferentes: dois criados artificialmente denominados por S75/A25 e S50/A50 e três solos naturais denominados por Areia Branca, Argila e Solo Mole. As suas características foram determinadas no capítulo anterior.

O cloreto de cálcio, CaCl_2 , utilizado pertence ao lote 0000529769, encontra-se na forma sólida e tem uma massa molar de 110,99 g/mol. A ureia, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, utilizada pertencente ao lote A0341134, é específica para análises laboriais, apresenta uma pureza de 99,5%, encontra-se na forma sólida e possui uma massa molar de 60,06 g/mol. Estes dois produtos estão representados na Figura 4.1, no seu estado sólido.

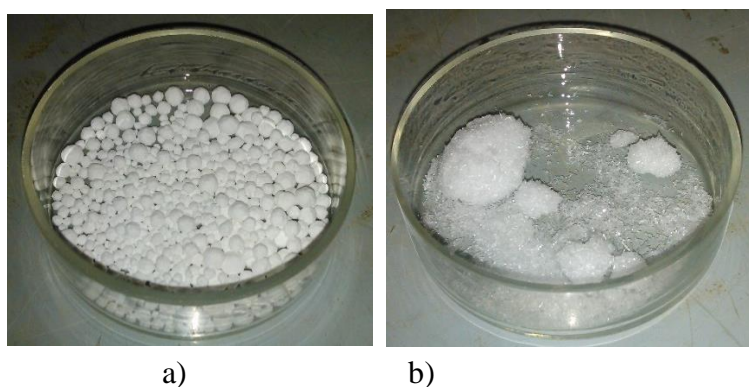


Figura 4.1 – a) Cloreto de cálcio numa caixa de Petri; b) Ureia numa caixa de Petri.

A hidrólise da ureia é catalizada através da enzima urease. Esta proteína é denominada por urease de tipo III, extraída das sementes da planta *Canavalia ensiformis*, comumente chamada de “feijão-de-porco” (Figura 4.2a). A título de curiosidade, no seu estado natural a urease da *Canavalia ensiformis* funciona como um inseticida ao libertar uma pequena substância que reage com uma proteína que os insetos possuem nos intestinos tornando-a tóxica. Foi a primeira a ser cristalizada e a primeira a descobrir-se que continha níquel, (Stanisquaski *et al.* 2009).

Para que o seu efeito seja otimizado, o pH do meio em que é inserida deve ser de 7.4, ou seja, quase neutro, (Cesareo *et al.* 1992). Deve armazenar-se em ambiente seco entre 2 a 8 °C para que a sua capacidade catalisadora não seja comprometida.

A sua atividade específica é 15000-50000 unidades por grama sólida. Uma unidade irá libertar 1.0 μmole de NH₃ a partir da ureia por minuto a uma temperatura de 25 °C e um pH de 7.0 (neutro). O recipiente utilizado (Figura 4.2b) contém 20000 unidades, correspondentes a 0,58 g.

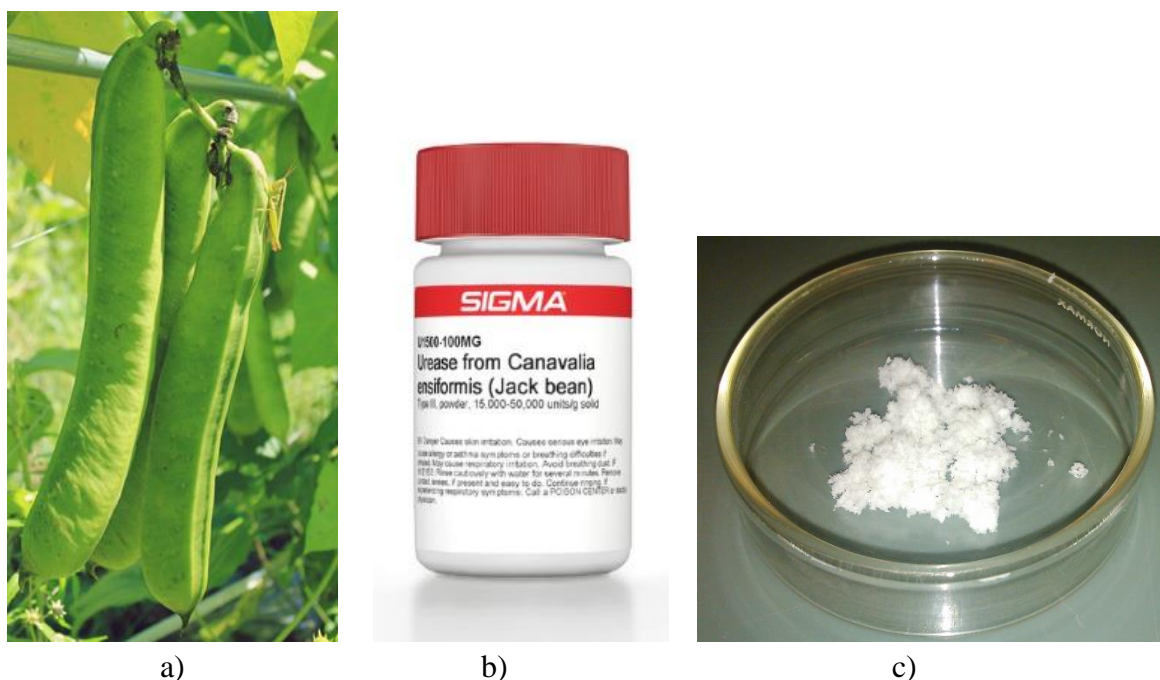


Figura 4.2 – a) *Canavalia ensiformis* (JACKBEANTEA@ 2016); b) Recipiente que contém a enzima *urease* em pó (SIGMAALDRICH@ 2016); c) *Urease* em pó numa caixa de Petri.

Para a montagem dos provetes foram utilizados tubos de PVC com dimensões padronizadas de 76 mm de altura e diâmetro interior de 37 mm, como apresentado na Figura 4.3. De acordo com a norma ASTM D 2166 (2000), a relação altura:diâmetro usual é de 2:1, podendo adotar-se relações superiores, tendo como máximo uma relação de 3:1 de modo a evitar problemas de instabilidade relacionados com uma possível encurvadura.

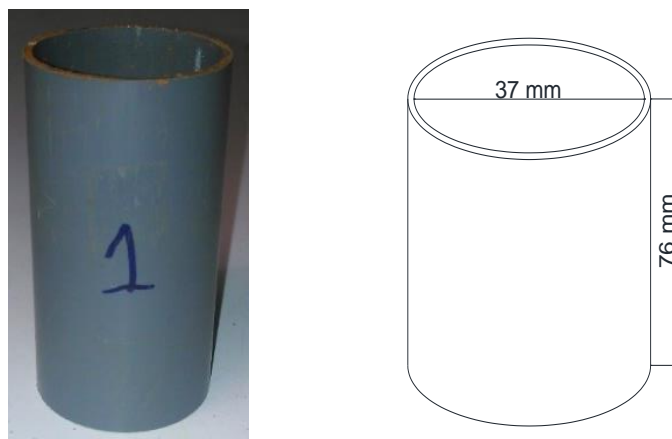


Figura 4.3 – Provete utilizado na montagem de amostras e respectivas dimensões.

4.2 Equipamentos

Na preparação das soluções aquosas foi usado equipamento de laboratório normal de medição, como provetas, caixas de Petri, varetas, gobelés e balanças. Para a medição da massa de cloreto de cálcio e da ureia foi usada uma balança com precisão à milésima. Contudo, este tipo de balança não é suficientemente precisa para a pesagem das enzimas, pelo que foi utilizada uma balança com uma precisão de quatro casas decimais.

Na montagem das amostras, foram utilizados equipamentos típicos de um ensaio de Proctor Normal mas adequados a um provete das dimensões descritas anteriormente (Figura 4.4).

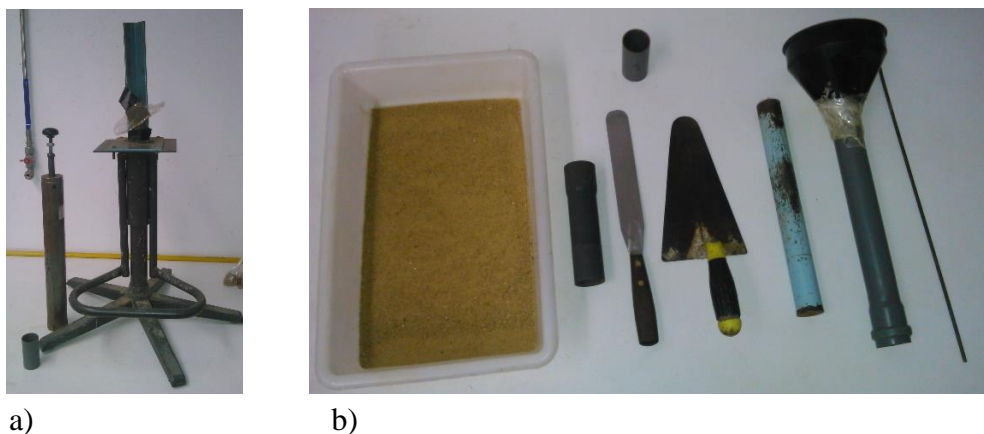


Figura 4.4 – Equipamento de montagem dos provetes: a) Provete, pilão leve e suporte (da esq. para a dir.); b) Tabuleiro com solo, alonga, espátula, colher de pedreiro, cilindro metálico, funil e garfo metálico (da esq. para a dir.).

A cura das amostras foi realizada de duas maneiras diferentes: cura ao ar, para que houvesse perda total de água, e cura na câmara húmida, para que o teor de água ótimo dos solos se mantivesse até ao dia de ensaios.

Para testar a resistência dos solos foram realizados ensaios UCS (Unconfined Compression Test). O equipamento necessário para a execução deste tipo de testes é uma prensa, medidores de compressão e deformação, material de acerto dos provetes, uma balança e cápsulas (Figura 4.5).



Figura 4.5 – Equipamento para ensaios UCS: Prensa de capacidade de carga até 20 kN.

4.3 Processo experimental

4.3.1 Preparação das amostras

Para o estudo do tema elaborado neste presente trabalho, para além de se terem considerado diferentes tipos de solo, foram considerados três casos com diferentes concentrações da enzima *urease*: o Caso A, em que não foram usadas enzimas, o Caso B, com uma concentração de 4 kU/L e o Caso C em que a concentração de *urease* era de 8 kU/L. Os três casos foram preparados para que fossem sujeitos a dois tipos de cura diferentes, cura ao ar e cura na câmara húmida.

O processo experimental foi iniciado com a preparação de soluções aquosas com cloreto de cálcio, ureia e *urease*. A quantidade de água foi definida de acordo com os teores de água ótimos de cada tipo de solo, apresentada no Quadro 4.1, e quantidade de solo necessária para a montagem de três provetes, exatamente 570g.

Quadro 4.1 – Quantidades otimizadas de água para 570g de solo.

| Solos | w_{opt} | Quantidade de água (mL) |
|--------------|-----------|-------------------------|
| S75/A25 | 9% | 51.3 |
| S50/A50 | 11% | 62.7 |
| Areia Branca | 9% | 51.3 |
| Argila | 15% | 85.5 |
| Solo Mole | 33% | 188.1 |

Após a medição da água necessária, esta foi dividida igualmente em dois gobelés. No primeiro, com metade da água total, foram adicionados o cloreto de cálcio e a ureia e no segundo adicionou-se a enzima *urease*. Após os materiais se dissolverem completamente e as soluções ficarem transparentes, adicionam-se as duas soluções aquosas ao solo, previamente preparado e pesado (570g). No Quadro 4.2 estão apresentados os valores das massas de ureia, cloreto de cálcio e *urease* necessárias para a preparação dos provetes tendo em conta as diferentes concentrações.

Quadro 4.2 – Quantidades, em gramas, de ureia, cloreto de cálcio e de *urease* necessárias para a preparação de 570g de solo.

| Solo | Caso B | | | Caso C | | |
|------------|-------------------|-------|--------|-------------------|--------|----------|
| | CaCl ₂ | Ureia | Urease | CaCl ₂ | Ureia | Urease |
| S75/A25 | 1.423 | 0.770 | 0.0060 | 2.847 | 1.541 | 0.011902 |
| S50/A50 | 1.740 | 0.941 | 0.0073 | 3.480 | 1.883 | 0.014546 |
| Areia Fina | 1.423 | 0.770 | 0.0060 | 2.847 | 1.541 | 0.011902 |
| Argila | 2.372 | 1.284 | 0.0099 | 4.745 | 2.568 | 0.019836 |
| Solo Mole | 5.219 | 2.824 | 0.0218 | 10.439 | 5.649 | 0.043639 |
| Σ | 12.178 | 6.590 | 0.0509 | 24.357 | 13.180 | 0.101825 |

Após a introdução das soluções aquosas no solo, este é misturado até que o solo se encontre uniforme, ou seja, que toda a massa tenha a mesma quantidade de água. Posteriormente procede-se à montagem dos provetes nos tubos de PVC.

4.3.2 Compactação das amostras

A montagem de uma amostra é realizada de maneira similar a um ensaio de compactação. No presente caso, uma amostra foi preparada com 8 camadas a 4 pancadas cada, pois as condições de um ensaio de Proctor Normal tiveram de ser adaptadas de modo a garantir que os solos atingissem o peso volúmico seco máximo (γ_{dmax}) a par com o seu teor em água ótimo, w_{opt} .

É importante salientar que para os solos que possuem saibro, as partículas com dimensões maiores a 2 mm foram eliminadas, de maneira a possibilitar uma compactação das amostras adequada.

No início do processo de compactação da amostra, o provete, já com a alonga, é colocado no suporte e fixado com fita-cola. Em seguida coloca-se o funil e deita-se o solo equivalente a uma camada, cerca de 20 g. De seguida, insere-se cuidadosamente o cilindro metálico na alonga até estar em contacto com o solo e com o pilão dão-se 4 pancadas. Para que a superfície de contacto entre as camadas não seja totalmente plana, utiliza-se o garfo metálico para escarificar a parte superficial da camada precedente. Deste modo, não existe a possibilidade de as camadas deslizarem. Todo este processo repete-se mais sete vezes. Ao finalizar a última camada retira-se o cilindro metálico, depois o provete do suporte e da alonga e acertam-se o topo e a base de modo a que a amostra de solo, que será ensaiada posteriormente, tenha sempre as mesmas dimensões e com extremidades paralelas entre si.

De modo a garantir a fiabilidade dos resultados obtidos, para cada tipo de caso analisado (tipode de solo e condições de cura) foram preparados 3 provetes diferentes, ou seja, no total foram preparados 90 provetes.

No final da sua preparação, no caso de a cura ser feita ao ar, os provetes foram colocados numa sala com temperatura a cerca de 20 ± 2 °C. Nos restantes casos, a cura foi efetuada em câmara húmida, com teor em humidade ($97\pm 3\%$) e temperatura (20 ± 2 °C) controlados. O tempo de cura foi de 14 dias.

Terminado o tempo de cura, a amostra de solo foi extraída do provete com o auxílio de um macaco hidráulico (Figura 4.6a), posteriormente esta foi colocada rapidamente na prensa, de modo a não haver variações do teor em água após o desmolde, para se inicializar o ensaio de compressão simples (UCS) (Figura 4.6b).

