

DETERIORAÇÃO DO CONCRETO ASSOCIADA À OCORRÊNCIA DE *THIOBACILLUS* S.P. - BRASIL

Márcia A. Shirakawa^{1*}

Maria I. Sato²

Petra S. Sanchez²

Maria A. Cincotto³

Bárbara M. Rzycki¹

RESUMO

Foi investigada a presença de *Thiobacillus*, bactérias heterotróficas e fungos em amostras de concreto coletadas de um reservatório de água apresentando deterioração evidente. Analisou-se amostras das áreas afetadas de duas regiões com características distintas: concreto com corrosão e armadura exposta e concreto com eflorescência por vazamento de água. Analisou-se também uma amostra de solo em contato com o concreto. Os *Thiobacillus* isolados foram submetidos a um teste de crescimento em meio de cultura sólido contendo escória granulada de alto-forno e em meio contendo argamassa triturada do concreto analisado, sem outras fontes de nutrientes; todos os *Thiobacillus* isolados cresceram nos meios testados. Estes dados serão utilizados em estudos de durabilidade de concreto para repositórios finais de rejeitos radioativos.

Palavras-chaves: Concreto; deterioração; *Thiobacillus*; escória granulada de alto-forno; microrganismos.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade da construção de um repositório final de rejeitos radioativos no Brasil fez iniciar, na Supervisão de Rejeitos e Descontaminação do IPEN/CNEN-SP, estudos com o objetivo de obter parâmetros para aumentar a durabilidade dos concretos destinados a este fim.

Os rejeitos radioativos gerados no Brasil, de níveis médio ou baixo de radiação, com emissores alfa abaixo dos limites estabelecidos por norma, podem ser depositados em repositórios finais de superfície ao nível do solo (6, 7).

A durabilidade do concreto de um repositório final de rejeitos radioativos de baixo nível de radiação, deve ser de aproximadamente 500 anos (5). Viabilizar a maior durabilidade possível ao concreto é fundamental para garantir a proteção adequada ao meio ambiente. Em função desta necessidade, este trabalho propõe-se a investigar a interferência dos microorganismos no processo de deterioração do concreto.

1 Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Comissão Nacional de Energia Nuclear/S.P. (IPEN/CNEN-SP) - Cx.P. 11049 São Paulo S.P. Brasil

2 Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental-S.P.

3 Inst. de Pesquisas Tecnológicas do Est. de São Paulo S.A.

* Autor correspondente

A literatura referente à corrosão microbiológica do concreto evidencia as bactérias do gênero *Thiobacillus* como um agente etiológico importante neste processo (18, 19, 20). O primeiro caso de corrosão do concreto por *Thiobacillus*, foi publicado por em 1945 por PARKER (19) onde foram encontrados *Thiobacillus concretivorus* no concreto do esgoto de Melbourne na Austrália. Atualmente esta bactéria é considerada como *T. thiooxidans* conforme Manual Bergey's de 1989 (21).

Os estudos ecológicos realizados em 1983 por MILDE et al (18) evidenciam um desenvolvimento sucessivo de diferentes *Thiobacillus* durante o processo de corrosão do concreto da rede de esgoto de Hamburgo na Alemanha; os *Thiobacillus* neutrofilicos, capazes de crescer em pH neutro ou ligeiramente alcalino iniciam o processo, abaixando a alcalinidade do concreto por produção de ácido sulfúrico e permitindo que as espécies mais acidofílicas tenham condições de crescimento.

A inexistência de um repositório em operação ou construção no Brasil, motivou a pesquisa de um caso real de deterioração do concreto, apresentando evidente corrosão e aparente colonização por microrganismos.

Este trabalho tem por objetivo levantar dados que possam contribuir para o conhecimento da biodeterioração do concreto, cuja durabilidade é essencial em repositórios finais de rejeitos radioativos. Para tanto, pretende-se, a partir de um caso real de deterioração do concreto obter os seguintes dados:

- Verificar a ocorrência de microrganismos, especialmente de *Thiobacillus*, em amostras de concreto apresentando evidente deterioração.
- Verificar se as cepas isoladas são capazes de utilizar como nutrientes para seu crescimento, compostos químicos presentes nas escórias granuladas de alto-forno, adicionadas no cimento portland comum e cimento de alto-forno, durante a produção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem