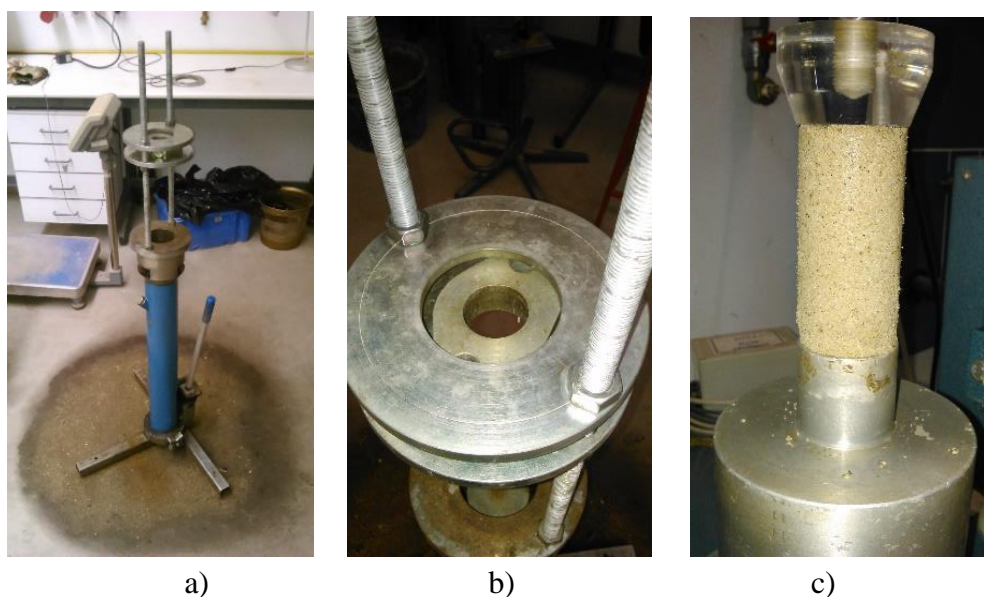


Figura 4.6 – a) Macaco hidráulico usado na extração de provetes; b) Adaptador para possibilitar a extração das amostras; c) Amostra de Areia Branca colocada na prensa.

4.3.3 Ensaio de Compressão Simples (UCS)

Um dos fatores mais importantes que se deve ter em conta nos ensaios de compressão não confinada para a obtenção da resistência mecânica é a velocidade de deformação. De acordo com a norma ASTM D 2166 (2000), os valores da velocidade de deformação recomendados situam-se entre 0,5 e 2 %/min em relação à altura da amostra. Devido a este ser um trabalho inserido numa temática já estudada anteriormente no Laboratório de Geotecnia do Departamento de Engenharia Civil da Universidade de Coimbra, decidiu-se optar por um valor da velocidade de deformação intermédio em relação ao intervalo recomendado na norma supracitada, ou seja, 1 %/min correspondendo a 0,760 mm/min.

Depois de calibrada a prensa e de a amostra de solo ter sido colocada na base circular seguiram-se alguns procedimentos normativos com o objetivo de obter resultados com elevada qualidade:

1. Alinha-se a amostra de forma a estar centrada com a célula de carga, para que a carga exercida sobre esta seja aplicada o mais possível sobre o centro geométrico do seu topo circular.
2. Aproxima-se o provete o mais possível da célula. Neste momento coloca-se a zero o valor medido pelo transdutor de deslocamento e o valor medido pela célula de carga.
3. Inicia-se o ensaio de compressão, sendo os resultados (os valores de carga e de deslocamento) registados num computador através de software adequado (TRIAX).
4. O ensaio termina quando, após se atingir o valor de carga máxima do provete ($q_{u\text{máx}}$), o valor medido pela célula de carga chega perto de zero, ou seja, quando atinge um valor insignificante em relação ao máximo.
5. Após terminado o ensaio, gravam-se os dados obtidos e fotografa-se o provete para futura análise da rotura (Figura 4.7).
6. Para finalizar, remove-se o provete da prensa cuidadosamente, do qual se retira parte da amostra do solo, colocando em cápsulas, para se avaliar o teor em água.



Figura 4.7 – Exemplo de provete após a realização de um ensaio UCS.

Os resultados obtidos poderão estar sujeitos a erros devido a irregularidades dos provetes (Figura 4.8), deficiente desmontagem dos provetes, deficiente compactação do solo ou qualquer processo que seja realizado através de mão humana. Outros erros poderão afetar os ensaio como o efeito que o pH demasiado baixo (ácido) tem sobre a precipitação do carbonato de cálcio.



Figura 4.8 – Provetes defeituosos.

4.4 Ensaaios SEM

Os ensaios SEM (Scanning Electron Microscopes) foram realizados num microscópio eletrónico de varredura Zeiss Merlin Compact/VPCompact, tendo a análise química associada sido executada por um sistema de espectrometria de raios X por energia dispersiva de marca Oxford, X-Maxn (Figura 4.9). Estes executam um varrimento da amostra com um raio de elétrons concentrado e apresentam imagens com informação sobre a topografia das amostras e sua composição. O objetivo dos ensaios SEM consiste em verificar a formação de precipitado de carbonato de cálcio agregado às partículas dos solos.

O processo é iniciado com a aplicação de uma camada de ouro (Au), em vácuo, para que se aumentasse a capacidade condutora da amostra, essencial neste tipo de ensaios. Após esta simples preparação, as amostras estão preparadas para serem analisadas no microscópio de electrões.

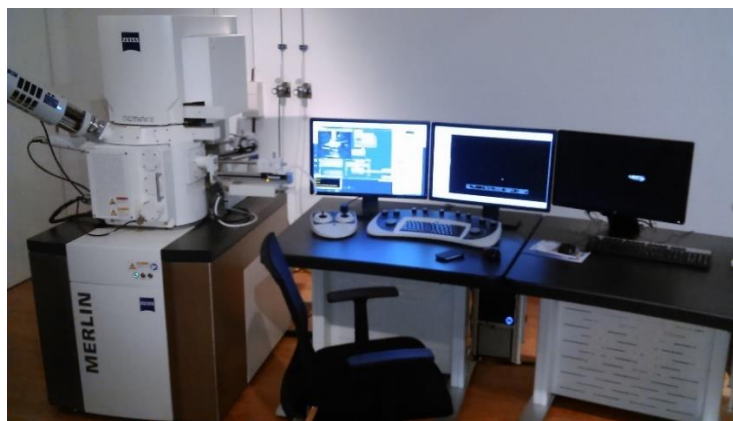


Figura 4.9 – Equipamento de ensaios SEM.

4.5 Apresentação e tratamento de resultados

No decorrer de todo o processo experimental, desde o início da preparação das amostras de solo até ao ensaio UCS, surgem vários valores que têm que ser registados para que seja minimizado qualquer possível erro dos resultados. Qualquer aspeto invulgar que influencie os resultados obtidos deve ser registado.

O tratamento dos resultados experimentais possibilita criar estimativas das grandezas que foram alvo de estudo num trabalho laboratorial e também avaliar erros cometidos.

Para diminuir a possibilidade de ocorrência de erros ou mesmo da disparidade entre os valores obtido, além de cuidado e concentração, devem usar-se instrumentos de grande precisão, como por exemplo, para a pesagem das enzimas utilizou-se uma balança com uma precisão de quatro casas decimais, para os ensaios UCS utilizou-se uma célula de carga, com precisão de 1×10^{-7} N e um transdutor de deslocamento com uma precisão de 1×10^{-7} mm, podendo afirmar-se que qualquer erro obtido será infinitesimal.

No Quadro 4.3 encontram-se os tipos de medições efetuadas e as respetivas precisões dos aparelhos utilizados.

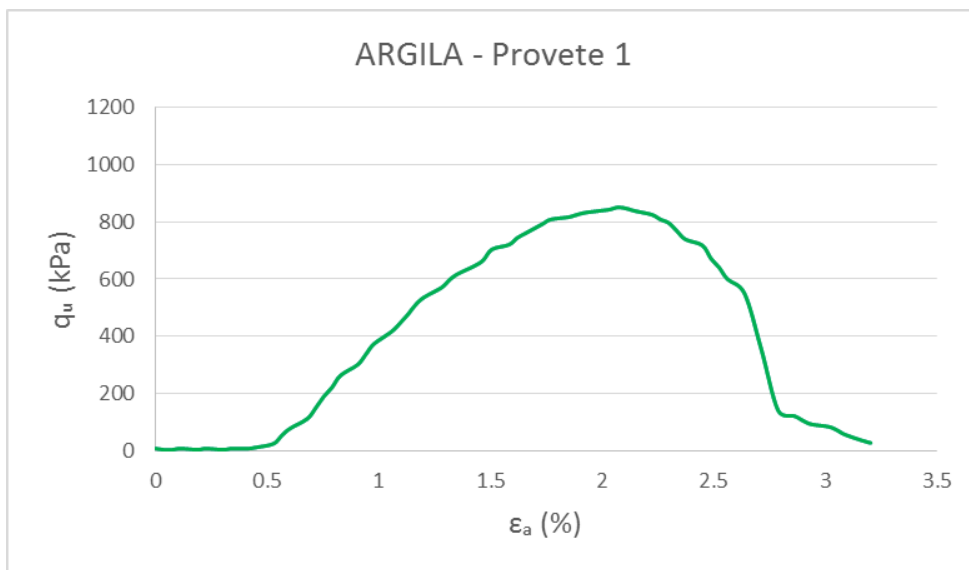
Quadro 4.3 – Precisão das medições ao longo de todo o processo experimental

| Pesagens e medições | Precisão |
|----------------------------|-----------------------|
| Cloreto de cálcio | 0.001 g |
| Ureia | 0.001 g |
| Enzima urease | 0.0001 g |
| Água | 0.001 L |
| Solo Natural | 0.1 g |
| Cápsulas | 0.001 g |
| pH | 0.01 |
| Prensa (UCS) | |
| Força | 1×10^{-7} N |
| Deslocamento | 1×10^{-7} mm |

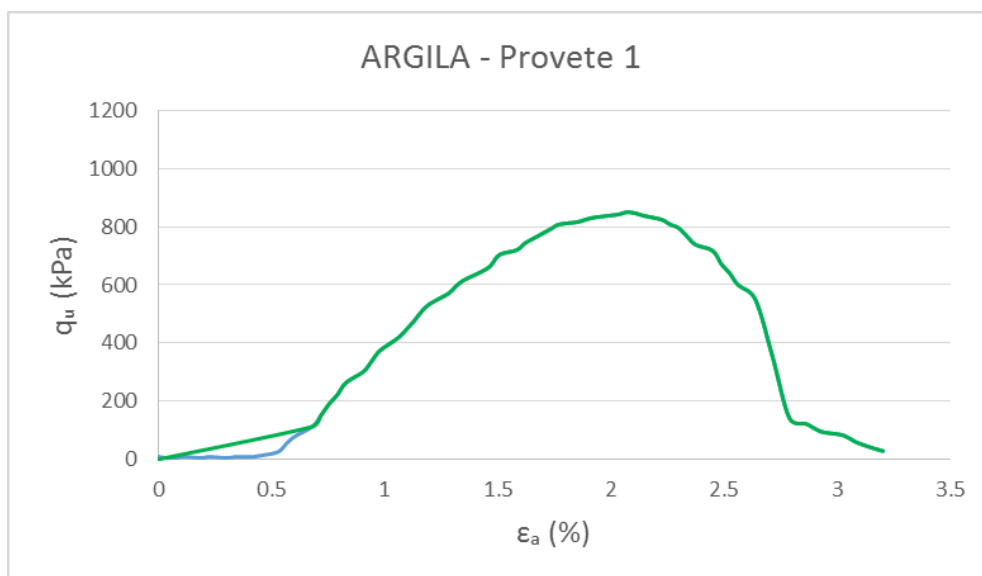
Além dos erros acima referidos, durante a fase da realização dos ensaios UCS existem “*bedding errors*” expectáveis que surgem devido ao ajustamento do equipamento de medida ao provete. Este pode ser observado na curva dos gráficos de tensão-extensão ($q_u - \epsilon_{ax}$) sendo caracterizados pela existência de uma grande extensão para uma variação mínima da tensão. Para corrigir este erro, reconstrói-se a curva tensão-extensão. Contudo, terá que haver um certo cuidado para que não se alterem as características da curva inicial, ou seja, para que não haja alteração dos valores da tensão máxima de rotura do provete ($q_{u_{max}}$) e da inclinação da curva, de maneira a que o módulo de deformabilidade secante (E_{sec}) seja preservado.

A reconstrução da curva tensão-extensão realizou-se através de três simples passos. Contudo, este processo revelou-se um pouco subjetivo. Em primeiro lugar representam-se os valores da

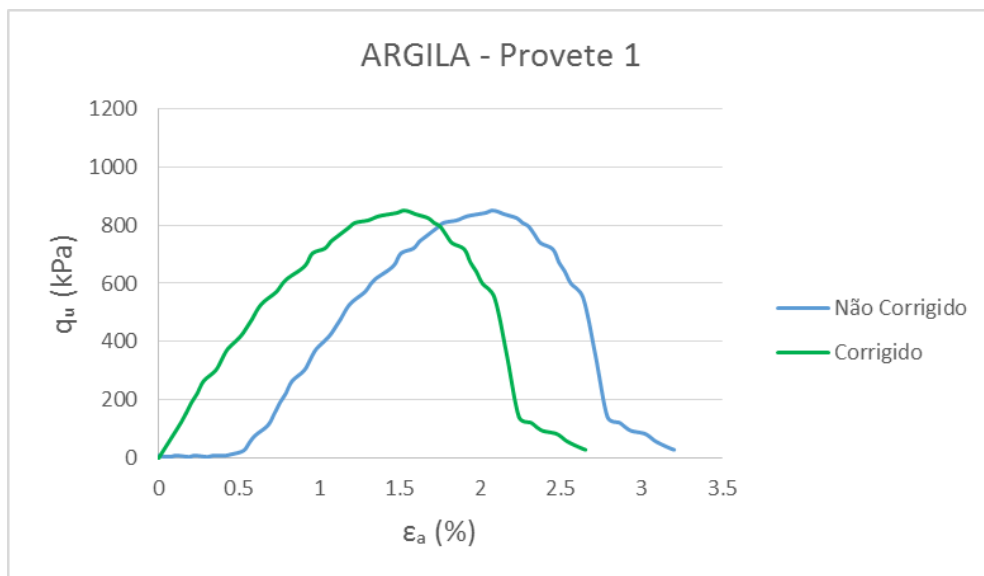
deformação axial (ϵ_{ax}) e da tensão (q_u) obtidos no ensaio (Figura 4.9a). Em seguida, anula-se a parte da curva que contém o “*bedding error*”, e esta é a parte mais subjetiva do processo, até que se consiga remover o erro mas sem alterar a curvatura (Figura 4.9b). Para finalizar, faz-se um ajuste para que a curva tensão-extensão tenha uma variação aproximadamente linear desde o início até ao ponto de inserção com a curva de ensaio, mantendo o módulo de deformabilidade do material. A Figura 4.10 dá um exemplo de como foi tratado o “*bedding error*” na avaliação da curva tensão-extensão num provete de argila com a cura realizada ao ar.



a)



b)



c)

Figura 4.10 – Fases de correção da curva tensão- extensão: a) Curva original com o efeito “bedding error”; b) Curva sem o efeito “bedding error”; c) Acerto da curva tensão-extensão com a origem do gráfico.

5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Os resultados apresentados graficamente correspondem aos valores obtidos em ensaios UCS com três provetes idênticos, em termos de condições de cura, tipo de solo e concentrações de reagentes. Para que se observe a influência do tipo de solo, objectivo primário do presente trabalho irão ser apresentados os resultados para provetes com cura ao ar e provetes com cura na câmara húmida. Os gráficos apresentam os valores de tensão máxima de rotura ($q_{u\text{máx}}$) e do módulo de deformabilidade para um valor de 50% da tensão máxima de rotura (E_{u50}). Posteriormente, com o intuito de observar a influência da concentração de enzimas, apresentar-se-ão os gráficos de tensão-extensão ($q_u-\epsilon_{ax}$) respetivos a cada tipo de solo.

5.1 Cura na Câmara Húmida

Quando a cura se realizou na câmara húmida, os resultados obtidos dos provetes de Areia Branca não foram satisfatórios. No primeiro caso, sem enzimas, não houve a possibilidade de realizar os ensaios pois os provetes deformaram-se por completo ao serem transportados para a prensa. Aquando da utilização de enzimas, os gráficos obtidos não permitiram definir qualquer tipo de curva para que se pudesse analisar os valores de tensão de rotura máxima e os valores dos módulos de deformabilidade. Por estas razões, a Areia Branca não está representada nas Figuras 5.1, 5.2, 5.3, 5.4 e 5.5.

As Figura 5.1 e 5.2 ilustram o feito do processo de bioestabilização (três concentrações de enzimas) em quatro solos distintos, através da análise dos resultados de ensaios UCS, em termos da tensão de rotura ($q_{u\text{máx}}$) e do módulo de deformabilidade correspondentes a 50% do valor da tensão de rotura (E_{u50}).

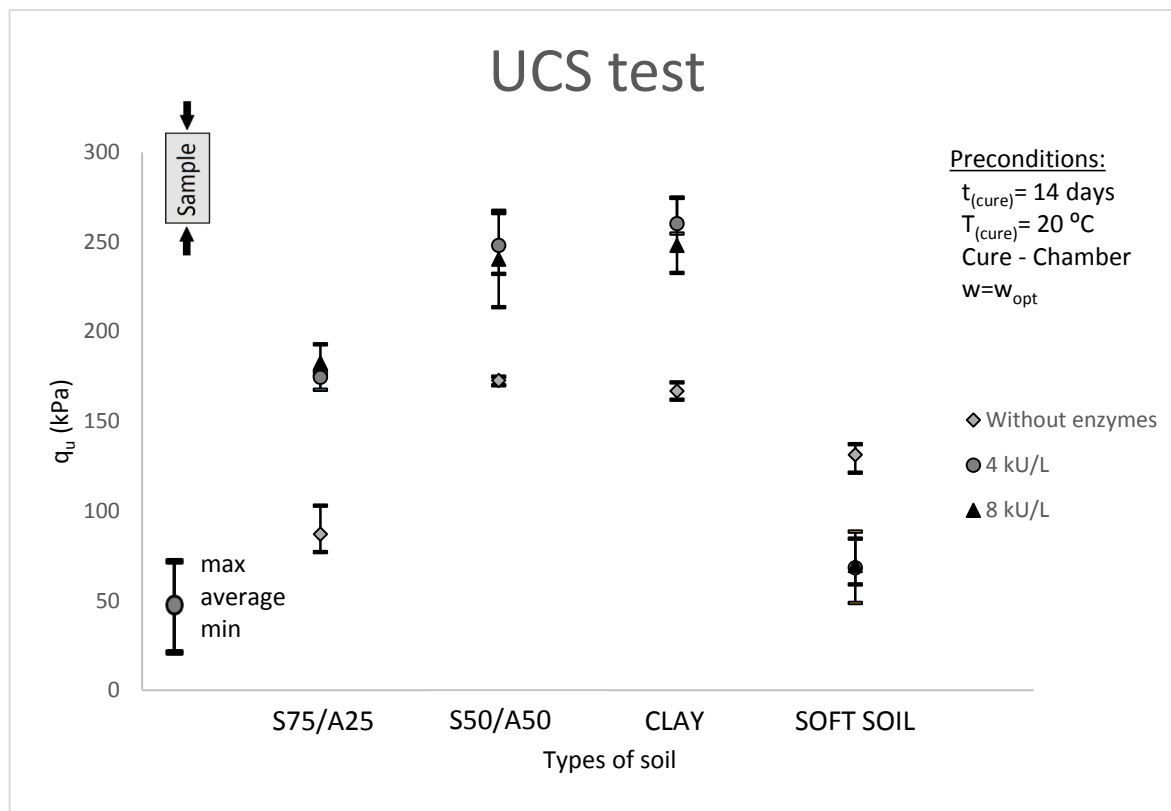


Figura 5.1 – Valores da tensão máxima de ruptura ($q_{u\text{máx}}$) dos 3 provetes nos testes UCS com diferentes concentrações de enzimas e cura na câmara húmida.

Na Figura 5.1 constata-se que os solos S75/A25, S50/A50 e Clay registaram apreciáveis incrementos da tensão de ruptura máxima (superiores a 50%) devido à bioestabilização. O aumento da concentração de *urease* de 4 kU/L para 8 kU/L tem uma reduzida influência em termos de melhoria das propriedades mecânicas do solo, observando-se nos solos S50/A50 e Argila (Clay) um efeito negativo.

Com o aumento da concentração de *urease* verificou-se uma maior dispersão de resultados, evidenciando uma não uniforme precipitação do carbonato de cálcio no provete.

O caso singular do Solo Mole (Soft Soil) revelou-se muito interessante pois este registou os melhores valores quando não houve tratamento com enzimas e os piores com a concentração máxima adotada (8 kU/L). Estes resultados podem ser devidos à presença de matéria orgânica que parece anular o efeito da *urease*.

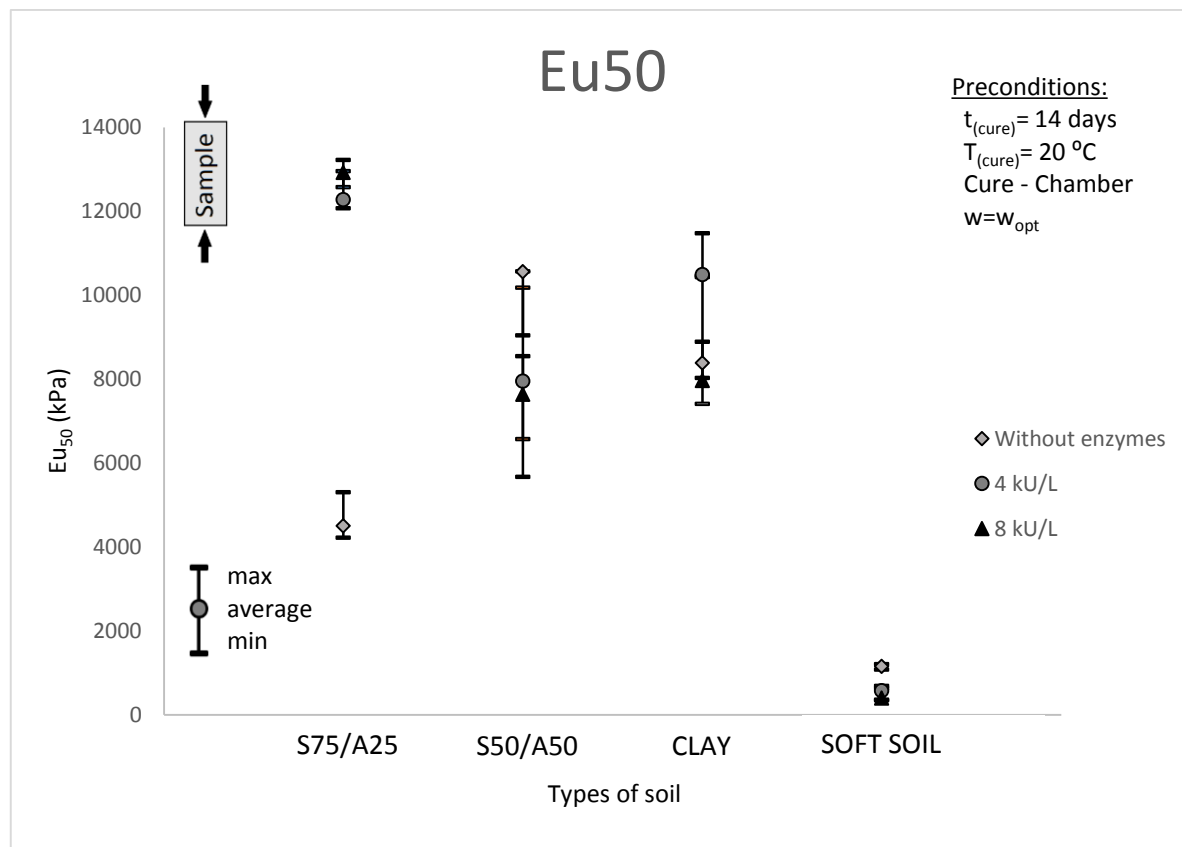


Figura 5.2 - Valores do módulo de deformabilidade correspondentes a 50% da tensão máxima de rotura dos 3 provetes nos testes UCS com diferentes concentrações de enzimas e cura na câmara húmida.

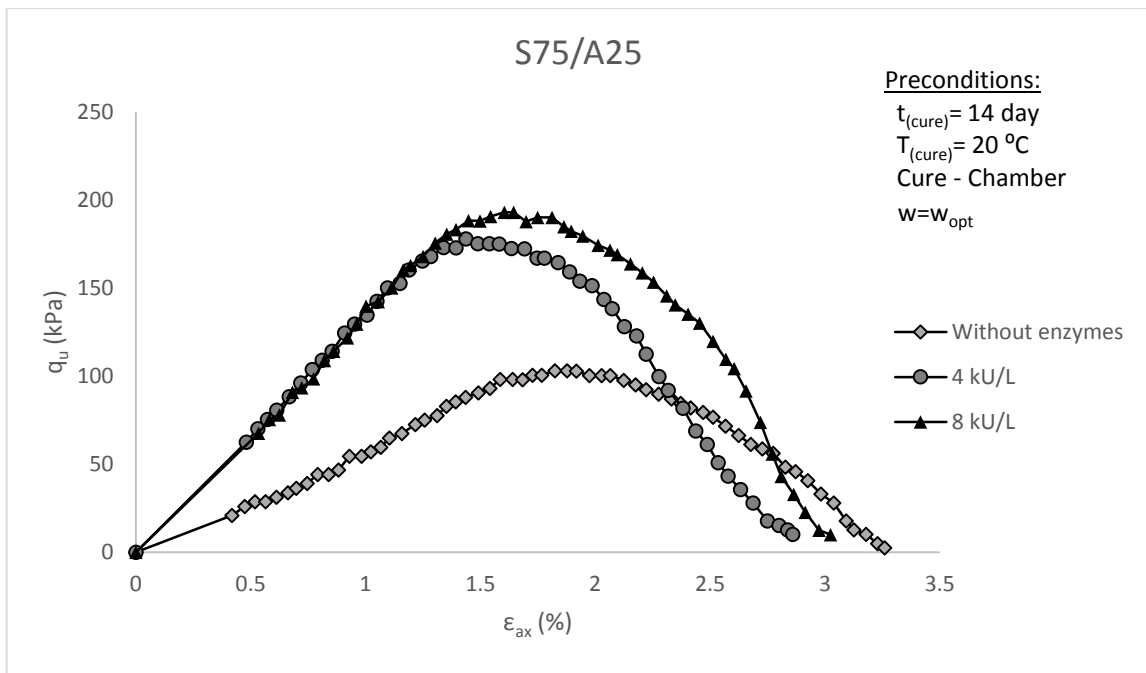
Em termos do módulo de deformabilidade (Figura 5.2) observa-se nos provetes bioestabilizados, uma maior dispersão de resultados em relação ao observado em termos de resistência (Figura 5.1).

O solo mais “bem graduado”, S75/A25, foi o que apresentou o maior incremento no seu módulo de deformabilidade (Eu_{50}), em consonância com o registado em termos de tensão máxima de rotura (Figura 5.1).

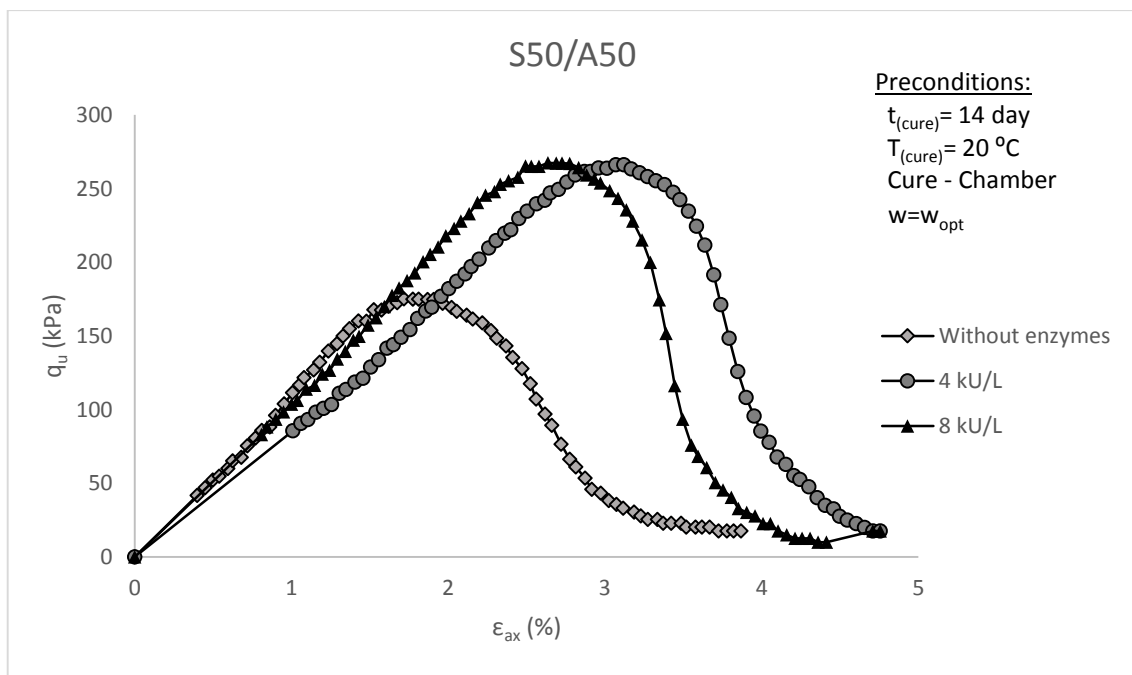
O S50/A50 mostrou uma perda apreciável de rigidez com a utilização das enzimas, apesar da significativa dispersão de resultados. Em suma, o solo S50/A50 apresentou melhores resultados em relação ao módulo de deformabilidade quando não houve recurso à utilização de enzimas e piores quando se tratou o solo com uma concentração de *urease* de 4 kU/L.