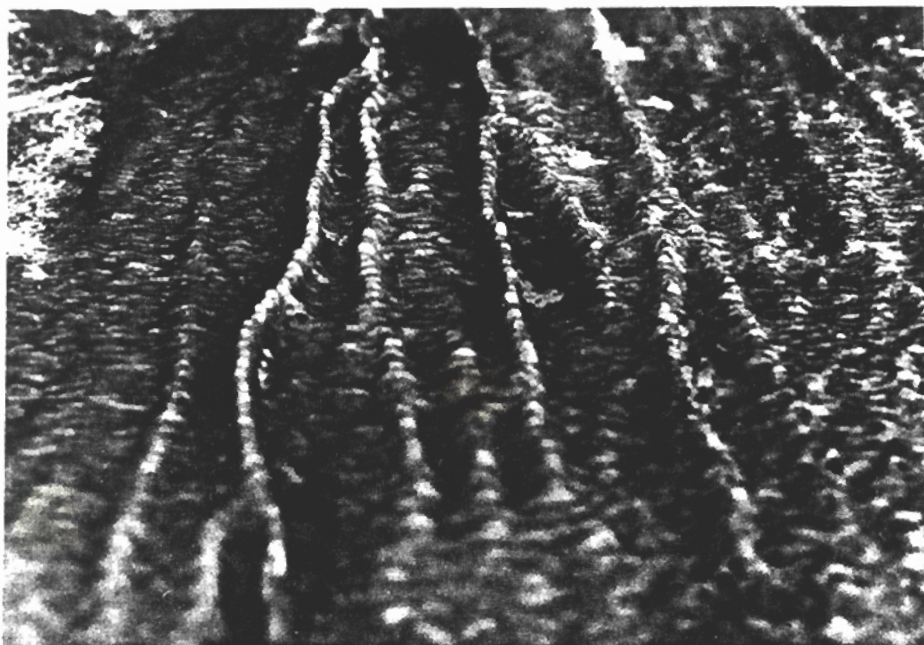
As amostras coletadas, com assepsia, da parede externa de um reservatório de água apresentando deterioração evidente. Este reservatório de água pertence ao Instituto Butantan e está situado na Cidade Universitária - São Paulo - Brasil.

Coletou-se amostras de solo em contato com a base da estrutura de concreto e amostras das regiões 1 e 2 conforme a descrição abaixo.

2.2 Descrição do concreto estudado

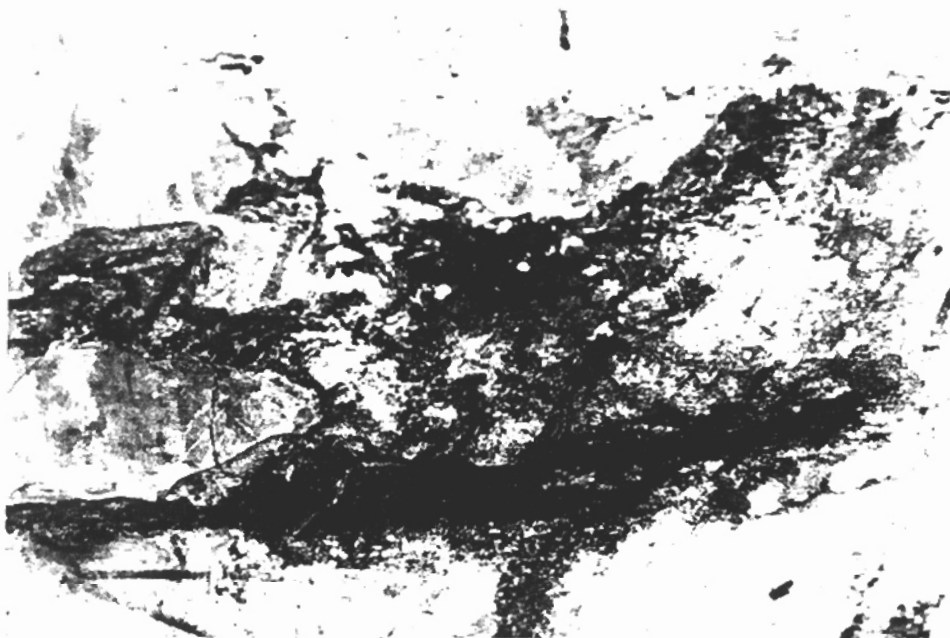
Observou-se que o concreto apresentava-se deteriorado em várias regiões, cujos danos podem ser agrupados conforme características distintas a saber:

Região 1: Fissuras na junta de concretagem com vazamento de água e eflorescência causada por recristalização de calcita. (Fotografia 1).