Quanto à Argila (Clay) verificou-se um aumento do módulo de deformabilidade quando se introduziram as enzimas com uma concentração de 4 kU/L, contudo, o aumentar da concentração para 8 kU/L levou a uma diminuição da rigidez do solo bioestabilizado. No cômputo geral, pode-se concluir que a introdução de enzimas originou um aumento de rigidez do solo bioestabilizado.

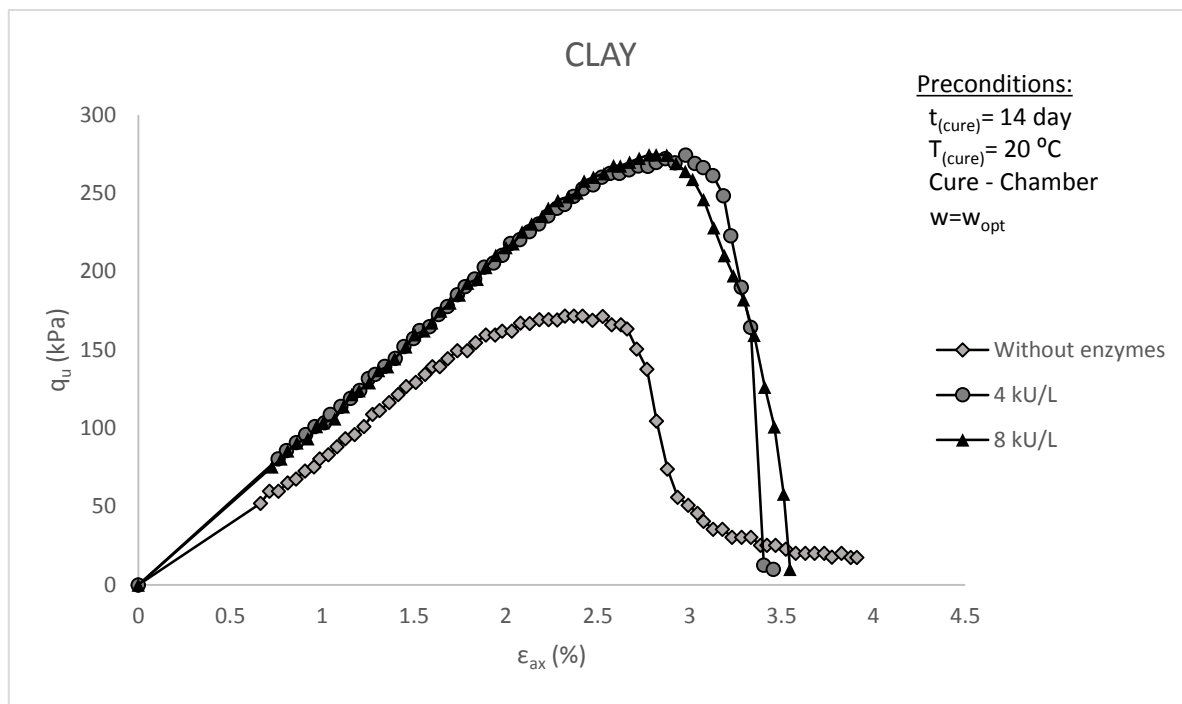
No caso do Solo Mole (Soft Soil), seguiu-se a mesma tendência dos valores da tensão máxima de rotura, ou seja, com o aumento da concentração de *urease* originou um decréscimo do módulo de deformabilidade, revelando o efeito negativo da bioestabilização neste tipo de solos.



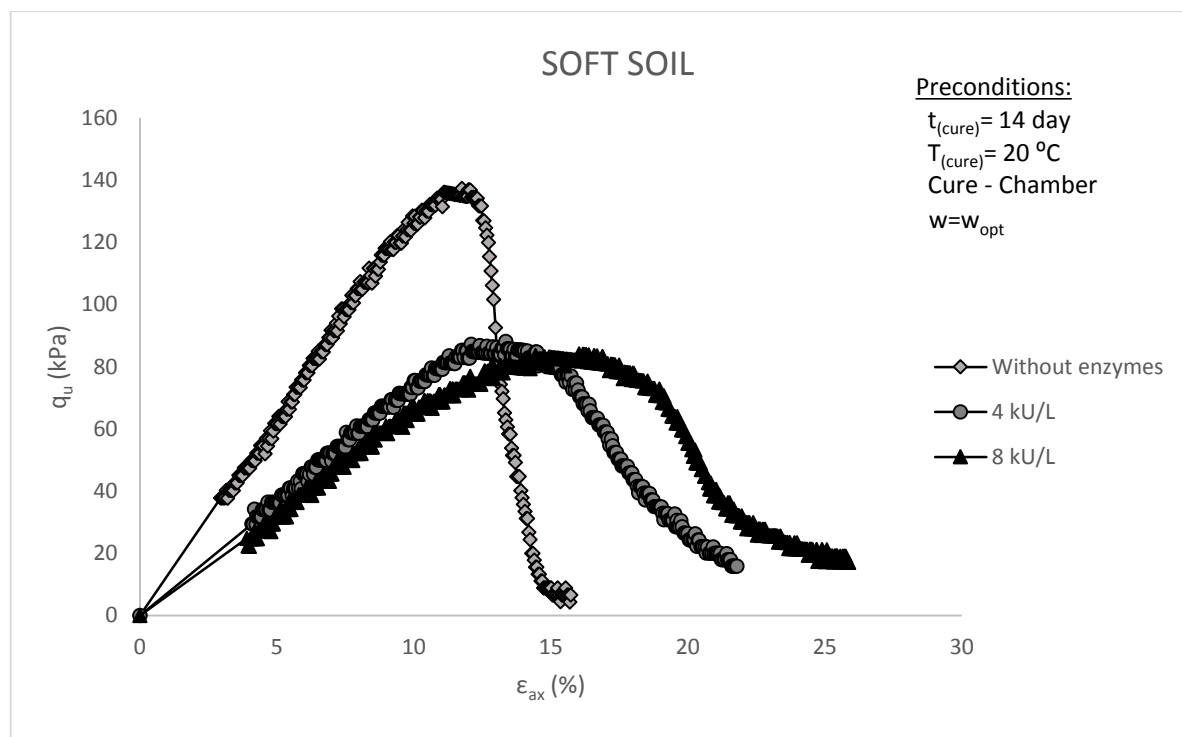
a)



b)



c)



d)

Figura 5.3 – Gráficos tensão-extendão (q_u - ϵ_{ax}) registados correspondentes aos provetes que registaram os melhores valores nos ensaios UCS em relação a: a) S75/A25; b) S50/A50; c) Argila (Clay); d) Solo Mole (Soft Soil).

A Figura 5.3 apresenta as curvas tensão-extensão axial (q_u - ϵ_{ax}) para diferentes dosagens de urease e diferentes tipos de solos, assim a Figura 5.3a refere-se ao solo S75/A25, a Figura 5.3b ao S50/A50, a Figura 5.3c representa a Argila e a Figura 5.3d é referente ao Solo Mole.

Na Figura 5.3a, solo S75/A25, pode-se confirmar o aumento da resistência e do módulo de deformabilidade (E_u) com a introdução de *urease*, sugerindo existir uma maior precipitação de carbonato de cálcio.

No solo S50/A50 (Figura 5.3b) a bioestabilização teve unicamente efeito em termos de resistência, não gerando alterações apreciáveis ao nível da rigidez.

Na Figura 5.3c, pode observar-se que a Argila (Clay) comporta-se aproximadamente da mesma forma, seja com uma concentração *urease* de 4 kU/L ou de 8 kU/L.

Pela análise da Figura 5.3d, confirma-se um pior comportamento nos provetes bioestabilizados, tanto em termos da tensão máxima de rotura ($q_{u\text{máx}}$) como do módulo de deformabilidade (E_u). Deve-se salientar que quanto maior a concentração também maior é a deformação axial até à rotura.

A Figura 5.4 e Quadro 5.1 apresentam a variação dos teores em água iniciais e no final do tempo de cura (14 dias). No Solo Mole, constata-se que o teor ótimo em água (33%) está próximo do limite de plasticidade (38,4%), levando a que este solo apresente um comportamento típico de um solo plástico, obtendo-se desta forma maiores deformações axiais.

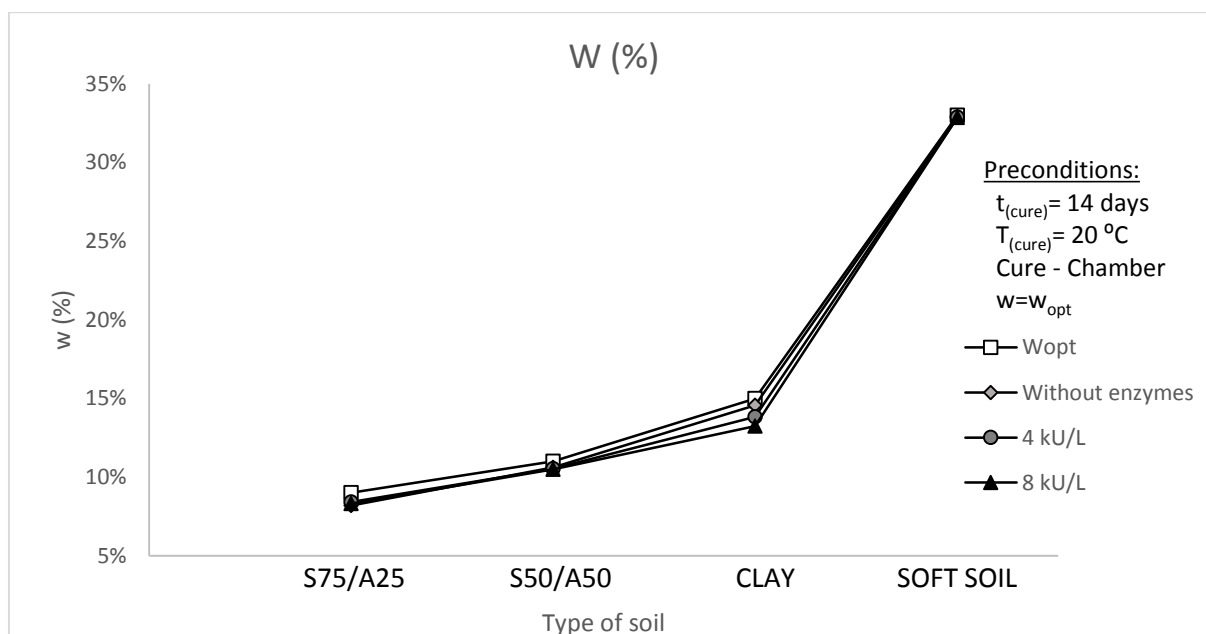


Figura 5.4 – Variação dos teores em água.

De forma expectável, os teores em água, em quaisquer dos casos, mantiveram-se praticamente inalterados, cumprindo o propósito de a cura se realizar na câmara húmida. O Quadro 5.1 apresenta os valores obtidos dos teores em água.

Quadro 5.1 – Valores dos teores em água.

| Solos | W _{opt} | W _{final} | | |
|-----------|------------------|--------------------|--------|--------|
| | | Sem enzimas | 4 kU/L | 8 kU/L |
| S75/A25 | 9% | 8.19% | 8.41% | 8.32% |
| S50/A50 | 11% | 10.61% | 10.54% | 10.49% |
| ARGILA | 15% | 14.57% | 13.83% | 13.25% |
| SOLO MOLE | 33% | 32.92% | 32.88% | 32.86% |

A Figura 5.5 e o Quadro 5.2 apresentam os valores do pH de cada solo consoante os valores de concentração de *urease*. Constata-se na totalidade dos casos que com o aumento da concentração da enzima, o pH dos solos tende a decrescer.

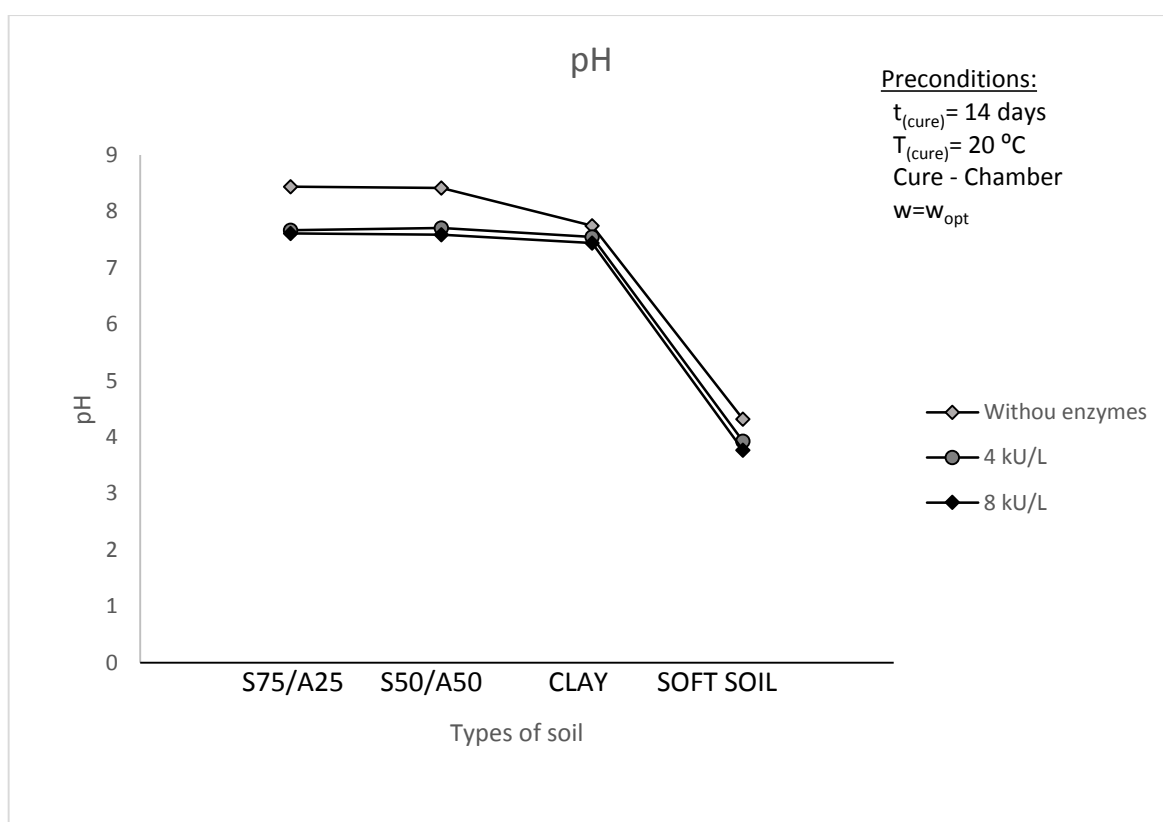


Figura 5.5 – Variação do pH.

Quadro 5.2 – Valores de pH.

| Solos | pH _{final} | | |
|-----------|---------------------|--------|--------|
| | Sem Enzimas | 4 kU/L | 8 kU/L |
| S75/A25 | 8.44 | 7.67 | 7.61 |
| S50/A50 | 8.42 | 7.71 | 7.59 |
| ARGILA | 7.75 | 7.55 | 7.44 |
| SOLO MOLE | 4.32 | 3.93 | 3.77 |

5.2 Cura ao ar

De forma semelhante ao ponto anterior, as Figuras 5.6 e 5.7 ilustram o efeito do processo de bioestabilização, (três concentrações de enzimas) em cinco solos distintos, através da análise dos resultados de ensaios UCS, em termos da tensão de rotura ($q_{u\text{máx}}$) e do módulo de deformabilidade correspondentes a 50% do valor da tensão de rotura (E_{u50}).

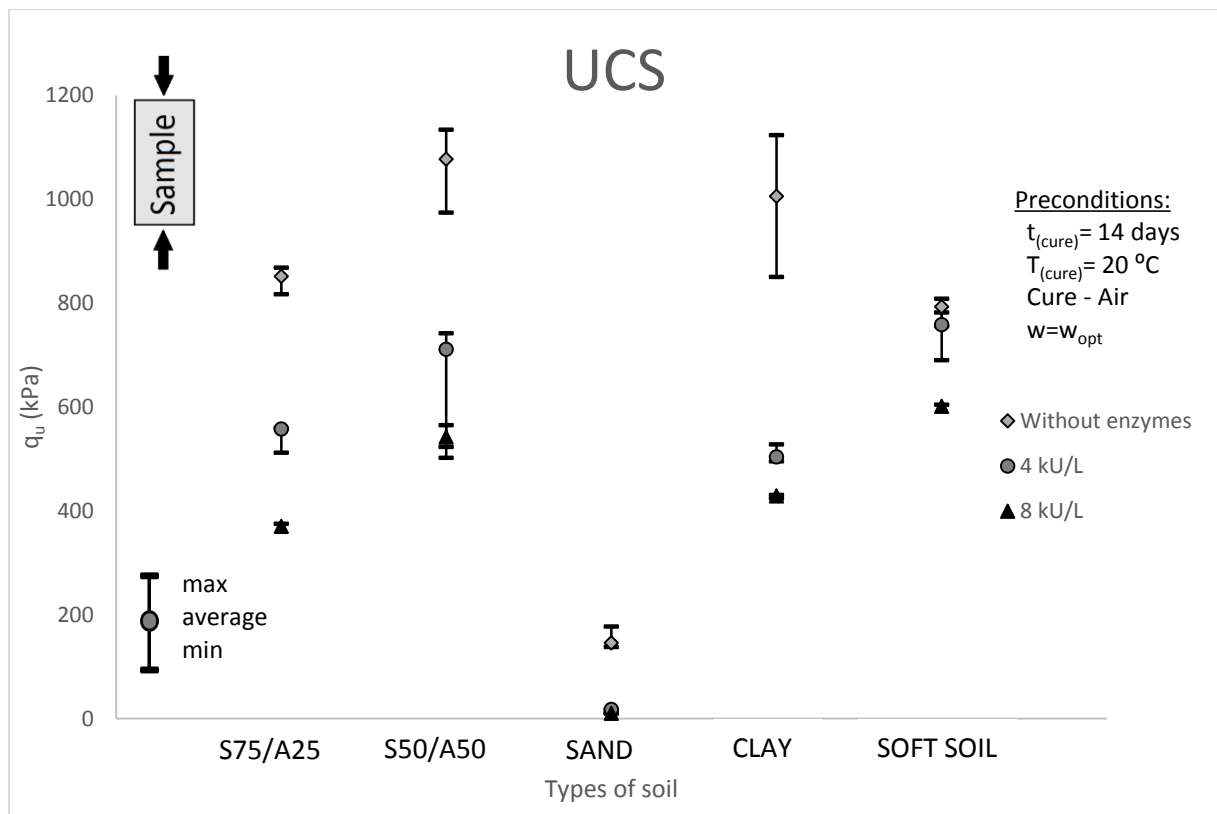


Figura 5.6 – Valores da tensão máxima de rotura ($q_{u\text{máx}}$) dos 3 provetes nos testes UCS com diferentes concentrações de enzimas e cura ao ar.

Na Figura 5.6 observa-se que os provetes que realizaram a cura ao ar registaram valores da tensão de rotura máxima ($q_{u\text{máx}}$) muito mais elevados do que os observados nos que realizaram a cura na câmara húmida. Contudo, em nenhum dos casos se verificou uma melhoria das respetivas propriedades físicas. Pelo contrário, com o aumento da concentração da enzima *urease*, registou-se um decréscimo no valor da tensão máxima de rotura, denotando um efeito negativo da bioestabilização.

No caso em que não foram usadas enzimas (Without enzymes) verificou-se a mesma tendência de quando a cura se realizou na câmara húmida. A Argila e o solo S50/A50 apresentaram os melhores resultados, com valores de tensão de rotura máxima ($q_{u\text{máx}}$) próximos dos 1200 kPa.

Aquando da utilização da enzima urease, todos os solos registaram um decréscimo de $q_{u\text{máx}}$, tendo a Areia Branca registado a maior diferença, com uma redução do valor da tensão de rotura máxima quase na sua totalidade. Também com uma redução mas menos acentuada, o Solo Mole foi o solo em que menos variou a resistência.

Tal como no caso da câmara húmida, foram a Argila e o solo S50/A50 que apresentaram a maior dispersão de resultados.

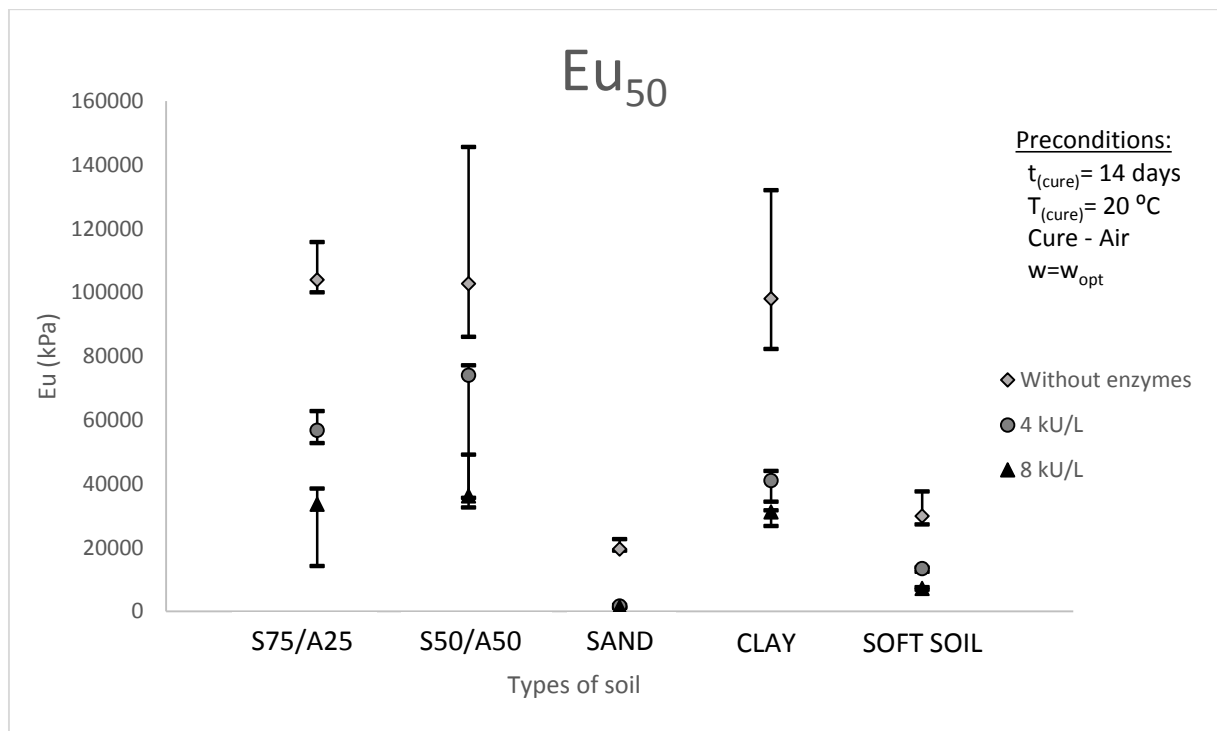
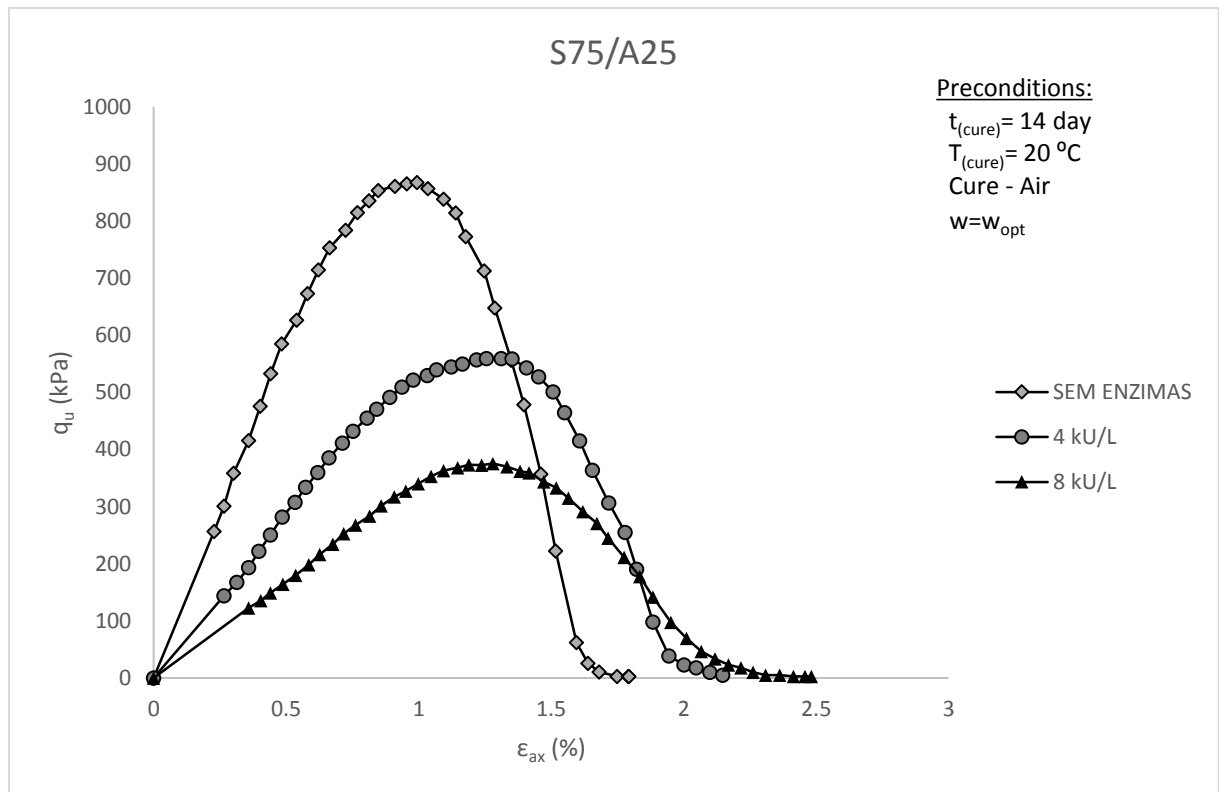


Figura 5.7 – Valores do módulo de deformabilidade correspondentes a 50% da tensão máxima de rotura dos 3 provetes nos testes UCS com diferentes concentrações de enzimas e cura ao ar.

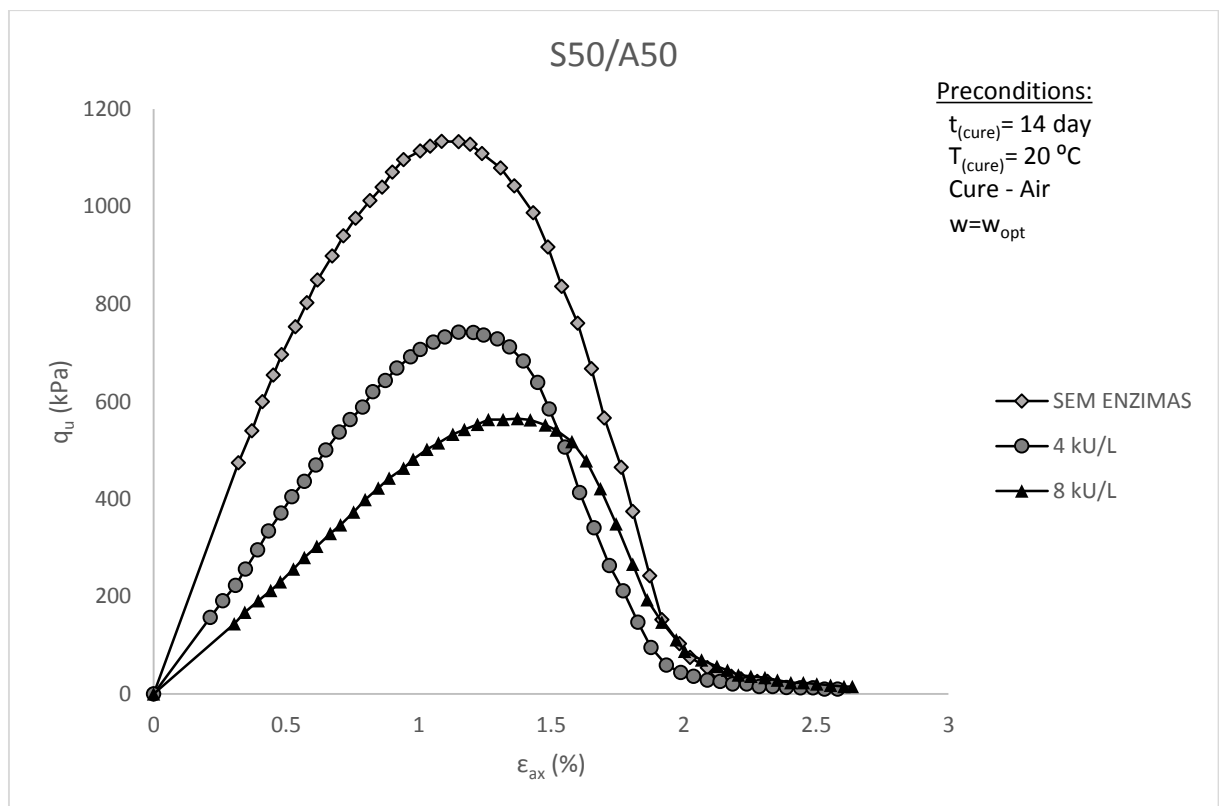
Na Figura 5.7 observa-se a tendência dos resultados ilustrados na Figura 5.6, registando-se os melhores resultados sem tratamento do solo com a enzima *urease*. Neste caso, o S50/A50 revelou possuir o maior módulo de deformabilidade, com cerca de 145 MPa, e a Areia Branca o menor, com cerca de 20 MPa, como esperado.

Com a introdução das enzimas nos solos em estudo verificou-se uma elevada perda de rigidez, com a Areia Branca a reduzir o seu módulo de deformabilidade em aproximadamente 95%. De grosso modo, com exceção da Areia Branca, todos os solos registaram um decréscimo do seu módulo de deformabilidade em cerca de 50% com o aumento da concentração de *urease* de 4 para 8 kU/L.