Fotografia 1 - Detalhe da região apresentando recristalização de calcita.

Região 2: Expansão do concreto com corrosão da armadura exposta. (Fotografia 2).



Fotografia 2 - Detalhe da região apresentando corrosão do concreto e armadura exposta.

2.3 Análises microbiológicas

Determinação do Número Mais Provável de Thiobacillus: Técnica dos Tubos Múltiplos, conforme Norma Técnica CETESB L5.217 (9) com adaptações para determinação de *T. denitrificans* (22).

Contagem de Colônias de Bactérias Heterotróficas: Norma Técnica CETESB L5.201 (11).

Contagem de Fungos: Norma Técnica CETESB L5.204/78 (10).

Teste diagnóstico para identificação de Thiobacillus: Manual Bergey's de 1989 (21). As cepas foram inoculadas em condições padronizadas estabelecidas por Hutchinson (1965) e incubadas a 28°C em condições estáticas e aerobiose durante 28 dias.

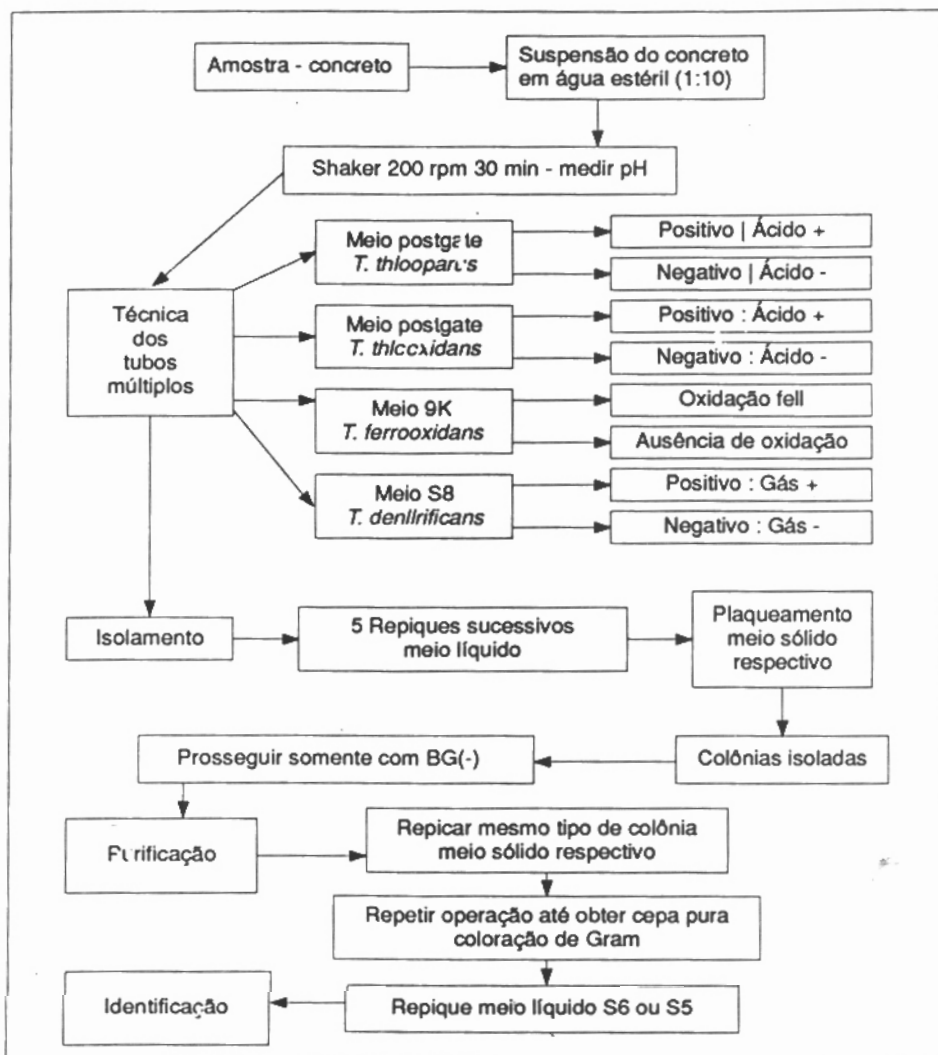


Figura 1 - Procedimento para quantificação, isolamento e purificação para *Thiobacillus*.