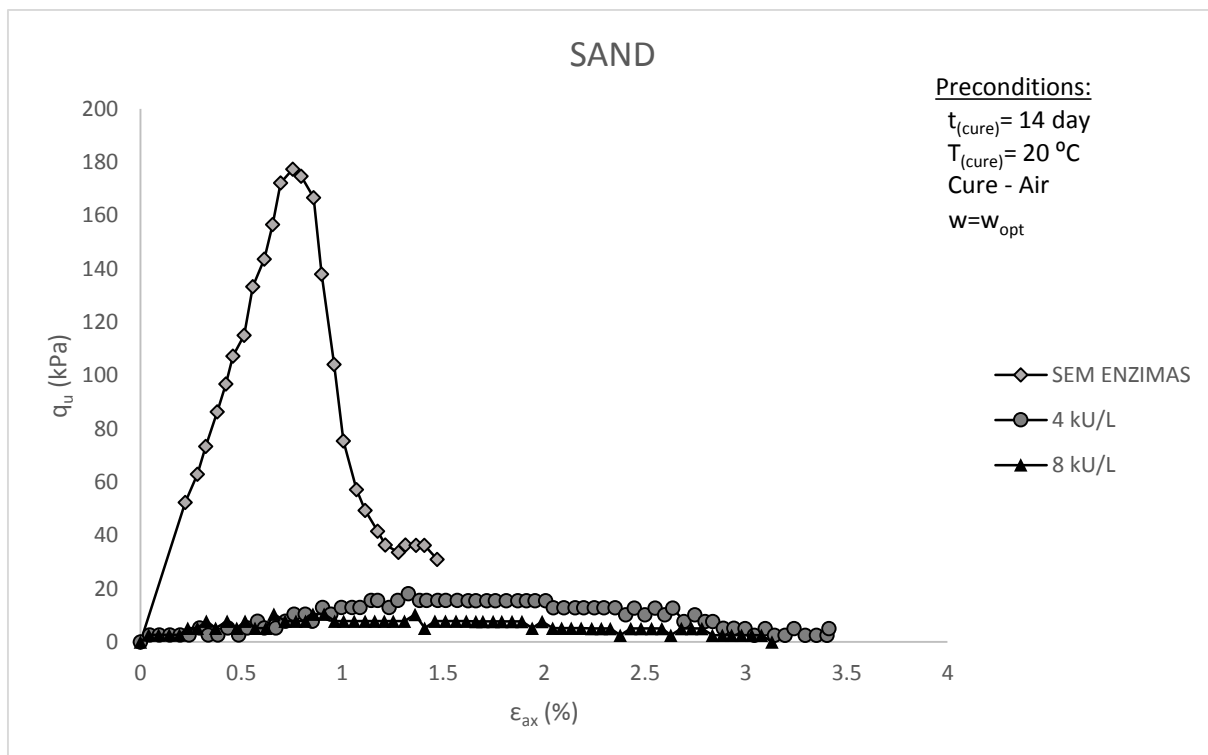
Tal como no caso da resistência, em termos de deformabilidade, os solos S50/A50 e Argila revelaram uma maior dispersão de resultados.



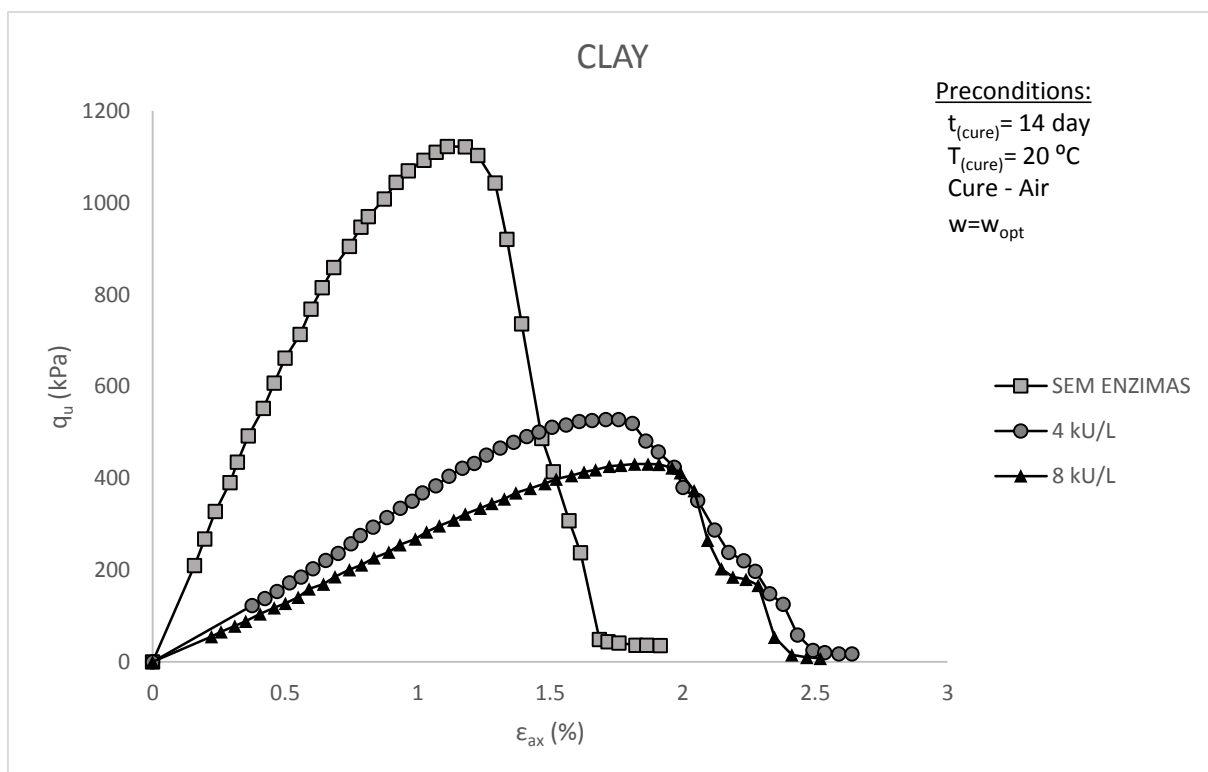
a)



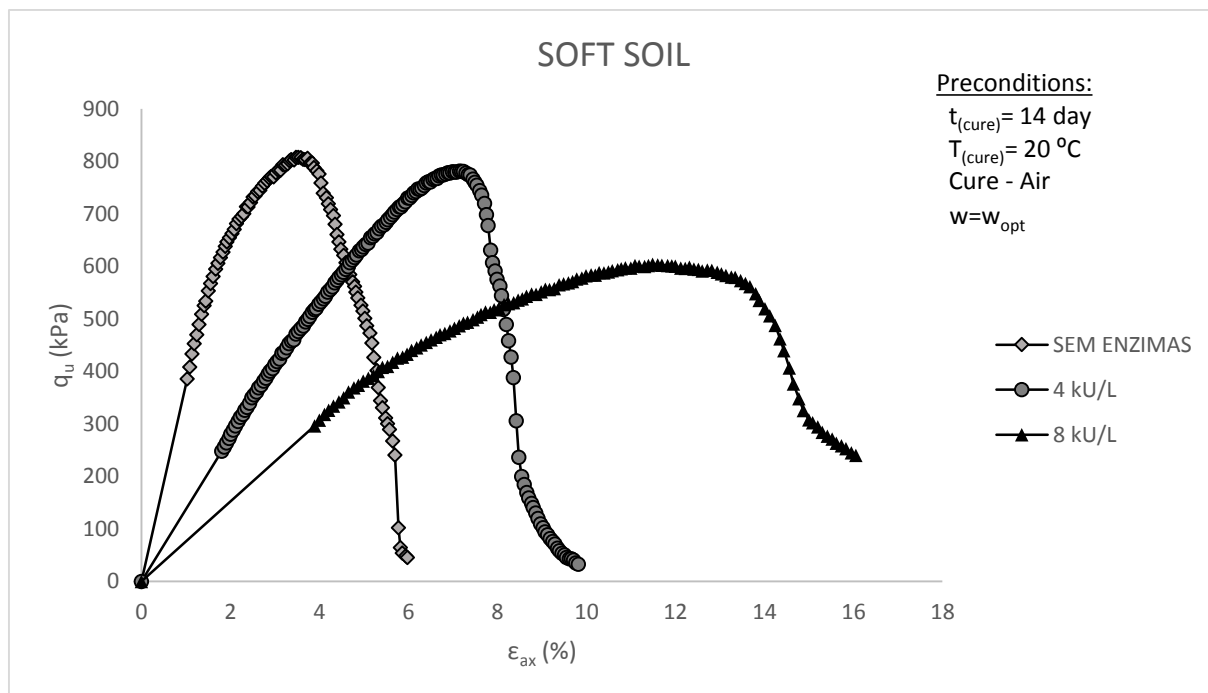
b)



c)



d)



e)

Figura 5.8 – Gráficos tensão-extensão (q_u - ϵ_{ax}) registados correspondentes aos provetes que registaram os melhores valores nos ensaios UCS em relação a: a) S75/A25; b) S50/50; c) Areia Branca (Sand); d) Argila (Clay); e) Solo Mole (Soft Soil).

A análise da Figura 5.8 vem fortalecer as observações supracitadas. Com o aumento das concentrações das enzimas, o solo perde resistência, aquando da cura realizada ao ar.

O decréscimo do módulo de deformabilidade da Argila (Figura 5.8d) foi muito acentuado com o tratamento do solo com enzimas. Ainda mais acentuado foi o da Areia Branca (Figura 5.8c), em que quase houve uma perda quase total da resistência do solo, tal como se tinha verificado na Figura 5.7.

O Solo Mole (Figura 5.8e) passou para um comportamento típico do observado em solos mais plásticos.

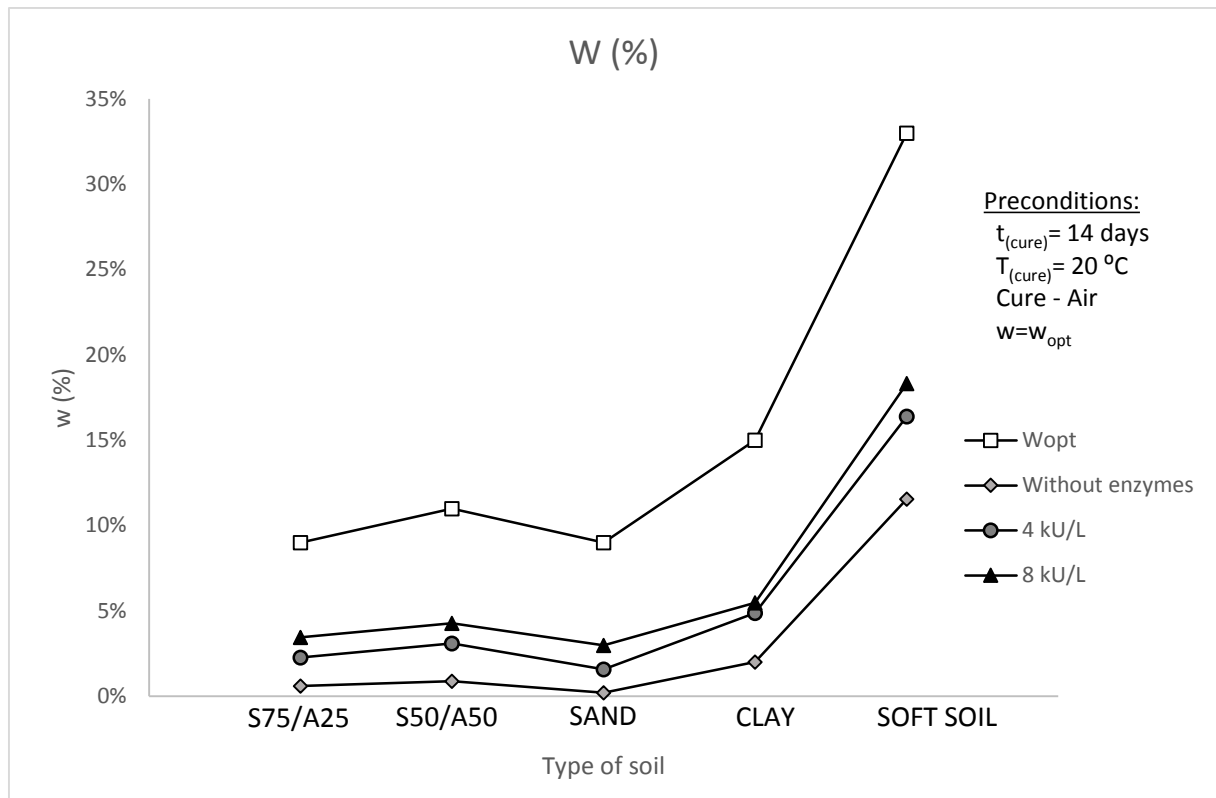


Figura 5.9 – Variação dos teores em água.

Através da análise da Figura 5.9, pode observar-se com perfeita clareza que com o aumento das concentrações de enzimas houve menos perda de água ao longo dos 14 dias de cura. Sem enzimas, à excepção do Solo Mole, houve uma redução quase total do teor em água, como se pode observar no Quadro 5.3.

A Areia Branca, em quaisquer dos casos, apresentou o menor teor em água (w), ou seja, sofreu a maior perda. No sentido oposto, o Solo Mole registou a menor perda de água.

Os valores e comportamentos analisados e registados quando a cura se realizou ao ar, apesar de não satisfatórios em relação à estabilização dos solos por via enzimática, não são totalmente surpreendentes. Isto prende-se com o facto de a cura ao ar incrementar os fenómenos de sucção. De facto, na Figura 5.9 e Quadro 5.3, observa-se que a introdução de enzimas nos provetes ensaiados com enzimas, ou seja, com menor teor em humidade, apresentam sucções mais elevadas, obtendo-se desta forma maiores resistências. Assim pode-se concluir que nos provetes submetidos a cura ao ar, o efeito da bioestabilização é mascarado pelo fenómeno de sucção, o qual se encontra associado ao teor em água dos provetes.

Quadro 5.3 – Valores dos teores em água.

| Solos | W _{inicial} | W _{final} | | |
|--------------|----------------------|--------------------|--------|--------|
| | | Sem enzimas | 4 kU/L | 8 kU/L |
| S75/A25 | 9% | 0.60% | 2.27% | 3.46% |
| S50/A50 | 11% | 0.89% | 3.09% | 4.28% |
| AREIA BRANCA | 9% | 0.21% | 1.58% | 2.99% |
| ARGILA | 15% | 2.01% | 4.87% | 5.47% |
| SOLO MOLE | 33% | 11.55% | 16.40% | 18.32% |

A Figura 5.10 e o Quadro 5.4 apresentam os valores do pH de cada solo para diversas concentrações de *urease*. Com exceção do Solo Mole, nos restantes casos o pH converge para valores entre 7.3 e 7.8, independentemente do valor inicial. Em relação ao Solo Mole os valores de pH reduzidos não criam as condições necessárias para a precipitação de CaCO₃, razão pela qual este solo não apresentou melhoria do comportamento devido à aplicação desta técnica.