Teste qualitativo para Bactérias Redutoras de Sulfato: Norma Técnica CETESB L5.210 (8).

Teste de crescimento em escória granulada de alto-forno: por semeadura em estrias das bactérias isoladas em meio contendo 20% escória granulada de alto-forno, agarose 0,5% e água destilada 1000 mL. Esterilização por autoclave a 120°C por 30 min.

Teste de crescimento em argamassa triturada: por semeadura em estrias das bactérias isoladas em meio contendo 20% de argamassa do reservatório, agarose 0,5% e água destilada 1000mL. Esterilização por autoclave a 120°C por 30 min.

Isolamento e purificação de Thiobacillus: Técnica de enriquecimento por diluição nos respectivos meios líquidos e posterior plaqueamento nos respectivos meios sólidos, como mostra a Figura 1 da página anterior.

2.4 Análises químicas:

Composição química e reconstituição de traços de argamassa: Boletim IPTN^o25(16).

Determinação do resíduo insolúvel (escória): NBR 5744/77 (1).

Anidrido silícico (escória): gravimetria após insolubilização da sílica com ácido clorídrico.

Óx. de alumínio (escória): Método desenvolvido por Voinovitch (24).

Óx. férrico (escória): NBR 5742/77 (2).

Óx. de cálcio (escória): NBR 5749/77 (3).

Anidrido fosfórico (escória): NBR 6473/80 (4).

Tiosulfato em Meio de cultura líquido S6: por Iodometria: VOGEL. 1981 (23).

Presença de calcita: verificada por Difração de Raio X - Difratômetro de Raio X URD-6 40 kV e 20 mA.

Fósforo total: Método semi-automático para determinação de fósforo total. CETESB (12).

Nitrogênio total: Método semi-automático para determinação de nitrogênio Kjeldahl total. CETESB (13).

3. RESULTADOS

A Tabela 1 mostra o pH e umidade das amostras analisadas e microrganismos encontrados por 100 g de amostra seca.

A Figura 2 mostra um gráfico representando os valores do logaritmo do NMP para os *Thiobacillus* e do logaritmo da UFC para as bactérias heterotróficas e os fungos. Os dados estão expressos por 100 g de amostra seca.

A Figura 3 mostra a curva de crescimento autotrófico em meio S6 (HUTCHINSON, 1965) de três cepas de *Thiobacillus* isoladas e purificadas a partir das amostras de eflorescência e concreto com armadura exposta.

Para melhor visualização dos resultados obtidos elaborou-se a Tabela 2, onde são apresentados dados comparativos entre os valores máximos de UFC/mL da curva de crescimento apresentados na Figura 3 e os valores máximos de UFC/mL obtidos diretamente das amostras em meio ambiente.

Tabela 1 - Características das amostras e microrganismos encontrados/ 100g de amostra seca.

Determinações	Eflorescência (calcita)	Concreto armadura	Solo-base
pH	8,95	9,99	9,45
Umidade	56%	5%	22%
<i>T. thioparus</i>	$7,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^4$	$1,8 \times 10^7$
<i>T. thiooxidans</i>	< 2	< 2	$2,2 \times 10^3$
<i>T. ferrooxidans</i>	< 2	< 2	< 2
<i>T. denitrificans</i>	< 2	< 2	$7,5 \times 10^3$
Fungos	$5,7 \times 10^5$	$1,7 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$
Bac. Heterotróf.	$2,1 \times 10^7$	$2,5 \times 10^6$	$8,7 \times 10^8$
Red. sulfato	ausente	presente	n.d.

Fungos e Bact. Heterotróficas: Unid. Formadora de Colônia (UFC)
Thiobacillus: Número mais provável (NMP), nd = não determinado

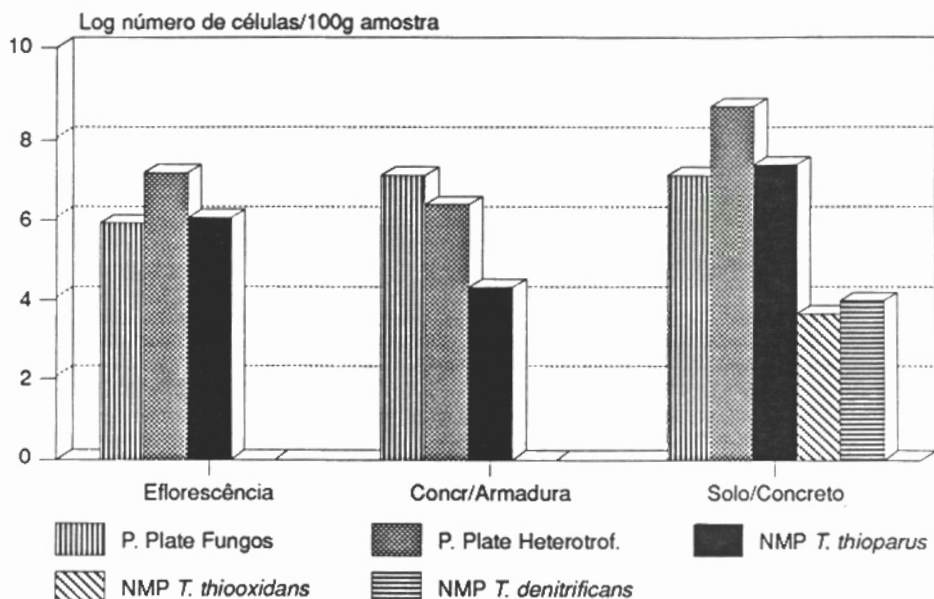


Figura 2 - Microrganismos encontrados por 100g de amostra seca.

A Tabela 3 mostra os resultados do teste diagnóstico para identificação de *Thiobacillus* isolados. Este teste foi proposto por HUTCHINSON em 1969 (15) e aceito pelo Manual Bergey's de 1989 (21).

A Tabela 4 mostra a composição química da escória granulada de Alto-forno COSIPA utilizada para o meio de cultura.

A Tabela 5 mostra a composição química da argamassa analisada em duas regiões diferentes; uma região onde o concreto apresentava-se seco e uma região onde o concreto apresentava-se úmido com vazamento.

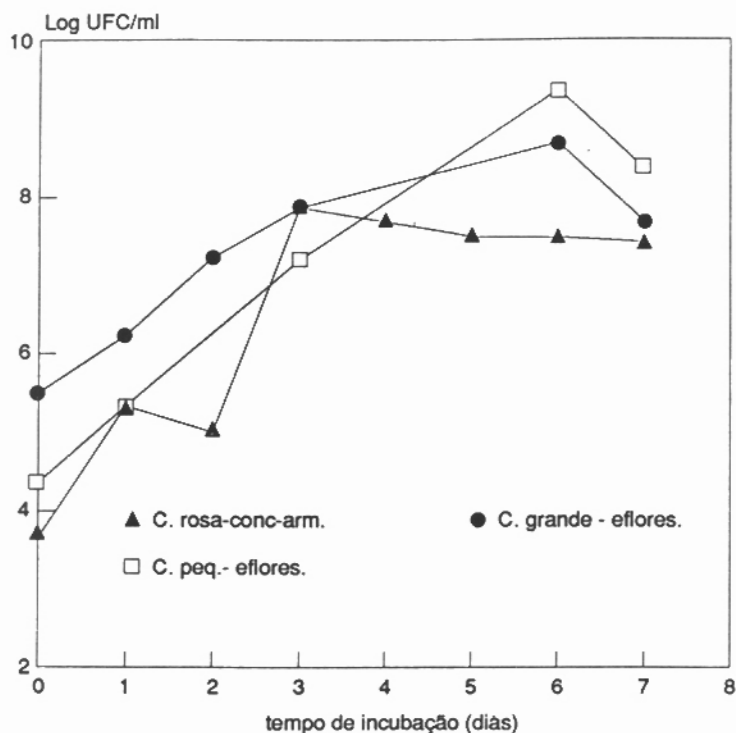


Figura 3 - Curva de crescimento dos *Thiobacillus* isolados em S6 (Hutchinson, 1965).

Tabela 2 - Dados comparativos entre valores máximos de UFC/ml das cepas após isolamento e purificação e valores máximos UFC/ml das mesmas colônias em amostras ambientais.