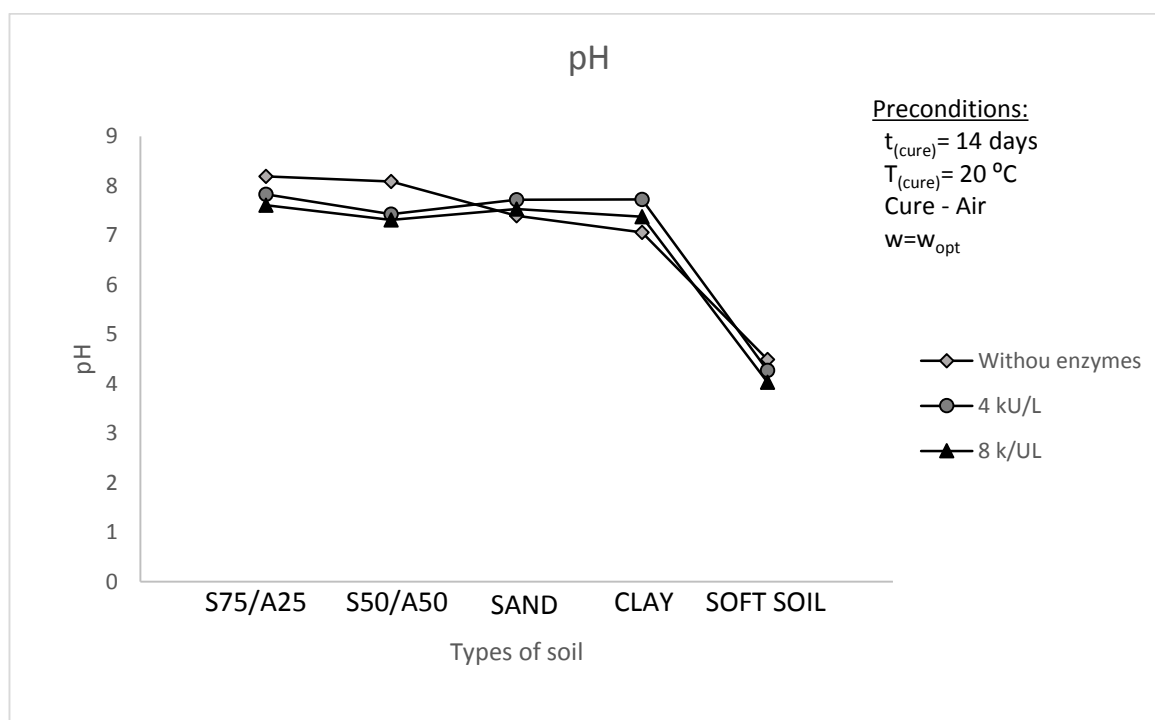


Figura 5.10 – Variação do pH.

Quadro 5.4 – Valores de pH.

| Solos | pH _{final} | | |
|--------------|---------------------|--------|--------|
| | Sem Enzimas | 4 kU/L | 8 kU/L |
| S75/A25 | 8.19 | 7.83 | 7.61 |
| S50/A50 | 8.09 | 7.43 | 7.31 |
| AREIA BRANCA | 7.4 | 7.72 | 7.53 |
| ARGILA | 7.06 | 7.73 | 7.38 |
| SOLO MOLE | 4.49 | 4.27 | 4.03 |

Durante a medição dos valores de pH, em ambos os processos de cura, constatou-se que nos solos tratados com enzimas, o tempo de suspensão das partículas era muito menor do que nos solos sem enzimas. Este fenómeno poderá estar relacionado com o facto de o precipitado de carbonato de cálcio se agregar às partículas de solo, tornando-as mais pesadas, levando a que a sedimentação seja mais rápida (Figura 5.11).



Figura 5.11 – Observação da suspensão das partículas.

5.3 Ensaio SEM

Para se poder observar os cristais de carbonato de cálcio precipitado, efetuaram-se ensaios SEM com provetes submetidos a cura na câmara húmida (S75/A25, S50/A50, Argila e Solo Mole) e com uma concentração de *urease* de 8 kU/L. Estes resultados servem fundamentalmente para complementar os resultados dos ensaios UCS expostos anteriormente.

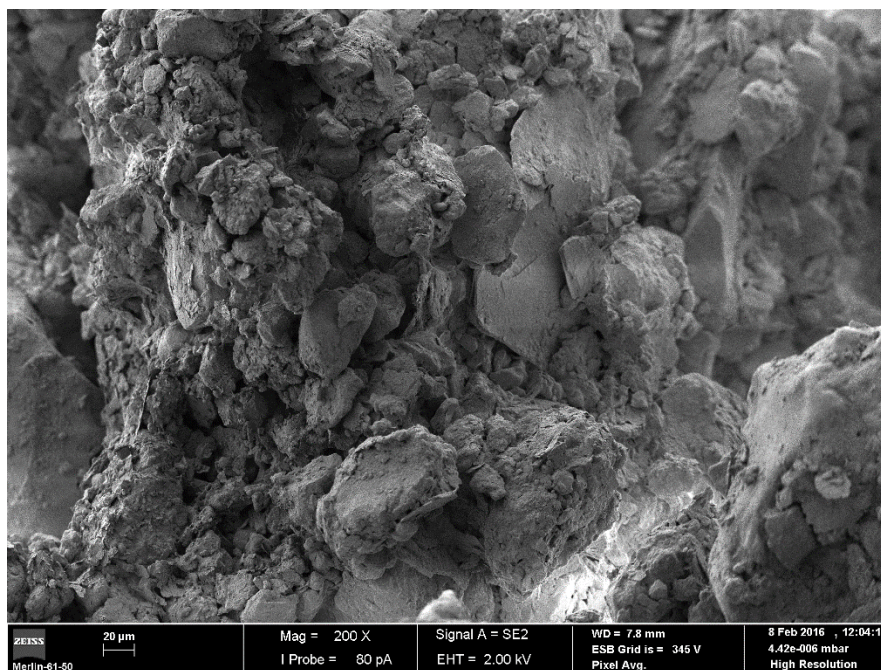


Figura 5.12 –Ensaio SEM: Representação da topografia de uma amostra do solo S75/A25.

Na Figura 5.12 pode-se observar a estrutura do solo S75/A25, tendo as partículas de argila possuem um aspeto laminar. Nesta imagem não foi possível identificar cristais de CaCO_3 , como se pode comprovar na Figura 5.13, não significando que não se tenha precipitado. A Figura 5.13 apresenta também as percentagens em peso dos diversos compostos químicos do solo.

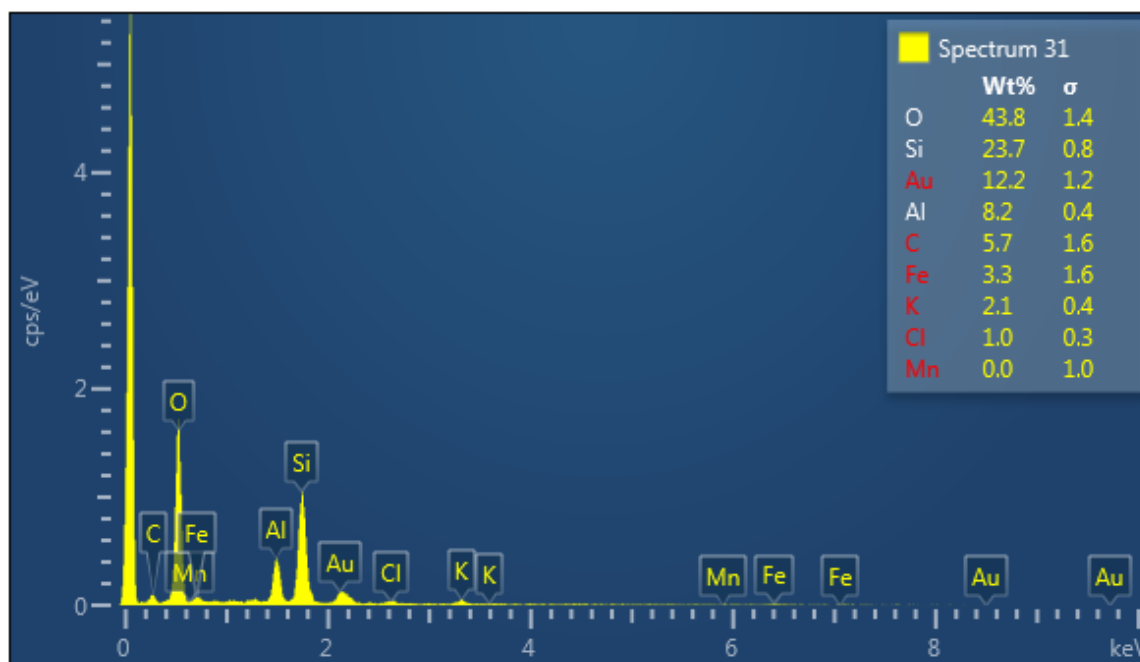


Figura 5.13 – Ensaio SEM: Análise química de uma amostra do solo S75/A25.

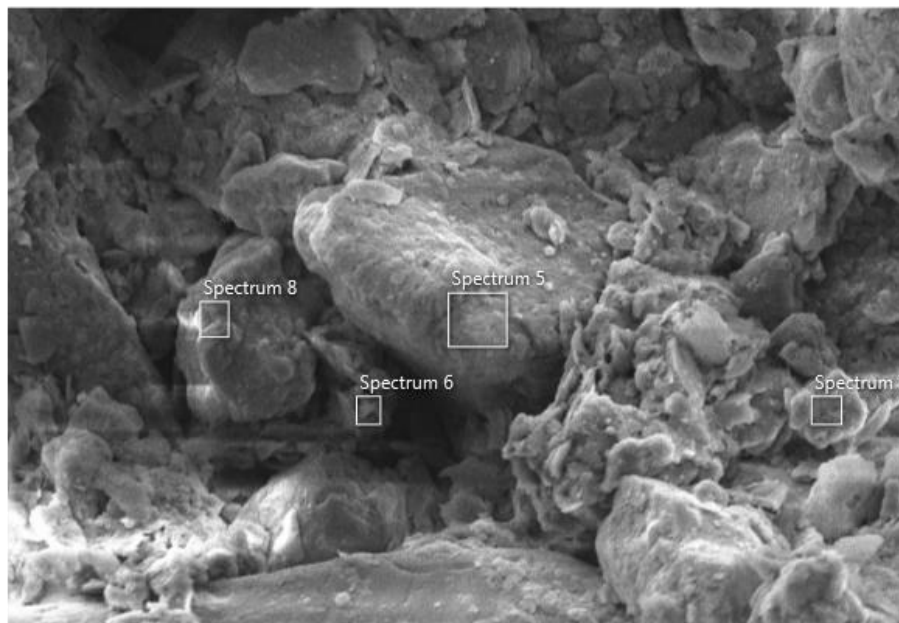


Figura 5.14 – Ensaio SEM: Representação da topografia da amostra do solo S50/A50.

Na Figura 5.14 observa-se a estrutura do solo S50/A50, apresentando, em grande plano, uma partícula de areia, envolvida por partículas de menores dimensões. A partir da análise química desta amostra, pôde comprovar-se a existência do carbonato de cálcio (cerca de 17% do peso total), como se pode observar na Figura 5.15, que apresenta a análise do “Spectrum 6”.

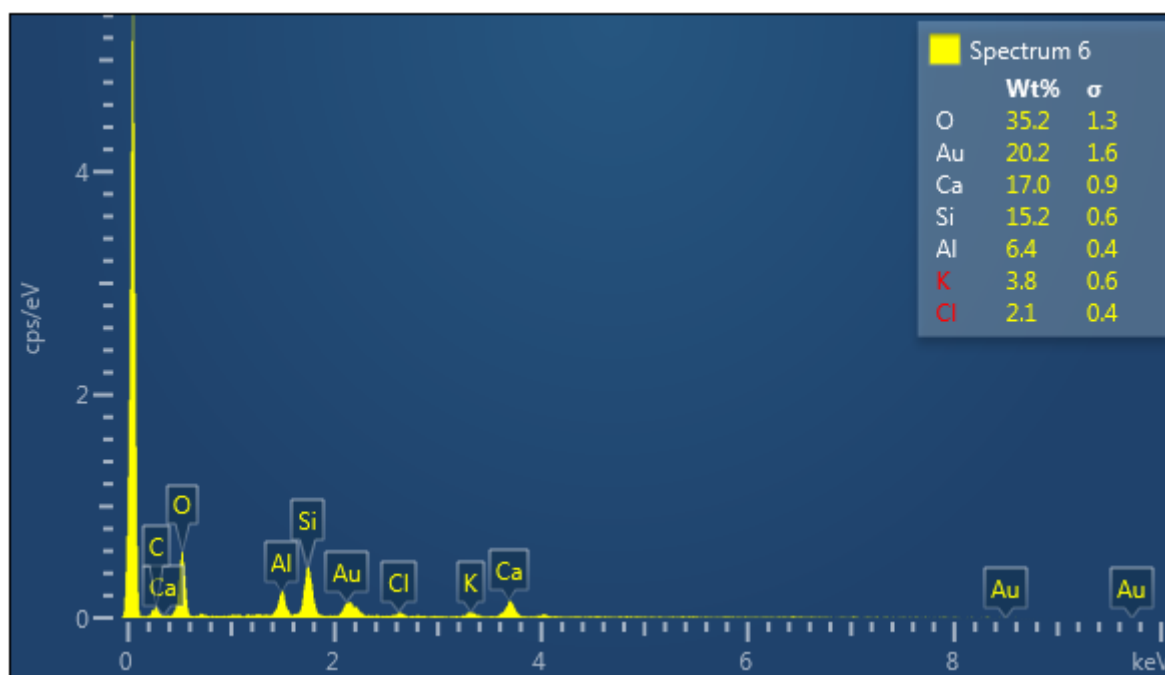


Figura 5.15 – Ensaio SEM: Análise química de uma amostra do solo S50/A50.

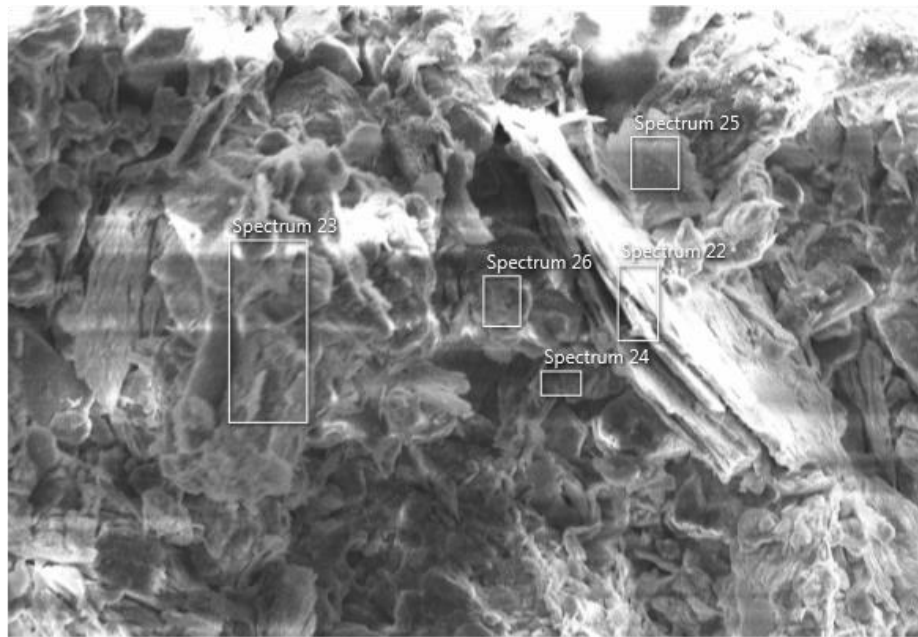


Figura 5.16 – Ensaio SEM: Representação da topografia da amostra de Argila.