	Cond. ótimas	Ambiente
Colônia rosa	10^8 UFC/ml	10^3 UFC/ml
pH	6,7	9,7
Meio	líquido S6	concreto (5% H_2O)
Colônia pequena	10^9 UFC/ml	10^5 UFC/ml
pH	6,7	9,6
Meio	líquido S6	Efloresc. (56% H_2O)
Colônia grande	10^8 UFC/ml	10^5 UFC/ml
pH	6,7	9,6
Meio	líquido S6	Efloresc. (56% H_2O)

A Tabela 6 mostra as colônias de *Thiobacillus* que foram capazes de crescer em meio sólido de escória granulada de alto-forno COSIPA e em meio sólido com a argamassa do concreto analisado.

4. DISCUSSÃO

O Número Mais Provável (NMP) para *T. thioparus* é obtido pela técnica dos tu-

Tabela 3 - Teste diagnóstico para identificação de *Thiobacillus*.

Meio de cultura	Critério	Ar	PC1	PC maior	PC esp.	R.G.
S6 / S5	pH final	6.90	6.95	7.00	6.95	4.60
S6 / S5	% de oxidação de tiosulfato (*)	1%	6%	2%	5%	99%
S0 + 6% tiosulfato	% de oxidação de tiosulfato (*)	0%	8%	0%	0%	0%
S6 / S5 + 4% fosfato	Inibição	-	-	-	-	-
S6 / S5 + 5% NaCl	Inibição	+	+	+	+	+
Enxofre	pH final	6.40	6.44	6.40	6.44	4.00
S8 (anaerobiose)	Crescimento	+	+	+	+	+
Anaerobiose	Formação de gás	-	-	-	-	-
S7	Crescimento em tiocianato	-	-	-	+	-
9K	Oxidação do ferro	-	-	-	-	-
Ágar nutriente	Crescimento	+	+	+	+	-
Citrato Simon's	Crescimento	-	-	+	+	-
Ágar tiosulfato	Deposição enxofre	-	-	-	-	+

(*) Estes de oxidação de tiosulfato testes devem ser repetidos por apresentarem resultados anômalos

(+) = positivo para testes de crescimento

= inibição para testes com NaCl e fosfato

(-) = negativo para testes de crescimento

= ausência de inibição para testes com NaCl e fosfato

Ar: Colônia rosa isolada da amostra de concreto com corrosão de armadura

PC1: Colônia pequena isolada da amostra de eflorescência

PC maior: Colônia grande isolada da amostra de eflorescência

PC esp: Colônia espalhada isolada da amostra de eflorescência

R.G.: *T. thioparus* isolado de uma amostra de lodo em contato com concreto coletada em outra cidade (esta cepa foi submetida ao teste de identificação para efeito comparativo com as cepas isoladas das amostras deste reservatório)

Tabela 4 - Composição química da escória.

Escória granulada de alto-forno COSIPA	(%)
Resíduo insolúvel (RI)	2,00
Anidrido silícico (SiO ₂)	35,02
Óxido de alumínio (Al ₂ O ₃)	11,32
Óxido de cálcio (CaO)	43,07
Óxido de magnésio (MgO)	5,97
Óxido de Ferro (Fe ₂ O ₃)	0,03
Óxido de manganês (Mn ₂ O ₃)	0,72
Dióxido de titânio (TiO ₂)	0,43
Óxido de sódio (Na ₂ O)	0,15
Óxido de Potássio (H ₂ O)	0,44
Sulfeto (S ²⁻)	0,95
Nitrogênio total	0,08
Fósforo total	0,01

bos múltiplos no meio de Postgate modificado. A indicação da presença dos *Thiobacillus* neutrofilicos é obtida pela mudança na coloração do meio de cultura. Utiliza-se um indicador ácido-base para observar-se a oxidação do tiosulfato com produção de ácido pelas bactérias, e por essa razão não é desejável, neste caso, a inoculação direta

Tabela 5 - Composição química da argamassa.