Na Figura 5.16 pode observar-se uma partícula de Argila identificada pelo seu aspeto laminar. As partículas de forma mais granular correspondem a silte. A análise química da amostra, correspondente ao “Spectrum 23” (Figura 5.17) permite constatar a presença de 1.5% de cálcio, indiciando a existência de carbonato de cálcio, apesar de ser em menores porções que no solo S50/A50.

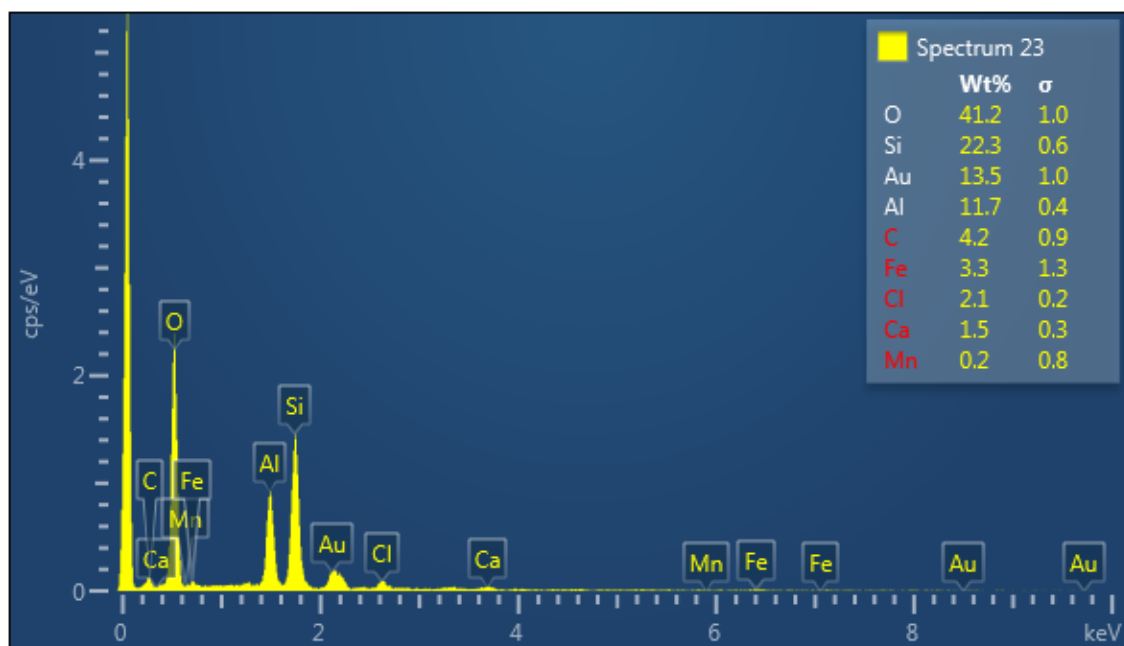


Figura 5.17 – Ensaio SEM: Análise química de uma amostra de Argila.

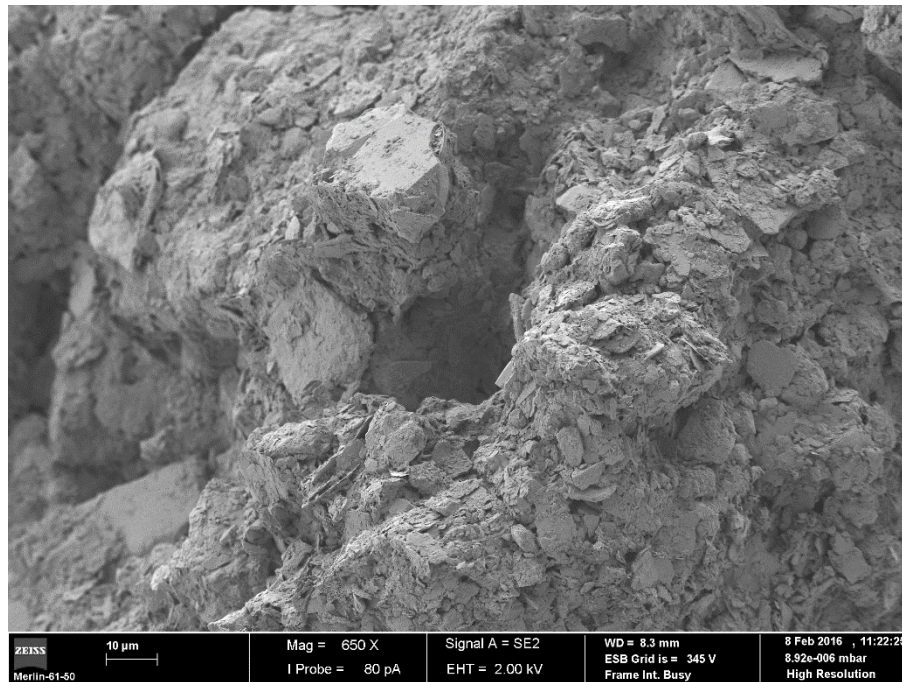


Figura 5.18 – Ensaio SEM: Representação da topografia da amostra de Solo Mole.

Pela análise da Figura 5.18, que representa a estrutura do Solo Mole, observa-se a existência de algumas partículas de maiores dimensões, envolvidas por um amaterial sem forma definida com grande percentagem de carbono, que se jula ser matéria orgânica. Como esperado, nesta amostra não se observou qualquer tipo de vestígio de carbonato de cálcio, atestando os resultados obtidos nos pontos anteriores (Figura 5.19).

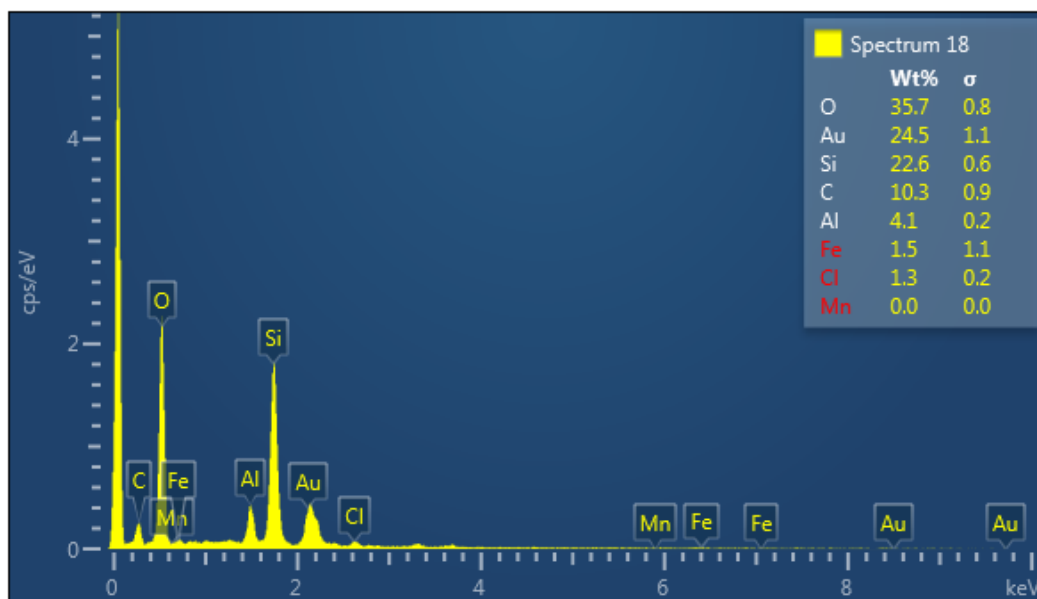


Figura 5.19 – Ensaio SEM: Análise química de uma amostra de Solo Mole.

6 CONCLUSÕES E DESENVOLVIMENTOS FUTUROS

6.1 Conclusões

O principal objectivo do presente trabalho consistiu em estudar a influência do processo de precipitação de carbonato de cálcio por via enzimática em diferentes tipos de solos. Como tal, o presente capítulo tem como função explanar as conclusões obtidas ao longo da elaboração deste trabalho de investigação.

A análise dos resultados iniciou-se com a análise da resistência, da rigidez, da variação dos teores em água e dos valores do pH em provetes submetidos a cura em câmara húmida. De maneira geral, concluiu-se o processo de precipitação do carbonato de cálcio por via enzimática consegue promover a estabilização dos solos. Excetuando o Solo Mole, todos os outros solos apresentaram melhorias das suas propriedades mecânicas, demonstrando o sucesso do processo em estudo. Quanto ao Solo Mole, a sua bioestabilização não foi conseguida provavelmente devido à forte presença de matéria orgânica, que está associada ao baixo valor do pH, não tendo as condições necessárias para a precipitação de carbonato de cálcio, dado que para esta reação se realizar necessita de um ambiente com pH elevado.

O solo, criado artificialmente, S75/A25 foi o que mais beneficiou com o processo da bioestabilização, registando um aumento da sua rigidez e resistência com o aumento da concentração da enzima *urease*, permitindo concluir que a estabilização de solos com recurso à precipitação de carbonato de cálcio por via enzimática traz grandes benefícios a um solo bem graduado e sem matéria orgânica.

Relativamente à cura realizada ao ar, as propriedades mecânicas de todos os solos deterioraram-se com a introdução de enzimas. Contudo, nestes ensaios o efeito da bioestabilização encontra-se camuflado, pois com a perda de água no provete aumentam as tensões de sucção no solo, as quais condicionam o comportamento mecânico. De facto, uma maior de concentração de *urease* leva a uma menor perda de água, estando este facto associado a menores sucções, correspondendo a menor rigidez e resistência.

Comparando os solos não estabilizados com cura ao ar, constata-se que os solos com maior porção de finos, S50/A50 e Argila, registaram os valores mais altos de rigidez e resistência. Contudo, sofreram perdas consideráveis da resistência e rigidez após a bioestabilização, pelo

que não é o processo mais indicado quando a cura se realiza ao ar, situação essa também difícil de reproduzir *in situ*.

6.2 Sugestão para trabalhos futuros

Tendo em consideração os resultados obtidos na presente investigação, nos próximos trabalhos considera-se pertinente a análise dos seguintes aspetos:

- Analisar o efeito de estabilização ao longo do tempo.
- Analisar a resistência em condições saturadas.
- Determinar a resistência com base em ensaios de corte direto e ensaios triaxiais drenados e não drenados.
- Realização de ensaios edométricos para se determinar a deformabilidade dos provetes bioestabilizados.
- Realização de ensaios de percolação de modo a se estudar a influência da bioestabilização na permeabilidade dos solos após estabilização.
- Estudar a influência do teor de matéria orgânica e do pH do solo no processo de bioestabilização.
- Melhorar a eficiência do processo, recorrendo a diferentes processos de injeção/mistura.
- Estudar possíveis impactos ambientais do processo de bioestabilização, bem como a forma de os mitigar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM D 2166 (2000). “Standart test method for unconfined compressive strength of cohesive soil.” American Society for Testing and Materials.
- Bragg, J. R., Prince, R. C. Hamer, E. J. (1994). “Atlas, R. M. Effectiveness of bioremediation applications”. US Department of Transportation, Federal Highway Administration, Vol. 1, p. 135.
- BS 1377 – 3 (1990). “Methods of test for soils for civil engineering purposes – part 3: chemical and electro-chemical tests”. British Standarts Institution, London.
- Cesareo, S.D., Langton, S.R. (1992). “Kinetic properties of *Helicobacter pylori* urease compared with jack bean urease. FEMS Micobiol. Lett., 78, 15-21.
- Coelho, P. (2000). “Caracterização Geotécnica de Solos Moles: Estudo do local experimental da Quinta do Foja (Baixo Mondego)”. Tese de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra.
- Costa, J. N. P. (2012). “Estabilização de solos por via química e biológica”. Tese de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra.
- Dias Santos, P. A. (2015). “Caracterização da rigidez inicial de areias utilizando Bender Elements”. Tese de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra.
- E 196 (1966). “Solos – Análise granulométrica”. Especificação do LNEC, Lisboa, Portugal.
- E 197 (1966). “Solos – Ensaios de compactação”. Especificação do LNEC, Lisboa, Portugal.
- E 201 (1967). “Solos – Determinação do teor em matéria orgânica”. Especificação do LNEC, Lisboa, Portugal.
- GEOLOGIA@ (2011). <http://www.geologia-opassadoachavedopresente.blogspot.pt>, Portugal.

- Gómez-Muñetón, C.M. (2013). Avaliação Geotécnica De Um Perfil De Solo Tratado Biotecnologicamente Para Fins De Pavimentação. Tese de Doutorado, Publicação G.TD-083A/13, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasil.
- JACKBEANTEA@ (2016). <http://www.jackbeantea.com>, Japan.
- Lee, Y. N. (2003). “Calcite Production by Bacillus amyloliquefacies CMB01”. Journal of Microbiology, 41(4), pp. 345-348.
- Nemati, M., Voordouw, G. (2003). “Modification of porous media permeability, using calcium carbonate produced enzymatically in situ”. Enzyme and Microbial Technology 33 (2003) 635-642, Canada.
- Neupane, D., A.M.ASCE, Yasuhara, H., Kinishita, N., Unno, T. (2013). “Applicability of Enzymatic Calcium Carbonate Precipitation as a Soil-Strengthening Technique”. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2013, 139:2201-2211, ASCE.
- NP 143 (1969). “Solos – Determinação dos limites de consistência”. Norma Portuguesa Definitiva.
- NP 83 (1965). “Solos – Determinação da densidade das partículas sólidas”. Norma Portuguesa Definitiva.
- Santos, J. J. N., Neto, C. L. A., Caribé, R. M., Monteiro, V. E. D., Melo, M. C. (2015). “Interrelações entre matéria orgânica, pH, teor em água em solo de cobertura de aterro experimental”. Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia, Fortaleza, Brasil.
- SIGMAALDRICH@ (2016). <http://www.sigmaaldrich.com>, EUA.
- Stanisçuaski, F., Te Bruhhe, V., Carlini, V. R., Orchard, I. (2009). “Invitro effect of Canvalia ensiformis urease and the derived peptide Jabureotx-2Ec on Rhodnius prolixus Malpighian tubules”. Journal of Insect Physiology, 55 (3): pp. 255-63.
- Torgal, F. P., Labrincha, J.A., Diamanti, M. V., Yu, C. – P., Lee, H. K. (2015). “Biotechnologies and Biomimetics for Civil Engineering”. Springer International Publishing, Switzerland.
- TRIAX [Software]. Durham, University of Durham, School of Engineer, England.

- Yasuhara, H., Neupane, D., Hayashi, K., Okamura, M. (2012) (Experiments and predictions of physical propoerties of sand cemented by enzymatically-induced carbonate precipitation”. The Japanese Geotechnical Society, Soils and Foundations, Japan.