Amostra	Seca (%)	Vazamento (%)
Umidade	0,96	0,58
Perda ao fogo	9,10	7,40
Resíduo insolúvel (RI)	74,90	80,03
Ox. de Silício (SiO ₂)	2,69	2,24
R ₂ O ₃ (Fe ₂ O ₃ + Al ₂ O ₃)	1,82	1,58
Ox. de cálcio (CaO)	9,82	7,42
Ox. de magnésio (MgO)	0,60	0,53
Sulfato	0,01	0,02
Sulfeto (S ²⁻)	0,01	0,01
Nitrogênio total	0,03	0,01
Fósforo total	0,04	0,05

A reconstituição de traços da argamassa revelou uma proporção em massa 1:4 (cimento: agregado miúdo) para a amostra da região seca e uma proporção 1:6 para a amostra da região com vazamento. Esta diferença no traço da argamassa pode ser explicada pela lixiviação do hidróxido de cálcio e de alguns silicatos hidratados a superfície do concreto, tornando a região com vazamento mais pobre em cimento.

Tabela 6 - Crescimento dos *Thiobacillus* isolados do concreto em meio de cultura sólido contendo escória e meio contendo argamassa.

Amostra	Bactéria	Meio sólido escória	Meio sólido argamassa
Concreto com armadura exposta	Col. rosa	+	+
Eflorescência	Col. pequena	+	+
Eflorescência	Col. grande	+	+
Eflorescência	Col. espalhada	+	+

do concreto. Quando se utiliza o concreto diretamente, o meio é alcalinizado pela dissolução do hidróxido de cálcio, mascarando a viragem do indicador por neutralização do ácido produzido pelas bactérias. Em virtude deste problema, utilizou-se como inóculo uma suspensão do concreto em água destilada estéril após agitação.

Conforme observado na Tabela 1, foram encontradas bactérias autotróficas, bactérias heterotróficas e fungos presentes em quantidades relevantes coexistindo no mesmo nicho, embora em amostras distintas. A presença dos mesmos tipos de microrganismos nas três amostras indica que a contaminação parece vir do solo.

O solo apresenta também indicação para *T. denitrificans* (espécie anaeróbica) e para *T. thiooxidans* (espécie aeróbica acidofílica). Supõe-se que caso não ocorra interrupção do processo com restauração da obra, a alcalinidade pode diminuir a ponto de favorecer a colonização das espécies acidofílicas do solo para o concreto, induzindo ao desenvolvimento sucessivo de *Thiobacillus* como observado no concreto do esgoto de Hamburgo registrado por Milde et al. (18).

Os resultados obtidos no teste de identificação para *Thiobacillus*, indicam que as cepas isoladas do concreto que utilizam Citrato podem pertencer ao Grupo 0 e as cepas que não utilizam Citrato ao Grupo 1a, conforme a taxonomia no gênero *Thiobacillus* proposta por HUTCHINSON (1969). Em função da baixa oxidação de tiosulfato pe-

las cepas isoladas, é necessário que estudos complementares sejam efetuados. Observou-se que os *Thiobacillus* isolados não pertencem à espécie *T. thioparus*, pois esta espécie é estritamente autotrófica, ao contrário das cepas encontradas neste concreto que são capazes de crescer também heterotroficamente, como mostra a Tabela 3.

A análise química da argamassa do reservatório de água indicou a possibilidade do cimento utilizado conter aproximadamente 10% de adição de escória granulada de alto-forno.

Conforme mostram as Tabelas 4 e 5, as análises químicas da argamassa e da escória evidenciaram que todos os nutrientes necessários ao crescimento dos *Thiobacillus* estão presentes nestes materiais.

A origem do processo de corrosão do concreto, neste caso específico, parece decorrer de falhas na execução da obra. A corrosão da armadura é favorecida pela falta de cobrimento e a carbonatação local abaixa a alcalinidade do concreto e acelera a corrosão.

Os *Thiobacillus* isolados deste concreto e outros microrganismos encontrados nas amostras analisadas parecem entrar numa etapa posterior à carbonatação, contribuindo para o processo de deterioração. A umidade do concreto com conseqüente carbonatação e diminuição da alcalinidade parece contribuir para o estabelecimento das condições ambientais iniciais para a colonização dos microrganismos.

O crescimento dos *Thiobacillus* isolados, nos meios de cultura com escória e com argamassa indicou que estas cepas isoladas do concreto são capazes de utilizar os compostos químicos presentes nos materiais de construção, neste caso, especificamente aqueles contendo escória granulada de alto-forno.

Partindo-se dos resultados obtidos, recomenda-se uma análise microbiológica do solo onde será implantado o repositório final de rejeitos radioativos com o objetivo de verificar a influência da microbiota local na durabilidade do concreto a ser utilizado. Quanto aos materiais de construção, recomenda-se que sejam efetuados estudos complementares para verificar a possibilidade do sulfeto de cálcio presente na escória granulada de alto-forno, adicionada ao cimento, ser oxidado pelos *Thiobacillus* com produção de ácido sulfúrico e conseqüente contribuição no processo de corrosão do concreto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Associação Brasileira de Normas Técnicas. *Análise química de cimento portland - Determinação de resíduo insolúvel*. 1977 (NBR 5744/77).
2. Associação Brasileira de Normas Técnicas. *Análise química de cimento portland - Determinação com dicromato de potássio*. 1977 (NBR 5742/77).
3. Associação Brasileira de Normas Técnicas. *Análise química de cimento portland - Determinação com permanganato de potássio*. 1977 (NBR 5749/77).
4. Associação Brasileira de Normas Técnicas. *Precipitação com fosfomolibdato de amônio e Determinação com fosfato de sódio*. 1980 (NBR 6473/80).
5. Buckley, L. P.; Philipose, K. E.; Torok, J. Engineered barriers and their influence on source behavior. In: International Atomic Energy Agency *Management of low and intermediate level radioactive wastes: proceedings of international symposium on...held in Stockholm. May 16-20 1988*. Viena, 1989. p. 147-161.
6. Comissão Nacional de Energia Nuclear. *Licenciamento de instalações radioativas*. 1984 (CNEN.NE.6.02.84).
7. Comissão Nacional de Energia Nuclear. *Gerência de rejeitos radioativos em instalações radioativas*. 1985 (CNEN.NE.6.05.85).

8. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. *Determinação do N.M.P. de Bactérias Redutoras de Sulfato (desulfobrio) pela Técnica dos Tubos Múltiplos*. 1989. (L.5.210).
9. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. *Determinação do N.M.P. de Thiobacillus sp em Água pela Técnica dos Tubos Múltiplos*. 1991. (L.5.217).
10. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. *Isolamento e Contagem de fungos em Águas, Esgotos e Resíduos sólidos*. 1988. (L.5.204).
11. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. *Bactérias Heterotróficas - Contagem em placas*. 1986. (L.5.201).
12. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. *Método semi-automático para determinação de Fósforo Total, Inorgânico, Orgânico e Fosfato Ácido Hidrolisável em água*. 1981. (033/GAG).
13. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, São Paulo. *Método semi-automático para determinação de Nitrogênio KJEDAHL Total em água*, 1982. (Relatório nº 034/82/GAG).
14. Hutchinson, M.; Johnstone, K. I.; White, D. The taxonomy of certain thiobacilli. *J. Gen. Microbiol.*, 41: 357-366, 1965
15. Hutchinson, M.; Johnstone, K. I.; White, D. Taxonomy of the genus *Thiobacillus*: the outcome of numerical taxonomy applied to the group as a whole. *J. Gen. Microbiol.*, 57: 397-410, 1969.
16. Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. *Boletim IPT* Nº25 1940.
17. Lea, F. M. *The chemistry of cement and concrete*. London, Urwin Brothers, 1976.
18. Milde, K.; Sand, W.; Wolff, W.; Bock, E. Thiobacilli of the corroded concrete walls of the Hamburg sewer system. *J. Gen. Microbiol.*, 129: 1327-1333, 1983.
19. Parker, C. D. The isolation of a specie of bacterium associated with the corrosion of concrete exposed to atmosphere containing hydrogen sulphide. *The Journal of Biology and Experimental Medical Science.*, 23: 81-90, 1945.
20. Sand, W. & Bock, E. Concrete corrosion in the Hamburg sewer system. *Environmental Technology Letters.*, 5: 517-528, 1984.
21. Stalen, J. T.; Bryant, M. P.; Pfening, N. T.; Holt, J. R. (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore, Willians & Wilkins, 1989: V.3, p. 1807-1855.
22. Taylor, B. F.; Hoare, D. S.; Hoare, S. L. *Thiobacillus denitrificans* as an obligate chemolithotroph. Isolation and growth studies. *Arch. Mikrobiol.*, 78: 193-204, 1971.
23. Vogel, A. I. *Análise inorgânica quantitativa*. 4ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Dois, 1981.
24. Voinovitch, I. L'analyse rapide des ciments. *Chimie Analytique* (50) (6): 334-348, 1968.